
HEMATOLOGIA

DOENÇAS DA SÉRIE VERMELHA: ANEMIAS CARÊNCIAIS E HEMOCROMATOSE

001

Hemocromatose – importância na identificação precoce e investigação clínica pelos exames de rotina

Ferreira MP¹, Bordim RA¹, Miranda GA¹, Mauad VA¹, Jablonka F¹, Borducchi DM¹

¹Disciplina de Hematologia e Oncologia da Faculdade de Medicina do ABC

Introdução: A sobrecarga de ferro está associada a alta mortalidade e morbidade se não identificada e tratada precocemente. O grande desafio é diagnosticar a doença antes que o aumento de ferritina cause danos teciduais irreversíveis. Deve-se também distinguir as formas progressivas hereditárias das sobrecargas de ferro adquiridas como na síndrome metabólica. Esta hiperferritinemia pode ser ainda caracterizada com saturação de transferrina normais, níveis de hepcidina elevadas e sobrecarga de ferro hepática leve em alguns indivíduos. Torna-se relevante então, como demonstra o protocolo de hematologia de pesquisa da hemocromatose, a investigação em pacientes assintomáticos ou com o diagnóstico de mutação HFE para doença a fim de minimizar a progressão e complicação da doença.

Objetivo: Identificar o perfil clínico de pacientes com sobrecarga de ferro e ressaltar quais exames são essenciais na prevenção da hemocromatose. **Resultados e Conclusão:** Dos 106 pacientes analisados, 88 eram do sexo masculino e 18 feminino, com média de idade de 50,5 anos (Dp 11,45). Os níveis médios de ferritina foram 693,17g/dL (Dp 295,83). A regressão linear demonstrou não haver associação estatística entre as variáveis dicotômicas e os níveis de ferritina ($p=0.097$ para presença de mutação HFE; $p=0.41$ para presença de causas secundárias e $p=0,91$ na análise de correlação entre variáveis dicotômicas). Logo, infere-se que a pesquisa da mutação HFE para a hemocromatose hereditária, assim como a solicitação de ressonância nuclear magnética para avaliação hepática não são fundamentais no diagnóstico da doença. Em contrapartida, deve-se diagnosticar causas secundárias que apresentam importância na evolução da doença.

002

Perfil hematológico de pacientes atendidos em uma clínica de medicina e segurança do trabalho no sul goiano

Resende WJ¹, Borges KO², Lacerda D³

¹RESGATE

²HRBA

³UEPA

O hemograma é uma das análises de sangue mais úteis e mais solicitadas na prática médica. Os atuais valores de referência do hemograma foram estabelecidos na década de 1960 após observação de vários indivíduos sem doenças. O que é considerado normal é na verdade os valores que ocorrem em 95% da população sadia. 5% das pessoas sem problemas médicos podem ter valores do hemograma fora da faixa de referência (2,5% um pouco abaixo e outros 2,5% um pouco acima). Portanto, pequenas variações para mais ou para menos, não necessariamente indicam alguma doença. Obviamente, quanto mais afastado um resultado se encontra do valor de referência, maior a chance disto verdadeiramente representar alguma patologia. O trabalho avalia o perfil hematológico de pacientes aleatórios atendidos em uma clínica de medicina e segurança do trabalho, a qual realiza exames admissionais, demissionais e periódicos para empresas de diferentes ramos laborais. Foram avaliados 122 pacientes, 35 do sexo feminino (28,68%) e

87 pacientes do sexo masculino (71,32%) entre 2010 e 2013. Em relação ao eritrograma, considerou-se como valores de referência para a hemoglobina o intervalo entre 11,5 – 15,5g/dl para mulheres e entre 13,5-17,5g/dl para os homens e de 40-52% e 36-48% o valor de hematócrito, respectivamente. Os achados foram que a maioria dos pacientes avaliados, independente do sexo, apresentavam eritrograma normal, porém 25,71% das mulheres e 16,09% dos homens mostravam-se anêmicos. Não se detectou policitemia em nenhum paciente avaliado. Em relação ao leucograma, considerando-se como contagens sanguíneas normais o intervalo entre 4,0-11,0 x 10⁹/L, uma paciente do sexo feminino (2,85%) e um paciente masculino (1,15%) apresentaram-se com leucopenia leve, sem alteração no diferencial em nenhum caso. Em relação a plaquetometria, 3,44% dos homens e 2,85% apresentaram-se com níveis discretamente abaixo do valor de referência. Acredita-se que as maiores dos casos de anemia sejam por deficiência de ferro, a qual é a causa de metade dos casos de anemia e é um dos problemas nutricionais mais frequentes no mundo, atingindo cerca de dois bilhões de pessoas. O maior número de casos de mulheres anêmicas pode ser justificado por aumento do volume menstrual nas pacientes pré-menopausa, bem como as gestações, temporariamente associadas a vida laboral ativa. Todos os pacientes com alterações hematológicas foram encaminhados ao especialista para avaliação criteriosa e necessidade ou não de conduta terapêutica.

003

Doença de Whipple: uma causa rara de anemia ferropriva

Yuyama EK¹, Oliveira MM¹, Silva LB¹, Oliveira NM¹, Souza HM², Misiara FP¹, Martins FF¹

¹Universidade de Uberaba

²Universidade Federal do Triângulo Mineiro

A anemia ferropriva permanece como uma das deficiências nutricionais mais prevalentes no mundo. Apesar de a dieta ser o principal fator desencadeante, perdas sanguíneas crônicas e infecções parasitárias desempenham um papel importante no contexto da doença nos países tropicais. Em vista disso, este trabalho tem como objetivo apresentar o relato de caso de uma causa incomum de anemia, a doença de Whipple, uma doença bacteriana rara, de caráter multissistêmico e crônica, provocada pelo bacilo Gram negativo, *Tropheryma whipplei*. A forma clássica inicia-se com quadro de artrite recorrente, seguida por perda de peso, diarreia, anemia e sintomas neurológicos. Trata-se de um caso de uma paciente de 68 anos, viúva, que relatava perda ponderal de 18 Kg em três meses, associada à hiporexia, astenia, fraqueza muscular, dificuldade de marcha, lentidão de movimentos, tremores em mãos e região facial, dor abdominal tipo cólica, concomitante com distensão abdominal e diarreia pastosa 3 vezes por dia, sem sangue. Apresentava há vários meses quadro de artralgia sem artrite em tornozelos, joelhos e articulações interfalangeanas com dificuldade de fechar a mão esquerda, de caráter migratório. Como antecedentes pessoais, era portadora de Doença de Chagas, forma indeterminada, negava uso de medicações de uso crônico. Como história alimentar, apresentava uma dieta regular evoluindo nos últimos três meses com hiporexia. No exame neurológico apresentava humor deprimido, um pouco confusa, com respostas lentificadas, olhar fixo, marcha atáxica e movimentos involuntários faciais, semelhantes a mioclonias. Nos exames coletados na admissão, em abril de 2012, apresentava-se com anemia ferropriva (Hemácias: 3,6 milhões, hemoglobina: 7,9, hematócrito: 24,6, volume corpuscular médio: 69,3, RDW: 16%, ferritina: 4,2). Leucograma: 8000 (4/74/10/18/3), plaquetas: 238.000, dosagem de vitamina B12: 232 pg/mL, ácido fólico: 6,9, uréia: 31, creatinina: 0,72, TGP: 17, TGO: 21, Sódio: 137, Potássio: 4,0, Cálcio: 6,9, perfil lipídico: Colesterol total: 105, HDL: 20, LDL: 59, glicemia de jejum: 79, PCR: 33,8, albumina: 2,26, Globulina:

2,52, TSH: 1,94, T4 livre: 1,39 e DHL: 404. Sorologias para hepatite B, C e HIV negativas. Durante a internação foram realizados exames de imagem, incluindo ultrassom de abdome total, endoscopia digestiva alta e colonoscopia sem alterações. A radiografia de tórax evidenciou derrame pleural discreto bilateral e à tomografia computadorizada de abdome apresentou linfonodomegalia generalizada em cavidade peritoneal. Realizada videolaparoscopia com biópsia da paciente revelando material microgranuloso diástase resistente presente no citoplasma de macrófagos espumosos compatível com a doença de Whipple. Após o diagnóstico, foi iniciado o tratamento com sulfametoxazol e trimetoprima 160/400 mg 02 comprimidos por dia, evoluindo com resolução dos sintomas neurológicos, normalização do hemograma e dos níveis de ferritina. A paciente encontra-se há um ano em tratamento e continuará em seguimento ambulatorial por um período de 2 anos.

004

Avaliação de casos clínicos de hemocromatose em pacientes acompanhados na Fújiday Clinic de Fortaleza, Ceará: estudo retrospectivo no período de 2000 a 2012

Oliveira FM¹, Oliveira AC¹, Maciel AS¹, Ponte LM¹, Neto FG¹, Martins JM², Barbosa JP¹, Lima JL¹, Sousa GF¹, Poti VM²

¹Fújiday Clinic Centro de Oncologia e Hematologia

²Universidade Federal do Ceará

A hemocromatose trata-se de uma doença genética comum em seres humanos. Foi descrita pela primeira vez em 1889 por Von Recklinghausen, caracterizada por armazenamento aumentado de ferro e presença de lesões em diversos órgãos, como coração, fígado, pâncreas, hipófise e articulações. A forma hereditária pode ser causada por diferentes mutações sendo a C282Y e H63D as mais frequentes. Em um organismo normal, o conteúdo total de ferro é muito estável, correspondendo a cerca de 4 a 5 gramas. Contudo, nos pacientes assintomáticos com hemocromatose hereditária, os estoques de metal variam entre 20 a 40 gramas. É uma doença raramente diagnosticada antes dos 20 anos, pois os estoques de ferro se encontram baixos, estando a maioria dos pacientes sintomáticos entre os 40 a 50 anos de idade. Pacientes com este diagnóstico estabelecido devem ser tratados com flebotomia para obtenção de depleção do ferro do organismo. Em seguida, permanece com flebotomia de manutenção. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi relatar a frequência dos casos de hemocromatose com mutações nos genes C282Y, H63D e S65C, bem como, ausência de mutação e revisão da literatura com especial atenção para a associação de hemocromatose com Diabetes Mellitus, Hipertensão Arterial Sistêmica e Doença Cardíaca. **Conclusão:** Os resultados do estudo determinaram que o diagnóstico precoce da Hemocromatose Hereditária e a pronta instituição do tratamento foram capazes de prevenir o aparecimento de complicações orgânicas graves, conferindo aos pacientes com HH sobrevida semelhante à dos indivíduos da população geral.

005

Deficiência de ferro em gestantes da região agreste do Rio Grande do Norte-RN

Freire XA¹, Mendona AE¹, Torres GV¹, Oliveira VL¹, Maciel TD¹, Amorim IG¹, Vasconcelos QL¹, Oliveira IC¹, Medeiros RA¹

¹Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Introdução: Entre as deficiências nutricionais mais comumente observadas no período gestacional, destaca-se a anemia ferropriva, não só pela frequência com que se manifesta, mas pelos efeitos deletérios provenientes da baixa concentração de hemoglobina no sangue. As

concentrações de hemoglobina e hematócrito são os índices mais utilizados na verificação da presença de anemia, sendo considerados reflexos do estoque de ferro no organismo. Quando essas concentrações estão abaixo do normal, a anemia é prejudicial para a mãe, bem como para o conceito. **Objetivo:** Caracterizar a população de gestantes em acompanhamento pré-natal na rede básica de saúde quanto à deficiência de ferro. **Métodos:** Pesquisa descritiva e quantitativa, desenvolvida no município de Nísia Floresta, agreste do estado do Rio Grande do Norte, no período de tempo de 2011 a 2012. A amostra foi composta por 26 gestantes, com idade entre 13 a 42 anos, que iniciaram o pré-natal regular, em 1 dos 10 posto de saúde do município de Nísia Floresta. Os dados foram coletados sobre levantamento dos prontuários onde foram analisados os resultados de exames em dois momentos: no segundo trimestre antes do uso de sulfato ferroso e terceiro trimestre de gestação após o uso do micronutriente. Os dados coletados foram digitalizados e analisados por meio da estatística descritiva. **Resultados:** 42% tinham idade entre 21 a 30 anos, 40% com idade entre 13 a 20 anos e 18% entre 31 a 42 anos, com média de 24,9 anos. Na análise do segundo semestre, 92% apresentaram os padrões de hemoglobina dentro da normalidade (Hb > 11,5g/ml) e 50% das gestantes apresentaram um hematócrito ≤ 34%. No terceiro trimestre, 100% das gestantes apresentaram hematócrito > 34 e 96% com padrões de hemoglobina na normalidade. **Conclusão:** A importância do planejamento familiar e do pré-natal realizado corretamente fornece benefícios para o binômio mãe/filho. A solicitação dos exames de rotina para gestante possibilita o profissional a ter acesso às condições fisiológicas das pacientes, permitindo um tratamento preventivo ao longo de toda a gestação. O uso do sulfato ferroso é método preventivo, para diversas complicações no pré-natal, parto e puerperio, como, baixo peso ao nascer e prematuridade. Além da prevenção, deve ser estimulada uma dieta rica em ferro, ácido ascórbico (vitamina C) e de baixa caloria, suplementação férrica para melhorar o estado nutricional e aumentar a resistência à infecções.

006

Prevalência de anemia por deficiência de ferro no idoso no Brasil de 2008 a 2012: dados de internamentos hospitalares

Ferreira MT¹, Sousa NR¹, Nogueira RD¹, Otoch RR¹, Oliveira SA¹

¹Universidade Federal do Ceará

Introdução: Na prática médica, as anemias são doenças de constante preocupação, devido à relevância na perda da qualidade de vida dos pacientes afetados, além de estarem, muitas vezes, associadas a outras enfermidades, servindo, também, de diagnóstico diferencial. A anemia por deficiência de ferro é um achado comum em idosos, principalmente naqueles que fazem uso continuado de certos medicamentos, têm uma dieta ou absorção inadequadas de ferro. **Objetivo:** Avaliar a prevalência de Anemia por Deficiência de Ferro em Idosos nos internamentos hospitalares, nos hospitais da rede pública do Brasil durante o período de 2008 a 2012. **Métodos:** Foram colhidos dados do Ministério da Saúde, de 2008 a 2012, sobre internações relativas à Anemia por Deficiência de Ferro nos internamentos hospitalares da rede pública. Dentre esse grupo, foram contabilizados o número de internações relativas à Anemia por Deficiência de Ferro em Idosos. Em seguida, foi calculada a prevalência do número de internamentos por Anemia por Deficiência de Ferro em Idosos em relação ao total de internações por afecções de Anemia por Deficiência de Ferro. **Resultados:** Foram 71052 internações por afecções de anemia por deficiência de ferro em todos hospitais da rede pública no Brasil, de 2008 a 2012, recebendo destaque as Regiões Nordeste (NE) e Sudeste (SE), com, respectivamente, 38,1% e 34,9% desse total. Os Estados de maior prevalência foram São Paulo – SP (17,3%), Minas Gerais – MG (11,2%) e Pernambuco – PE (9,9%). Entre a faixa etária >60 anos, foram 29120 internações no período de 2008 a

2012, correspondendo a 41% do total de internações por Anemia por Deficiência de Ferro. As regiões já citadas lideram o número de internações por tal anemia em idosos (SE, 39,2%; e NE, 34,9% do total), destacando, novamente, os três Estados supracitados: SP (20,3%), MG (12,5%) e PE (9,7%). Em 2008, foram 17098 internações totais dessa natureza, sendo 6630 em idosos (>60 anos), havendo prevalência deste grupo de 38,8%. Em 2009, foram 15288 internações por anemia por deficiência de ferro e 6136 em idosos, correspondendo a 40,1% do total. Em 2010, foram 14262 internações totais e 5947 em idosos, havendo prevalência de 41,7% das internações de casos de anemia por deficiência de ferro. Em 2011, foram 12737 internações por essa anemia e 5326, em idosos, correspondendo a 41,8%. Já em 2012, houve 11667 internações totais e 5081, em idosos, prevalência de 43,6%. **Conclusão:** Os internamentos por Anemia por Deficiência de Ferro em idosos são significativos, logo, medidas de prevenção e tratamento eficaz devem ser implantados, no intuito de melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

007

Estabelecimento de valores de referência para parâmetros avançados do hemograma (PAH) em uma população adulta brasileira

Tomé DA¹, Andreguetto BD¹, Maia GF¹, Araújo FM¹, Mendes RS¹, Castro V¹, Gilberti MF¹, Sonati MF¹, Paula EV¹

¹Universidade Estadual de Campinas

O desenvolvimento de novos contadores hematológicos automatizados permitiu a obtenção de uma série de novos parâmetros analíticos, coletivamente chamados de Parâmetros Avançados do Hemograma (PAH). Entre os PAH, destacam-se a avaliação do grau de maturidade de reticulócitos e de plaquetas, que permitem uma avaliação mais precoce de alterações na eritropoiese e trombocitopoiese respectivamente. Além disso, parâmetros como a contagem de células hematopoéticas progenitoras, contagem de granulócitos imaturos e de hemácias fragmentadas (esquizócitos), apresentam o potencial de refinar as informações fornecidas pelo hemograma completo em contextos como a avaliação de pacientes submetidos a transplantes de células tronco hematopoéticas e anemias microangiopáticas. No entanto, a utilização mais ampla dos PAH ainda esbarra em dificuldades de padronização na prática clínica devido à variabilidade na nomenclatura e metodologia empregadas por diferentes fabricantes de analisadores para geração destes parâmetros. Esta variabilidade gera dois grandes desafios: (1) validação da utilidade prática destes parâmetros na arena clínica, em um contexto em que diferentes analisadores são utilizados por diferentes laboratórios, e (2) disseminação da informação sobre a utilidade destes parâmetros entre os profissionais da saúde. Assim, o objetivo deste estudo foi estabelecer os valores de referência para diversos PAH em uma população brasileira. Cento e setenta e oito voluntários sadios foram avaliados através da realização de um hemograma completo no equipamento Sysmex XE5000, em um hospital universitário, ao longo de 15 dias, sob as mesmas condições utilizadas na rotina do laboratório. Os resultados foram avaliados com o software GraphPad Prism. Entre outros exemplos, os seguintes valores de referência foram obtidos: fração de reticulócitos imaturos: 1,4 – 13%; Hb reticulocitária ou Ret-He: 29-37 pg; fração de plaquetas imaturas ou IPF: 1,1 – 8,0%; volume plaquetário médio: 9,2 – 13 fL; P-LCR ou proporção de megaplaquetas: 18 – 48%. Em um contexto em que a utilidade prática de alguns PAH já foi demonstrada em contextos mais controlados, a determinação de valores de referência confiáveis representa o primeiro passo para a validação desta utilidade em diferentes contextos clínicos em nosso meio.

008

Alterações hematológicas em pacientes portadores de lúpus eritematoso sistêmico

Leão LH¹, Ruiz HT¹, Cadaval RA¹, Martinez JE¹, Cliquet MG¹

¹Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde da PUC-SP

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença inflamatória crônica, autoimune, com predomínio em mulheres. O aparecimento da doença é mais frequente entre 16-55 anos. Entre as queixas mais comumente apresentadas pelos pacientes com LES estão fadiga, mal-estar, anorexia, perda ponderal e febre, artrite não erosiva e lesões de pele. Também se verifica quadros de glomerulonefrite proliferativa difusa, polineuropatias, mielite transversa, mononeurite, convulsões e psicoses. Outro sistema que também pode estar comprometido é o hematológico, sendo as alterações mais comuns anemia; leucopenia (linfopenia e neutropenia); plaquetopenia, elevação do tempo de tromboplastina parcial ativada e elevação da velocidade de hemossedimentação. Avaliamos a presença de alterações hematológicas em pacientes com LES, através da análise de exames pedidos durante um retorno ambulatorial dos pacientes com LES em acompanhamento no Ambulatório de Lúpus do Conjunto Hospitalar de Sorocaba. Os exames pedidos foram: hemograma; reticulócitos; coombs direto; leucograma; ferritina; transferrina; ferro sérico; vitamina B12; ácido fólico; teste de coombs direto; velocidade de hemossedimentação (VHS); tempo de protrombina (TP); tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa). Ao todo, foram analisados 96 pacientes, sendo 84 mulheres (87,5%) e 12 homens (12,5%). A idade média foi de 35,5 anos, tendo como valor mínimo 15 e máximo 71 anos. Com relação à hemoglobina, 19 mulheres (14,2%) apresentaram anemia, sendo 17 casos leves e 2 moderadas. Ao todo, 33,3% eram do tipo microcítica/hipocrômica. Nenhum paciente do sexo masculino apresentou anemia. Apenas 3 pacientes (3,1%) apresentaram neutropenia (todas mulheres). Um caso leve (1000-1500/mm³), um moderado (500-1000/mm³) e outro grave (200-500/mm³). A linfocitopenia, característica do LES foi observada em 10 casos (9 mulheres e 1 homem), (10,4%) com média de 1798/mm³, mínimo de 264/mm³, e máximo de 4140/mm³. Quanto ao VHS, 27(67,5%) mulheres apresentaram valores superiores a 15mm/h e 7(57%) homens, superior à 10mm/h. O Anticorpo antifosfolípide (anticoagulante lúpico), contribui para valores de TTPa elevados. Nos pacientes analisados, 25% do sexo masculino apresentou valores superiores a 1,25 (relação paciente/controle – RPC). No sexo feminino, essa taxa foi de 8,16%. Esse maior porcentagem de mulheres com anemia do que de homens, pode ser explicada tanto pela maior quantidade absoluta do sexo feminino quanto ao fato de as mulheres apresentarem maior perda sanguínea decorrente de seus ciclos menstruais. Quanto ao VHS, esta alteração nas mulheres pode ser explicada pela maior presença de anemia nesse gênero. A superioridade do prolongamento do TTPa no sexo masculino pode ser ocasional e justificada pelo menor número de homens que realizaram esse exame (10) do que de mulheres (49). Observamos frequentes alterações hematológicas nos pacientes com diagnóstico de LES. Consideramos que na presença de alterações hematológicas, deve ser pensado nesta patologia. Para os reumatologistas e nefrologistas, que em geral são os especialistas que cuidam desses pacientes, é importante saber quais são as alterações hematológicas e suas respectivas frequências.

009

Perfil hematológico de pacientes com o diagnóstico de hepatite C na admissão no Ambulatório de Infectologia da FCMS-PUCSP/CHSLucena RV¹, Miralhes PB¹, Ruiz F¹, Cliquet MG¹¹Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde da PUC-SP

O vírus da hepatite C (HCV) possui alta probabilidade de cronicização da doença, com o potencial evolutivo para cirrose e hepatocarcinoma. Este vírus tem uma grande variabilidade de genoma e sua evolução clínica costuma ser assintomática, mas pode apresentar manifestações hepáticas e extra-hepáticas, como alterações hematológicas, malignidades linfoproliferativas e desordens auto-imunes. A plaquetopenia é anormalidade hematológica mais comum que pode ser encontrada em pacientes afetados por doença hepática crônica. Estágios de fibrose crescente também foram associados com maior prevalência de plaquetopenia e a severidade desta também foi associada com o aumento da idade do paciente. Foram analisados os dados demográficos e os exames hematológicos da primeira consulta nos prontuários de 104 pacientes atendidos no Ambulatório de Infectologia da Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde da PUC-SP/Conjunto Hospitalar de Sorocaba (CHS) a partir do ano de 2002. A idade dos pacientes estudados variou de 22 a 84 anos (média=54,05), sendo que 51 (49,04%) deles são homens e 53 (50,96%) são mulheres. Em relação ao perfil hematológico no sexo masculino, houve variação de hemoglobina de 7,8 a 17,9g/dl, com média de 15,07g/dl e mediana de 15,6g/dl. Já no sexo feminino, a alteração de hemoglobina foi de 10,3 a 16,6g/dl, com média de 13,6g/dl e mediana de 13,8g/dl. Foram encontrados seis casos de anemia em homens e nove em mulheres (14,42% do total). A variação de leucócitos foi de 1900 a 15800/mm³, com média de 6105/mm³ e mediana de 5550/mm³. Foram encontrados 24 (23,07%) casos de leucopenia e cinco (4,80%) casos de leucocitose. Foram analisados os eosinófilos de 98 pacientes, sendo a variação de 0 a 3266/mm³, com média de 250,8/mm³ e mediana de 155/mm³. Destes, ocorreram 10 casos de eosinofilia (10,20%). As plaquetas foram analisadas em 100 pacientes, com uma variação de 29000 a 329000/mm³, média de 186879/mm³ e mediana de 182000/mm³. Dos 100 pacientes, 24 (24%) apresentavam-se plaquetopênicos, sendo a média desses 24 pacientes de 108625/mm³ e mediana de 128500/mm³, e variação de 29000 a 148000/mm³. Assim, encontramos uma importante frequência de anemia na população estudada, que ocorreu principalmente nas mulheres (14,42%), o que tem como possíveis explicações o próprio HCV inibindo a medula óssea ou causando esplenomegalia em decorrência da hipertensão portal ou ainda outros mecanismos como perda menstrual, insuficiência renal crônica (achado em um caso), entre outros. Ocorreu uma significativa frequência de leucopenia (23,07%), podendo também ser explicada pela inibição da medula óssea pelo HCV. A eosinofilia foi um achado frequente (10,20%), sendo que aparece na literatura a hepatite C como uma das causas a ser pesquisada nos achados de eosinofilia. A plaquetopenia foi encontrada em 24% dos pacientes estudados, que é a alteração hematológica mais comum em pacientes com hepatite C. Os mecanismos propostos para a indução plaquetopenia na infecção crônica pelo HCV invocam o envolvimento direto do HCV e podem incluir a infecção direta da linhagem megacariocítica/plaquetária pelo HCV levando à subprodução de plaquetas e/ou desregulação do sistema imune do hospedeiro causada pelo HCV, levando à destruição de plaquetas. O hiperesplenismo decorrente da hipertensão portal pode também ser considerado uma outra possível causa.

010

Avaliação da frequência, investigação de causas e realização de tratamento da anemia em candidatas à doação de sangue visando ao retorno destas para doaçãoCamacho E¹, Ferraz RA¹, Cliquet MG¹¹Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde da PUC-SP

A anemia é uma das desordens hematológicas mais comuns e é definida como a redução do nível de hemoglobina (Hb). A Organização Mundial da Saúde (OMS) definiu os alvos de normalidade da Hb em adultos como 12g/dL para mulheres e 13g/dL para homens. A causa mais comum de anemia em todo o mundo é a deficiência de ferro que leva à queda dos valores de hemoglobina e hematócrito, comprometendo a oxigenação tecidual, instalando-se então a sintomatologia. Nas mulheres, a prevalência da deficiência de ferro é maior entre 20 e 49 anos, sendo associada à ocorrência de menorrágia. A doação de sangue acaba por reduzir a quantidade de ferro do organismo, podendo ser causa importante da deficiência de ferro em doadores, principalmente nos indivíduos que fazem doação várias vezes por ano e nas mulheres que menstruam. A triagem de candidatas à doação exclui hematócritos abaixo de 38% e Hb < 12,5g/dl. O presente estudo buscou avaliar as candidatas à doação de sangue no Hemonúcleo de Sorocaba que foram recusadas por apresentarem hematócrito menor que 38%, identificando as anêmicas e realizando o manejo adequado. Entre os meses de Agosto de 2012 e Abril de 2013, apresentaram-se no Hemonúcleo de Sorocaba 13200 candidatos à doação de sangue, sendo que 7759 (58,8%) eram mulheres. Dessas, 997 (12,8%) estavam inaptas à doação, sendo que o motivo da inaptidão principal, em 216 (21,6%) mulheres, foi a presença de hematócrito < 38%. Com relação à população total de mulheres, 2,78% se apresentaram com hematócrito abaixo de 38%. Foi feita tentativa de contato via telefone com todas as 216 candidatas recusadas, sendo que foram marcadas consultas no ambulatório de anemias para 54 delas (25%). Houve dificuldade para a marcação de consultas, principalmente por problemas no contato por telefone. Das 54 pacientes marcadas, 32 (59%) compareceram às consultas, sendo que todas disseram que voltariam a doar quando o valor do hematócrito fosse corrigido. Das 21 pacientes que colheram os exames (65% das que compareceram à primeira consulta), 13 delas (40,6%) apresentaram hematócrito < 38% e apenas seis (18,75%) apresentaram hemoglobina < 12g/dL, caracterizando anemia, sendo tratadas com sulfato ferroso. É muito discutível o papel da taxa de hematócrito na triagem das doadoras de sangue. Embora seja o método mais rápido e de menor custo para separar as candidatas aptas das inaptas para a doação, perde-se muitas doadoras com taxas de hemoglobina que permitiriam tranquilamente a doação de sangue. Das 216 pacientes recusadas por hematócrito baixo, 49% possuíam hematócrito igual ou superior a 37%. Extrapolando o percentual de recusa de cerca de 3% das mulheres para as cerca de 1.500.000 de doações de mulheres realizadas por ano no Brasil (DATASUS), encontramos um número expressivo de cerca de 50.000-60.000 candidatas recusadas por ano. Destas, apenas cerca de 40% realmente teriam hematócrito abaixo de 38% e deveriam ter sido recusadas. Ou seja, cerca de 30.000 doações são perdidas por ano pelo uso de um método não preciso, com margem de erro conhecida de cerca de 3%. Todas as 21 pacientes que compareceram em todas as etapas do estudo, incluindo as seis portadoras de anemia ferropriva que foram tratadas, foram reencaminhadas à doação de sangue.

011

Deficiência de cobalamina como fator contribuinte para síndrome coronariana aguda: relato de caso

Cavalcanti LH¹, Albuquerque LM¹, Cavalcanti NS¹, Botelho LF¹, Ferreira CF¹, Queiroz MY¹, Pita DF², Dourado AC¹, Amorim KD¹, Monteiro PJ¹

¹Universidade Federal da Paraíba

²Faculdade Ciências Médicas da Paraíba

Introdução: As doenças cardio e cerebrovasculares estão entre as maiores causas de mortalidade no mundo. Atenção crescente tem sido dada à hiperhomocisteinemia como fator etiológico-metabólico para a doença vascular prematura e trombose, que pode resultar de várias condições, incluindo defeitos congênitos nas enzimas envolvidas no metabolismo da homocisteína e deficiências de vitaminas B6, B12 e ácido fólico. **Relato de Caso:** A.M., sexo masculino, 64 anos, hipertensão, foi recebido na emergência hospitalar apresentando sudorese e fortes dores em região precordial, com irradiação para epigastro e duração de 30 minutos, sugestivos de síndrome coronariana aguda. Ao exame físico, encontrava-se bastante hipocorado (3+/4+), PA=140x90mmHg, FC=120bpm, ACV=Sopro sistólico pancardiaco (2+/6+), AR=Pulmões limpos, IMC=25. Realizou ECG e dosagem de enzimas miocárdicas, que levaram ao diagnóstico de síndrome coronariana aguda sem supra de ST. Na ocasião, recebeu suporte clínico inicial e realizou cineangiogramia, que mostrou obstrução triarterial. Hemograma revelou Hb:4,7g/dL; VCM:139fl; RDW:17,3%; Leucócitos totais:1.800/mm³ e plaquetas:125.000/mm³, sendo necessário transfusão de concentrados de hemácias durante a evolução. Relatou história de astenia, dispnéia aos esforços e palidez progressivas de evolução insidiosa há 4 anos. Já havia sido transfundido em outras ocasiões. Apresentou níveis extremamente elevados de homocisteinemia (114,37 micromol/L), ácido metil malônico discretamente aumentado (0,5 micromol/L), hipergastrinemia (1570pg/mL), baixos níveis de vitamina B12 (70pg/mL) e ácido fólico normal (20,9ng/mL). Sorologia anticélula parietal e antifatorintrínseco negativa. Mutações da metiltetraidrofolatoredutase e estudo molecular do polimorfismo do gene da CBS negativos. Após receber o suporte clínico e as hemotransfusões no hospital, mesmo sem realizar nenhum procedimento intervencionista, o paciente evoluiu assintomático, recebendo alta. Foi tratado com reposição de vitamina B12 intramuscular, com posterior normalização dos níveis de homocisteína plasmática. Há 6 meses, encontra-se em uso de mononitrato de isossorbida, metoprolol, AAS e trimetazidina, permanecendo assintomático desde então. **Discussão:** Ao avaliarmos o paciente em questão, notamos que ele apresentou infarto sem supra de ST, em vigência de anemia intensa, e mesmo sem nenhuma terapia intervencionista, permaneceu assintomático após a reposição sanguínea. Tal fato, sugere que o quadro hematológico pode ter atuado como fator contribuinte para a síndrome coronariana aguda. A intensa anemia macrocítica apresentada pode ser explicada por uma entidade recentemente descrita como síndrome da malabsorção da cobalamina alimentar, caracterizada por deficiência de cobalamina, na presença de uma oferta dietética adequada e teste de Schilling normal, descartando anemia perniciosa ou má absorção gastrointestinal. Está bem determinado que a suplementação vitamínica é eficaz em reduzir os níveis plasmáticos de homocisteína, mas se essa intervenção, sozinha, é capaz de reduzir o risco cardiovascular ainda não foi estabelecido. **Conclusão:** Destaca-se a importância do controle de quadros anêmicos em pacientes com deficiência de cobalamina e isquemia miocárdica, já que as alterações hemodinâmicas e de oxigenação tecidual podem ser deletérias tanto de forma aguda, como crônica nestes pacientes.

012

Perfil hematimétrico dos pacientes com anemia perniciosa assistidos em hospital de atenção terciária de Fortaleza – Ceará

Silva HF¹, Barbosa ST², Farias SD², Rocha AC¹, Oliveira DS¹, Correia JW²

¹Universidade Estadual do Ceará

²Hospital Geral Cesar Cals de Oliveira

Introdução: A anemia megaloblástica (AM) é o termo utilizado para descrever um grupo de doenças que cursa com alterações morfológicas similares na medula óssea decorrente da deficiência orgânica de vitamina B12, ou cianocobalamina, e/ou ácido fólico. A carência dessas substâncias interfere na síntese do ácido desoxirribonucleico (DNA), mais precisamente a síntese de timidina, um dos nucleotídeos que compõem o DNA, levando a um comprometimento do crescimento e divisão celular. A principal causa de AM em nosso meio, de acordo com a literatura, é a anemia perniciosa (AP). Processos ligados à autoimunidade levam à diminuição da síntese/liberação de fator intrínseco e culminam em um processo de má absorção de vitamina B12. **Métodos:** Estudo epidemiológico do tipo transversal, de caráter analítico, realizado através da revisão de prontuários de pacientes assistidos no Hospital Geral César Cals de Oliveira. **Resultados:** A população final do estudo foi composta por 15 pacientes, sendo nove mulheres com idade média de 42,30 ± 15,68 anos e; seis homens com idade média de 48,16 ± 19,57 anos. Do total, 50% tinham menos de 40 anos de idade no momento do diagnóstico, contrastando com o perfil de mulher acima de 50 anos descrito na literatura. Todos apresentaram positividade para autoanticorpos anticélulas parietais e/ou para antifator intrínseco. Observou-se que a média dos níveis de hemoglobina foi de 8,19 ± 3,21 e de hematócrito foi de 24,97 ± 10,17. A média dos VCMs foi 108,11 ± 8,87 com RDW médio de 22,00 % ± 5,58. Quatro (20%) pacientes apresentavam pancitopenia no momento do diagnóstico e seis (37,5%) bicitopenia. **Conclusão:** É importante ressaltar o fato de nossa casuística apresentar uma idade média de apresentação no diagnóstico de AP inferior à da literatura internacional, o que pode demonstrar algum fator ainda não descrito na realidade brasileira como preponderante nesses casos. Os dados demonstram que, apesar do termo AP, os efeitos da carência de vitamina B12 transcendem a linhagem eritrocitária, podendo cursar com alterações nas três séries hematopoéticas.

013

Avaliação da associação entre anemia e quedas em idosos

Moraes NS¹, Gagliardi AM¹, Cendoroglo MS¹, Cruz EC¹, Ishikawa DM¹, Hirai MR¹, Gomes JO¹, Flora R¹, Carneiro TX¹, Figueiredo MS¹

¹Universidade Federal de São Paulo

Introdução: Quedas são eventos comuns em idosos e o seu risco aumenta com a idade. Podem ocasionar importantes consequências, incluindo trauma e fratura, levando à perda da funcionalidade e independência, piora da morbidade, aumento da mortalidade, além de onerar o sistema de saúde. Estudos recentes sugerem que anemia, alteração hematológica comumente observada em idosos, pode ser um fator de risco independente para quedas. **Objetivo:** Identificar se existe associação entre a presença de anemia e a ocorrência de quedas em idosos. **Métodos:** Foi realizado estudo transversal através da análise de dados de pacientes com 65 anos ou mais que passaram na primeira consulta no ambulatório de geriatria da Escola Paulista de Medicina, UNIFESP, no período de 2007 a 2012. Foram avaliados a ocorrência de quedas no último ano, grau de dependência funcional e os níveis de hemoglobina. Foi utilizada análise de regressão

logística univariada para avaliar se anemia apresenta associação com quedas. Análise estatística foi realizada através do SPSS versão 1.8. **Resultados:** Foram avaliados 391 pacientes, idade mediana 73 anos, com mediana de Hb de 13,6. Destes, 143 (36,5%) apresentaram queda no último ano e 59 (15%) apresentavam níveis de hemoglobina abaixo de 12. A análise de regressão logística identificou associação entre anemia e quedas (OR 0.8691, IC:0.7572-0.9976). **Discussão:** O achado de associação entre anemia e queda confirma achado de outros autores. Anemia foi identificada como fator de risco para quedas recorrentes em residentes de instituições de longa permanência e durante a hospitalização em idosos ambulatoriais. Discute-se, entretanto, se anemia é marcador e não mediador de desfechos adversos. **Conclusão:** No presente estudo, níveis baixos de hemoglobina apresentaram associação estatisticamente significativa com a ocorrência de quedas. Mais estudos são necessários para melhor avaliação desta relação e determinar se o risco de quedas pode ser modificado pela correção da anemia em idosos.

014

Anemia e síndrome de fragilidade em idosos

Moraes NS¹, Gagliardi AM¹, Cendoroglo MS¹, Cruz EC¹, Ishikawa DM¹, Flora R¹, Hirai MR¹, Gomes JO¹, Mecabo G¹, Figueiredo MS¹

¹Universidade Federal de São Paulo

Introdução: Embora baixos níveis de hemoglobina sejam encontrados com frequência em idosos, a anemia não é considerada uma consequência normal do envelhecimento, sendo raramente observada em idosos saudáveis. Estudos epidemiológicos tem associado a presença de anemia a desfechos clínicos importantes, como declínio funcional, quedas, comprometimento cognitivo, aumento do risco de mortalidade, maior gravidade das comorbidades e hospitalização. A fragilidade é uma síndrome geriátrica, que se caracteriza por um estado clínico de vulnerabilidade a eventos adversos, incapacidade e morte. Sua fisiopatologia ainda não está bem estabelecida, porém está associada a um estado inflamatório crônico. **Objetivo:** Avaliar correlação entre a presença de anemia e a síndrome de fragilidade. **Métodos:** Foi realizado estudo transversal, incluindo pacientes com 60 anos ou mais que passaram na primeira consulta no ambulatório de geriatria da Escola Paulista de Medicina /UNIFESP no período de janeiro 2010 a dezembro 2012. Todos os pacientes foram investigados quanto aos critérios de fragilidade (presença de perda de peso não intencional, sensação de fadiga ou exaustão; força de preensão palmar; velocidade da marcha; nível de atividade física) e classificados segundo a definição de Fried e cols. (1997). Foi utilizada análise de regressão logística para avaliar a relação entre síndrome de fragilidade e os níveis de hemoglobina. **Resultados:** Foram avaliados 152 idosos, idade mediana 73 anos. A mediana de Hb do grupo total de pacientes foi 13,4. Nos indivíduos avaliados, 31 (20,3%) preencheram critérios para síndrome de fragilidade e 18 (11,8%) apresentavam níveis de hemoglobina abaixo de 12. Na análise de regressão logística não houve associação entre baixos níveis de hemoglobina e síndrome da fragilidade (OR 0.8062 IC: 0.6066 - 1.0714). **Discussão:** O tema fragilidade tem sido muito discutido em geriatria. Embora esta síndrome seja associada a um estado inflamatório crônico, muitos aspectos de sua fisiopatologia ainda permanecem indefinidos e são escassos os estudos que avaliam sua associação com anemia. Estudo de Chavez et al. (2005) observou prevalência de fragilidade em 14% de 670 idosos (entre 70 e 80 anos) avaliadas. Diferentemente do que foi observado no presente estudo, o risco de fragilidade foi maior com menores níveis de hemoglobina e anemia leve foi independentemente associada a fragilidade. **Conclusão:** No presente estudo, baixos níveis de hemoglobina não apresentaram associação estatisticamente significativa com síndrome de fragilidade em idosos. Mais estudos são necessários para maior compreensão da síndrome da fragilidade e de sua associação com anemia.

DOENÇAS DA SÉRIE VERMELHA: ANEMIAS HEMOLÍTICAS

015

Síndrome hemolítico-urêmica atípica induzida por tacrolimus

Roberti MD^{1,2}, Morena AT¹, Matozinho H¹, Amorelli MC²

¹Universidade Federal de Goiás

²Hemocentro de Goiás

Introdução: A Síndrome Hemolítico-Urêmica Atípica (SHUa) induzida por tacrolimus é uma condição rara caracterizada por Microangiopatia Trombótica (MTA) com trombocitopenia, anemia hemolítica e insuficiência renal. São considerados casos de Síndrome Hemolítico-Urêmica Atípica (SHUa) todos aqueles que não ocorrem devido à toxina Shiga, produzida por *Escherichia coli*. Esses casos podem ser classificados em SHUa primária ou em SHUa secundária. A SHUa primária se deve à desregulação do sistema complemento causada por alteração genética ou por auto-anticorpos contra o fator H. A SHUa secundária está relacionada a vários fatores, dentre eles o uso de inibidores da calcineurina como o tacrolimus. **Relato de Caso:** Paciente de 58 anos, sexo masculino, com história de transplante renal há 14 anos, em uso de Tacrolimus. Referia perda progressiva do enxerto nos últimos 6 meses. Apresentava pancitopenia (Hb 5,91 g/dL, VCM 94 fl, RDW 17,5%, Plaquetas 84.000/mm³, Leucócitos 2.200/mm³) e sorologia reagente para citomegalovírus. Após o tratamento com Ganciclovir persistiu com bicitopenia (Hb 6,6 g/dL, Plaquetas 34.000/mm³, Leucócitos 6.100/mm³). Os exames mostraram reticulócitos 8%, esquizócitos em esfregaço sanguíneo, ferritina 2.863 ng/mL, haptoglobina < 5,8 g/L e desidrogenase láctica 1.174 U/L. ADAMTS13 com resultado de 67%, Coombs direto negativo e ausência de clone HPN. Feito o diagnóstico de SHUa. O paciente recebeu concentrado de hemácias e infusão de plasma três vezes por semana com incremento da plaquetopenia e melhora da anemia. Aguardando a utilização de Eculizumab. **Discussão:** Tacrolimus é uma droga imunossupressora utilizada após transplante renal e que permite a diminuição do uso de corticosteroides. O desenvolvimento de SHUa secundária induzida pelo uso de Tacrolimus é raro. A síndrome se desenvolve porque o Tacrolimus atua como um constritor glomerular reduzindo a taxa de filtração glomerular e aumentando a resistência vascular renal. Como consequência, há isquemia e lesão endotelial, com consequente inflamação e agregação plaquetária, levando à formação de trombos e deposição de fibrina. Trata-se de um caso pouco frequente, assim, diante da suspeita de MTA e SHUa induzida por tacrolimus, deve-se investigar os seguintes diagnósticos diferenciais: PTT, SHUa primária, anemia hemolítica autoimune (AHIA), e HPN. Feito o diagnóstico de SHUa, o tratamento estabelecido é plasmaferese e infusão de plasma, e recentemente foi aprovado o uso de eculizumab. Os benefícios do uso dessa nova medicação são: evitar complicações relacionadas a cateter venoso central, reduzir o tempo de internação e os períodos de diálise, obter melhora da função renal, e proporcionar melhora na qualidade de vida dos pacientes. **Conclusão:** Apesar de a SHUa induzida por Tacrolimus ser uma doença rara, ela deve ser sempre considerada em pacientes em uso dessa medicação. Dado a gravidade desta afecção, é importante que todos os pacientes com diagnóstico de hemólise não imune e alterações renais sejam submetidos aos exames confirmatórios para a instituição precoce da terapêutica adequada. O uso de Eculizumab para tratamento dessa enfermidade é ainda recente, porém já demonstra benefícios em relação ao tratamento de plasmaferese e infusão de plasma. Poucos casos semelhantes foram relatados na literatura e acredita-se que esse caso possa contribuir para somar às futuras evidências científicas sobre o tema.

016

Importância da utilização de métodos confirmatórios para o diagnóstico seguro de hemoglobinopatias

Tavares CF¹, Guimarães JS², Souza AM²¹Universidade de Franca²Universidade de São Paulo

Introdução: As hemoglobinopatias são doenças hereditárias, classificadas com base na presença de hemoglobinas estruturalmente anormais, como as hemoglobinas S e C, e/ou na deficiência de uma ou mais cadeias globínicas, as talassemias. Estas patologias estão incluídas dentre as doenças genéticas mais frequentes, com prevalência estimada em 7% da população mundial. No Brasil, as hemoglobinopatias estão relacionadas à diversidade das origens raciais e ao grau de miscigenação, podendo ter caráter regional. As talassemias mais comuns são as α e β -talassemias. Estudos recentes mostram que a α -talassemia afeta 5% da população mundial, sendo que, até pouco tempo, a frequência era subestimada devido aos métodos diagnósticos inadequados. No Brasil, é relatada uma frequência de 10-12%, em algumas regiões, e de até 25%, em grupos específicos. Mais de 95% dos casos de α -talassemia são deletoriais, sendo mais frequentes as deleções $-\alpha^{3,7}$ e $-\alpha^{4,2}$. O diagnóstico laboratorial da α -talassemia inclui: visualização de corpos de Hb H por coloração supravital; identificação da Hb H por eletroforese de hemoglobina e/ou cromatografia líquida de alta pressão (HPLC); detecção da deleção por reação em cadeia da polimerase (PCR). A análise conjunta das metodologias é o mais indicado, visto que os métodos analisados isoladamente apresentam limitações. O objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência de hemoglobinopatias em crianças de escolas públicas de Ribeirão Preto-SP, utilizando testes convencionais e confirmatórios, como eletroforese de hemoglobina, quantificação das frações de hemoglobina por HPLC e análise da deleção $-\alpha^{3,7}$, por biologia molecular. **Métodos:** Participaram do estudo 427 crianças (6 a 9 anos de idade, ambos os sexos) de escolas estaduais e municipais de Ribeirão Preto-SP. Foi realizado: eletroforese de hemoglobina em acetato de celulose, em pH alcalino, quantificação das frações de hemoglobina por HPLC pelo sistema automatizado Variant II Bio-Rad® (kit "β-talassemia Short Program) e PCR para detecção da deleção $-\alpha^{3,7}$, com utilização de *primers* específicos: 5'CCA TGC CTG GCA CGT TTG CTG AGG3'(C9); 5'GAT GCA CCC ACT GGA CTC CT3'(C10). Para confirmação de diagnósticos inconclusivos realizou-se quantificação das frações de hemoglobina de 11 pais e/ou irmãos, por HPLC. **Resultados:** Os resultados das eletroforeses de hemoglobina e do HPLC apontaram presença de hemoglobinopatias em 30 (7%) das 427 crianças estudadas. A análise dos 11 pais e/ou irmãos das crianças com suspeita de S/β-talassemia indicou a presença apenas da Hb AS. Após pesquisa da deleção $-\alpha^{3,7}$, em 207 participantes, verificou-se que 26 (12,6%) crianças eram portadoras da deleção, sendo 24 heterozigotas e 2 homozigotas. Assim, detectamos a ocorrência de hemoglobinopatias em 54 crianças (12,6%). **Conclusão:** Este estudo aponta elevada ocorrência de hemoglobinopatias em Ribeirão Preto, possivelmente devido à diversidade de origens raciais. Concluímos que para detecção das hemoglobinopatias é necessário utilização de métodos confirmatórios, como análise molecular e avaliação dos familiares nos casos duvidosos. O diagnóstico seguro é essencial para realização do aconselhamento genético dos portadores destas patologias.

017

Polimorfismos genéticos da haptoglobina e mieloperoxidase (-g463a) em pacientes falcêmicos do Distrito Federal com e sem sobrecarga de ferro

Barbosa LC¹, Miranda-Vilela AL², Hiragi CO², Ribeiro IF², Daldegan MB³, Grisolia CK², Santos-Neto LL¹¹Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília/DF, Brasil²Instituto de Biologia, Departamento de Genética e Morfologia, Universidade de Brasília, Brasília/DF, Brasil³Núcleo de Hematologia e Hemoterapia, Hospital de Base do Distrito Federal (HBDF), Brasília/DF, Brasil

Apesar de ser fundamental para a homeostase celular, o íon ferro pode ser danoso ao organismo quando se encontra livre, pois sua capacidade de aceitar ou doar elétrons permite catalisar formação de espécies reativas de oxigênio (ERO). Normalmente o sequestro de ferro em complexos com proteínas minimiza esta reação; em pacientes politransfundidos, a geração de ERO é inevitável. A haptoglobina (Hp) é uma glicoproteína que se liga à hemoglobina (Hb) livre formando o complexo Hp-Hb, essencial para a remoção de Hb do plasma, tendo papel crucial contra o estresse oxidativo induzido por Hb. Outra proteína relacionada ao estresse oxidativo é a mieloperoxidase (MPO), enzima lisossômica com atividade microbicida presente em leucócitos. Visto que estas proteínas apresentam polimorfismo genético que pode influenciar na proteção contra estresse oxidativo, o objetivo do presente trabalho foi investigar a frequência dos polimorfismos nos genes da Hp e da MPO (-G463A) em pacientes falcêmicos com e sem sobrecarga de ferro atendidos no Hospital de Base do Distrito Federal (HBDF), visando avaliar possível associação entre esses polimorfismos e a variabilidade clínica, resposta aos tratamentos e prognóstico. Realizou-se um estudo transversal com amostra composta por 78 pacientes com fenótipo HbSS, sendo os dados obtidos através de exames laboratoriais, questionário, prontuários e análises dos polimorfismos. Correlação positiva foi encontrada entre os genótipos de Hp e valores de ferritina ($p=0,035$; coeficiente de correlação de Spearman= $0,239$), tratamento com hidroxiureia ($p=0,031$; coeficiente de contingência= $0,369$), internação por acidente vascular-cerebral (AVC) ($p=0,023$; coeficiente de contingência= $0,379$) e sequelas por AVC ($p=0,031$; coeficiente de contingência= $0,368$), e entre os genótipos de MPO e número de internações no último ano ($p=0,049$; coeficiente de contingência= $0,332$) e esplenectomia ($p=0,024$; coeficiente de contingência= $0,297$). Associação significativa entre genótipos específicos da Hp e comorbidades também foram encontradas. Desvio significativo no equilíbrio de Hardy-Weinberg, compatível com deficiência de heterozigotos, foi observado para o polimorfismo da Hp. Os resultados do Odds Ratio sugeriram a possibilidade de que o aumento de chances de hospitalização por AVC (OR= 6,346; IC 95%= 1,56–25,79; $p=0,005$) e de sequelas por AVC (OR= 6,556; IC 95%= 1,578–27,237; $p=0,005$) poderiam estar associados à menor frequência observada de 1S-2 em relação ao esperado. Nas análises de interações entre os polimorfismos, efeitos significativos foram mostrados no grupo sem sobrecarga para o polimorfismo de Hp nos valores de proteína C-reativa ultra-sensível (PCR-us) ($p=0,000$) e número de transfusões ($p=0,018$), e para MPO ($p=0,000$) e a interação Hp/MPO ($p=0,000$) nos valores de PCR-us. Diferenças significativas foram observadas entre os genótipos MPO AA e GG e entre AA e GA ($p=0,000$ para ambos). Nossos resultados corroboram outros indicando que existem diferenças entre os subtipos do alelo Hp¹. Também ressaltam a importância do presente estudo para um melhor entendimento do significado biológico do polimorfismo de Hp e MPO na variabilidade clínica e resposta aos tratamentos de indivíduos falcêmicos na nossa população, e sugerem que a homozigose MPO AA poderia potencializar os efeitos da asplenia nesses indivíduos.

018

Uma plataforma digital na doença falciforme

Queiroz AM¹, Santos VP¹, Lobo C¹, Araújo MA¹¹Hemorio (Instituto Estadual de Hematologia Arthur Siqueira Cavalcanti)

O blog Melhor é Viver Sem Dor (melhoreviversemador.com.br), fruto de uma iniciativa do grupo Hospital Sem Dor, é uma plataforma para divulgar projetos, notícias e produtos cuja venda é revertida para o programa Dor Social. O blog também é um importante espaço para pacientes tirarem dúvidas e deixarem depoimentos sobre o trabalho dos profissionais que tratam da Doença Falciforme no Hemorio, além de relatar suas experiências pessoais e trocar informações com outros pacientes. Ainda em sua fase inicial, até o presente momento (29/07/2013), o blog já foi acessado por mais de 1800 pacientes, familiares e profissionais da área de saúde. Paralelamente ao blog, o grupo Hospital Sem Dor também é responsável pelo Informativo Viver Sem Dor, que é um jornal impresso trimestralmente distribuído e exposto nos murais institucionais do Hemorio, levando informações sobre a doença falciforme para os pacientes. O grupo multidisciplinar Hospital Sem Dor é formado por médicos, enfermeiros, nutricionistas, fisioterapeutas, assistentes sociais, psicólogos e profissionais de comunicação, com o objetivo de humanizar o tratamento da Doença Falciforme no Hemorio.

019

Síndrome torácica aguda em gestantes com doença falciforme: uma causa importante de *near miss* e de mortalidade materna

Souza AC¹, Pinto AF¹, Januário MC^{2,3}, Cardoso PS⁴¹Faculdade de Ciências Médicas de Minas Gerais²Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico³Centro de Educação e Apoio para Hemoglobinopatias⁴Fundação Hemominas

A doença falciforme (DF) é a doença hereditária mais frequente na população mundial. Em mulheres grávidas, a doença falciforme determina alterações na fisiopatologia do organismo, podendo levar a aumento de complicações maternas graves, como *near miss* e até ao óbito materno. Há aumento das crises vaso-oclusivas, infecções e síndrome torácica aguda, principalmente no terceiro trimestre e puerpério. A Síndrome Torácica Aguda (STA) é a segunda maior causa de hospitalização entre os pacientes com doença falciforme (DF) e eventos repetidos podem predispor ao desenvolvimento de doença pulmonar crônica e morte precoce. Relatamos dois casos clínicos de gestantes com doença falciforme, hemoglobinopatia SC, que ocorreram no final do terceiro trimestre. O primeiro caso apresentou sintomas da STA com melhora clínica após diagnóstico precoce e tratamento instituído com antibioticoterapia de amplo espectro e exsanguíneo-transfusão parcial. O segundo caso, a gestante iniciou com crise álgica e evoluiu rapidamente para insuficiência respiratória aguda, permanecendo um longo período em unidade de terapia intensiva, com recuperação clínica posteriormente. A síndrome torácica aguda (STA) é definida como o desenvolvimento de um novo infiltrado pulmonar ao exame radiológico do tórax, em pacientes com doença falciforme. Pode ser acompanhada por outros sinais e sintomas como febre, tosse, dor torácica, dispnéia, sendo que atelectasia, derrame pleural e hipoxemia podem estar presentes. A presença de pelo menos um desses fatores define o diagnóstico. A etiopatogenia da STA é atribuída a fatores que propiciem a hipoxemia, favorecendo a falcização das hemácias na circulação pulmonar, como infecções e infarto pulmonar pela vaso-oclusão da medula óssea. O tratamento deverá ser o mais precocemente possível, baseado

em antibioticoterapia de amplo espectro e exsanguíneo-transfusões parciais, principalmente quando o hematócrito estiver acima de 25%, para não aumentar a viscosidade sanguínea. Idealmente, deve-se considerar o diagnóstico precocemente e seguir os cuidados do tratamento, com a participação de equipe multidisciplinar treinada em doença falciforme para diminuirmos a mortalidade materna em gestantes acometidas por essa doença genética.

020

Peroxiredoxinas são diferencialmente expressas em reticulócitos de pacientes beta talassêmicos e com anemia falciforme e podem estar envolvidos na severidade das doenças

Romanello KS¹, Lopes KK¹, Bezerra MA², Domingos I², Hatzlhofer BL², Araújo AS³, Oliveira MA⁴, Netto LE⁵, Costa FF⁶, Malavazi I¹, Cunha AF¹¹Universidade Federal de São Carlos²Universidade Federal de Pernambuco³Fundação Hemope⁴Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho⁵Universidade de São Paulo⁶Universidade Estadual de Campinas

As espécies reativas de oxigênio (EROS) são geradas pela redução incompleta do oxigênio durante processos metabólicos, exposição a agentes externos e como resposta secundária a várias doenças, quando em excesso podem causar danos a tecidos e células. Durante o processo de evolução, as células desenvolveram vários mecanismos antioxidantes. Um desses mecanismos compreende as peroxirredoxinas (PRDXs), que se destacadas pela sua abundância e grande reatividade com seus substratos. Em seres humanos já foram descritas seis diferentes PRDXs localizadas em diferentes compartimentos celulares. Nos eritrócitos, a PRDX2 é terceira proteína mais abundante, indicando um possível papel no desenvolvimento e manutenção destas células. No entanto, existem poucos estudos relacionando estas proteínas com doenças eritróides, especialmente anemias hemolíticas, que apresentam elevados níveis de EROS, como a beta talassemia (BT) e a anemia falciforme (AF). Este estudo avaliou o papel das PRDXs em reticulócitos de pacientes com as doenças descritas acima, comparando com reticulócitos de indivíduos saudáveis, utilizando PCR em tempo real e Western blot. Nossos resultados mostraram que o nível de transcritos e de proteínas de PRDX1 foram aumentados em pacientes BT e diminuídos em pacientes com anemia falciforme AF. As análises de transcrição da PRDX2 não mostraram diferenças em ambas as doenças, contudo na análise de western blot foi observada diminuição desta proteína em pacientes com anemia falciforme, indicando um possível processo de regulação pós-transcricional deste gene nesta doença. Os níveis de transcrição da PRDX5 não apresentaram diferenças em nenhuma das doenças. A PRDX6 mostrou redução dos níveis de RNAm e proteicos em BT e AF. Além de sua atividade de detoxificação de EROS, a PRDX6 atua como fosfolipase A2 a renovação dos fosfolípidios de membrana. A diminuição desta enzima encontrada em ambos os pacientes poderia indicar que o reparo da membrana das células eritróides pode estar prejudicado conduzindo à hemólise observada nestes pacientes. Este é o primeiro estudo relacionando a expressão gênica de peroxirredoxinas nestas anemias hemolíticas. Os resultados podem contribuir para compreender melhor o papel destas proteínas e na identificação de novos alvos que podem ajudar no tratamento destas doenças e melhorar a sobrevida destes pacientes.

021

Avaliação de fatores preditores de estresse oxidativo em pessoas saudáveisOndei LS¹, Teresa FB¹, Bonini-Domingos CR²¹Universidade Estadual de Goiás²Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

A geração de radicais livres e/ou espécies reativas não radicais ocorre em todos os sistemas biológicos e sua produção é um processo natural, uma vez que a oxidação de moléculas faz parte do metabolismo celular. No entanto, essa produção pode ser potencializada em situações de alterações fisiológicas e/ou bioquímicas. Em condições normais, as células possuem enzimas de detoxificação e um sistema antioxidante não enzimático que inclui compostos de origem endógena e adquiridos pela dieta. Nas situações em que ocorre excesso de agentes oxidantes e/ou deficiência do sistema protetor há um desequilíbrio que caracteriza o estresse oxidativo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de fatores como tabagismo, álcool, medicamentos, produtos químicos, bem como da idade e do gênero sobre marcadores de estresse oxidativo, em indivíduos saudáveis. Foram utilizadas 389 amostras de sangue periférico para a avaliação da peroxidação lipídica, por meio da dosagem plasmática das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Destas, 103 foram utilizadas para a análise da capacidade antioxidante segundo a sua equivalência ao Trolox (TEAC). Foi utilizado um questionário para a obtenção dos dados referentes às variáveis preditoras: hábito de fumar (fumante/não fumante), consumo de álcool (sim/não), contato com produto químico (sim/não), uso de medicamentos (sim/não), gênero (masculino/feminino) e idade (agrupada em categorias de 16 a 25, 26 a 35, 36 a 45 e 46 ou mais anos). Não foram encontradas diferenças nos valores de TBARS ($p>0,17$, teste t independente) e de TEAC ($p>0,33$, teste t independente) com relação ao tabagismo, consumo de álcool, contato com produto químico, uso de medicamentos e gênero. No entanto, verificou-se efeito da idade ($p=0,03$, ANOVA complementada por Tukey) sobre os valores de TEAC, com diminuição da capacidade antioxidante em indivíduos mais velhos. O grupo de 16 a 25 anos apresentou valor de TEAC semelhante ao do grupo de 26 a 35 anos ($p=0,20$), mas superior aos dos grupos de 36 a 45 anos e 46 anos ou mais ($p<0,03$). Os valores de TEAC não diferiram entre os demais grupos ($p>0,14$). Desta forma, os resultados obtidos evidenciam que o envelhecimento está relacionado com a instalação do processo de estresse oxidativo, provavelmente devido à redução da quantidade de antioxidantes. Fatores exógenos e outros fatores endógenos como gênero não influenciam o estresse oxidativo quando abordados em escala binária. Entretanto, um maior refinamento na avaliação dos fatores moduladores de estresse oxidativo pode ser informativo, uma vez que perfis individuais podem mascarar o efeito das variáveis associadas ao aumento de estresse oxidativo.

022

Doença falciforme e alfa-talassemia: incidência no Hemominas Juiz de ForaRodrigues DO^{1,2}, Costa MA^{3,4,5}, Pedreira FA^{3,4,5}, Siqueira DB^{5,6}, Sudário LC^{4,5}, Ribeiro LC², Teixeira MT², Oliveira VV^{4,5}, Ribeiro GC², Oliveira CM²¹Fundação Hemominas²Universidade Federal de Juiz de Fora³FAPEMIG-BIC⁴Universidade Antonio Carlos UNIPAC FAME – JF⁵Hemoliga⁶Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora

Introdução: A doença falciforme (DF) é a mais frequente das desordens hematológicas hereditárias. Ocorre por uma mutação no gene

da beta globina, que causa a substituição do ácido glutâmico por um resíduo de valina na posição 6 no cromossomo 11, levando a formação da hemoglobina S (HbS) a Talassemia engloba um grupo de hemoglobinopatias caracterizadas por redução de uma ou mais cadeias polipeptídicas de globina, levando a uma anemia microcítica hipocrômica. Em indivíduos saudáveis, há quatro genes, no cromossomo 16, que determinam a síntese das cadeias de alfa globina. Quando há deleção de um gene desenvolve-se o estado de portador assintomático. A deleção de dois genes causa a Talassemia alfa heterozigota, enquanto que a de três genes determina a Doença de hemoglobina H. Pacientes que apresentam a associação entre anemia falciforme e alfa-Talassemia possuem um quadro clínico mais brando, incluindo redução dos níveis de hemólise e inibição da polimerização da hemoglobina S. **Objetivo:** Verificar a frequência da associação entre doença falciforme e alfa-Talassemia. **Métodos:** Foram estudadas 135 crianças com DF diagnosticadas através do screening neonatal (NUPAD/UFMG) cadastradas na HEMOMINAS Juiz de Fora, nascidas entre 1998 e 2007, foi realizado o diagnóstico molecular de genotipagem nos alelos mais comuns para a alfa-Talassemia (alfa^{3,7}) por PCR (reação em cadeia da polimerase). **Resultados:** Os resultados evidenciaram que 73,87% não apresentavam mutação no gen da alfa-Talassemia, 23,43% apresentavam o genótipo de portadores silenciosos com a mutação em 1 gene e 2,70% apresentavam deleção de 2 genes. Dos pacientes analisados 54,95% eram portadores de Anemia Falciforme, 32,43% eram portadores de DFHbSC, 8,10% eram portadores de SBeta-talassemia, 3,60%, portadores de DFHbSJ e 0,92% eram portadores de DF HbSD. Foram excluídos da pesquisa 9 pacientes que foram a óbito, 10 pacientes transferidos para outros centros de tratamento e 5 pacientes que não compareceram para a coleta do exame. **Conclusão:** É significativa a frequência de portadores silenciosos e heterozigotos para alfa-Talassemia entre as crianças com doença falciforme, o que representou 26,12%. Das crianças que apresentavam a coexistência de DF e alfa-Talassemia, 65,38% eram homozigóticas para a HbS. Suporte Financeiro: PPSUS-FAPEMIG (CDS- APQ-01431-10), HEMOMINAS.

023

Haplótipos da cadeia de beta globina identificados em crianças com doença falciforme no Hemominas Juiz de ForaRodrigues DO^{1,2}, Pedreira FA^{3,4,5}, Costa MA^{3,4,5}, Ribeiro LC², Teixeira MT², Ribeiro GC², Siqueira DB^{5,6}, Sudário LC^{4,5}, Oliveira VV^{4,5}, Oliveira CM²¹Fundação Hemominas²Universidade Federal de Juiz de Fora³FAPEMIG-BIC⁴Universidade Antonio Carlos UNIPAC FAME-JF⁵HEMOLIGA⁶Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora

Introdução: As hemoglobinopatias afetam 7% da população mundial e são decorrentes de mutações nos genes que codificam as cadeias globínicas alfa (α) e beta (β) da molécula de hemoglobina. A doença falciforme resulta da dupla heterozigose da HbS, associação da HbS com outras hemoglobinas mutadas e pode coexistir com as talassemias. Há descrição de 5 haplótipos ligados à HbS: Indiano-Asiático, Senegal, Benin, Bantu (CAR) e Camarões. Discute-se se os haplótipos estão associados a uma gravidade clínica nessa doença ou se determinam elevação dos níveis de Hemoglobina Fetal. **Objetivo:** Identificar os haplótipos nas crianças portadores de doença falciforme. **Metodologia:** Foram estudadas 135 crianças com doença falciforme diagnosticadas através do screening neonatal (NUPAD/UFMG) cadastradas na HEMOMINAS Juiz de Fora, nascidas entre 1998 e 2007. Os haplótipos do grupo do gene da globina beta foram determinados pelas técnicas de PCR (reação em cadeia da polimerase) e RFLP (polimorfismo de tamanho dos fragmentos de restrição), de

acordo com protocolo modificado de Sutton. **Resultados:** A análise dos haplótipos de 108 pacientes estudados representam 80% dos sujeitos da pesquisa. 9 pacientes foram ao óbito e 10 crianças foram excluídas da pesquisa devido transferência de local de atendimento. 3,7% (n=4) dos pacientes não compareceram para coletar amostra sanguínea e uma família recusou participar da pesquisa. 53,70% das crianças são portadoras de Anemia Falciforme, 33,34% são SC, 8,34% possuem Sbeta-talassemia, 3,7% são SJ e 0,92% são SD. Os pacientes com homozigose em SS apresentam o seguinte perfil genético: 55,17% CAR/CAR e 36,20% BEN/CAR. Os pacientes com hemoglobinopatia SC expressam em 61,11% o perfil CAR/Atípico e em 11% BEN/Atípico. Os pacientes com Sbeta-talassemia tem seu perfil genotípico em 44,44% definido como CAR/Atípico. Foram também identificados haplótipos pouco frequentes em Minas Gerais, tais como: CAR/Senegal, Camarões/Atípico, CAR/Camarões e BEN/Senegal. **Conclusão:** Houve uma grande prevalência do haplótipo CAR em Juiz de Fora e região. No Brasil a doença falciforme está associada a uma mistura de haplótipos africanos. O conhecimento dos haplótipos do grupo da beta globina nos pacientes com doença falciforme traz informações históricas sobre estudos de movimentação populacional e antropológicos. Suporte Financeiro: PPSUS-FAPEMIG (CDS- APQ-01431-10), HEMOMINAS.

024

Adesão ao uso de penicilina profilática em crianças com doença falciforme acompanhadas no Hemominas Juiz de Fora

Rodrigues DO^{1,2}, Campos EM², Ribeiro LC², Teixeira MT², Dias TL^{2,3}, Ribeiro GC², Pedreira FA^{3,4,5}, Costa MA^{3,4,5}, Ferreira MC²

¹Fundação Hemominas

²Universidade Federal de Juiz de Fora

³FAPEMIG-BIC

⁴Universidade Antonio Carlos UNIPAC FAME JF

⁵HEMOLIGA

Objetivo: Avaliar a adesão a antibiótico profilático em crianças com doença falciforme. **Métodos:** Estudo transversal de 126 crianças (nascidas entre 1998 e 2007), com diagnóstico de doença falciforme pelo Programa Estadual de Triagem Neonatal de Minas Gerais (UFMG-NUPAD) atendidas na Hemominas Juiz de Fora. Avaliou-se a adesão por meio de entrevistas com os cuidadores, análise de prontuário médico e perfil socioeconômico familiar. Os antibióticos foram dispensados gratuitamente pela farmácia da Fundação Hemominas. **Resultados:** Foram estudados 115 pacientes portadores de doença falciforme. Sete pacientes não foram entrevistados por terem solicitado desligamento do programa de atendimento integral ao paciente com doença falciforme, e quatro pacientes foram a óbito antes do início da pesquisa. Dos 104 pacientes estudados 50,4% eram do sexo masculino e 53,9% das crianças eram portadoras de anemia falciforme (SS). 87% dos pacientes receberam a medicação corretamente, 13% recebiam em horários irregulares. A adesão máxima, definida como nenhuma ausência de administração e regularidade de horário, foi de 41,7%. Não houve associação entre a taxa de adesão e as variáveis gênero, renda familiar *per capita*, nível educacional dos cuidadores ou número de membros da família. A melhor adesão foi identificada quando os pais moravam juntos. **Conclusão:** A taxa de adesão a antibioticoterapia profilática foi baixa quando avaliada por meio de questionários. A adesão deve ser preferencialmente avaliada por vários métodos, pois sua mensuração é complexa. Os resultados encontrados no estudo sugerem a necessidade de programas de educação em saúde abrangentes para os profissionais de saúde e familiares para a conscientização sobre a necessidade da medicação e melhor entendimento em relação à doença falciforme. Suporte Financeiro: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Fundação Hemominas.

025

Ritmo de filtração glomerular e idade em pacientes com anemia falciforme

Mecabo G¹, Goncalves LM¹, Arruda MM¹, Figueiredo MS¹

¹Escola Paulista de Medicina. Universidade Federal de São Paulo

Várias manifestações renais podem ser observadas na anemia falciforme (AF) com frequências que variam com a idade. A hiperfiltração com o tempo pode levar à microalbuminúria, proteinúria e insuficiência renal crônica (IRC) em até 11% dos adultos. A patogênese dessa nefropatia ainda não está definida, embora estudos tenham mostrado a presença de associação entre proteinúria e hemólise. Hidroxicarbamida (HU) tem capacidade de diminuir os níveis de hemólise, dentre seus vários mecanismos de ação. Na medida em que a sobrevivência destes indivíduos aumenta, espera-se uma maior proporção de indivíduos com lesões crônicas de órgãos, incluindo nefropatia. **Objetivo:** Avaliação da função renal em uma coorte de pacientes adultos com AF. **Métodos:** Foram avaliados prontuários de pacientes em acompanhamento no Ambulatório de Anemias Hereditárias da EPM/UNIFESP (07/12 a 07/13). Critérios de inclusão: indivíduos adultos com homozigotos S. Critérios de exclusão: gestantes e indivíduos em transfusão crônica. Exames: hemograma, reticulócitos (Ret), lactado desidrogenase (DHL), bilirrubina indireta (BI), cálculo da relação de microalbuminúria e creatinúria em amostra de urina isolada (uA/Cr), ritmo de filtração glomerular pela equação MDRD (RFG). A análise estatística foi realizada por ANOVA com nível descritivo de 5%. **Resultados:** Foram avaliados 64 pacientes, mediana de idade 27 (19-58) anos, 61% do sexo feminino e 71,8% em uso de HU. Na análise da uA/Cr (ug/mg creatinina), foram avaliados 3 grupos: < 30, de 30 a 299 e > 300. Não foi observada diferença de DHL, BI e Ret entre estes 3 grupos. Embora a análise de idade tenha apresentado diferença entre os grupos de uA/Cr (p=0.027), o Teste de Múltiplas Comparações de Dunn não foi significativo. Na análise do RFG (ml/min/1,73 m²), foram analisados 3 grupos: < 90, de 90 a 120 e > 120. 89% dos pacientes foi alocada no 3º grupo (hiperfiltração), 3 (4,7%) no 1º grupo (IRC) e 4 (6,3%) no 2º (normal). Não houve diferença dos níveis de DHL, BI e Ret entre os grupos, mas a mediana idade foi significativa (p=0,009), com idades de 49, 37 e 27 anos para o 1º, 2º e 3º grupo respectivamente. 68% dos indivíduos do 3º grupo estavam em uso de HU, assim como os 7 indivíduos dos outros grupos. **Discussão:** A hiperfiltração glomerular é manifestação precoce de nefropatia na AF. Quando prolongada eventualmente causa glomeruloesclerose, e diminuição do RFG a níveis normais, sendo que, em alguns resulta em IRC. Observamos que a maioria dos pacientes apresenta lesão renal, sendo que nos mais velhos o RFG é sugestivo de IRC. Os pacientes com RFG normal apresentam idade superior ao do grupo com hiperfiltração, o que pode sugerir uma evolução para IRC, fato que deve servir como alerta no acompanhamento ambulatorial. Embora a HU tenha ação na redução da hemólise na AF, seus efeitos nas manifestações renais não está definido. Diferente de outros estudos, este trabalho não observou relação entre lesão renal e hemólise. A elevada porcentagem de indivíduos com HU pode ter contribuído para este fato. Até o momento, não há protocolo definido para tratamento das lesões renais na AF, embora o uso de inibidores de ECA venha sendo cada vez mais sugerido nos indivíduos com microalbuminúria, com o intuito de evitar a progressão para IRC. Novos estudos, com mais pacientes, são necessários para melhorar o entendimento dessa condição, bem como o tratamento mais adequado.

026

Diagnóstico de esferocitose hereditária pelo uso da eosina-5-maleimida (EMA)

Mecabo G¹, Guirao F¹, Kimura EY¹, Neto FM¹, Yamamoto M¹, Figueiredo MS¹

¹Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo

A esferocitose hereditária (EH) é a anemia hemolítica mais comum em caucasianos, afetando aproximadamente um em cada 1.500 indivíduos. A característica laboratorial típica, mas não específica, é a presença de esferócitos no sangue periférico, detectável em 97% desses pacientes. Entretanto, a quantidade de esferócitos pode estar reduzida em alguns casos dificultando o diagnóstico, além de cada vez menos se utilizar a microscopia óptica devido à automação laboratorial. Outros exames laboratoriais para diagnóstico de EH são: Avaliação da relação área-volume no esferócito, pela curva de fragilidade osmótica (CFO) a fresco e/ou incubada; Determinação da taxa de lise eritrocitária: lise de eritrócitos em glicerol tamponado (GLT), lise em glicerol acidificado (AGLT) e *Pink test*. Estes testes, porém, podem não ser sensíveis em alguns casos de EH. O teste com uso do corante fluorescente EMA por citometria de fluxo, tem sido proposto como exame sensível e específico na EH. O corante interage com a banda-3 e quantifica a lesão estrutural proteica, e é capaz de detectar EH devida a outros defeitos de membrana, porém menos eficaz nos defeitos da anquirina. **Objetivo:** Verificar a viabilidade do teste EMA em pacientes com diagnóstico de EH pela CFO. **Casuística:** Foram avaliadas 4 pacientes em acompanhamento no Ambulatório de Anemias Hereditárias da EPM/UNIFESP. **Métodos:** O teste EMA realizou-se segundo King e col. (2000), que utiliza o seguinte cálculo para quantificar a redução da fluorescência: (Mediana do paciente – mediana de 6 controles normais X 100)/ mediana de 6 controles normais. **Resultados:** Os testes foram realizados em 2 ocasiões diferentes. Na 1ª, a mediana de idade dos controles foi 34 (21-51) anos e a da paciente foi 32 anos; a mediana de fluorescência dos controles foi 756,7 (673,2-791,5) enquanto a da paciente foi 441,0. Após o cálculo, observamos redução de 40% na fluorescência. Na 2ª, a mediana de idade dos controles foi 35,5 (27-45) anos e a mediana de idade das 3 pacientes foi de 48 (33-65) anos. A mediana da fluorescência dos controles foi de 679,2 (620,8-729,9) e das pacientes foi 649,4; 710,5 e 445,0. Após aplicação do cálculo sugerido, observamos redução de 4,1% na 1ª paciente e de 34% na 3ª paciente. A 2ª paciente apresentou aumento de fluorescência de 4,6%. **Discussão e Conclusão:** Segundo dados de literatura, o ensaio com EMA é capaz de diagnosticar EH com sensibilidade de 93% e especificidade de 98%. Entretanto, o valor de *cut-off* do teste ainda é muito debatido, variando de 11 a 17% de redução, de acordo com diferentes autores. Em nosso estudo, apenas 2 das 4 pacientes analisadas apresentaram redução significativa da fluorescência (acima do *cut-off* de 17%). Assim, apesar da elevada sensibilidade do teste, este trabalho corroborou dados anteriores que sugerem que nenhum dos ensaios disponíveis até o momento identifica todos os casos de EH. Diversos autores tem proposto a utilização de pelo menos duas das técnicas disponíveis, simultaneamente, com o objetivo de aumentar a sensibilidade e especificidade do diagnóstico. A associação da CFO e EMA apresenta sensibilidade de 95%, enquanto a associação de AGLT e EMA chega a 100%, segundo Bianchi e col. 2011. No entanto, mais ensaios, com maior número de pacientes, são necessários para melhor definição do valor de *cut-off* do teste EMA, bem como do melhor painel de diagnóstico da EH.

027

Relação entre valores de hemoglobina fetal e morfologia eritrocitária em indivíduos com suspeita de hemoglobinopatias

Nunes GM¹, Torres LS¹, Okumura JV¹, Bonini-Domingos CR¹

¹Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

A hemoglobina fetal (Hb F) é predominante durante a vida fetal, porém, no período pós-natal, é gradativamente substituída pela Hb A, atingindo, após os seis meses de vida, níveis mínimos ou até mesmo ausentes. No indivíduo adulto, com produção de Hb estabilizadas, a Hb A ocorre em concentrações entre 96% - 98%, Hb A2 de 2,5% - 3,5% e Hb F de 0 - 1,0%. Quando valores aumentados de Hb F persistem no adulto, podem caracterizar persistência hereditária de Hb fetal (PHHF). O diagnóstico das hemoglobinopatias envolve a triagem clássica sendo a análise da morfologia eritrocitária (ME) útil por fornecer informações sobre a presença de alterações específicas nos glóbulos vermelhos, como tamanho (microcitose, macrocitose e anisocitose), forma (poiquilocitose) e quantidade de Hb. Outros testes são utilizados para o diagnóstico, como resistência dos eritrócitos à hemólise, verificação do padrão de migração das frações hemoglobínicas por eletroforese, quantificação das frações por cromatografia líquida de alta performance e testes moleculares. O objetivo deste trabalho foi analisar a relação entre a morfologia eritrocitária e a quantidade de Hb F na presença de hemoglobinopatias. Foram analisadas 50 amostras de sangue periférico, coletadas em tubos contendo EDTA a 5%, no período de dois meses. Os esfregaços com poiquilocitose foram classificados quanto ao tipo de alteração morfológica que possuíam. Todas as lâminas foram coradas com panótico. Dentre as 50 (100%) amostras analisadas, 10 (20%) apresentaram hemoglobina normal (Hb AA) e 40 (80%) tiveram alteração na hemoglobina. Destas, 14 apresentaram Hb F acima de 1%, sendo quatro com média superior a 30% (três com PHHF-1 e um recém-nascido). A ME nestes pacientes foi semelhante aos indivíduos com Hb AA com microcitose e poiquilocitose discreta. A presença da Hb A2 aumentada foi verificada em oito pacientes, estando dois deles com níveis elevados de Hb F: um com 1,4% e o outro com 3,5%, sendo a morfologia do primeiro mais grave (micro e poiquilocitose moderadas e hipocromia grave) em relação ao segundo indivíduo (micro e poiquilocitose moderadas). Doze pacientes apresentaram Hb variantes. A presença da Hb C foi verificada em quatro pacientes sendo um Hb AC, um Hb CC e dois Hb AC+F com média de Hb F de 9,8%. Observamos que os pacientes com associação de variantes com Hb F apresentaram microcitose, hipocromia e poiquilocitose discreta, e os sem Hb F apresentaram estas três alterações moderadas. A presença da Hb S foi verificada em oito pacientes, sendo quatro com Hb AS e quatro com Hb SS. Dos pacientes com Hb SS, dois apresentaram aumento acentuado de Hb F, com média de 28%, sendo um com PHHF-1. Os outros dois apresentaram aumento discreto, com média de Hb F de 2,85%. Quanto a ME, os pacientes com Hb AS apresentaram microcitose e poiquilocitose discreta, os Hb SS+F acima de 28% apresentaram microcitose e poiquilocitose moderada e hipocromia discreta e os Hb SS apresentaram microcitose, hipocromia e poiquilocitose moderada. Seis pacientes não foram avaliados por apresentarem perfil eletroforético não concluído. Com este trabalho observamos que níveis elevados de Hb F estão relacionados com menores alterações de morfologia eritrocitária.

028

Perfil lipêmico e anemia falciforme

Kase DT¹, Matsuda SS¹, Goncalves LM¹, Figueiredo MS¹

¹Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo

Introdução: Sabe-se que a Anemia Falciforme (AF) cursa com processo inflamatório crônico e, dada a crescente importância do processo

inflamatório nas dislipidemias, alguns pesquisadores tem relacionado alterações do perfil lipêmico com gravidade da AF. Estudos publicados sobre o perfil lipêmico na AF sugerem que este possa ser um marcador de gravidade da doença, estando associado a manifestações clínicas como a elevação da pressão da artéria pulmonar (PAP) e laboratoriais. No entanto, características próprias da população brasileira, pode influenciar esse resultado. **Objetivo:** Determinar se o perfil lipídico pode ser um marcador de gravidade de AF na nossa população. **Métodos:** Avaliação clínico-laboratorial, pela determinação: perfil lipêmico, desidrogenase lática (DHL), reticulócitos, bilirrubina indireta (BI) e da PAP e/ou velocidade de regurgitação de tricúspide (VRT) por ecocardiograma. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente pelo Teste de Correlação de Pearson. **Resultados:** Foi realizada análise prospectiva de 54 pacientes, após assinatura do termo de consentimento (TCLE). A média (DP) de idade dos pacientes foi de 29 (8,7) anos sendo 59% do sexo feminino. Os valores do perfil lipêmico [média (DP)] dos pacientes encontram-se abaixo do valor normal: colesterol total 124,8 (31,5); HDL 38,2 (12,3); LDL 64,7 (26,0); VLDL 21,8 (11,5) e triglicérides 109,5 (57,4). Ao comparar variáveis lipídicas com DHL, reticulócitos e BI não foram obtidos valores significativos. Na avaliação do perfil lipêmico com PAP, o HDL mostrou correlação fraca ($r:0,302$; $p:0,028$). Colesterol total ($r:0,125$; $p:0,443$), LDL ($r:0,104$; $p:0,522$) ($r:0,079$; $p:0,630$) e Triglicérides ($r:0,069$; $p:0,671$) apresentaram correlação nula. Correlação nula foi observada na análise destas variáveis com VRT: colesterol total ($r:0,082$; $p:0,660$), HDL ($r:0,090$; $p:0,630$), LDL ($r:0,076$; $p:0,684$), VLDL ($r:0,080$; $p:0,669$) e Triglicérides ($r:0,089$; $p:0,634$). **Discussão:** A análise estatística não deve ser utilizada como fonte de conhecimento principal para a medicina. As hipóteses são formuladas a partir de fundamentos biológicos, para, posteriormente, realizar-se o teste estatístico apropriado. O valor de correlação de Pearson (r) serve para avaliar a intensidade de correlação entre 2 variáveis contínuas, enquanto o valor de probabilidade (p) informa a probabilidade de as amostras serem iguais ($r=0$). O valor de (r) é considerado de média intensidade quando se encontra acima de 0,41, forte intensidade quando acima de 0,61 e preditivo quando superior a 0,81, independente do valor de p . O valor de $p<0,05$ informa que $r\neq 0$ ou que existe significância, mas não indica a intensidade da correlação pois não é sinônimo de relevância biológica. Portanto, a avaliação pelo Coeficiente de Pearson é preferível por fornecer maior precisão e informação da relação entre as variáveis estudadas. Neste estudo, bem como em estudos prévios sobre este assunto, as análises estatísticas, na sua maioria, não mostraram (r) sugestivo de forte correlação ou preditivo. **Conclusão:** Não foi possível verificar correlação forte ou preditiva entre perfil lipêmico e elevação da PAP, nem entre perfil lipêmico e os dados laboratoriais analisados. A correta interpretação dos dados obtidos é imprescindível, pois caso contrário, pode-se chegar a conclusões equivocadas que prejudicam o desenvolvimento do conhecimento científico.

029

Saturação da oxihemoglobina basal e durante o sono em portadores de doença falciforme

Matsuda SS¹, Cabanas-Pedro AC¹, Tufik S², Roizenblatt S^{1,2}, Figueiredo MS¹

¹Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo

²Psicobiologia, Escola Paulista de Medicina, UNIFESP

Introdução: Muitos indivíduos com doença falciforme (DF) apresentam dessaturação da oxihemoglobina na ausência de manifestações cardio-pulmonares. Estudos prévios sugerem uma correlação direta entre hemoglobina basal e saturação de oxihemoglobina medida por oximetria de pulso (SpO₂) em indivíduos em seu estado basal, isto é, fora de crise. Além disso, enquanto alguns autores mostram associação importante entre hipóxia noturna e aumento da frequência de crises vaso-oclusivas e de acidente vascular encefálico (AVE), esta

associação é contestada por outros. **Objetivo:** Avaliar a importância dos níveis de saturação de oxigênio basal e noturna em manifestações clínico-laboratoriais da DF. **Métodos:** Foi realizada polissonografia (PSG), no Instituto do Sono da Psicobiologia, em 80 pacientes com DF em acompanhamento no Ambulatório de Anemias Hereditárias da Escola Paulista de Medicina/UNIFESP, sendo 43 do gênero feminino (F: 31,3 ± 11,1 anos) e 37 do masculino (M: 31,0 ± 11,0 anos). A oximetria basal (OB) foi determinada pela média de 3 avaliações consecutivas ambulatoriais. A oximetria noturna foi registrada durante todo o exame de PSG e para análise dos dados foram consideradas 2 situações: o início do exame (OI) e a média das concentrações obtidas durante o sono (OS). Os dados clínico-laboratoriais avaliados foram obtidos a partir do prontuário dos pacientes. Todos os participantes assinaram termo de consentimento (TCLE). A análise estatística foi realizada utilizando-se testes não-paramétricos, com nível descritivo de 5%. **Resultados e Discussão:** As 3 diferentes SpO₂ obtidas (OB: 95,1±4,3; OI:94,3±3,5; OS:93,3±3,6) mostram que estes pacientes apresentam índices abaixo do normal, provavelmente pelo desvio da curva de dissociação da oxihemoglobina para direita, o que corrobora relatos anteriores. Quando comparados os resultados entre os gêneros, não foi observada diferença da SpO₂ na OB (F: 94,2±5,5; M:96,1±3,3; $p=0,09$); na OI (F:94,9±3,3; M:93,7±4,0; $p=0,15$) e na OS (F:94,0±3,4; M:92,6±4,0; $p=0,08$). Este resultado difere de relato anterior que mostra pior SpO₂ basal no sexo masculino, embora os homens neste estudo tenham apresentado níveis inferiores durante o sono (OI e OS), porém não de modo significativo. No grupo total, a comparação de SpO₂ da OB com OI mostrou significância ($p<0,001$) assim como a comparação da OB com OS ($p=0,001$). Observou-se, também, relação significativa entre OB e presença de AVE ($p=0,04$), níveis de DHL ($p<0,001$) e de reticulócitos ($p=0,01$). Entretanto, não foi observada relação das medidas de OI e OS com estes parâmetros. Não houve efeito quando estes testes foram repetidos controlando-se por gênero. Durante a PSG foi observada elevada frequência de movimentos periódicos de pernas/hora (F:18,1±14,5; M:14,4±17,4; $p=0,31$), que na população normal não deve exceder 5 movimentos/hora. Este achado, entretanto, necessita de melhor avaliação etiopatológica. **Conclusão:** Neste estudo, pode ser observado que a SpO₂, em especial na OB, parece ter papel importante em algumas das manifestações clínico-laboratoriais da DF. Entretanto, estudos mais detalhados e com maior número de avaliações são necessários para um melhor esclarecimento destes fatos.

030

A prevalência de anemia falciforme no município de Paracatu – MG

Santos SJ¹, Dias SH¹, Boaventura SA¹, Júnior RA¹, Gomes MM¹, Machado CC¹, Neto EE¹, Rabelo NN¹, Bueno H¹, Faria TA¹

¹Faculdade Atenas

Introdução: A anemia falciforme é a doença mais comum entre as hemoglobinopatias, sendo expressa clinicamente pela homozigose do gene da hemoglobina S, caracterizando uma doença hereditária monogênica de maior prevalência no Brasil. A mutação do gene que determina a anemia falciforme surgiu a milhares de anos atrás no continente africano. Devido ao grande contingente de negros obrigatoriamente trazidos para o Brasil para o trabalho escravo, é alta a incidência da doença falciforme em todo o país. A descoberta de grandes reservas de ouro e diamante no interior do Brasil foi o motivo principal pelo desenvolvimento econômico e pelo povoamento de áreas que hoje se encontra o Município de Paracatu – MG. Considerando que a atividade mineradora era basicamente realizada pelo trabalho escravo, a maioria negros, é possível justificar através desse fato, o perfil demográfico predominante da cidade de Paracatu, sendo esse tema intrinsecamente relacionado ao fator racial afro - descendente predominante no perfil desta cidade. **Objetivo:** Identificar a prevalência e o perfil dos indivíduos portadores de Anemia Falciforme

(HbSS) no município de Paracatu – MG. **Métodos:** Inicialmente foi realizado uma pesquisa de todos os pacientes falcêmicos em todas as Unidades de Saúde da cidade. Posteriormente, foi feito visitas domiciliares com aplicação de questionário nas famílias encontradas. As principais variáveis estudadas foram faixa etária, sexo, etnia, naturalidade, escolaridade e renda familiar. Os dados coletados foram analisados, descritos e apresentados em tabelas e figuras, com o Software Microsoft Excel(2010) e epiInfo(7). **Resultados:** Foi encontrado 48 pacientes portadores de anemia falciforme (HbSS) na cidade de Paracatu-MG, correspondendo a uma prevalência de 0,05%. A maioria dos portadores de AF são crianças e adolescentes, negros e pardos e natural de Paracatu. **Conclusão:** Observou-se um equilíbrio na prevalência de ambos os sexos. A maioria dos falcêmicos são crianças e adolescentes, mostrando a elevada letalidade da doença. A maior parte dos pacientes é de baixa renda e escolaridade, sendo predominantemente nascidos no município de Paracatu-MG. Houve uma divisão entre negros e pardos, em que se justifica pela miscigenação da população ao passar das gerações. Conclui – se que Paracatu é uma cidade com alto índice de hemoglobinopatias, na qual, a Anemia Falciforme tem uma considerável prevalência, sendo uma das mais graves dentre as doenças falciformes, relacionada diretamente com perfil sócio-econômico e cultural da cidade.

031

Anticoncepção em mulheres com anemia falciforme usuárias de hidroxiureia

Carvalho N¹, Guazzelli CF¹, Figueiredo MS¹, Braga JAP¹

¹Escola Paulista de Medicina/Universidade Federal de São paulo

Objetivo: Avaliar a utilização de métodos anticoncepcionais em mulheres com anemia falciforme e usuárias de hidroxiureia. **Métodos:** Estudo observacional retrospectivo baseado em informacoes contidas nos prontuários médicos de pacientes portadoras de anemia falciforme em tratamento na Escola Paulista de Medicina (UNIFESP). **Resultados:** Foram analisados dados de 42 pacientes com anemia falciforme do ambulatório de Hematologia, sendo o tempo médio de uso de hidroxiureia de 4,2 (dp=2,9) anos. A idade media das pacientes foi de 34,2 anos (dp=12,9;1-70anos), sendo 95,2% pardas ou negras. Apresentavam um grande numero de intercorrências: 31% com hipertensão pulmonar, 28,6% com retinopatia, 23,8% com evento trombótico, 23,8% com Microalbuminúrica, 14,3% com hipertensão arterial, 11,9% com cardiopatia. 7,1% tabagista. A idade media da menarca foi de 15,2 (dp=2,3) anos, da coitarca 20,6 (dp=3,0) anos, da primeira gestação 24,8 (dp=5,1) anos, do inicio do uso de método anticoncepcional de 23,2 (dp=4,8) anos. Das pacientes que já haviam iniciado atividade sexual, 19,4% tiveram algum tipo de DST. Com relação ao uso de métodos anticoncepcionais, apenas 26,2% não usavam nenhum método, 29,2% utilizam anticoncepcional hormonal combinado, 45,8% usam método apenas com progestogênio, sendo 33,5% com injetável, 12,5% laqueadura, 8,3% condom e 4,2% utilizavam dispositivo intrauterino. Entre todas usuárias 42,9% referiram já terem usado métodos contraceptivos hormonais combinados em algum momento da vida. **Conclusão:** As pacientes com anemia falciforme e usuárias de hidroxiureia apresentam vários tipos de complicações que agravam a sua condição clinica. Com relação a anticoncepção a maioria delas utilizam algum tipo de método, mas chama atenção que 42,9% delas já fizeram uso de métodos combinados que seriam contraindicados para estas mulheres devido as suas varias complicações clinicas.

032

Gravidez em mulheres portadoras de anemia falciforme: complicações para mãe e feto

Santos IM¹, Silva RR¹, Gama HL¹, Vilanova RO¹, Santos AP¹, Reis RC¹, Ribeiro CD¹, Moura ME¹, Coutinho MC¹, Sousa BG¹

¹Universidade Estadual do Maranhão

A anemia falciforme é uma alteração genética, caracterizada por um tipo de hemoglobina mutante designada por hemoglobina S (ou Hb S) que provoca a distorção dos eritrócitos, fazendo-os tomar a forma de “foice” ou “meia-lua” (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). Essa doença está relacionada ao surgimento de várias manifestações clínicas que possuem diferentes níveis de gravidade. Quando associada à gestação, a anemia falciforme é responsável por complicações que podem acarretar em morbimortalidade para o binômio mãe-filho. Assim, o trabalho foi realizado com o objetivo de determinar as principais complicações decorrentes da anemia falciforme na gestação tanto para a mãe como para o feto. Foi realizada uma revisão sistemática de literatura, cuja busca foi feita usando-se as seguintes palavras-chaves contempladas nos descritores em ciências da saúde (DeCS): ‘anemia falciforme’, ‘complicações na gravidez’ e ‘complicações hematológicas na gravidez’ nos indexadores Lilacs, Scielo e PubMed. Foram incluídos estudos publicados entre os anos de 2002 à 2012. Com isso, observou-se que as grávidas com anemia falciforme apresentam uma leve predominância de abortamentos, natimortos, partos prematuros; hemorragia no ante-parto, síndrome dolorosa aguda. Além disso, essas mulheres podem ser acometidas por infecções variadas no período gravídico, sobretudo pielonefrites e pneumonias, o que poderá aumentar substancialmente o número de mortes por septicemia. Anemia megaloblástica responsiva a ácido fólico, especialmente em gestações tardias, também possui uma incidência aumentada nesse grupo. A mortalidade materna, entre elas, parece ser maior do que entre as não-portadoras. As consequências fetais derivam do comprometimento do fluxo sanguíneo placentário ocasionando atraso do crescimento uterino e baixo peso ao nascimento. Dado o exposto, estudos como esse 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.

033

Anemia falciforme e estenose de carótida interna: relato de caso

Marins AC¹, Laranja D², Pellegrini-Braga JA¹, Silva GS², Figueiredo MS¹

¹Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo

²Departamento de Neurologia, Escola Paulista de Medicina, UNIFESP

Introdução: As manifestações da Anemia Falciforme (AF) são consequência da polimerização da HbS desoxigenada, que altera densidade e morfologia eritrocitária e prejudica seu fluxo pela microcirculação. A síndrome torácica aguda (STA) acomete mais da metade de pacientes, é a segunda causa de hospitalização e a primeira de admissão em UTI. Causa 1,8% de mortes (4,3% adultos vs 1,1% crianças). O acidente vascular encefálico (AVE), principal manifestação neurológica da AF, geralmente isquêmico, acomete cerca de 8% dos pacientes até 14 anos. Sua fisiopatologia tem a lesão macrovascular e seu progressivo estreitamento como principal substrato, resultando em hipóxia e obstrução do fluxo. Transfusões sanguíneas crônicas são preconizadas na prevenção de novos episódios e também na prevenção 1ª de pacientes com alteração da velocidade do

fluxo (VFC) por doppler transcraniano (DTC). O DTC é utilizado de rotina para identificar crianças com AF com risco de AVE e monitorar a evolução das que estão em tratamento. **Relato de Caso:** Paciente de 23 anos, sexo feminino, com AF desde o 1º ano de vida e história de 2 episódios de AVE (1998 e 1999), tratada com transfusão crônica. Procurou o PS com febre, dor torácica, hipoxemia, taquipnéia e Rx de tórax com infiltrado pulmonar, sugestivo de STA. Apesar da instituição das medidas usuais, evoluiu com parada cardio-respiratória (PCR), sendo reanimada com sucesso, porém em coma. Na investigação foi detectado sequele do antigo AVC na RM e obstrução total de carótida interna (CI) direita e parcial da CI esquerda na Angio-TC. Feita hipótese diagnóstica de baixo fluxo cerebral secundário à PCR, potencializado pela presença de obstrução carotídea. Foi optado pela realização de transfusões crônicas, aspirina e hidroxiuréia (HU). A paciente evoluiu com recuperação total do quadro após 19 dias. **Discussão:** Pacientes com AVE prévio são candidatos a lesões de CI cervical, enquadrando-se em grupo de risco para novos eventos. Existem relatos de AVE associado a lesões de CI em autópsias e em angiografias, apesar da correlação entre imagens e clínica não ser bem definida. No contexto da AF, os pacientes com episódios de AVE prévios apresentam risco maior de recidiva. Diante disso, detecção dos indivíduos de risco e sua prevenção são importantes. Lesões arteriais cervicais foram detectadas em crianças falcêmicas por Doppler cervical, e os autores sugeriram seu rastreamento em crianças e adultos falcêmicos com eventos agudos neurológicos, anormalidades no DTC ou história de AVE. Atualmente, as lesões de CI são sub diagnosticadas, pois estas artérias não são rotineiramente examinadas nestes pacientes. Apesar das recomendações de esquema transfusional crônico perene nos pacientes pediátricos com alterações neurológicas, na prática clínica, depois dos 18 anos, as transfusões costumam ser interrompidas. Alguns autores acreditam que as transfusões podem ser substituídas pela HU, pois foi constatada redução na amplitude das lesões na periferia das áreas pré-infartadas e redução da VFC pelo DTC, este dado porém não foi confirmado por outros. **Conclusão:** Há necessidade de estudos que visem o rastreamento dos pacientes adultos com AF com risco de manifestações neurológicas e o Doppler cervical pode ser um deles. Porém mais estudos são necessários para determinar a real relevância deste exame nesta população.

034

Prevalência de alterações cerebrovasculares em pacientes com doença falciforme provenientes do estado do Rio Grande do Norte e sua associação com a co-herança da talassemia alfa

Fernandes TA^{1,2}, Alves JJP³, Nascimento AN³, Bezerra CM³, Serafin ES⁴, Braga EE⁴, Góis VG⁴, Fernandes LV⁴, Medeiros TM³, Sonati MF²

¹Universidade do Estado do Rio Grande do Norte

²Universidade Estadual de Campinas

³Universidade Federal do Rio Grande do Norte

⁴Hemocentro Dalton Barbosa Cunha

As alterações cerebrovasculares (ACV) estão entre as principais complicações clínicas que os pacientes com doença falciforme podem desenvolver, apresentando uma alta taxa de mortalidade e podendo resultar em disfunções físicas e neuro-cognitivas permanentes. Alguns estudos têm mostrado que a coherença da talassemia alfa parece exercer um efeito protetor no desenvolvimento de ACV em pacientes falciformes ao reduzir as concentrações de HbS, e consequentemente as taxas hemolíticas, aumentando o nível de Hb dos pacientes. Além disso, tem sido demonstrado que as hemácias de pacientes α -talassêmicos apresentam maior deformabilidade que a dos pacientes não α -talassêmicos, o que facilitaria o fluxo sanguíneo na microvasculatura cerebral, bem como na macrovasculatura, aumentando a oxigenação cerebral e limitando a hipóxia. Diante disso, o presente trabalho

teve como objetivo determinar a prevalência da ocorrência de ACV em um grupo de pacientes com doença falciforme provenientes do estado do Rio Grande do Norte e analisar a sua associação com o "status" da talassemia alfa (deleção $-\alpha^{3,7}$). Foram analisados 126 pacientes falcêmicos não aparentados, sendo 63 do sexo masculino e 63 do feminino, com idades variando de 2 a 48 anos, média de 15 anos. De cada paciente foram coletadas alíquotas de sangue periférico e realizadas as seguintes análises laboratoriais: hemograma, eletroforese de hemoglobina em pH alcalino, teste de solubilidade, dosagem das hemoglobinas A2 e Fetal, confirmação molecular do genótipo da doença falciforme e detecção molecular da talassemia alfa (deleção $-\alpha^{3,7}$). Além disso, foram analisados os prontuários destes pacientes, arquivados nos estabelecimentos de saúde nos quais eles eram acompanhados clinicamente. Consideraram-se como positivos para a ocorrência de ACV os indivíduos que já sofreram algum acidente vascular cerebral ao longo da vida, ou que tenham apresentado algum resultado de Doppler transcraniano (DTC) alterado e indicativo da necessidade do estabelecimento de terapia transfusional crônica. A ocorrência de ACV foi detectada em 18 (14,3%) pacientes [16 HbSS (16/90) e 2 HbS-Beta talassemia (2/20)]. Já a talassemia alfa foi detectada em 16 (12,7%) pacientes [9 HbSS (9/90), 3 HbSC (3/16) e 4 HbS-Beta talassemia (4/20)], todos na forma heterozigótica. Dentre os pacientes que apresentaram ACV, apenas um coherdou a deleção alfa 3.7 da talassemia alfa. No entanto, não foram constatadas diferenças estatisticamente significativas na distribuição dos casos de ACV entre os pacientes com e sem talassemia alfa. Estes resultados mostram que as alterações cerebrovasculares foram complicações clínicas razoavelmente comuns nos pacientes falciformes do estado do Rio Grande do Norte, ocorrendo principalmente nos indivíduos HbSS. Além disso, percentual significativo dos indivíduos analisados coherdaram a talassemia alfa. A falta de associação estatística entre a ausência de talassemia alfa e a ocorrência de ACV pode ser o resultado do baixo número de pacientes analisados. A investigação de um número maior de pacientes se faz necessária para se chegar a resultados mais conclusivos. Suporte Financeiro: CNPq

035

Características socioeconômicas dos pacientes com doenças falciformes provenientes do estado do Rio Grande do Norte e principais dificuldades relatadas para o tratamento e acompanhamento da sua condição clínica

Fernandes TA^{1,2}, Alves JJ³, Bezerra CM³, Esteves MA⁴, Silva AT⁴, Serafin ES⁴, Sonati MF², Medeiros TM³

¹Universidade do Estado do Rio Grande do Norte

²Universidade Estadual de Campinas

³Universidade Federal do Rio Grande do Norte

⁴Hemocentro Dalton Barbosa Cunha

As doenças falciformes se caracterizam por apresentarem um alto índice de morbi-mortalidade. Inúmeros fatores parecem influenciar a evolução da doença, sejam eles genéticos, sociais ou comportamentais. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo analisar as características sócio-econômicas dos pacientes com doenças falciformes provenientes do estado do Rio Grande do Norte, bem como identificar as principais dificuldades relatadas para o tratamento e acompanhamento da sua condição clínica. Foram entrevistados 146 pacientes falcêmicos não aparentados que se dirigiram aos Centros de Referência em Hematologia das cidades de Natal e Mossoró para acompanhamento da sua condição clínica. Aplicou-se um questionário padronizado, destinado a obtenção dos dados demográficos e sócio-econômicos, histórico clínico e impressões dos pacientes sobre as principais dificuldades em realizar o tratamento recomendado pelo clínico. Dentre os participantes, 72 (49,3%) eram do sexo masculino e 74 (50,7%) do feminino. Suas idades variaram de 3 meses a 48 anos e a etnia autodeclarada da maioria dos pacientes foi a parda

(65,8%). Significativo percentual (44,5%) deles moravam em municípios do interior do estado, distantes no mínimo 60 km dos Centros de Referência em Hematologia, e a renda familiar predominante foi a de até um salário mínimo. O grau de instrução da maioria (50%) dos responsáveis pelos menores chegava a, no máximo, ensino fundamental completo. Entre os pacientes maiores de idade, 48,1% tinham o ensino médio completo ou superior e 38,5% apresentavam no máximo o ensino fundamental. Quando indagados sobre o recebimento de auxílio financeiro por parte do governo federal, 92 (63%) relataram receber algum benefício, sendo o BPC-LOAS o principal auxílio recebido (34,2%). No entanto, 36,3% dos pacientes não recebiam qualquer auxílio financeiro. 72 (49,3%) indivíduos responderam que apresentavam limitações para fazer o tratamento/acompanhamento clínico recomendado, sendo a aquisição dos medicamentos prescritos e o deslocamento para os centros de referência as principais dificuldades relatadas. A grande maioria (81,5%) se declarou bem informado a respeito da doença, sendo o médico a principal fonte de educação dos pacientes sobre a sua patologia. 41,8% dos pacientes faziam uso regular de hidroxiuréia, principalmente quando apresentavam o genótipo HbSS, ou quando se enquadravam na faixa etária dos 21 anos ou mais. As idades médias de diagnóstico da doença foram de 1, 2,9 e 8,9 anos, respectivamente, para os indivíduos das faixas-etárias de até 10, 11-20 e ≥ 21 anos. No que se refere à utilização de medidas preventivas, 122 (83,6%) relataram já terem tomado vacinas anti-pneumocócicas/meningocócicas e 109 (74,7%) fizeram administrações periódicas de penicilina. Estes dados indicam que considerável parcela dos pacientes apresentam baixas condições sócio-econômicas, não recebem o devido auxílio dos órgãos governamentais e relatam dificuldades em fazer o tratamento e acompanhamento clínico da doença. Diante disso, faz-se necessária a implementação de políticas públicas efetivas que possibilitem aos pacientes falciformes o devido acesso a medidas efetivas para o controle/tratamento de sua condição. Suporte Financeiro: CNPq

036

Plasmaférese e corticoterapia em síndrome hemolítico-urêmica típica

Franco PO¹, Goncalves NN¹, Delagnese RM¹, Pereira LP^{1,2}, Goncalves L¹, Bressa JA^{1,2}, Bressa RC^{1,2}, Souza KJ^{1,2}

¹Hospital Regional de Presidente Prudente

²Universidade do Oeste Paulista

Introdução: A síndrome hemolítico urêmica (SHU) consiste em uma tríade de anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia e insuficiência renal aguda. A forma mais comum da doença, 90%, a chamada forma típica (tSHU), é a clássica infecção pela *Escherichia coli* do grupo STEC (shiga toxin-producing *E. coli*). A tSHU é mais comum entre crianças, que após infecção pela *E. coli*, geralmente, cursam com diarreia, e cerca de uma semana depois, 10-15%, desenvolverão SHU. O restante dos casos, constituem formas atípicas (aSHU), relacionadas a uma variedade de causas, como outros agentes infecciosos não STEC. Além, das aSHU classificadas como primárias, causadas por uma desregulação no sistema complemento, concernentes à maioria dos casos. O tratamento na tSHU costuma ser apenas de suporte intensivo, na maioria dos casos. Diferentemente, na aSHU, há mais opções terapêuticas na literatura, como: plasmaférese, corticoterapia e drogas como eculizumabe. **Objetivo:** Mostrar um caso de paciente com diagnóstico clínico de tSHU que se beneficiou de plasmaférese e corticoterapia. **Relato de Caso:** V.S, 38 anos, feminino, internada dia 05/12/12 com quadro de diarreia sangüinolenta, vômitos e febre há 5 dias, quando percebeu surgimento manchas pelo corpo e mudança da cor da pele. Nega casos semelhantes na família. É hipertensa e gastrectomizada há 4 anos. Exame físico: icterícia, com petéquias difusas. PA: 110/80, FC: 80 FR: 20. Exames laboratoriais: Hb=9,8, com esquizocitose, PLQ: 19.000, Cr: 3,46, U: 123, DHL: 1569. A paciente foi inicialmente conduzida com terapia de suporte: hidratação,

antibióticos e correção de eletrólitos. Com a piora do quadro clínico e laboratorial, optou-se por iniciar plasmaférese dia 07/12/12. Num total de 25 sessões. Foi instituído também corticoterapia em alta dose. A paciente teve evolução favorável com normalização da função renal, sem diálise, e correção da anemia e da plaquetopenia. **Discussão:** Este relato mostrou o caso de uma paciente adulta com quadro diarreico que evoluiu para uma SHU. Dados da literatura mostram que a tSHU é mais comum em crianças, e na maioria do caso vem precedida por um episódio diarreico por STEC. Este caso foi abordado inicialmente como tSHU. A paciente foi tratada apenas com terapia de suporte e antibioticoterapia. Na literatura, para o tratamento da tSHU não há nada específico, somente suporte clínico e diálise, em alguns casos. O uso de antibiótico na fase diarreica mostrou-se prejudicial na maioria dos casos, porém, na fase estabelecida da SHU, necessita de estudos mais assertivos. Quanto a plasmaférese em pacientes adultos, há certa evidência favorável, porém, com estudos não controlados. Quanto ao eculizumabe, não há evidências suficientes para indicá-lo na tSHU. Corticóides e anticoagulantes, ídem. Com a evolução desfavorável da paciente em questão, optou-se por iniciar, no 2º dia de internação a plasmaférese e plasma fresco congelado (PFC). Estudos recomendam plasmaférese associada ao PFC como primeira linha de tratamento na aSHU. Corticóide em alta dose também é indicado. Estudos multicêntricos em andamento, e relatos de caso têm preconizado o uso do eculizumabe como terapia de resgate em pacientes não responsivos a outros métodos. O que não foi necessário neste caso, pela boa resposta da paciente. **Conclusão:** Apesar de a paciente ter tido um quadro clínico compatível com tSHU, respondeu bem à plasmaférese e corticoterapia.

037

AVC extenso em criança com doença falciforme: relato de caso

Braga RG¹, Caldas RM², Martins JL¹, Assis CL¹, Manicoba PE¹, Melo TM¹, Amaral NB¹, Freitas HB¹, Melo JM¹, Dornelas IM¹, Caldas RM²

¹Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba

²Universidade Federal da Paraíba

Introdução: A doença falciforme (Hb SS e interações com outras hemoglobinopatias e talassemias) é a principal enfermidade genética da população brasileira, se manifestando com lesões em vários órgãos, causando elevada morbidade e mortalidade. A causa mais comum de acidente vascular cerebral (AVC) na infância é a anemia falciforme, o homozigoto da hemoglobina S ou Hb SS. A vasculopatia tem a maior importância no desenvolvimento da criança e na qualidade de vida. A causa dos AVCs na doença é heterogênea. Infartos predominam em crianças, hemorragias em adultos. O subtipo mais comum de infarto é o de zona de fronteira arterial entre os territórios da artéria cerebral anterior e artéria cerebral média. **Objetivo:** O objetivo do presente trabalho é relatar um caso clínico de AVC extenso em criança portadora de doença falciforme. **Relato de Caso:** KMSS, masculino, 13 anos e 4 meses, pardo, portador de anemia falciforme apresentou quadro de convulsão tônico-clônica generalizada com necessidade de suporte em terapia intensiva. Durante a internação em UTI, apresentou hemiparesia esquerda e ausência de resposta à solicitações verbais. Ao exame físico, o paciente apresentava estado geral comprometido, hipotonia esquerda, postura atípica, fâscies atípica, consciência preservada, palidez, frequência respiratória de 26rpm, tórax simétrico, murmúrio vesicular rude em ambos hemitórax, bulhas cardíacas hiperfonéticas com ritmo irregular, frequência cardíaca de 100bpm, abdome flácido e diminuição da força e mobilidade em membros esquerdos. Foi solicitada uma ressonância magnética do encéfalo que evidenciou múltiplas áreas de eventos isquêmicos agudos/subagudos acometendo o parênquima encefálico supratentorial; Imagem linear de hipersinal em T1 e FLAIR preenchendo o sulco da região perirrolândica direita, que pode estar relacionada a pequena hemorragia subaracnóide (HSA) e alteração na caracterização do flow

void habitual de artéria carótida interna direita. O sangue periférico, inicialmente, apresentou 8,1 g/dl, R.D.W de 24,1%, leucócitos totais 17.100/mm³, segmentados 75% (12.825/mm³), plaquetas 644mil/mm³. Contagem de reticulócitos 15,9%, bilirrubina direta 1.0 mg/dl, bilirrubina indireta 0.9mg/dl e bilirrubina total 1.9mg/dl. Durante a internação, o paciente sofreu infecções do trato urinário por agentes etiológicos distintos, se alimentando por fórmula via SOG, realizou hidratação venosa, fez uso de lufal, vancomicina, meropenem, fenitoína, dipirona, hidrato de cloral 20%, decadron, ácido fólico e omeprazol. Foi solicitado acompanhamento multidisciplinar com o neuropediatra, hematologista, fonoaudiologista e fisioterapeuta. **Conclusão:** Diante da gravidade da complicação relatada, deve-se destacar a importância da realização do Doppler transcraniano (DTC) como medida de prevenção primária de rotina para o AVC nas crianças com doença falciforme, uma vez que tais eventos e consequente danos podem ser evitados através do reconhecimento precoce de pacientes com fatores de risco para o desenvolvimento de AVC através do DTC.

038

Pulmonary pathological findings in autopsies of sickle cell disease patients in Brazil

Fonseca GH¹, Rasse GA², Souza R², Suganuma LM¹, Aiello VD³, Gualandro SF¹, Mauad T⁴

¹University of São Paulo Medical School

²Heart Institute -Pulmonary Department - University of São Paulo Medical School

³Heart Institute - Pathology Department - University of São Paulo Medical School

⁴Pathology Department - University of São Paulo Medical School

Pulmonary diseases are the leading cause of mortality in Sickle cell disease (SCD). Pulmonary hypertension (PH) affects up to 10% of all patients and it is associated with higher mortality. Current approach includes SCD associated PH among classic pulmonary arterial hypertension (PAH), based on previous reports of finding pathognomonic plexiform lesion in SCD lung. We describe lung pathological findings of SCD patients in a large autopsy setting of 60 years in São Paulo, Brazil. **Methods:** One hundred and one cases with the autopsy diagnosis of SCD were identified in the period 1950-2011. We excluded cases without material, with other lung pathology (cancer, HIV infection), children younger than 10 years or patients diagnosed as sickle-cell trait. We evaluated 56 cases, 24 had Hb phenotyping and 14/24 had functional lung studies. **Results:** Mean age was 31 years, ranging from 10 to 64 years, with a gender ratio of 1:1. In 31 cases we had information allowing genotypic classification, with 19 cases with SS disease, 8 with SC disease and 4 with S β 0 thal. In 25 cases we have enough information to infer the diagnosis of SCD, without genotypic classification. Acute vascular changes such as recent thrombosis (87.5%), extreme congestion (98.2%), lung edema were very frequent in these patients. Angioma-like lesions were observed in 82.1%. Constrictive arteriopathic changes were observed in up to 68% of the cases. A single case presented a small plexiform lesion (SS female patient with severe iron overload, hepatitis C and cirrhosis). **Conclusion:** Pulmonary vascular changes are very frequent in deceased SCD patients, comprising both acute and chronic vasculopathies. Noteworthy is the rarity of plexiform lesions in this setting, as compared to those seen in idiopathic PAH. The current classification on pulmonary hypertension (Dana Farber 2009) includes SCD among classic pulmonary arterial hypertension. Our findings supports a multifactorial pathological mechanism in SCD-associated PH and reinforces the necessity of reappraisal of approach and classification.

039

Aloimunização em pacientes com anemia falciforme no Hemocentro de Caruaru-PE

Melo WE¹, Fraga AF¹, Lima WM¹, Pires ES², Torres MJ², Esteves FA^{1,3}, Torres MD²

¹Faculdade ASCES

²Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco - Hemope Caruaru

³Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA - UFPE

Introdução: A aloimunização é uma resposta imunológica decorrente da incompatibilidade entre os antígenos do doador e do receptor, sejam estes de órgãos ou tecidos, como o sangue. Pacientes com anemia falciforme necessitam de transfusões de sangue, porém estas podem levar à aloimunização, desencadeando uma resposta imune de grau variado proporcional à imunogenicidade e dose do antígeno incompatível, podendo levar a reações transfusionais severas, inclusive o óbito nestes pacientes. O desenvolvimento de anticorpos irregulares em pacientes politransfundidos é comum, desta forma, medidas devem ser tomadas, como a fenotipagem eritrocitária do doador, para diminuir o risco de aloimunização e reações transfusionais hemolíticas, aumentando a eficácia transfusional nesse grupo de indivíduos.

Objetivo: Estabelecer a frequência de aloimunização eritrocitária de pacientes com anemia falciforme atendidos pelo Hemope Caruaru.

Métodos: Estudo de abordagem descritiva e analítica, transversal retrospectiva de prevalência, com base em dados oriundos de prontuários médicos. A informação sobre a aloimunização foi obtida dos resultados da pesquisa e identificação de anticorpos irregulares, por meio do painel de hemácias fenotipadas nos pacientes com anemia falciforme atendidos pelo Hemope - Caruaru, no período de janeiro de 1987 a dezembro de 2012. Foram incluídos no estudo os pacientes nos quais constava no prontuário médico a realização da pesquisa de anticorpos irregulares e excluídos os que não apresentavam esta informação. A tabulação dos dados foi realizada por meio de planilhas do programa Excel 2007, Microsoft Office®. **Resultados:** Dos 55 pacientes com anemia falciforme acompanhados, 32 haviam realizado o exame. O desenvolvimento de anticorpos irregulares foi identificado em 11 dos 32 pacientes, representando uma taxa de aloimunização de 34%. Seis pacientes apresentaram mais de um anticorpo irregular. Foram identificados 20 anticorpos irregulares, sendo eles: anti-C, 5 (25%); anti-E, 5 (25%); anti-K, 3 (15%); anti-D, 1 (5%); anti-C^w, 1 (5%); anti-Fy^a, 1 (5%); anti-Jk^a, 1 (5%); anti-S, 1 (5%); anti-Le^a, 1 (5%) e anti-Le^b, 1 (5%). Todos os anticorpos diagnosticados foram da classe IgG. **Discussão:** A frequência de aloimunização encontra-se em concordância com a literatura, onde as taxas variam de 12 à 50%. A maior ocorrência de aloanticorpos foi contra os antígenos dos sistemas Rh e Kell, dados identificados também por outros autores. Estes sistemas contêm antígenos altamente imunogênicos. Os anticorpos anti-C e anti-E, ambos direcionados contra o sistema Rh, corresponderam a 50% dos anticorpos identificados, sendo 25% em cada. O anti-K, direcionado contra o sistema Kell, que é o terceiro grupo de antígenos eritrocitários mais imunogênico, correspondeu a 15% dos anticorpos encontrados. **Conclusão:** Aumentar o quantitativo de doadores e pacientes com fenotipagem eritrocitária será benéfico não só para os pacientes com anemia falciforme, mas para toda a população que faça uso de transfusões em regime crônico, contribuindo para reduzir a aloimunização e o número de reações transfusionais hemolíticas. Obteremos melhora na qualidade da hemoterapia e da segurança transfusional na nossa região, influenciando positivamente na qualidade de vida dos pacientes politransfundidos.

040

Hemoglobina C em homozigose – relato de casoFranchini CA¹, Ferreira TZ¹, Frezzato C¹, Cavalcante SC¹, Sandes AF¹, Pintão MC¹¹Grupo Fleury

Introdução: A hemoglobinopatia C (HbC) está associada a uma mutação que leva à substituição do ácido glutâmico pela lisina na posição seis da cadeia beta da hemoglobina. Cerca de 1% da população mista do Sudeste do Brasil é portadora da HbC. No estado heterozigoto esta condição é assintomática. Entretanto, o indivíduo homozigoto para a mutação (HbCC) apresenta hemólise crônica, com sinais e sintomas associados. A análise do esfregaço de sangue periférico mostra, além dos achados inespecíficos associados à hemólise, alterações típicas que, quando identificadas, podem ajudar a direcionar o diagnóstico.

Relato de Caso: Relatamos o caso de uma paciente de 45 anos, sexo feminino, cujo diagnóstico de HbCC foi feito a partir dos achados morfológicos de sangue periférico. A amostra foi encaminhada para realização de hemograma. A contagem automatizada foi feita no equipamento XT2000 (Sysmex - Roche) e a microscopia óptica com coloração de Leishman e visualização no Cellavision (Sysmex). Na análise automatizada da série vermelha os resultados foram: dosagem de hemoglobina 10,9 g/dL (valor de referência: 12,0 a 15,5 g/dL); hematócrito 29,1% (valor de referência: 35,0 a 45,0 %); volume corpuscular médio 82,4 fL (valor de referência: 82,0 a 98,0 fL); hemoglobina corpuscular média 30,9 pg (VR: 26,0 a 34,0 pg); RDW: 15,6% (valor de referência: 11,9 a 15,5%). A contagem de reticulócitos foi 91.700/mm³ (VR: 22.000 a 94.000/mm³) e a fração de reticulócitos imaturos 35,3% (VR: 2,1 a 14,9%). Evidenciou-se, portanto, discreta anemia normocítica e normocrômica, sugestivos de hemólise. A avaliação morfológica do sangue periférico mostrou a presença de eritroblastos circulantes (19 em 100 leucócitos), acentuada poiquilocitose e presença de hemácias em alvo. Adicionalmente, observou-se a presença de numerosas hemácias com cristais romboides característicos da hemoglobina C. Diante deste achado, foi realizada eletroforese de hemoglobina em capilar (Capillarys®- SEBIA) e cromatografia líquida de alta performance – HPLC (Variant®II - Biorad) que mostraram a presença de >95,0% de hemoglobina C. **Discussão:** A HbCC é rara e está associada a anemia hemolítica, com hemoglobina total oscilando entre 9 e 12 g/dL. A maioria dos indivíduos é oligossintomática, porém esplenomegalia e litíase biliar são frequentes. Os cristais de hemoglobina detectados nas hemácias correspondem, geralmente, a toda a hemoglobina da célula precipitada, fazendo com que, a parte o cristal, a célula pareça vazia. Apesar de ser uma condição silenciosa em indivíduos heterozigotos, a herança da hemoglobina C em associação a hemoglobina S está relacionada a um quadro clínico severo, típico da anemia falciforme. Desta forma, o aconselhamento genético é recomendável aos pacientes com hemoglobinopatia C. O reconhecimento dos achados de sangue periférico pode direcionar o clínico e ajudar no reconhecimento precoce da doença.

041

Influência de polimorfismos da região HMIP e do gene BCL11A nos níveis de hemoglobina fetal de pacientes com anemia falciformeLeonardo FC¹, Menzel S², Brugnerotto AF¹, Albuquerque DM¹, Fertrin KY¹, Bezerra MA³, Araújo AS⁴, Saad ST¹, Costa FF¹, Thein SL², Conran N¹¹Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue - Hemocentro - Universidade Estadual de Campinas²King's College London School of Medicine, London UK³Universidade Federal de Pernambuco⁴Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco - Hemope

A produção da hemoglobina fetal (HbF) pelas células de linhagem eritróide é um fator modulador significativo no quadro clínico de pacientes com anemia falciforme (AF). A presença de HbF nas células vermelhas pode inibir a polimerização da HbS, que causa a falcização das hemáceas. Estudos recentes indicam que a variação na produção de HbF se deve a herança de traços genético quantitativos. Três loci genéticos contribuem para a variabilidade na produção de HbF em indivíduos europeus: o sítio XmnI⁹ γ no cromossomo 11p15 contribui para 10% da variação; o locus *BCL11A* no cromossomo 2 contribui 15% da variação; e o locus HMIP na cromossomo 6q contribui 19% (Creary et al., 2009). O efeito do locus HMIP (região intergênica *HBS1L-MYB*) na produção de HbF foi observado também em pacientes AF de ascendência africana (Creary et al., 2009). Polimorfismos no gene *BCL11A* estão fortemente correlacionados com a expressão de HbF, pois sua expressão reduz os níveis de HbF no processo de “switching” de hemoglobinas (Sankaran et al., 2008). No único estudo realizado com pacientes AF brasileiros, foi encontrada uma associação entre os níveis de HbF, crises de dor e alguns polimorfismos nos loci *BCL11A*, *HMIP* e beta globina (Lette et al., 2008). O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de polimorfismos do *HMIP* e do *BCL11A* na produção de HbF nos pacientes com anemia falciforme de duas populações de pacientes falciformes brasileiros. Para isto, analisamos a frequência de um polimorfismo no gene *BCL11A* (rs 11886868) e quatro SNPs da região intergênica *HMIP* (rs 9376090, rs 9399137, rs 9389269 e rs 9402686). Foram recrutados 221 pacientes AF (16-68 anos) nos ambulatórios de Hemoglobinopatias do Hemocentro da UNICAMP e da Fundação HEMOPE de Recife. Pacientes que apresentaram o polimorfismo XmnI⁹ γ foram identificados e excluídos da análise, já que este polimorfismo influencia os níveis de HbF. Todos os polimorfismos foram genotipados pela metodologia de Taqman®. Os níveis de HbF foram quantificados por HPLC (Variant™, Bio-Rad Laboratories, USA) em amostras de sangue total. Para os pacientes em uso de Hidroxiuréia utilizamos os valores de HbF adquiridos anteriormente ao início do tratamento. A associação de níveis de HbF com os polimorfismos foi analisada por regressão linear (SPSS v.15) incluindo idade e sexo como covariados. Em todos os SNPs estudados observamos que os indivíduos homozigotos para o alelo recessivo apresentaram maiores níveis de HbF. A variância dos níveis de HbF devido ao polimorfismo rs9376090 foi de 7,7% (b= 0,284; p = 2,61x 10⁻⁵), do rs9376090 foi de 7,7% (b= 0,284; p = 2,61x 10⁻⁵), do rs9399137 foi de 7,8% (b= 0,283; p = 4,82 10⁻⁵), do rs9389269 foi de 8% (b= 0,291; p = 2,18 x10⁻⁵), do rs9402686 foi de 9% (b=0,298; p = 1 x10⁻⁵) e do rs11886868 foi de 7,4% (b= 0,195; p = 0,021). Nossos resultados confirmam que a região intergênica *HBS1L-MYB* e o gene *BCL11A* são importantes determinantes dos níveis de HbF nas populações de pacientes falciformes estudadas. Aparentemente, a miscigenação da população brasileira levou há uma maior incidência de haplótipos europeus, quando comparamos as frequências dos polimorfismos à população falciforme europeia e da Tanzânia. A presença destes polimorfismos mostrou ter um efeito significativo nos níveis de HbF, apresentando prováveis efeitos clínicos benéficos.

042

Hemoglobina glicada falsamente baixa – relato de casoRodrigues SB¹, Kamei CY¹, Meirelles RD¹, Cavalcante SC¹, Pintão MC¹, Bezerra MG²¹Setor de Hematologia, Grupo Fleury²Setor de Endocrinologia, Grupo Fleury

Paciente do sexo feminino, 28 anos, sem história de diabetes mellitus (DM) e com glicemia de jejum de 86 mg/dL (valor de referência 75 a 99 mg/dL). Teve sua amostra encaminhada para avaliação da porcentagem de hemoglobina glicada (HbA1c). Foi realizada, inicialmente, a dosagem pela metodologia de imunoensaio de inibição tubidimétrica (COBAS®, Roche). A dosagem ficou abaixo da curva de

linearidade do equipamento e, portanto, nenhum resultado foi gerado (valor de linearidade: 3,6 a 18,8%). Foi então realizada, na mesma amostra, dosagem pela metodologia de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) dedicada à determinação da concentração da HbA1c (G8 Analyser, Tosoh Bioscience). A fração de HbA1c detectada foi de 2,4% (valor de referência 4% a 6%), confirmando os baixos valores estimados pelo primeiro teste. Para avaliar a existência de hemoglobina anômala que pudesse interferir neste resultado, a amostra foi analisada por eletroforese capilar (Capillarys®, Sebia), HPLC dedicada a pesquisa de hemoglobinas variantes (VARIANT®II, BioRad) e eletroforese ágar gel de pH alcalino e ácido. Na eletroforese capilar foram detectadas, além das frações de hemoglobina A (94% da fração total) e hemoglobina A2 (3,5%), duas frações anômalas, uma se sobrepondo à hemoglobina A e a outra com mobilidade mais rápida que a hemoglobina A2, correspondente a 2,5% do total. Em ágar gel pH alcalino, as mesmas hemoglobinas migraram entre as frações S e A2/C e na eletroforese em ágar gel pH ácido, uma delas migrou com hemoglobina A e a outra entre as hemoglobinas A e Fetal. Na HPLC o tempo de retenção das frações anômalas foi de 4,66 e 4,90 minutos. Este conjunto de resultados sugere a presença de uma hemoglobina variante cuja caracterização exige investigações adicionais. Entretanto, pela posição e características das frações, não podemos atribuir a interferência na dosagem de HbA1c a esta hemoglobina. Avaliamos então a série vermelha que mostrou hemoglobina de 11,5 g/dL (valor referência 12,0 a 15,5g/dL), policromasia acentuada, elevação de reticulócitos (520.000/m³, valor referência 22.000 a 94.000/m³), e de bilirrubinas (bilirrubina direta 1,11, valor referência até 0,20mg/dL; bilirrubina indireta =1,23 mg/dL, valor referência 0,20 a 0,80mg/dL). Este conjunto de resultados é sugestivo de anemia hemolítica crônica, possivelmente associada à presença desta hemoglobina anômala. A dosagem da HbA1c é uma ferramenta diagnóstica valiosa para a avaliação a longo prazo do controle glicêmico. Sua elevação está diretamente relacionada ao risco de complicações relacionadas ao DM e sua dosagem reflete com mais precisão a média dos últimos dois a três meses da glicemia. A dosagem de HbA1c pode estar falsamente diminuída em pacientes com quadro de diminuição da meia vida das hemácias como ocorre nos indivíduos com hemoglobinopatia e quadro hemolítico crônico. A concentração de HbA1c está diretamente relacionada à meia-vida dos eritrócitos. Por este motivo, doenças hemolíticas reduzem significativamente os níveis de HbA1c, seja pela alteração na meia-vida das hemácias seja pela velocidade de formação da HbA1c. Neste caso, a dosagem de HbA1c de 2,4% seria equivalente a 22 mg/dL, o que não é compatível com o histórico da paciente. A avaliação cuidadosa dos resultados laboratoriais e investigação adicional permitiu, neste caso, o esclarecimento dos resultados obtidos para esta paciente.

043

Aconselhamento genético na anemia falciforme: educar para conscientizar

Marins JB¹, Alencar LC¹, Abreu KC¹, Guimarães TG¹, Neto CP¹, Martins BL¹, Ribeiro MD¹, Junior SR¹, Dumont SV¹, Nicolau DI¹

¹Universidade Federal do Maranhão

Introdução: A Doença Falciforme é uma alteração genética, caracterizada por um tipo de hemoglobina anormal designada hemoglobina S (HbS), que provoca a distorção dos eritrócitos, fazendo-os ter a forma de "foice". Segundo a OMS a cada ano nascem no Brasil cerca de 2500 crianças portadoras dessa doença, sendo que desta 20% não atingirão os 5 anos de idade. O diagnóstico precoce e terapia adequada são essenciais para se reduzir a morbimortalidade nessas crianças. Para diagnóstico com segurança é necessário conhecer a forma de herança da doença falciforme. O aconselhamento genético surge com a proposta de apoiar, fornecer uma base as pessoas que apresentam risco de gerar filhos com síndromes falciformes. Os profissionais devem ser habilitados e respeitar os padrões éticos dessa

assistência que visa permitir a tomada de decisões consistentes e equilibradas a respeito da procriação. **Objetivo Geral:** Discutir os principais aspectos relacionados ao aconselhamento genético. **Objetivos Específicos:** Compreender quando se deve fornecer o aconselhamento; Reforçar o desenvolvimento da comunicação nos profissionais; Discriminar aspectos éticos, psicológicos e sociais relacionados ao aconselhamento genético. **Métodos:** Trata-se de um estudo feito através de uma revisão de literatura de artigos e manuais publicados no período de 2002 a 2012, voltados para a questão do aconselhamento genético na doença falciforme, com enfoque na assistência e ação profissional. **Discussão:** O principal objetivo desse artigo é conscientizar, porém permitir o direito de escolha individual. Deve ser realizado mediante o diagnóstico preciso da doença falciforme. As orientações são voltadas para o público que demonstre interesse, esteja na idade reprodutiva e quando houver possibilidade de optar de forma equilibrada sobre a procriação. O foco não são apenas os riscos genéticos, mas também o tratamento disponível, o sofrimento físico, social, o prognóstico e o diagnóstico precoce. A abordagem deve ser adequada ao nível de escolaridade e socioeconômico do público alvo, fazendo com que conceitos como dominância, recessividade, probabilidade, genes sejam compreendidos permitindo a tomada de decisão. Pode-se trabalhar com cartões marcados com as letras A e S, onde uma mudança no tamanho do cartão indica recessividade e a mudança na cor normalidade ou não. Os profissionais devem ter conhecimento do impacto das possíveis mudanças na vida das pessoas, agir de forma multidisciplinar e respeitar os princípios éticos: autonomia, privacidade, justiça, igualdade e qualidade, assegurando assim uma assistência correta. O aconselhamento não é eficaz apenas quando o casal opta por não ter filhos, se este procurar o serviço para se realizar diagnóstico precoce, iniciar a terapêutica o objetivo foi atingido. **Conclusão:** O aconselhamento genético deve ser oferecido sempre que necessário, como ação educativa buscando nortear as pessoas a respeito da procriação, ajudando-as a entender como a hereditariedade pode contribuir para o risco ou ocorrência de doenças genéticas. Este serviço é de fundamental importância por fornecer subsídio para os indivíduos, famílias realizarem suas escolhas de forma consciente.

044

Anemia falciforme: seria a idade um fator de risco para aloimunização?

Torres MD¹, Melo WE², Fraga AF², Pires ES¹, Torres MJ¹, Lima WM², Esteves FA^{2,3}

¹Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco - Hemope Caruaru

²Faculdade ASCES

³Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA - UFPE

Introdução: A anemia falciforme (AF) é uma hemoglobinopatia que provoca modificações físicas e químicas na hemácia tornando-a mais rígida e menos deformável. Em situações de hipoxemia, polimeriza-se, tomando forma de foice. Os pacientes com AF apresentam anemia hemolítica contínua pela destruição dos eritrócitos pelo baço. Cerca de 50% dos pacientes com AF recebem transfusão de hemácias em algum momento da vida, e 5% a 10% entram no programa de transfusão crônica. Porém estas transfusões expõem ao risco transfusional, como aloimunização, fato que se agrava ao aumentar o número de transfusões. **Objetivo:** Estabelecer a frequência de aloimunização eritrocitária e correlacioná-la à faixa etária em pacientes com anemia falciforme atendidos pelo Hemope Caruaru. **Métodos:** Estudo descritivo, transversal retrospectivo de prevalência, baseado em dados oriundos do prontuário médico. As informações sobre a aloimunização foram obtidas dos resultados da pesquisa de anticorpos irregulares (PAI) e por meio do painel de hemácias fenotipadas nos pacientes com anemia falciforme acompanhados no Hemope Caruaru, no período de janeiro de 1987 a dezembro de 2012. Os dados foram tabulados

em planilhas do programa Excel 2007 (Microsoft Office®) e analisados estatisticamente através do software R, utilizando o Teste Exato de Fisher e *Odds Ratio* (OR). **Resultados:** Trinta e dois pacientes com AF realizaram a PAI, destes, 11 estavam aloimunizados, representando uma taxa de aloimunização de 34%. Em indivíduos na faixa etária de 0 a 19 anos, a taxa de aloimunização foi de 27,27% (3 pacientes), de 20-39, 36,36% (4) e em ≥ 40 , 36,36% (4). A distribuição de pacientes não-ímmunes por faixa etária foi: 0 a 19 anos, 66,6% (14 pacientes), de 20-39, 28,77% (6) e em ≥ 40 , 4,76% (1). Para análise estatística, foram considerados os 32 pacientes, ímmunes e não-ímmunes e as faixas etárias descritas anteriormente. Assim sendo, foi realizada uma análise de frequência entre estas categorias, por meio da aplicação de testes estatísticos. Ao comparar as faixas de 0-19 e 20-39 (OR 3,1; Intervalo de Confiança 95%: 0,5-18,3; valor de $p=0.3$) e 20-39 e ≥ 40 anos (OR 3,0; Intervalo de Confiança 95%: 0,4-75; valor de $p=0.2$), não foram observadas diferenças estatísticas significantes nestas duas faixas. Porém, ao analisar as faixas de 0-19 com ≥ 40 anos, observou-se que indivíduos com idade igual ou superior a 40 anos possuíam risco relativo significativo de 4,1 vezes mais chance de serem aloimunizados que os pacientes com idade inferior a 19 anos (OR 4,1; Intervalo de Confiança 95%: 1,5-232; valor de $p=0.02$). **Discussão e Conclusão:** Em concordância com a literatura, observamos maior taxa de aloimunização em indivíduos com AF de maior idade. Sabe-se que hemocomponentes fenotipados são importantes para a qualidade da hemoterapia. No Hemocentro de Caruaru este procedimento foi implantado em 2005 em doadores de sangue, o que poderia justificar as menores taxas na população mais jovem no Hemope Caruaru, tendo em vista que já fazem 8 anos que o Hemope oferece este hemocomponente. Os resultados demonstram a importância que a administração de concentrados de hemácias fenotipadas compatível para estes indivíduos pode reduzir os índices de aloimunização, tendo em vista que até 10% dos pacientes com AF entram no programa de transfusão crônica.

045

Anemia falciforme: correlação entre aloimunização e unidades de concentrados de hemácias transfundidas no Hemope Caruaru

Fraga AF¹, Melo WE¹, Pires ES², Torres MJ², Esteves FA^{1,3}, Torres MD²

¹Faculdade ASCES

²Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco - Hemope Caruaru

³Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami - LIKA - UFPE

Introdução: A terapia transfusional com concentrados de hemácias (CH) é uma conduta necessária no tratamento e prevenção de complicações na anemia falciforme (AF), pois diminui a porcentagem de hemoglobina S, aumenta o nível de hematócrito, melhorando a oxigenação tecidual e o fluxo de sangue na microcirculação, prevenindo os fenômenos vasoclusivos e suas principais sequelas. Contudo, as transfusões sanguíneas levam ao risco de aloimunização devido à incompatibilidade de antígenos eritrocitários, que poderiam ser evitadas por meio da transfusão de hemocomponentes fenotipicamente compatíveis. **Objetivo:** Estabelecer a frequência de aloimunização eritrocitária e correlacioná-la ao número de unidades de concentrados de hemácias administradas em pacientes com anemia falciforme atendidos pelo Hemope Caruaru. **Métodos:** Estudo descritivo, transversal retrospectivo de prevalência, com dados de atendimentos no período de janeiro de 1987 a dezembro de 2012, com base em dados oriundos do prontuário médico, como as informações sobre a quantidade de unidades de concentrados de hemácias transfundidas. Os resultados relativos à aloimunização nos pacientes com anemia falciforme foram obtidos através da pesquisa de anticorpos irregulares (PAI) e por meio do painel de hemácias fenotipadas, nos pacientes com anemia falciforme atendidos pelo Hemope Caruaru.

Estas informações foram tabuladas em planilhas do programa Excel 2007 (Microsoft Office®) e analisadas estatisticamente através do software R, utilizando o Teste Exato de Fisher e *Odds Ratio* (OR). **Resultados:** Dos 55 pacientes acompanhados, 32 realizaram a PAI, onde 11 desenvolveram aloanticorpos, representando uma taxa de aloimunização de 34%. No período analisado foram transfundidas um total de 443 unidades de CH nestes indivíduos, representando uma média global de 13,84 unidades/paciente, variando entre 0 e 84 unidades. Entre os indivíduos transfundidos com CH, 21 receberam de 01 até 10 unidades de CH e destes, 04 desenvolveram algum anticorpo; 11 pacientes receberam mais que 10 CH e destes, 07 se tornaram aloímmunes. Observou-se que houve uma maior proporção de aloimunizados entre os que receberam mais que dez transfusões. Categorizamos todos os indivíduos em dois grupos, Grupo 1: indivíduos que receberam até 10 CH e Grupo 2: indivíduos que receberam mais que 10 CH. Calculado o OR, constatou-se relação de maior risco de aloimunização nos indivíduos que receberam um número de transfusões acima de 10 unidades, representando uma chance de 7,4 vezes maior em desenvolver algum aloanticorpo (OR 7,43; Intervalo de Confiança 95%: 1,44-38,41; $p=0,017$). Os aloimunizados receberam, em média, 26 transfusões de CH por paciente, enquanto que nos não aloimunizados a média foi de 7,47 transfusões/paciente. **Discussão e Conclusão:** Nossos dados, em concordância com a literatura, mostram que quanto maior o número de transfusões, maior o risco de aloimunização. Cerca de 50% dos pacientes com AF recebem transfusão de hemácias em algum momento da vida, e 5% a 10% entram no programa de transfusão crônica. Porém estas transfusões expõem a riscos transfusionais como aloimunização, fato que se agrava ao aumentar o número de transfusões. Com o acompanhamento adequado e terapia medicamentosa na AF, as transfusões de sangue tendem a diminuir, o que leva a um risco menor de aloimunização para os pacientes.

046

Sequestro hepático como complicação de síndrome torácica aguda na anemia falciforme

Mancilha EM¹, Guedes NR¹, Domingos MR¹, Lacerda MP¹, Souza GR¹, Mecabo G¹, Goncalves LM¹, Figueiredo MS¹

¹Universidade Federal de São Paulo

Introdução: No Brasil, 3,5mil crianças nascem a cada ano com doença falciforme, segundo o Ministério da Saúde. Dentre as inúmeras complicações relacionadas a essa doença há o sequestro hepático, que é uma complicação infrequente e por isso de difícil reconhecimento pelo clínico. O diagnóstico desta complicação é feita pela clínica de dor em hipocondrio direito, aumento agudo das dimensões do fígado, queda do hematócrito e aumento dos reticulócitos. **Relato de Caso:** NJS, 27 anos diagnóstico de anemia falciforme há 22 anos, internada em enfermaria há 15 dias por Síndrome Torácica Aguda associada a Crise algica. Inicia quadro de dor em hipocondrio direito e aumento súbito(9cm) na hepatimetria, sem causas colestatísticas aparentes ou descompensação volêmica. Os exames laboratoriais demonstravam queda no índices hemoglobina(5,9) e reticulocitose evidente (216000). A função hepática manteve-se estável durante a internação. Foi tratada inicialmente com suporte clínico, analgesia com opiáceo e submetida a transfusão de concentrado de hemácias de maneira lenta, acompanhada de monitorização rigorosa da volemia, porém mantendo níveis baixos de Hb. Após 2 semanas de tratamento transfusional e monitorização laboratorial rigorosa dos índices hematimétricos obteve regressão total do quadro, com retorno do fígado ao tamanho habitual e controle da dor. **Discussão:** Pacientes com anemia falciforme e em crise algica apresentam maior predisposição a apresentar quadro de sequestro hepático agudo, pois há falcização das hemácias pelo episódio algico e com isso maior propensão a oclusão venosa aguda da vascularização hepática. O diagnóstico diferencial inclui crise aguda de falcização hepática,colestase intra-hepática,colecistite,colecistite

e hepatite viral aguda. No caso em específico, a doente já havia sido colecistectomizada previamente (2007) e apresentava sorologias negativas o que contribui para a exclusão das demais causas de complicações hepáticas. O caso demonstra a necessidade da avaliação clínica e exame físico cuidadoso nos pacientes com anemia falciforme, pois esta é uma complicação que pode ser negligenciada pelo médico e necessita de atendimento imediato.

047

Análise dos portadores de síndromes falciformes acompanhados no Serviço de Hematologia do Centro de Hemoterapia e Hematologia do Espírito Santo (HEMOES)

Furtado AN¹, Motta J¹, Santos MD¹

¹Universidade Federal do Espírito Santo

Introdução: As Síndromes Falciformes (SF) são um grupo de anemias hemolíticas genéticas caracterizadas pela falcização dos eritrócitos quando desoxigenados. Os eritrócitos falcêmicos causam vaso-oclusão e disfunção endotelial vascular, além de serem propensos à hemólise. As principais manifestações clínicas da doença são episódios de crises de dor isquêmica aguda. Dentre as SF, destaca-se a Doença Falciforme (DF), que se manifesta na ocorrência do defeito genético em homozigose. O Serviço de Hematologia do Centro de Hemoterapia e Hematologia do Espírito Santo (HEMOES) é o centro de referência estadual no acompanhamento dos indivíduos portadores dessas doenças. **Objetivo:** Realizar uma análise dos portadores de SF acompanhados no HEMOES. **Métodos:** Trata-se de um estudo epidemiológico observacional descritivo transversal. A amostra foi composta pelos pacientes portadores de DF acompanhados no HEMOES, e os dados foram obtidos através da revisão dos prontuários desses pacientes. **Resultados:** Foram identificados 135 pacientes portadores de SF cadastrados no HEMOES. A média de idade dos indivíduos foi de 32,6 anos, sendo 37% dos pacientes do sexo masculino e 63% do sexo feminino. 9,6% dos pacientes foram classificados como brancos, 36,3% pardos e 17,8% negros. 3,7% dos indivíduos possuíam genótipo HbAS, 57,0% genótipo HbSS, 11,1% genótipo HbS-betaTalassemia, 19,3% genótipo HbSC e 0,7% genótipo HbCC.

048

AHAI a frio e linfoma não Hodgkin: relato de caso

Melo MK¹, Loureiro AD¹, Silva AM¹, Bairral BQ¹, Nogueira DS¹, Carvalho AP¹, Souza GR¹, Brasileiro KC¹, Chiba AK¹, Barros MM¹

¹Universidade Federal de São Paulo

Introdução: A doença da aglutinina a frio é uma anemia hemolítica causada por autoanticorpos da classe IgM que exibe máxima reação a 4°C, podem ser policlonal ou monoclonal, e no geral direcionada contra antígenos I/i de superfície do eritrócito. Ocorre em 13 – 15% dos casos de Anemia Hemolítica Auto-Imune (AHAI).^{1,2,3} Pode ser classificada como idiopática ou secundária a algumas doenças e outras condições, tais como infecção por *Mycoplasma pneumoniae*, mononucleose infecciosa e doenças linfoproliferativas, sendo na maioria dos casos relacionadas a linfomas Não- Hodgkin (LNH) de células B. Alguns estudos evidenciaram relação com alterações citogenéticas como trissomia 3 e t(8;22)^{4,5,6} Os sinais e sintomas são semelhantes aos da AHAI a quente, destacando-se nesses casos a acrocianose, principalmente após exposição ao frio. A seguir relatamos um caso com quadro inicial de anemia hemolítica sendo diagnosticado doença da aglutinina a frio, e a investigação revelou linfodomegalias cujo anátomo patológico evidenciou LNH de células T sem outras especificações (LNH T SOE). **Relato de Caso:** M.B.C, 62 anos,

sexo feminino, procurou atendimento médico por astenia e inapetência há cerca de 45 dias. Já havia sido avaliada em outro serviço e recebeu concentrado de hemácias e plaquetas naquela ocasião. Ao exame físico, apresentava-se sonolenta, hipocorada, petéquias em MMSS e linfonodomegalia cervical. Apresentou acrocianose evidenciada principalmente em quirodactilos. Hemograma (HMG) da admissão: Hb 4,2g/dL; Leucócitos 5310/mm³ e 11000 plaquetas/mm³, DHL 563U/L, reticulócitos 22,900/μL. Sorologias para Hepatite B, Hepatite C e HIV não reagentes. Durante a investigação clínica foi realizado teste de antiglobulina direta cujo resultado foi positivo para anti-C3c, anti-C3d, com também dificuldade para tipagem ABO/RhD pela aglutinação das hemácias. Pesquisa de Anticorpo irregular foi positiva, sendo identificado anti-K. Realizado biópsia de medula óssea (MO) e biópsia de linfonodo cervical cujo anatomopatológico evidenciou LNH T SOE com infiltração da medula óssea. Necessitou de transfusão de hemácias, sendo transfundida com unidades de concentrado aquecidas e fenotipadas, sem evidências de aumento de hemólise. Realizou Ciclofosfamida (C) 1g e prednisona (P) 60mg com proposta de controle de AHAI e cito redução até resultado definitivo de histopatológico. Após C + P, paciente apresentou hemoglobina sustentada com melhora das provas de hemólise, porém no seguimento, evoluiu com choque séptico de foco pulmonar e necessidade de suporte ventilatório invasivo sendo encaminhada a UTI, e em seguida, após estabilidade clínica, optamos por EPOCH com 75% da dose total. Evoluiu de forma desfavorável com disfunção de múltiplos órgãos seguido de óbito. **Conclusão:** As moléculas de IgM causadoras da anemia hemolítica autoimune por aglutininas a frio podem ser policlonais (mais relacionada aos quadros pós-infecciosos) ou monoclonais, comumente associadas com doenças linfoproliferativas, principalmente LNH de células B. Alguns estudos citogenéticos destacam associação com trissomia do 3 e do 12, e t(8;22)⁵. É uma doença rara, sendo poucos os casos descritos associadas a LNH de células T. No caso em questão, o LNH T SOE evoluiu com quadro clínico anemia sintomática, com evidência de AHAI por crioaglutinina. Não foi possível realizar citogenética.

049

Identificação de anemia hemolítica na doença de Wilson: relato de caso

Carvalho NB¹, Batista RV¹, Correa LC¹, Botelho LF¹, Júnior AL¹, Neves FF¹, Albuquerque LM¹, Ferreira CF¹, Cavalcanti NS¹, Lira AR¹

¹Universidade Federal da Paraíba

Introdução: A Doença de Wilson (DW) é rara e acomete pacientes jovens. A idade de apresentação varia dos 5 aos 35 anos. Seu diagnóstico deve ser pensado em todo paciente com doença neuropsiquiátrica e/ou hepática sem causa aparente e naqueles com parentes de primeiro grau com DW. A confirmação laboratorial com níveis séricos de ceruloplasmina e excreção de cobre em urina de 24h se faz necessária. Seu curso sem tratamento é fatal. Sua fisiopatologia decorre da mutação no gene ATP7B, localizado no cromossomo 13. Que leva à diminuição da excreção do íon cobre (Cu) do organismo, e prejuízo de sua incorporação à ceruloplasmina. Assim, Cu é acumulado no fígado, sistema nervoso central e outros sistemas. No contexto de insuficiência hepática pode se associar à anemia hemolítica coombs-negativa. **Objetivo:** Com o objetivo de relatar um caso de DW apresentada como anemia hemolítica coombs-direto negativa e alertar para esta possibilidade diagnóstica num cenário de doença hemolítica segue o relato deste caso. **Relato de Caso:** L.P., 29 anos, feminino, foi internada no Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW) em 30/11/2011 com queixa de astenia, palidez e dores abdominais. Ao exame físico havia hepatomegalia. O laboratório revelou hemoglobina (Hb) 5,37mg/dl, hematócrito (Ht) 18,16%, reticulócitos corrigidos 6,13%, plaquetometria 117.400/mm³, desidrogenase láctica elevada (LDH=560mg/dl); as transaminases estavam aumentadas (ALT=16 / AST= 104) e a ferrocínica era anormal (Ferro sérico=36mg/dl,

TIBC=69 e Ferritina=259,5mg/dl). Suspeitou-se de anemia hemolítica auto-imune e, diante da gravidade do caso, a corticoterapia foi iniciada, enquanto demais exames eram realizados. Os resultados do Coombs direto, pesquisa de anticorpo anti-músculo liso, Ag HBs e anti-HAV (IgM e IgG) foram negativos. Como havia hepatomegalia discreta e paciente tinha irmão falecido por DW, esta hipótese foi aventada, mas a paciente teve alta por melhora clínica e laboratorial em uso de corticoide enquanto chegavam exames para esclarecimento etiológico. L.P. foi internada novamente no HULW em 05/01/2012, com queixa de aumento do volume abdominal e edema, associados à prurido, nos membros inferiores. Nesta ocasião os resultados de ceruloplasmina sérica 4,3 mg/dl e cobre sérico livre aumentado de 141,55mg/dl, confirmaram o diagnóstico de DW, sendo iniciada a terapia específica com D-penicilamina. Atualmente gestante, mantém uso de D-penicilamina e desmame de prednisona evoluiu com Hb 11,57 mg/dl, Ht 34,68%, reticulócitos de 1,62% e ferritina de 192,69 mg/dl. **Discussão e Conclusão:** Neste relato a anemia hemolítica foi a apresentação inicial de DW. Acredita-se que toxicidade do Cu bloqueia a absorção de substratos pela membrana do eritrócito podendo ocasionar hemólise. Particularmente a presença de um irmão falecido por DW ajudou no esclarecimento do caso. Portanto é importante lembrar da DW como causa de anemia hemolítica coombs-negativa, principalmente se associada com doença hepática e/ou neurológica.

050

Hydroxyurea therapy reduces the hypercoagulability state in a sickle cell mouse model

Colella MP¹, Almeida CB¹, Conran N¹, Pallis FR¹, Penteado CF¹, Annichino-Bizzacchi JM¹, Costa FF¹, Paula EV¹, Olalla-Saad ST¹, Traina F^{1,2}

¹Universidade Estadual de Campinas

²Universidade de Ribeirão Preto

Several lines of evidence show that sickle cell anemia (SCA) is characterized by a hypercoagulable state. SCA patients present an elevated rate of thrombotic complications and increased biological markers of coagulation activation. In a previous study we demonstrated that therapy with hydroxyurea (HU) in SCA patients was associated with reductions in hypercoagulability markers, in addition to reductions in hemolysis, inflammation and endothelial activation markers (Colella et al Journal of Thrombosis and Haemostasis 2012). In the present study, we attempted to further investigate whether the effect of HU on hemostatic activation is dependent on fetal haemoglobin (HbF) expression, hemolysis and/or inflammation. To do so, we used the BERK murine model of SCA, a homozygous model of SCA, incapable of expressing HbF. In this BERK model, treatment with HU results in no improvement in hemolysis, due to the lack of HbF induction (Lebensburger et al Haematologica 2010). The murine SCA model was generated by transplantation of nucleated bone marrow cells from BERK mice into lethally-irradiated C57BL6 mice. Only mice expressing > 97% of human hemoglobin S (HbS) at 10 weeks after transplantation were used in the study. HU therapy at the dose of 50mg/kg (HU group) or saline alone (control mice) was administered through intraperitoneal injections 5 times per week, initiated at 11 weeks after transplantation (approximate time of sickle marrow engraftment). After a treatment period of 16 weeks, blood samples drawn from the inferior cava vein were collected and submitted to evaluation of plasma levels of thrombin-antithrombin III (TAT), a final marker of thrombin generation, in both animal groups. We also evaluated plasma levels of the inflammation marker interleukin 6 (IL6), and the endothelial marker soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1). TAT, IL6 and sVCAM-1 were all measured by commercially-available ELISA kits. Statistical analyses were performed using Mann-Whitney's U test. Treatment with HU resulted in a significant reduction of TAT plasma levels (106.7 µg/L vs 138.5 µg/L; $P = 0.05$). Plasma levels of IL6 (7.1pg/mL vs 12.4pg/mL; $P = 0.18$) and sVCAM-1 (765.8 ng/mL vs 848.4 ng/mL; $P = 0.43$)

presented non-significant reductions with HU treatment. Our results show that, in this murine SCA model, long-term HU treatment results in an improvement in the hypercoagulability state, even in the absence of HbF induction, or of a significant improvement of inflammation or endothelial activation. This indicates that HU may have a direct effect on inhibiting the activation of coagulation in SCA.

051

Anemias hemolíticas microangiopáticas: diagnóstico diferencial nem sempre possível – relato de caso

Silva HF¹, Barbosa STA¹, Farias SD¹, Brasileiro RB¹, Oliveira DS², Correia JW¹, Mota DM¹, Barbosa OA¹

¹Hospital Geral Cesar Cals de Oliveira

²Universidade Estadual do Ceará

Introdução: A evolução da Medicina e de seus campos investigativos propiciou o entendimento de muitas patologias até há pouco tempo de etiologias desconhecidas, como a síndrome hemolítico-urêmica (SHU), tanto na sua vertente originada pela ação da toxina da *Escherichia coli* O157H7 como pela vertente da baixa da ação regulatória inibitória do complemento, a púrpura trombocitopênica trombótica (PTT) e a síndrome HELLP (*hemolysis, elevation of liver enzymes and low platelets*). **Objetivo:** Estudo observacional com descrição da evolução de um caso de anemia hemolítica microangiopática admitido no Hospital Geral César Cals de Oliveira (HGCCO). **Relato de Caso:** Mulher, 32 anos, admitida no Serviço de Gineco-Obstetria do HGCCO, referenciada do interior do estado com hipótese de pré-eclâmpsia/doença hipertensiva específica da gestação (DHEG), deu entrada no referido serviço com 27 semanas da primeira gestação, a qual foi resolvida, no mesmo dia da admissão, por via abdominal. Evoluiu com piora dos níveis hematimétricos e bioquímicos, especialmente nos níveis de LDH, AST/ALT, tendo hipótese diagnóstica de síndrome HELLP (LDH>600U/dL; AST>70mg/dL; Bilirrubina total> 1,2mg/dL; plaquetas<100 000/mm³e anemia hemolítica microangiopática). Por exarcebamento do quadro clínico, foi transferida para UTI. Evoluiu estável; com, entretanto, piora em crescendo dos níveis de transaminases, LDH, bilirrubinas e diminuição plaquetária, até então sem anemia importante (Hb=10-11 mg/dL). No dia seguinte, por plaquetometria inferior a 20 000/mm³, realizou plaquetas em *buffy-coat*, apresentando piora do quadro clínico, com aumento da icterícia, elevação de transaminases, LDH, diminuição da Hb e da função renal, sem, contudo, alteração do status mental. Por essa última entidade foi cogitada possibilidade de SHU. Indicou-se transfusão de plaquetas para realizar cateterização de veia central para hemodiálise. Após transfusão, evoluiu com deterioração mais incisiva do estado clínico, sendo, por instabilidade respiratória (presença de infiltrado alveolar bilateral), intubada. Dois dias após a admissão no hospital, elencou-se a possibilidade de PTT pelo agravamento do estado clínico ulterior às transfusões de plaquetas, acentuada plaquetopenia e presença maciça de esquizócitos no esfregaço periférico. Paciente foi encaminhada para UTI, onde iniciou plasmáfereze. Realizou total de seis sessões com patente melhora clínico-hematológico. Evoluiu estável e continuada melhora clínico-laboratorial, tendo alta hospitalar e posterior acompanhamento no Ambulatório de Hematologia. **Conclusão:** As grandes síndromes de anemia hemolítica microangiopática nem sempre são de fácil diferenciação, sendo, muitas vezes, a terapêutica suportiva a maneira mais eficaz de manejo de tais afecções. No caso apresentado, dirigiu-se ao final a propedêutica clínica como sendo um caso atípico de PTT, tendo em vista que a paciente em nenhum momento apresentou alteração neurológica. Mais relatos de casos com casos atípicos são necessários para se traçar melhor os limites entre tais patologias.

052

Correlação entre perfil hematológico, bioquímico e clínico na evolução da doença de portadores de doença falciforme de Manaus- Amazonas

Carneiro JS¹, Pontes MO¹, Brito RS¹, Goncalves MS², Gomes KD¹, Albuquerque SR¹, Neto JP³

¹Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas – HEMOAM

²Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz – Fiocruz/BA

³Universidade Federal do Amazonas - UFAM

Hemoglobinopatias estruturais são doenças genéticas decorrentes de anormalidades na estrutura da hemoglobina. A hemoglobina S é uma variante com frequência mundial elevada, sendo os homozigotos SS portadores da anemia falciforme e os duplos heterozigotos portadores da doença falciforme (SC). Nosso objetivo foi determinar o perfil hematológico, bioquímico e clínico do portador de hemoglobinopatia estrutural atendido na Fundação HEMOAM. Foram analisados 78 pacientes atendidos na Fundação HEMOAM através de um estudo ambispectivo. Os dados clínicos foram obtidos pela consulta ao prontuário médico. A determinação do perfil de hemoglobina foi confirmada por cromatografia líquida de alta performance (HPLC), os dados hematológicos foram obtidos em Analisador automático de hematologia BC-5800 contador de células eletrônico e os bioquímicos pelo A25. A análise estatística foi realizada através do software SPSS versão 20. Entre os 78 indivíduos analisados, 34 (43,6%) foram do gênero masculino e 44 (56,4%) do feminino; 68 (87,2%) apresentaram perfil de hemoglobinas SS e 10 (12,8%) SC. A média de idade do diagnóstico foi de 17,5 anos para os indivíduos SC e 8,2 para os SS. A média da hemoglobina fetal dos indivíduos SS foi de 8,96% e para o SC de 4,97%. Os valores do Hemograma para SS e SC respectivamente foram: Hemácias ($2,84 \pm 0,69$ - $3,59 \pm 0,65$ milhões/mm³ - $p=0,003$); Hemoglobina ($8,42 \pm 1,32$ - $9,91 \pm 1,90$ g/dL - $p=0,004$); Hematócrito ($12,04 \pm 12,98$ - $16,08 \pm 15,42$ % - $p=0,394$); VCM ($87,85 \pm 15,05$ - $73,35 \pm 15,09$ fl - $p=0,012$); HCM ($30,42 \pm 4,53$ - $27,40 \pm 4,19$ pg - $p=0,062$); CHCM ($34,08 \pm 1,52$ - $35,22 \pm 1,71$ g/dL - $p=0,026$); Reticulócitos ($9,91 \pm 4,43$ - $6,33 \pm 3,70$ %); RDW ($19,82 \pm 2,12$ - $17,89 \pm 2,59$ % - $p=0,014$); Contagem de leucócitos ($1189,70 \pm 4,18,16$ - $8,74,44 \pm 4,80,01 \times 10^3$ - $p=0,037$); Contagem de plaquetas ($460,71 \pm 1796,10$ - $356,60 \pm 172,41$ mm³ - $p=0,085$). Os níveis bioquímicos séricos para SS e SC respectivamente foram: Uréia ($19,41 \pm 7,26$ - $31,00 \pm 23,15$ mg/dL - $p=0,015$); Creatinina ($0,59 \pm 0,11$ - $0,67 \pm 0,07$ mg/dL - $p=0,157$); GGT ($38,13 \pm 38,75$ - $39,0 \pm 26,87$ U/L - $p=0,976$); Bilirrubina Direta ($0,84 \pm 0,31$ - $0,73 \pm 0,96$ mg/dL - $p=0,460$); Bilirrubina Indireta ($2,38 \pm 1,64$ - $1,08 \pm 0,84$ mg/dL - $p=0,122$); Bilirrubina Total ($3,22 \pm 1,56$ - $1,8 \pm 0,91$ mg/dL - $p=0,079$); Glicose ($87,14 \pm 10,67$ - $87,50 \pm 5,64$ mg/dL - $p=0,948$); Triglicerídeos ($110,94 \pm 39,58$ - $70,0 \pm 14,14$ mg/dL - $p=0,174$); DHL ($565,15 \pm 223,54$ - $453,80 \pm 172,36$ UI/L - $p=0,287$); Ferro ($90,01 \pm 45,35$ - $61,80 \pm 33,77$ mcg/dL - $p=0,196$) e Ferritina ($978,98 \pm 1605,35$ - $1066,98 \pm 1705,64$ µg/L - $p=0,885$). A análise do perfil clínico revelou nos pacientes SS 09 (13,2%) apresentando Pneumonia; 03 (4,4%) AVC, Dor abdominal e Úlcera Maleolar; 04 (5,9%) Síndrome torácica Aguda; 22 (32,4%) dor lombar; 24 (35,3%) Vaso oclusão; 16 (23,5%) Dores nas articulações e 02 (2,9%) necrose do fêmur. A frequência para os pacientes SC foi de 01 (10%) Dor lombar; 02 (20%) Dor Abdominal e Vaso Oclusão e 03 (30%) Dores nas articulações. Os dados encontrados no presente estudo, demonstram a necessidade da implantação de um programa de que possibilite um seguimento efetivo dos portadores de hemoglobinopatias propiciando, dessa maneira, uma melhora considerável na qualidade de vida desses indivíduos. Além disso, os resultados apontam para a necessidade de programas voltados para a implantação do diagnóstico precoce e acompanhamento clínico adequado dos pacientes.

053

Capacitação em doença falciforme e outras hemoglobinopatias

Trindade S¹, Paz RB¹, Almeida H¹, Pinto IS¹

¹Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará

Na Doença Falciforme (DF) e outras hemoglobinopatias é imprescindível o reconhecimento de quadros emergenciais e intervenção imediata, bem como é necessário que os profissionais de saúde estejam aptos a lidar com as particularidades dessas doenças para prestar atendimento de qualidade. Porém, o estado do Pará enfrenta grande dificuldade em virtude de suas dimensões geográficas, que dificulta o acesso dos profissionais dos municípios do interior do estado a cursos de capacitação, bem como dificulta o acesso de pessoas portadoras de DF a tratamento adequado. **Objetivo:** Descentralizar o atendimento para os hemocentros regionais e o atendimento de urgência para o Sistema Único de Saúde (SUS); disseminar o conhecimento em hemoglobinopatias a profissionais de saúde de diversas regiões do estado do Pará. **Métodos:** Para minimizar a problemática referida acima, a Fundação HEMOPA realizou, em parceria com o Ministério da Saúde, cursos multiprofissionais objetivando capacitar a equipe de saúde da hemorrede e outras unidades do SUS para o diagnóstico precoce e terapêutica adequada a pessoas com DF e outras hemoglobinopatias. Os profissionais envolvidos foram médicos, cirurgiões dentistas, fisioterapeutas, psicólogos, farmacêuticos, enfermeiros e assistentes sociais; um total de 27 (vinte e sete) servidores do HEMOPA realizaram visita técnica nos Hemocentros de Minas Gerais, Rio de Janeiro e Ribeirão Preto. Posteriormente, os servidores desta Fundação disseminaram conhecimento em Doença Falciforme e outras hemoglobinopatias aos hemocentros regionais (em Marabá, Santarém e Castanhal-PA) e coordenador (em Belém-PA) e hemonúcleos (em Tucuruí, Capanema, Redenção, Altamira, Abaetetuba-PA), através de dois cursos oferecidos gratuitamente em cada local no período de um ano. **Resultados:** Os eventos possibilitaram a disseminação do conhecimento aos profissionais de saúde quanto às hemoglobinopatias. Um total de 1.250 (mil duzentos e cinquenta) pessoas foi capacitado. **Conclusão:** A iniciativa produzirá resultados em longo prazo, descentralizando as ações do HEMOPA e melhorando o atendimento a portadores de hemoglobinopatias no estado do Pará como um todo, reduzindo sua morbimortalidade e melhorando sua qualidade de vida.

054

Relato de Caso: anemia hemolítica autoimune tipo misto

Koury LC¹, Leal CT¹, Arantes AQ¹, Dutra VF¹, Bellintani LM¹, Maio KT¹, Sá MB¹, Costa LH¹, Cle DV¹, Calado RD¹

¹Hospital da Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Introdução: Anemia hemolítica autoimune (AHA) é uma desordem adquirida que resulta do desenvolvimento de anticorpos dirigidos contra a superfície das hemácias do próprio paciente. Baseada na temperatura que os anticorpos reagem contra as hemácias a AHA é classificada em AHA tipo quente, fria ou mista. **Relato de Caso:** Paciente de 25 anos admitido com quadro de febre, palidez, icterícia, hepatomegalia, taquicardia e dispnéia iniciadas 5 dias antes da admissão. O hemograma revelou anemia importante, hemoglobina 5,7g/dL com macrocitose (VCM 110,9 fl) e evidências bioquímicas de hemólise: LDH 705 U/L e bilirrubina indireta de 7,42mg/dL. Observava-se aglutinação das hemácias tanto na análise macroscópica do tubo com sangue como no esfregaço à microscopia, só tornando possível a realização de exames após pré-aquecimento da amostra

a 37°C. O teste da antiglobulina direta (TAD) foi positivo para IgG e C3d. A prova de Donath-Landsteiner revelou-se negativa e não foi realizado exame para identificação de crioglobulinas. A revisão da história médica do paciente evidenciava antecedentes de Purpura Trombocitopenica Imune 13 anos antes, tratada com esplenectomia, e AHA1 há 4 anos tratada com corticoterapia com resolução completa do quadro. Iniciado Prednisona 1 mg/Kg já à admissão, evoluindo inicialmente com piora da anemia (Hb 3,8 g/dL), necessidade de transfusão de concentrado de hemácias, e associação de imunoglobulina humana (1g/Kg/dia por 2 dias). Devido ao quadro de febre, iniciou-se também Amoxicilina-clavulonato e Claritromicina. Investigações adicionais foram realizadas na tentativa de identificar a etiologia da AHA1. Sorologias para HIV, hepatite B e C e sífilis foram negativas; assim como fator antinúcleo e Fator Reumatóide não foram reagentes. Tomografias de região cervical, tórax e abdome sem adenomegalias e ausência de pico monoclonal sérico à eletroforese de proteínas. O aspirado da medula óssea apresentava apenas hiperplasia eritróide, sem células anormais ou displasias. A partir do 5º dia de corticoterapia, o paciente apresentou estabilização dos níveis hematimétricos, queda gradual das provas de hemólise e resposta completa (Hb 13,0 g/dL). **Discussão:** O diagnóstico de AHA1 é baseado no achado de anemia com provas de hemólise positivas e na presença de TAD positivo. A maioria dos casos de AHA1 são mediados por anticorpos quentes que usualmente pertencem a classe IgG, reagem a temperatura $\geq 37^\circ\text{C}$ e não produzem aglutinação in vitro. Os anticorpos frios, em contraste, pertencem a classe IgM e reagem a temperaturas menores que 37°C, além de produzirem aglutinação espontânea das hemácias in vitro. Com base na apresentação clínica e nos achados laboratoriais, nosso paciente foi diagnosticado como portador de AHA1; e, embora apenas a identificação dos anticorpos quentes tenha sido possível, acreditamos tratar-se do tipo misto devido à incomum apresentação clínica com aglutinação evidente das amostras ao frio. Além disso, a presença de C3d sugere a existência de IgM associada. A anemia hemolítica autoimune é associada a diversas etiologias como infecções, malignidades e outras doenças autoimunes, mas a maioria dos casos persiste com etiologia idiopática. Alguns autores sugerem que as AHA1 do tipo misto possuam uma apresentação mais grave inicialmente e um curso mais crônico, com exacerbações intermitentes. Relatos sugerem ainda uma resposta dramática a corticoterapia nestes casos.

055

Função renal e proteinúria em pacientes com doença falciforme: estudo prospectivo

Belmonte PL¹, Pereira MP¹, Eira VB¹, Stefani GC¹, Mecabo G², Arruda MM^{1,2}, Figueiredo MS²

¹Universidade de Brasília

²Escola Paulista de Medicina - UNIFESP

Introdução: Com os avanços no manejo de pacientes com Doenças Falciformes (DF), a sobrevida dos doentes aumentou, fazendo-se necessário diagnosticar precocemente e tratar suas múltiplas disfunções orgânicas, com particular atenção à disfunção renal, observada em significativa parcela de pacientes. Sinais de hiperfiltração glomerular acontecem já na infância, e frequentemente ocorre evolução para insuficiência renal (IR). Hiperfiltração e a hipertrofia glomerular tem papel na fisiopatologia da nefropatia, que inicialmente se manifesta com proteinúria (PTN). Estudos mostraram associação entre PTN e hemólise. A hidroxycarbamida (HU) tem papel na redução da hemólise, porém sua ação sobre a função renal e a PTN não é conhecida. **Objetivo:** Avaliar função renal e PTN em pacientes DF, acompanhando sua variação temporal e buscando correlacionar estas variáveis com marcadores laboratoriais de hemólise e uso de HU. **Métodos:** Pacientes maiores de 18 anos com homozigose para Hemoglobina S e e S-Beta⁰talassemia em acompanhamento regular no Ambulatório de Anemias Hereditárias da EPM/UNIFESP foram

avaliados entre Out2008 e Jul2013. Laboratorialmente analisaram-se hemograma (Hb), lactatodesidrogenase (LDH), reticulócitos (retic), relação de microalbuminúria e creatinúria em urina isolada (uA/Cr) e taxa de filtração glomerular pela equação MDRD (TFG). **Resultados:** Avaliados 86 pacientes DF (90% HbSS), idade mediana de 31 anos (19-70), 53 mulheres (62%), seguidos por uma mediana de tempo de 33 meses (7-57). À 1ª avaliação, 55% utilizavam HU regularmente há mais de 3 meses, número que subiu para 75% na última avaliação. Inicialmente 89% apresentavam hiperfiltração (TFG>130), 6% TFG normal (90<TFG<130) e 5% TFG compatível com IRC (<90). Havia microalbuminúria (30<uA/Cr<300) em 29 (34%) e macroalbuminúria (uA/Creat>129) em 13 (15%), perfazendo um total de 49% de pacientes com PTN à 1ª avaliação. Dos 44 pacientes com urina normal, 10 (23%) evoluíram com PTN. Em relação à HU houve aparecimento de PTN em 28% pacientes utilizando HU x 17% sem HU e em 16% dos pacientes com hemólise x 33% sem, sem diferença estatisticamente significativa (teste logrank p=0.733 e p=0.097 respectivamente). PTN não dependeu de idade, Hb, retic, porém teve correlação positiva com LDH (ANOVA, p=0,003). Avaliando-se conjuntamente os marcadores de hemólise como variável categórica, houve correlação positiva desta com o desenvolvimento de PTN, com Risco Relativo de 1.7 (IC1.13-2.66; p=0,009 teste Qui-quadrado). TFG não dependeu de PTN e marcadores de hemólise, mas apresentou correlação negativa com idade (idade avaliada por ANOVA, p=0.008 e faixas etárias por qui-quadrado p<0,001). Uso de HU reduziu significativamente marcadores de hemólise. **Discussão:** Hiperfiltração glomerular é manifestação precoce de nefropatia DF, estando presente em >90% dos adultos. Há progressão para glomeruloesclerose e redução da TFG com aumento da idade, sendo que cerca de 11% dos pacientes evoluem com IRC. Assim, avaliação da TFG pode servir como alerta precoce de disfunção renal progressiva no seguimento ambulatorial. Embora este trabalho tenha observado correlação de hemólise com PTN e redução de hemólise com HU, esta droga não protegeu contra PTN neste trabalho. Acredita-se que um tempo de seguimento maior ampliará o entendimento desta doença e talvez permita sugestão de mudança no seu manejo.

056

Tendência temporal da mortalidade por doença falciforme no Brasil

Ferreira CF¹, Neves FF¹, Lira AR¹, Albuquerque LM¹, Júnior AL¹, Carvalho NB¹, Cavalcanti NS¹, Silva SJ¹, Lima TT¹, Botelho LF¹

¹Universidade Federal da Paraíba

Introdução: A doença falciforme (DF) engloba um conjunto de anemias hemolíticas hereditárias que têm em comum a presença de hemoglobina S (HbS)¹. O indivíduo pode ser homozigoto ou heterozigoto (traço falciforme). Além disso, o gene da HbS pode combinar-se com outras hemoglobinas anormais, cujas combinações também são patológicas². No Brasil, a miscigenação favoreceu a dispersão dos genes, fazendo do transtorno falciforme a doença hereditária monogênica mais comum em nosso país⁴. É considerada um grande problema de Saúde Pública³. Segundo o Ministério da Saúde, estima-se a existência de mais de 2 milhões de portadores do gene HbS e mais de 8 mil homozigóticos, somando-se ainda mais de setecentos a mil novos casos ao ano⁵. As DF têm alta morbidade, com sintomas precoces⁶, com destaque para os episódios vasooclusivos dolorosos recorrentes⁷, e mortalidade precoce⁸, com uma taxa entre menores de cinco anos de 7% ao ano⁹. A maioria das mortes ocorre durante exacerbações ou complicações agudas, como a síndrome torácica aguda e o acidente vascular encefálico^{10,12}. A sobrevida global dos pacientes é baixa, mas tem melhorado ao longo do tempo em decorrência do atendimento adequado, imunizações, uso de antibióticos, hidroxiureia e tratamento precoce das complicações¹⁰. As tendências de mortalidade indicam que as crianças possuem sobrevida maior, no entanto, há um aumento preocupante da mortalidade de crianças

mais velhas e adultos, que pode refletir o acesso inadequado aos cuidados e medidas preventivas¹⁰. Em decorrência da alta prevalência e morbimortalidade geradas pela DF, o presente trabalho teve como **Objetivo** analisar a tendência temporal das taxas de mortalidade por transtornos falciformes nas diferentes regiões do Brasil, no período de 2001 a 2011. **Métodos:** Trata-se de um estudo descritivo da tendência da mortalidade para transtornos falciformes nas cinco regiões brasileiras, no período de 2001 a 2011. Foram selecionadas no Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM), disponibilizado pelo DATASUS, as taxas de óbito cuja causa básica era a doença falciforme, codificada em D57 pela 10ª revisão da Classificação Internacional de Doenças (CID-10). A curva central de tendência da mortalidade, para cada região, foi estimada a partir de modelos de regressão linear, com intervalo de confiança de 95%, onde as taxas de óbito para doença falciforme (y) foram consideradas como variável dependente e, como variável independente (x), os anos do período estudado. Para análise estatística, foi utilizado o programa SPSS 20.0. **Resultados:** De acordo com a avaliação dos gráficos, pudemos verificar que o número total de óbitos para DF, com o passar dos anos, teve correlação positiva de muito alta magnitude. Analisando as regiões separadamente, constatamos que as taxas de mortalidade no Norte e no Nordeste apresentaram uma tendência crescente durante o período estudado, enquanto que, para o Sudeste e Sul, as taxas decresceram. A região Centro-oeste foi a única que exibiu taxas de óbito de tendência estável com o passar dos anos. **Conclusão:** As taxas de mortalidade para doença falciforme têm aumentado no decorrer dos anos nas regiões Norte e Nordeste, consistindo, ainda, em um grave problema de saúde pública. Torna-se necessário, pois, um estudo mais aprofundado em cada região, separadamente, a fim de que medidas estratégicas de combate à mortalidade possam ser direcionadas.

057

Osteonecrose difusa em paciente com traço falciforme

Eira VB¹, Belmonte PL¹, Pereira MP¹, Stefani GC¹, Paula LF¹, Silva CG¹, Jesus SM¹, Artiaga AF¹, Arruda MM²

¹Liga Acadêmica de Hematologia da Universidade de Brasília

²Hospital Universitário de Brasília - HUB/UnB

Introdução: Traço falciforme (TS) é condição caracterizada pela presença de um gene β -globina mutado (troca de valina por ácido glutâmico no 6º códon), que forma a hemoglobina anormal S (HbS), em heterozigose com um gene normal. HbS é hemoglobina de baixa solubilidade, com forte tendência a agregação em condições de baixa tensão de O₂, o que gera polimerização, precipitação e lesão da membrana eritrocítica. Altas concentrações de HbS vistas nas condições de hemogozigose ou dupla heterozigose com outras mutações gera tendência à falcização, estase vascular e hemólise, que explicam a fisiopatologia das Doenças Falciformes. Pelo fato de haver mais de 50% de HbA no estado portador TF, complicações clinicamente manifestas são extremamente raras. São conhecidas as associações de TS a carcinoma da medular renal, hematúria e isostenúria, infartos esplênicos, rabdomiólise e morte súbita ao exercício extenuante. Outras complicações são raras e são diretamente atribuídas ao estado portador. **Relato de Caso:** Homem, 44 anos queixa de dores em coluna há 2 anos, com progressão para dores em bacia, MMII e MMSS. Nega doenças conhecidas, uso de medicamentos, cirurgias, traumas, casos de hemoglobinopatias na família. Nenhum antecedente familiar, social ou patológico relevante. Pais falecidos de causas naturais. Exame físico: dor a mobilização ativa e passiva de coluna, MMII e MMSS; manobra de Patrick positiva bilateral. Hemograma normal (HB 13.4, HT 39, VCM 82), VHS 9, função renal, hepática e tireoidiana normal, provas de hemólise negativas, antígeno prostático normal, imunofixação de proteínas séricas e urinárias com ausência de bandas monoclonais. Eletroforese de Hb: A1 56.6%, A2 2.7%, F 1%, S 39.7%, ausência de banda H, teste de termoinstabilidade negativo, resistência osmótica a 0.36% normal.

Ressonância de coluna com alteração de sinal difusa e descontínua da medula óssea em vários corpos vertebrais torácicos e cervicais, poupando pedículos, associados a alterações inflamatórias reativas, compatível com osteonecrose difusa subaguda. Sinais de necrose avascular das cabeças femorais bilateralmente, traduzindo pelo sinal da "linha dupla", com extensão através do colo femoral, região subtrocanterica e região proximal da diáfise femoral com área focal de fratura subcondral bilateral à ressonância dos quadris. Múltiplas lesões com moderado aumento heterogêneo da atividade osteoblástica com aspecto sugestivo de infartos ósseos à cintilografia óssea. Biópsia de medula normal. Eletroforese do único filho normal (ausência de traço falciforme). **Discussão:** Não é possível atribuir a osteonecrose diretamente ao TS, por não haver relação epidemiológica clara entre essas condições. Pesquisa no PUBMED mostra apenas 5 relatos de caso de osteonecrose em pacientes com TS. Considerando-se que a prevalência de TS no Brasil é de 2-4% da população e praticamente não há informação de osteonecrose, a correlação entre essas duas condições é, no mínimo, insuficiente e pouco convincente. No entanto, neste e nos demais casos já publicados, investigação extensa não permitiu que se estabelecesse causa. De qualquer forma, o tratamento de osteonecrose envolve controle de dor e de controle de complicações: cirurgia descompressiva, artroplastia, analgésicos, antiinflamatórios e repouso, não estando indicados hemotransfusões ou o uso de medicações tradicionalmente utilizadas no tratamento de Doenças Falciformes.

058

Prevalência de traço falciforme em doadores de sangue do Espírito Santo

Laur JC¹, Campos GB¹, Santos MD¹

¹Universidade Federal do Espírito Santo

Introdução: A anemia falciforme é uma doença hemolítica crônica, hereditária, causada pela mutação no gene da beta-globina, caracterizada por dor, vasculopatia, doença vasoclusiva, danos agudos e crônicos disseminados e redução da expectativa de vida. O traço falciforme constitui-se na presença de hemoglobina S em heterozigose, sendo prevalente no Brasil devido à grande população negra e à miscigenação. Estudos em doadores de sangue mostram que o traço tem maior prevalência nos estados da região Nordeste, porém é encontrado em todas as regiões do país, e, por isso, a Doença Falciforme é considerada uma das doenças genéticas mais importantes no cenário epidemiológico brasileiro. **Objetivo:** Sabe-se que a transfusão de hemácias contendo hemoglobina S possui algumas contra-indicações bem específicas, como em transfusões em recém-nascidos (sobretudo em prematuros), em pacientes com anemia falciforme em crises de falcização, e em indivíduos com hipóxia intensa. Desde 2002 existe no Brasil a recomendação para detecção de HbS em doadores de sangue. Assim, esse estudo tem como objetivo verificar a prevalência do traço falciforme em doadores de sangue do Hemoes (Hemocentro do Espírito Santo), bem como, em quais regiões há sua maior concentração. **Métodos:** Foi realizado um estudo transversal, com cálculo de porcentagem de doadores de sangue com traço falciforme no período de março a junho de 2011. O levantamento da amostra foi feito no banco de Dados do Hemoes, o qual abrange os municípios da região central (Vitória e Serra) e da região norte (São Mateus, Colatina e Linhares). A avaliação laboratorial foi feita por meio de eletroforese de Hemoglobina por HPLC (fabricante e modelo). **Resultados:** Foram analisados os resultados da triagem de HbAs de 11124 doadores de sangue. Destes, 59 não tiveram o teste realizado, então, 11065 doadores foram avaliados. O número de doadores com traço falciforme foi de 261, representando 2,35%. **Discussão e Conclusão:** O Espírito Santo tem uma população de mais de 3,5 milhões de habitantes e possui uma prevalência de doença falciforme de 1/1800 e de traço falciforme de 1/28, de acordo com os dados da Política Nacional de Triagem Neonatal. A prevalência geral de traço falciforme em doadores

de sangue calculada neste estudo (2,35%), é semelhante a tal valor nacional (2,4%). As prevalências em outros estados são variadas (Uberlândia – MG: 2,48%; Sobradinho – DF: 2,96; Bragança Paulista – SP: 1,13%; SE: 4,1%; RN: 2,22%; BA: 5,5%; Caxias do Sul – RS: 0,99%), o que confirma a heterogeneidade étnica brasileira, porém, juntamente com as variações técnicas dos estudos, dificulta as comparações. Observou-se maior prevalência de traço nos doadores da região norte do Espírito Santo do que nos da região central, o que pode ser justificada pela colonização do estado. A maior prevalência em São Mateus é esperada, visto que esta cidade tem maior porcentagem de negros do que as outras analisadas. Tal estudo reforça a importância da triagem de hemoglobinopatias em doadores de sangue, principalmente do traço falciforme, devido à alta prevalência deste no Brasil, o que relaciona-se com a distribuição de negros no país e com a mistura racial. A triagem possibilita melhor qualidade do sangue para o receptor e aconselhamento genético para o doador, consequentemente reduzindo os impactos no sistema de saúde.

059

Antioxidant vitamins C and E supplementation does not improve the hemolytic profile of sickle cell anemia patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial

Arruda MM¹, Mecabo G¹, Rodrigues CA¹, Matsuda SS¹, Figueiredo MS¹

¹Escola Paulista de Medicina - UNIFESP

Background: Erythrocytes of sickle cell anemia (SCA) patients continuously produce larger amounts of pro-oxidants than normal cells, and oxidative stress seems to play a significant role in the pathophysiology of the disease. In erythrocytes, oxidative stress primarily affects the membrane and results in hemolysis. The use of antioxidants *in vitro* reduces the generation of pro-oxidants, which could prevent adhesion and phagocytosis of oxidized erythrocytes. **Aim:** To evaluate the impact of antioxidant vitamins C (vitC) and E (vitE) supplementation in the hemolytic profile of in SCA patients. **Methods:** Homozygous SCA or S-β-thalassemia patients, over 18 years, were randomly assigned to receive VitC 1,400 mg + VitE 800 mg per day or placebo, administered orally for 180 days. Pregnant women and patients with iron overload out of chelation therapy were excluded. Patients were evaluated clinically and blood samples were collected at days 0 and 180 for complete blood count, automated reticulocyte count, indirect bilirubin, lactate dehydrogenase (LDH), haptoglobin, uric acid, and serum levels of VitC and VitE. **Results:** Overall, 83 patients were enrolled (44 vitamins, 39 placebo). The median (range) age was 27 (18-68) years, and 53 (64%) were female. There were no significant differences between the two groups as regards clinical complications of SCA or baseline laboratory tests and serum vitC and vitE. Sixty percent of the patients were VitC deficient (30% with severe deficiency), 70% were VitE deficient (33% with severe deficiency) and 44% were deficient in both vitamins. Vitamin supplementation increased VitC from 27.2 to 62.6 μMol/L ($p < 0.0001$) and VitE from 13.9 to 20.2 μMol/L ($p < 0.0001$). No changes in vitC or vitE were observed in patients receiving placebo. No significant changes in hemoglobin levels, hematocrit, mean corpuscular volume were observed in either group. However, patients receiving vitamin supplementation presented a significant increase in the median reticulocyte count (from 152 to 195 $\times 10^6/\mu\text{L}$, $p = 0.01$), LDH (from 396 to 425 U/L, $p = 0.018$), indirect bilirubin (from 1.45 to 1.73 mg/dl $p < 0.0001$), and uric acid (from 4.75 to 5.15, $p = 0.02$), and a trend to decrease in the haptoglobin levels (from 3.95 to 3.45 mg/dL, $p = 0.06$). **Conclusion:** Supplementation with vitamins C and E did not improve anemia and, surprisingly, increased markers of hemolysis in patients with SCA and S-β-thalassemia. The exact mechanisms to explain our findings and their clinical significance remain to be determined. Supported by FAPESP 10/02933-6 and CAPES/SUS

060

Perfil laboratorial de crianças com anemia falciforme que fazem uso de hidroxiureia no estado da Bahia

Alves GO¹, Cardeal AL¹, Carvalho SP¹, Sobrinho TL¹, Silva FC¹, Rocha LC², Barbosa CG¹, Goncalves MS³, Adorno EV¹

¹Universidade de Federal da Bahia

²Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia

³Fundação Oswaldo Cruz -Bahia

Anemia falciforme (AF) é uma doença genética, hereditária, decorrente da homozigose para a hemoglobina S (HbS), resultante de uma mutação pontual no sexto códon do gene da globina beta (*HBB*), levando à substituição do ácido glutâmico pela valina na sexta posição da cadeia polipeptídica. A AF caracteriza-se pela presença de anemia hemolítica crônica e episódios de dor recorrentes, com oclusão vascular e lesão de tecidos. Uma opção terapêutica atualmente disponível para o tratamento da AF é a hidroxiureia (HU), um agente antineoplásico que causa vários efeitos nos pacientes com anemia falciforme, tais como aumento da produção de hemoglobina fetal (HbF), aumento do volume corpuscular médio (VCM), aumento da hemoglobina (Hb), produção de óxido nítrico e diminuição de moléculas de adesão. O presente estudo avaliou o perfil laboratorial de 42 crianças com AF atendidas na Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia (HEMOBA), das quais 21 faziam uso de HU, há pelo menos 6 meses. O hemograma foi realizado em contador de células Cell-Dyn Ruby; os níveis de HbF foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (Variant I- BIORAD). As análises estatísticas foram realizadas através do programa EPIInfo v 6.04 e SPSS v. 9.0, sendo considerados estatisticamente significativos os resultados com o valor de $p < 0,005$. A mediana de idade das crianças foi de 12 anos (7-17). Foi realizada análise comparativa do grupo de estudo 1 (AF+HU) com um grupo controle 2 (AF). Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos para os parâmetros hematológicos: HbF (grupo 1 –16,10% ; grupo 2– 8,04%; $p = 0,530$), hemácias (grupo1- 2,60 $\times 10^6/\text{mL}$; grupo2 – 2,50 $\times 10^6/\text{mL}$; $p = 0,372$), Hb (grupo 1 – 8,80g/ dL; grupo 2- 7,70 g/dL ; $p = 0,5389$), hematócrito (grupo 1 – 26,70% grupo 2 – 22,10%; $p = 2,656$), VCM (grupo 1-98fL; grupo 87,78 fL; $p = 0,408$); HCM (grupo 1– 33,68 pg; grupo 2 -30,267 pg; $p = 0,491$); leucócitos (grupo 1 – 9.851 $\times 10^3/\text{mL}$; grupo 2- 9.903 $\times 10^3/\text{mL}$; $p = 0,798$). Assim, os resultados encontrados confirmam a heterogeneidade da AF, uma vez que os parâmetros laboratoriais dos indivíduos AF+HU não diferiram daqueles AF sem HU, mostrando que fatores moduladores genéticos da AF podem estar presentes, modificando o perfil hematológico de alguns indivíduos e melhorando o seu quadro clínico. Na segunda etapa do estudo, serão comparados os parâmetros laboratoriais dos indivíduos com AF antes e após o uso de HU, avaliando a contribuição da droga na melhoria do perfil hematológico desses indivíduos. Dessa forma, através desse estudo, será possível conhecer os aspectos hematológicos e bioquímicos dos indivíduos com AF que estão em uso da HU na HEMOBA, contribuindo para o conhecimento dos possíveis efeitos adversos relacionados a essa droga e, consequentemente, contribuir para a melhora na qualidade de vida dessas pessoas.

061

Influência da talassemia alfa no desenvolvimento de osteonecrose em pacientes portadores de anemia falciforme no estado de Pernambuco

Martins DA¹, Souza MB¹, Domingos IF¹, Pereira TM¹, Falcão DA¹, Hatzlhofer BL^{1,2}, Araújo AS², Bezerra MA¹

¹Universidade Federal de Pernambuco

²Fundação HEMOPE

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

pontual e sua fisiopatologia é caracterizada pela polimerização da HbS, levando a formação de uma hemácia em forma de foice. Essa hemácia falcizada leva a vaso-oclusão e eventos hemolíticos, que são responsáveis pelas principais manifestações clínicas da doença, como a osteonecrose. A necrose avascular na cabeça do fêmur (NACF) ocorre devido a vaso-oclusão na microcirculação dos ossos, com infarto das superfícies articulares, especialmente nas epífises dos ossos longos (fêmur e úmero) afetando consideravelmente a qualidade de vida dos pacientes. Diversos são os fatores que estão envolvidos na gênese da NACF, e, variantes polimórficas de alguns genes, bem como o genótipo alfa, podem influenciar no seu desenvolvimento. A associação da talassemia α com a AF diminui a hemólise, e protege contra fenótipos associados com os processos hemolíticos, porém está associado a um aumento da viscosidade sanguínea sendo descrito na literatura como fator predisponente nas necroses avasculares da AF. **Objetivo:** Verificar a associação do genótipo α com o desenvolvimento da NACF em pacientes com AF. **Métodos:** Foram analisados 156 pacientes com AF cadastrados na Fundação HEMOPE. Destes, 52 pacientes, desenvolveram NACF com idade de 6 a 54 anos, dentro do grupo caso do presente estudo e o grupo controle consistiu de 104 pacientes, com idade de 22 a 72 anos, sem história atual e prévia de NACF. A pesquisa da deleção $\alpha^{3.7kb}(-\alpha^{3.7kb})$ foi determinada por gap-PCR e a análise estatística, pelo teste exato de Fisher. **Resultados:** Dos 52 pacientes incluídos no grupo caso, 41 (78,8%) se apresentaram normais para a deleção, e 11 (21,2%) apresentaram a mutação. No grupo controle, dos 104 pacientes, 77 (74%) foram normais para $-\alpha^{3.7kb}$ e 27 (26%) apresentaram a deleção. A deleção $\alpha^{3.7kb}$ não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos caso e controle ($p=0,64$). **Conclusão:** Pacientes com AF e co-herança com α talassemia parecem apresentar uma maior tendência a desenvolver necrose avascular na cabeça do fêmur em relação a pacientes AF com genótipo alfa normal, embora esses resultados não tenham sido estatisticamente significantes. Isso pode ser explicado, pelo baixo número de pacientes. Uma amostragem mais significativa está sendo coletada, para verificar a real influência da talassemia α como fator predisponente das manifestações ósseas da AF, tais como a NACF. Suporte Financeiro: FACEPE/CNPq.

062

Influência do polimorfismo da MTHFR C677T (MTHFR) no desenvolvimento de osteonecrose em pacientes portadores de anemia falciforme no estado de Pernambuco

Martins DA¹, Domingos IF¹, Falcão DA¹, Silva JL¹, Hatzlhofer BL^{1,2}, Araújo AS², Bezerra MA¹

¹Universidade Federal de Pernambuco

²Fundação HEMOPE

Introdução: A necrose avascular da cabeça do fêmur (NACF) é uma das manifestações clínicas mais comuns na anemia falciforme (AF), uma doença monogênica, de caráter multifatorial, e com uma grande diversidade clínica entre os pacientes. A NACF é uma complicação frequente e considerada crônica e dolorosa na AF. A doença pode ser considerada secundária a fatores como: administração de esteroides, alcoolismo e lúpus eritematoso sistêmico, onde, caso não haja nenhum destes, ela se torna idiopática. Vários fatores genéticos têm grande importância na modulação do quadro clínico da AF. A Hiperhomocisteinemia é um fator de risco para o desenvolvimento da trombose em pacientes sem trombofilia adquirida ou outros fatores genéticos que predispõem a trombose. Pacientes que apresentam um estado de homozigose para o polimorfismo MTHFR C677T apresentam níveis elevados de homocisteína e assim predisposição a eventos vaso-oclusivos. **Objetivo:** Investigar a associação do polimorfismo MTHFR C677T com desenvolvimento da necrose avascular da cabeça do fêmur em pacientes com AF. **Métodos:** A pesquisa do polimorfismo do gene MTHFR C677T foi determinado por PCR-RFLP,

utilizando a endonuclease de restrição *Hinf* I e a análise estatística foi feita pelo teste exato de Fisher. Um total de 156 pacientes com AF acompanhados no ambulatório de Hematologia da Fundação HEMOPE foram incluídos no estudo. Destes, 52 pacientes, desenvolveram NACF em algum momento da vida, dentro do grupo caso do presente estudo. O grupo controle consistiu de 104 pacientes, sem história atual e prévia de NACF e com idade de 22 a 72 anos. **Resultados:** Dos 52 pacientes incluídos no grupo caso, 29 (55,8%) se apresentaram normais para a mutação da MTHFR, e 23 (44,2%) apresentaram a mutação. No grupo controle, dos 104 pacientes, 57 (54,8%) foram normais para a mutação da MTHFR e 47 (45,2%) apresentaram a mutação. O polimorfismo MTHFR C677T não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos caso e controle ($p=0,95$). **Conclusão:** O efeito de mau prognóstico no desenvolvimento da NACF do polimorfismo MTHFR C677T não foi confirmado em nossa população de pacientes com anemia falciforme. A heterogeneidade genética entre diferentes populações pode explicar a falta de reprodutibilidade dos estudos de associação genética, justificando novos estudos em colaboração mundial para determinar a relevância real dos resultados envolvendo polimorfismos genéticos e sua influência sobre a prevalência e previsibilidade de complicações clínicas na AF. Suporte Financeiro: FACEPE/CNPq

063

Influência do polimorfismo RS1225934 do gene BMP6 na fisiopatogênese da osteonecrose em pacientes portadores de anemia falciforme em Pernambuco

Pereira TM¹, Martins DA¹, Falcão DA¹, Domingos IF¹, Hatzlhofer BL^{1,2}, Mendona TF³, Vasconcelos LR³, Cavalcanti MD³, Moura PM³, Bezerra MA¹

¹Universidade Federal de Pernambuco

²Fundação HEMOPE

³Universidade de Pernambuco

Introdução: Na anemia falciforme (AF) a ocorrência de vaso oclusões, representa o evento fisiopatológico determinante na origem dos sinais e sintomas clínicos desenvolvidos pelos pacientes. O processo pode ocorrer em qualquer órgão, sendo particularmente comum na medula óssea, resultando em infarto na cavidade medular, ou nas epífises. A necrose avascular na cabeça do fêmur (NACF) ocorre quando a vaso oclusão resulta no infarto das superfícies articulares, atingindo principalmente as epífises dos ossos longos (fêmur e úmero), e que pode variar em frequência e gravidade na AF. Proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs) estão envolvidas com processo de reparo e manutenção da cartilagem articular, logo podem ter papel importante na patogênese da NACF. SNPs no gene *BMP6* têm sido associados como fatores de risco para o desenvolvimento da NACF em pacientes com AF. **Objetivo:** Verificar se há associação de 6 SNPs no gene *BMP6* com o desenvolvimento da NACF em pacientes com AF em nossa população. **Métodos:** Este é um estudo de corte transversal com comparação de grupos, em que foram estudados 150 pacientes portadores de AF cadastrados na Fundação HEMOPE. Destes, 50 com NACF, denominados casos, com idade de 6 a 54 anos, mediana de 29 anos, sendo 52% do sexo masculino e 100 pacientes controles, com idade de 22 a 72 anos, mediana de 32, sendo 49% do sexo masculino. A determinação dos SNPs rs449853 (A/T), rs381263 (A/T), rs267201 (A/G), rs267196 (A/T), rs270393 (A/T) e rs1225934 (C/A) foi realizada por PCR em tempo real, através da metodologia *TaqMan*® SNP Genotyping Assays. **Resultados:** As populações estavam em equilíbrio de Hardy Weinberg. A frequência dos genótipos CC, CT e TT no SNP rs449853 nos casos foi de 0,40 ($n=20$), 0,38 ($n=19$) e 0,22 ($n=11$), respectivamente, e nos controles foi de 0,26 ($n=26$), 0,54 ($n=54$) e 0,20 ($n=20$) com $p = 0,88$. A frequência dos genótipos AA, AT e TT no SNP rs381263 nos casos foi de 0,40 ($n=20$), 0,50 ($n=25$) e 0,10 ($n=05$), respectivamente, e nos controles foi de 0,40 ($n=40$), 0,47 ($n=47$) e 0,13 ($n=13$), com $p = 0,28$. No SNP

rs267201 a frequência dos genótipos AA, AG e GG nos casos foi de 0,40 (n=20), 0,46 (n=23) e 0,14 (n=7), respectivamente, e nos controles 0,31 (n=31), 0,48 (n=48), e 0,21 (n=21), com $p = 0,42$. No SNP rs267196 a frequência dos genótipos AA, AT e TT nos casos foi de 0,12 (n=6), 0,44 (n=22) e 0,44 (n=22), respectivamente, e nos controles 0,19 (n=19), 0,44 (n=44) e 0,38 (n=38) com $p = 0,52$. No SNP rs270393 a frequência dos genótipos CC, CG, e GG nos casos foi de 0,38 (n=19), 0,40 (n=20) e 0,22 (n=11), respectivamente, e nos controles 0,45 (n=45), 0,39 (n=39) e 0,16 (n=16), respectivamente, com $p = 0,5$. No SNP rs1225934 a frequência dos genótipos CC, CA, AA nos casos foi de 0,38 (n=19), 0,42 (n=21), 0,16 (n=8) respectivamente, e nos controles 0,62 (n=62), 0,22 (n=22) e 0,15 (n=15), com $p = 0,01$. **Conclusão:** O estudo revelou que dos 6 SNPs avaliados no gene *BMP6*, apenas o rs1225934 esteve associado como fator de risco genético na fisiopatogênese da NACF nos pacientes portadores de AF em nossa população. Apoio Financeiro: FACEPE/CNPq.

064

Mielolipoma e anemia falciforme: caso clínico

Scanhola GQ¹, Kerbauy LN¹, Fernandes CM¹, Sukanuma LM¹, Fonseca GH¹, Gualandro SF¹

¹Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Introdução: Mielolipomas são tumores benignos raros compostos por tecidos adiposo maduro e hematopoético. Acometem preferencialmente a glândula adrenal e, na maioria dos casos, são unilaterais, localizados à direita (3:2,1), assintomáticos, menores que 5 cm e descobertos incidentalmente em exames de imagem ou durante necrópsias. Geralmente são não-funcionantes, mas podem estar relacionados a moléstias endocrinológicas, como doença de Addison, síndrome de Cushing, hiperalдостерonismo, hiperplasia ou carcinoma de adrenal. Acometem igualmente homens e mulheres, geralmente entre os 41 e 84 anos, com média de 62 anos. Raramente cursam com dor, podendo ocorrer quando surgem hemorragia, necrose ou compressão de estruturas adjacentes. Há alguns poucos relatos na Literatura associando hemoglobinopatias e mielolipoma. Abaixo apresentamos 1 caso do serviço de Hematologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo que exemplifica essa associação. **Relato de Caso:** Sexo feminino, 37 anos, portadora de Anemia Falciforme, descobriu incidentalmente tumoração em topografia de adrenal esquerda, durante realização de ultrassonografia abdominal para avaliação de calculose biliar. À tomografia computadorizada (TC), a lesão era heterogênea, limites bem definidos, circunscrita à loja adrenal e possuía 7,7 x 5,9 cm. A paciente não apresentava dor abdominal, sinais e sintomas compatíveis com alterações endocrinológicas e alterações ao exame físico do abdome. Estudo endocrinológico descartou alteração funcional da adrenal. Realizou PAAF guiada por TC, comprovando-se por estudo citológico que se tratava de tecido hematopoético. Devido ao tumor ser maior que 4-5 cm, com risco de ruptura, foi submetida à adrenalectomia por Videolaparoscopia, obtendo-se material com 155 g, de dimensões 10 X 8,5 X 4,5 cm, compatível com mielolipoma. **Conclusão:** A origem do mielolipoma é alvo de constantes discussões atualmente. A teoria mais aceita baseia-se na metaplasia das células da adrenal em resposta a estímulos como infecção, estresse e necrose. Outros autores acreditam que possa tratar-se de um sítio de hematopoese extramedular, sendo que alguns defendem até mesmo a contribuição dos níveis elevados de eritropoetina como fator estimulador. O caso relatado apresenta algumas particularidades que se distanciam das características mais comuns: ocorreu aos 37 anos, muito abaixo da média descrita de 62 anos, possui um tamanho de 10 cm, contrariando a dimensão geralmente abaixo de 5 cm, e estava localizado à esquerda. Associação entre mielolipomas adrenais e desordens hematológicas são raramente descritas na Literatura, havendo poucos relato de casos associados

à anemia falciforme e talassemia. Como há um aumento de mielolipomas bilaterais e gigantes na talassemia, além da incidência em pacientes hematológicos ocorrer muitas vezes abaixo da média da população geral, pode haver um papel fundamental da eritropoetina na origem e/ou no crescimento tumoral. Deve-se haver atenção à mielolipomas acima de 5 cm pelo risco de ruptura. Assim, esse caso ilustra mais uma peculiaridade no ambiente das hemoglobinopatias e o mielolipoma deve ser lembrado como diagnóstico diferencial de outras massas em topografia de adrenal como o incidentaloma.

065

Insulin levels and homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) may explain a possible important role in the inflammatory state of sickle cell disease patients

Seixas M¹, Lopes V², Cezar R¹, Carvalho G³, Rocha L², Lyra I⁴, Gonçalves MS¹

¹Laboratório de Hematologia, Genética e Biologia Computacional do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz-Fiocruz, Salvador, Brasil,

²Fundação Hemoba, Salvador, Brasil,

³Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais, Salvador, Brasil,

⁴Hospital Universitário Prof. Edgard Santos, Universidade Federal da Bahia (UFBA),

The Sickle cell disease (SCD) is a hematological disorder characterized by the S hemoglobin homozygosis or the association of this hemoglobin with other hemoglobin variants. The SCD is characterized by heterogeneous clinical outcome compound by hemolysis, chronic inflammation and vaso-occlusive and pain episodes. Red Blood cell (RBC) count, hemoglobin concentration (Hb), lactate dehydrogenase (LDH), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin (BT) and indirect bilirubin (BI) are important biomarkers in SCD patients follow-up. The insulin is essential for regulation and maintenance of glucose homeostasis and the insulin resistance are associated with chronic sub-clinical inflammation and inflammatory markers, such as C-reactive protein (CRP) and white blood cells (WBC) count. These markers have been correlated with the severity of SCD. The aim of this study was investigate insulin levels and HOMA-IR in SCD and its correlation with important biomarkers. Here we developed a cross sectional study involving 40 SCD patients in the steady-state of disease aging 13.9 ± 8.23 years old. The RBC and WBC count were carried out by automated method and the levels of TB, IB, AST, LDH and insulin were investigated by immunochemistry assay method. The mean of insulin level was 3.2 ± 2.2 and HOMA-IR was 0.61 ± 0.46 . SCD patients with insulin levels lowest than the mean had an increased levels of AST ($p < 0.001$), TB ($p = 0.004$), IB ($p = 0.008$), LDH ($p = 0.005$) and WBC count ($p = 0.005$) and decrease of Hb concentration ($p = 0.026$), HOMA-IR ($p = 0.001$) and RBC count ($p = 0.006$). When we studied the 25th percentile a low insulin level was correlated with high ferritin concentration ($p = 0.019$) and in 75th percentile high insulin levels were associated with high haptoglobin concentration ($p = 0.024$), outside difference above described. Insulin levels were negatively associated with reticulocyte ($p = 0.0001$, $r = -0.5762$); TB ($p = 0.0003$, $r = -0.5444$), IB ($p = 0.0017$, $r = -0.4856$) and LDH ($p = 0.0018$, $r = -0.4833$). In this study the HOMA-IR was used for evaluation of insulin resistance. HOMA-IR was negatively associated with WBC count ($p = 0.0039$, $r = -0.4465$); reticulocyte count ($p = 0.0002$, $r = -0.5582$); TB ($p = 0.0012$, $r = -0.4885$); IB ($p = 0.0101$, $r = -0.4074$) e LDH ($p = 0.0094$, $r = -0.4108$). Our results demonstrate that levels of insulin and of HOMA-IR can be influenced by the oxidative stress and inflammation secondarily of the intravascular and extravascular hemolysis in sickle cell disease, suggesting an important role of these biomarkers in the disease pathogenesis. Additional studies are warranted to explain the contribution of the insulin in the complex net of biomarkers alteration in the disease.

066

Association of vitamin D with markers of severity in hemoglobinopathy SC

Pacheco AP¹, Barbosa CG², Seixas M³, Lopes V⁴, Lyra I³, Goncalves MS¹

¹Laboratório de Hematologia, Genética e Biologia Computacional do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz Fiocruz-Bahia

²Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador-BA, Brasil

³Hospital Universitário Prof. Edgard Santos, UFBA

⁴Fundação Hemoba, Salvador, Brasil

Background: The hemoglobinopathy SC (HbSC), a sickle cell disease (SCD) type, is characterized by the presence of hemolysis, with an increase of oxidative stress and inflammation, contributing to vaso-occlusive processes and organ damage. The vitamin D (VitD) is involved in the immune system modulation, because it induces the antimicrobial peptides production on monocyte/macrophage and controls local cytokine profile in activated T and B lymphocytes expressing its receptor. Literature data report a state of VitD deficiency in individuals with SCD. Hence, the aim of this study was to evaluate the VitD levels in subjects with HbSC, associating these levels with markers of the disease severity. **Methods and Results:** We evaluated 95 HbSC individuals. It was determined the hematological profile and erythrocyte indexes by electronic cell counter; the hemoglobin profile by high-performance liquid chromatography; and the reticulocyte counts by supra-vital staining. Enzymatic methods were utilized to determined lipid markers; lactate dehydrogenase; transaminases; alkaline phosphatase and gamma glutamyl transferase; total bilirubin and its fractions; urea, creatinine and uric acid; total proteins and its fractions; iron, calcium and phosphorus. The potassium levels were determined by ion selective electrode method. Ferritin, 25(OH) VitD and parathyroid hormone (PTH) levels were determined by chemiluminescence. The haptoglobin, alpha 1-antitrypsin, antibody antistreptolysin O and C-reactive protein (PCRe) were measured by nephelometry. The beta globin genes haplotypes were determined by Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP). Of the individuals studied, 51.58% had insufficient VitD values (10 to 30 ng/ml), but not deficient (<10 ng/ml), and others showed sufficient levels of this vitamin (30 to 100 ng/ml). VitD levels were negatively correlated with iron ($r = -0.3459$, $P = 0.0006$), MCV ($r = -0.2071$, $P = 0.0441$), direct bilirubin ($r = -0.2629$, $P = 0.0101$) and PTH ($r = -0.3689$, $P = 0.0004$). A positive correlation was seen among the VitD and reticulocytes ($r = 0.2361$, $P = 0.0220$), lymphocytes ($r = 0.2306$, $P = 0.0245$) and PCRe ($r = 0.2113$, $P = 0.0420$). **Conclusion:** Individuals with HbSC included in the study did not show VitD deficiency, and vitamin levels in this population may be associated with hemolytic and inflammatory processes characteristic of SCD.

067

Desempenho dos testes de triagem para talassemia alfa

Souza RA¹, Carlos AM¹, Souza BM¹, Rodrigues CV², Pereira GA¹, Moraes-Souza H¹

¹Universidade Federal do Triângulo Mineiro

²Universidade Federal de Juiz de Fora

A triagem para talassemia alfa (alfa-tal) é realizada normalmente através de dois exames laboratoriais simples, que objetivam a detecção da hemoglobina H. O primeiro baseia-se na pesquisa citológica e o segundo na detecção eletroforética. Entretanto, vários autores ressaltam a necessidade de cautela ao utilizar essas técnicas, principalmente devido a imperícias relacionadas ao observador ou executor,

que podem levar a resultados duvidosos. Este fato, juntamente com o elevado número de resultados positivos para alfa-tal em amostras de pacientes do Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (HC-UFTM) e do Hemocentro Regional de Uberaba (HRU), motivou o presente estudo, que consistiu em avaliar o desempenho das duas técnicas de triagem para alfa tal, comparando seus resultados com o diagnóstico molecular. No período de setembro/2011 a janeiro/2013, foram colhidas 1004 amostras de sangue do cordão umbilical de recém-nascidos do HC-UFTM. Destas, 353 foram avaliadas quanto à presença de alfa-tal pelas técnicas laboratoriais convencionais e moleculares. Utilizou-se para a triagem da alfa-tal o teste citológico de pesquisa da hemoglobina H em lâmina e o teste eletroforético que pesquisa a hemoglobina H na fita de acetato de celulose em pH alcalino. Para o diagnóstico molecular, os DNAs foram extraídos e após foi realizada uma PCR-Gap multiplex, a fim de identificar as deleções mais comuns nos genes alfa: $-\alpha^{3.7}$, $-\alpha^{4.2}$, $-\text{SEA}$, $-\text{FIL}$, $-\text{THAI}$, $-\text{MED}$ e $-\alpha^{20.5}$. Para a avaliação do desempenho das técnicas de triagem frente ao resultado da técnica molecular, foram utilizados os teste de concordância Kappa e efetuados os cálculos de sensibilidade e especificidade. Houve uma baixa concordância entre os testes de triagem ($\text{kappa}=0,25$). Frente ao teste molecular, o teste da fita mostrou-se mais específico ($\text{Sp}=96,2\%$) e o da lâmina mais sensível ($\text{Se}=66,9\%$). O resultado final da triagem quando se empregou os dois testes de triagem (fita+lâmina), apresentou sensibilidade de 66,7% e especificidade de 94,6%. A avaliação dos testes de triagem mostrou que em aproximadamente 34,3% das amostras analisadas não poderia ser diagnosticada a alfa-tal, sendo que 32% apresentaram resultados inconclusivos, com positividade apenas no teste em lâmina, enquanto que 2,3% foram negativas em ambas as técnicas. Por outro lado, o índice de falsa positividade foi também alto (29,7%) pelas duas técnicas. Tais resultados evidenciam a importância do emprego da técnica molecular, especialmente na elucidação dos casos inconclusivos e/ou com evidências clínicas, onde outras causas de anemias microcíticas já tenham sido excluídas.

068

Perfil genotípico da alfa talassemia em recém-nascidos do Hospital das Clínicas da UFTM

Souza RA¹, Carlos AM¹, Souza BM¹, Rodrigues-Velloso C², Pereira GA¹, Moraes-Souza H¹

¹Universidade Federal do Triângulo Mineiro

²Universidade Federal de Juiz de Fora

A alfa- talassemia (alfa-tal) é uma anemia microcítica decorrente da falha na produção das cadeias alfa da globina humana. Na maioria das vezes é causada por deleções nos genes alfa globínicos que resultam em genótipos variáveis, com alterações fenotípicas que vão desde a ausência de alterações clínicas e laboratoriais, até formas mais graves incompatíveis com a vida. Escassos estudos na população brasileira mostraram que a deleção mais comum é a $-\alpha^{3.7}$, proveniente da região africana. Este alelo manifesta-se em heterozigose com quadro clínico ausente, ou em homozigose com manifestações clínicas de anemia microcítica leve. Como nestes casos o déficit na produção das cadeias alfa não é tão acentuado, seu diagnóstico correto só pode ser dado através de análises moleculares do gene e que não são realizados rotineiramente. Assim, na ausência de um diagnóstico correto a anemia pode ser tratada como ferrodeficiência com consequente sobrecarga de ferro. O objetivo deste trabalho foi investigar os tipos de mutações e relacioná-las com a origem étnica bem como conhecer a incidência da alfa-tal nos recém-nascidos do Hospital de Clínicas da UFTM. No período de setembro/2011 a janeiro/2013, foram colhidas 1004 amostras de sangue cordão umbilical de recém-nascidos do HC- UFTM. Destas, 353 foram avaliadas quanto à presença de alfa-tal. Para o diagnóstico molecular, os DNAs foram extraídos e após foi realizada uma PCR-Gap multiplex a fim de identificar as deleções mais comuns no

gene alfa: $-\alpha 3.7$, $-\alpha 4.2$, $-\text{SEA}$, $-\text{FIL}$, $-\text{THAI}$, $-\text{MED}$ e $-\alpha 20.5$. A associação da alfa-tal com a etnia foi verificada pelo teste qui-quadrado com nível de significância de 5%. Das 35 amostras analisadas, 317 (89,8%) apresentaram o genótipo normal ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$), 34 (9,6%) apresentaram a deleção $-\alpha^{3.7}$ em heterozigose ($\alpha^{-3.7}/\alpha\alpha$) e 2 (0,57%) apresentaram a deleção 4,2 também em heterozigose ($\alpha^{-4.2}/\alpha\alpha$). Todos os indivíduos que apresentaram os genótipos da alfa-tal pertenciam à etnia negra, parda ou eram brancos, mas com antecedentes negros ou pardos. Não foi encontrado nenhum indivíduo branco com antecedentes brancos nestes grupos, mostrando associação significativa dos genótipos 3,7 e 4,2 com a etnia negra ($p=0,003$). A incidência da talassemia alfa, bem como os genótipos encontrados no HC- UFTM em Uberaba refletem os resultados encontrados em outros estados da região sudeste brasileira. A associação significativa da deleção 3,7 com a etnia negra confirma os dados literários, evidenciando a forte influência da etnia na composição da população brasileira. Os resultados gerados propiciarão dados epidemiológicos que contribuirão para nortear o diagnóstico e orientações corretas aos afetados. Apoio financeiro: Fapemig e Fundação Hemominas.

069

Conhecimento dos profissionais de saúde sobre anemia falciforme na emergência do Hospital Simão Mendes no país de Guiné-Bissau, África ocidental

Melo A¹, Mooij J², Araújo AS³, Lucena FJ³, Medeiros SB³, Loureiro P³, Silva MF^{3,4}

¹Fundação de Ensino Superior de Olinda

²Hospital Simão Mendes-Guiné Bissau-África Ocidental

³Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco

⁴Pontifícia Universidade Católica de São Paulo/CAPES

A Guiné Bissau situa-se na costa ocidental da África Subsariana, numa extensão territorial de 36.125Km². Devido a grande maioria das pessoas serem de cor negra e esta possuírem uma alta prevalência para Anemia Falciforme, foi analisado até que ponto os profissionais de saúde têm conhecimento acerca da sua fisiopatologia, diagnóstico, tratamento e uso de fármacos necessários ao controle da sua crise na Guiné Bissau? Dessa forma, há necessidade de profissionais cada vez mais capacitados e habilitados para estarem à frente do atendimento de um serviço de emergência. A doença falciforme é uma enfermidade genética mais prevalente no continente africano e tem acometido vários países, tornando-se uma preocupação de Saúde pública. Desta forma este estudo teve como objetivo descrever o perfil dos profissionais de Saúde da emergência do Hospital Simão Mendes no país da Guiné Bissau, África Ocidental. Trata-se de um estudo descritivo realizado no período de junho 2013. Os sujeitos da pesquisa foram profissionais de enfermagem, médicos e técnicos, totalizando 24 entrevistados. O instrumento de coleta de dados utilizado foi o questionário. Para a análise dos dados, foi utilizado o Programa Microsoft Excel. Os aspectos éticos e legais da pesquisa foram respeitados atendendo a Resolução nº196/96 e estudadas as seguintes variáveis: sexo, faixa etária, estado civil, religião e nível de conhecimento sobre Anemia Falciforme. Em um total de 24 profissionais, 2 (8,3%) encontravam-se na faixa etária de 16 a 18 anos, 14 (58,3%) entre 29 a 38 anos, 7 (29,2%) de 39 a 48 e 1 (4,2%) acima de 49 anos. Em relação ao sexo, 14 (58,3%) pertenciam ao sexo masculino e 10 (41,7%) feminino. Quanto ao estado civil, 15 (62,5%) eram solteiros e 9 (37,5%) casados. Os católicos totalizaram 18 (75%) enquanto 4 (16,7%) eram Islâmicos e 2 (8,3%) não possuíam religião. Ao serem indagados se conheciam a Anemia Falciforme, 18 (75%) informaram que sim e 6 (25%) que não. Na variável grau de instrução, 1 (4,2%) tinha o fundamental, 8 (33,3%) médio e 15 (62,5%) superior. Em relação ao conhecimento do uso da medicação durante o período de crise, (75%) responderam que conheciam a medicação, (20,8%) não conheciam, (4,2%) não respondeu. Quanto ao uso de um protocolo de atendimento (95,8%) dos entrevistados informaram que não existe nenhum formulário ou protocolo de atendimento ao portador

da DF. Quando foi sugerido que os profissionais de saúde dessem algumas opiniões para viabilizar o atendimento do portador da DF, (20,8%) relataram a necessidade de um hospital de referência para Diagnóstico e atendimento, (8,33%) falaram da necessidade do serviço ter laboratório para diagnósticos, (12,5%) relataram a necessidade de criação de equipes especializadas para o atendimento do doente, (8,3%) sugeriram cursos de capacitação de profissionais de saúde e (16,6%) não responderam. Podemos dizer que a maior dificuldade que o profissional de Saúde do Hospital Simão Mendes tem, é a falta de serviços especializados: hospital referência, laboratórios, profissionais capacitados e treinados para o atendimento, como também a criação de protocolo de atendimento e formulário de notificação para um bom diagnóstico e tratamento da DF. O Brasil com a sua experiência, pode contribuir na implantação de um serviço de referência na Guiné Bissau.

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

070

Sepse neutropênica em aplasia medular parasitária: relato de caso

Borges KO¹, Neto LB², Aguiar G², Fortes MF¹

¹Hospital Regional do Baixo Amazonas do Oeste do Pará

²UEPA

A anemia aplástica ou aplasia medular é uma condição em que as células sanguíneas estão extremamente baixas e a medula óssea encontra-se com profunda hipocelularidade. Esses elementos celulares são indispensáveis para o bom funcionamento do corpo, principalmente para defesa do organismo. Os neutrófilos são os responsáveis pelo combate as infecções, e nos casos em que sua contagem está menor que 1.500 mm³ definimos o quadro de neutropenia, aumentando o risco a doenças infecciosas. A denominação neutropenia febril é usada a partir do momento em que um indivíduo neutropênico apresenta uma única temperatura maior que 38,3°C ou sustenta temperatura acima de 38°C por mais de uma hora. A Leishmaniose Visceral é uma doença de alta incidência na região amazônica e muito observada no município de Santarém. Essa zoonose é umas das raras patologias que podem gerar anemia aplástica, levando a um quadro clínico de sepsse neutropênica em aplasia medular. **Relato de Caso:** MAVS, 18 anos, sexo masculino, trabalhador da construção civil, santareno. Deu entrada no Hospital Regional do Baixo Amazonas (HRBA) no dia 12/06/2012 com história de febre recorrente há 6 meses, acompanhada de queda progressiva do estado geral, astenia, fraqueza e dor com distensão abdominal. Ao exame físico: icterício, febril, palidez cutânea mucosa, abdômen distendido com hepatoesplenomegalia. Exames de entrada: USG compatível com hepatoesplenomegalia; HEMOGRAMA: Pancitopenia. O caso foi conduzido como neutropenia febril e diagnosticado, com anatomopatológico de medula óssea, LEISHMANIOSE VISCERAL. Realizou tratamento com GLUCANTIME 30 DIAS, recebeu alta em Bom estado geral, afebril, sem queixas e melhora visível da hepatoesplenomegalia. No retorno ambulatorial com 30 dias, já apresentava hemograma normal e exame físico com discreta esplenomegalia. Demais substratos do exame físico sem alterações e sem queixas, recebendo assim alta do tratamento. **Conclusão:** A anemia aplástica pode ser idiopática ou secundária a outras doenças, inclusive doenças infecciosas. Nesse contexto, a Leishmaniose Visceral é pouco abordada na literatura médica em se tratando de uma das causas de aplasia medular com sepsse neutropênica. Porém esta associação é de extrema relevância em áreas endêmicas como a região norte, tornando-se não só emergência clínica, mas também alvo para planejamentos de saúde pública.

071

Avaliação laboratorial e análise da sobrecarga de ferro em pacientes com síndrome talassêmica no grande ABC Paulista

Rodrigues ED¹, Taissun N¹, Zing NP¹, Yamashita S¹, Bordim R¹, Jablonka F¹, Borducchi DM²

¹*Disciplina de Hematologia e Oncologia da Faculdade de Medicina do ABC*

²*Central Clinic*

Introdução: As anemias hemolíticas hereditárias compreendem um grupo de distúrbios genéticos comuns de apresentações clínicas e laboratoriais distintas, com diferentes níveis de complexidade. Nas talassemias, doenças autossômicas recessivas que envolvem os genes α e β , o defeito genético causa redução na taxa de síntese de uma ou mais cadeias da globina levando a formação anormal da hemoglobina humana. Além das classificações alfa e beta talassemia, podemos também caracterizá-las em maior, intermediária e menor, segundo o grau de comprometimento da cadeia globínica. Clinicamente, a talassemia maior é diagnosticada nos primeiros anos de vida, enquanto que as outras formas normalmente são diagnósticos diferenciais com anemias hipocrômicas e microcíticas. A hemossiderose é uma importante complicação nas formas mais graves de talassemia, mas pouco observada no caráter talassêmico e na talassemia menor. **Objetivo:** Descrever os dados laboratoriais de talassêmicos ao diagnóstico, e relacionar a sobrecarga de ferro a talassemia. **Métodos:** Foram avaliados 100 pacientes talassêmicos em seguimento na Central Clinic de Janeiro de 2008 a março de 2013. Utilizou-se para análise estatística dos resultados obtidos em prontuário o programa STATA 12.0. **Resultados:** A revisão foi constituída de 71 pacientes do gênero feminino e 29 do masculino, com relação aproximada de 2,5: 1 respectivamente. A média de idade ao diagnóstico foi de 34,2 anos. Partindo-se da cadeia globínica, encontramos uma maior prevalência de pacientes β talassêmicos (60%) contra 40% de α talassêmicos. Quanto a classificação fenotípica dos β talassêmicos, observamos que 40% dos pacientes possuem *caráter talassêmico*, 50% *talassemia minor*, 10% *talassemia intermedia* e nenhum dos pacientes avaliados era portador de *talassemia major*. Os índices hematimétricos demonstraram média de hemoglobina total de 12,10 g/dL e VCM 71,73fl do total de pacientes, sendo possível observar que os portadores de hemoglobinopatia β apresentavam valores inferiores ao outro grupo. Os valores de ferro sérico e ferritina mostraram-se elevados em 17,39% das mulheres e 10,34% dos homens. Na análise estatística de subgrupo 46% dos pacientes com caráter talassêmico e 21% com talassemia menor apresentaram sobrecarga de ferro. **Conclusão:** De acordo com a história migratória da população brasileira, em especial da região do Grande ABC, o nosso estudo constatou a maior prevalência de pacientes β talassêmicos, correspondendo ao esperado. Podemos concluir também que a sobrecarga de ferro observada em pacientes talassêmicos, portadores das formas mais brandas, não pode ser relacionado à talassemia em si, mas a fatores externos.

072

Aplasia pura de série vermelha : revisão de literatura

Herênio YM¹, Cardoso CC¹, Sanches BL¹, Ferreira JF¹, Ferreira PW¹, Othman HA¹, Uchoa JN¹, Araújo EF¹, Borges KO²

¹UEPA

²Hospital Regional do Baixo Amazonas do Oeste do Pará

Segundo Sawada *et al* (2008), a Aplasia Pura de Série Vermelha (APSV) é uma síndrome caracterizada por anemia normocítica-normocrômica severa, reticulocitopenia e ausência de eritroblastos,

sendo tal desordem podendo ocorrer de forma congênita, conhecida como síndrome de Diamond-Blackfan ou adquirida. Esta pesquisa é de caráter retrospectivo do tipo revisão assistemática de literatura. Foi realizada uma busca apurada nos principais veículos de publicação. Estabeleceu-se uma avaliação sistemática de artigos científicos a respeito do tema APSV, utilizaram-se: pure aplasia, bone marrow, red cell, treatment, diagnosis. Como fonte de pesquisa foram consultados 60 artigos, todos incluídos na pesquisa, nos principais bancos de dados mundiais, como: BIREME/LILACS, MEDLINE, SCIELO e PUBMED. Em uma revisão de literatura, Djaldetti *et al* (2003) definiram a APSV como uma doença rara caracterizada por progressiva anemia, comumente normocítica-normocrômica marcada por uma reticulocitopenia e quase completa ausência de células progenitoras eritróides na medula óssea. A APSV pode aparecer de forma congênita ou ocorrer tardiamente de uma forma adquirida. A forma congênita é conhecida como síndrome de Diamond-Blackfan, a APSV pode apresentar-se primariamente como uma alteração hematológica na ausência de outra doença de base, como um estado autoimune, pré-leucêmico, idiopático ou secundária a patologias como: timoma, tumores, infecção por parvovírus, CMV, hepatites virais, EBV, herpes vírus, anemias hemolíticas, doenças do colágeno, drogas, gravidez, deficiências nutricionais severas, falência renal severa e presença de anticorpos anti-eritropoietina. (Dessypris *et al*, 1990; Fisch *et al*, 2000; Mamiya *et al*, 1997). Epidemiologicamente a APSV é rara na infância e se dá usualmente em indivíduos entre os 50 e 60 anos de idade. (Zecca *et al*, 2001). A terapêutica empregada deve incluir histórico médico e exame físico, hemograma completo e esfregaço de sangue, RX de tórax para se descartar timoma e sorologia para descartar infecção por parvovírus. (Charles *et al*, 1996). O maior objetivo do tratamento da APSV é a recuperação da eritropoiese, nos casos da APSV imunomediada é utilizada a imunossupressão, dentre as drogas temos: corticoesteroides, ciclofosfamida, ciclosporina A, globulina anti-timocítica, medidas como esplenectomia e plasmáfereze. (Sawada *et al*, 2008; Fisch *et al*, 2000; Sharma *et al*, 2002). Estudos mais recentes trazem anticorpos monoclonais como outras formas de tratamento, tais como anti-CD20 (Zecca *et al*, 2001; Narra *et al*, 2006; Sawada *et al*, 2008) e anti-CD52 (Willis *et al*, 2001). Tal revisão procurou sumarizar as principais etiologias da APSV, as mudanças epidemiológicas no diagnóstico e tratamento. A pesquisa diagnóstica é importante no intuito de verificar a causa base da doença, se é primária ou secundária. Ao longo dos artigos pesquisados, percebem-se mudanças significativas no tratamento, o qual avança de acordo com o advento de novas tecnologias.

073

Estrutura das representações sociais de usuários sobre se cuidar com doença falciforme

Silva GM¹, Costa TM¹

¹Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará

A doença falciforme encontra-se dentro do grupo das hemoglobinopatias, as quais resultam de mutações nos genes que codificam as cadeias globínicas alfa e beta da molécula de hemoglobina e, atualmente, já foram descritas mais de 1200 mutações nos genes dessas cadeias. Porém, as mais frequentes e clinicamente significantes são as variantes estruturais para as hemoglobinas S e C. Segundo a Organização Mundial da Saúde, 270 milhões de pessoas no mundo carregam genes que determinam a presença de hemoglobinas anormais. Com base nestas reflexões desenvolveu-se estudo com objetivo de identificar a provável estrutura central das representações sociais de usuários atendidos na Fundação Hemopa sobre se cuidar com doença falciforme. Lançou-se mão da Teoria das Representações sociais em sua abordagem estrutural ou Teoria do Núcleo Central. Pesquisa exploratória realizada na Fundação HEMOPA que trata e acompanha os usuários com doença falciforme do Estado do Pará. A amostra foi de 59 usuários. A coleta de dados foi feita em 2 etapas: a

1ª etapa consistiu no convite aos participantes que assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido em duas vias e a 2ª etapa foi por meio de um formulário dividido em duas partes: a primeira com os dados pessoais e sócio demográficos e a segunda com a técnica de evocação livre de palavras com o estímulo "se cuidar com doença falciforme". Para análise dos dados sócio demográficos, foi utilizada a estatística simples de frequência e o Programa Excel 2003-2007. Os resultados foram organizados em tabelas e gráficos. A técnica para a análise dos dados da evocação de palavras se deu por meio do Software EVOC2003. A pesquisa cumpriu com o estabelecido na Resolução 196/96 e Portaria 46 do HEMOPA. Em relação ao perfil dos participantes, a maioria pertence à faixa etária de 18 a 28 anos, são do sexo feminino, solteiras, com o ensino fundamental completo, católicas, residem com os pais, tem renda familiar de 1 a 4 salários mínimos e a maioria não reside em Belém. Verificou-se características pessoais e sociais prejudicadas, com a prevalência do nível de escolaridade baixo e dificuldade nas relações sócio-afetivas, evidenciadas pelo grande número de usuários solteiros. Em relação às evocações, obtivemos 269 termos. O provável núcleo central sobre se cuidar com doença falciforme é constituído dos termos alimentação-dieta, médico-consulta, não-fazer e medicação-remédio. A partir dos termos emergiram as categorias: hábitos saudáveis (alimentação-dieta); atos proibidos (não-fazer, não-praticar); atitudes de cuidado (consulta, médico e medicação-remédio). Conclui-se que a estrutura das representações sociais sobre se cuidar com doença falciforme possui um caráter funcional, evidenciado na operacionalização de um agir-cuidativo ao não fazer algo, ir às consultas e ao médico e tomar os medicamentos. Observa-se a ausência de outros modos de se cuidar por parte dos sujeitos. Recomenda-se um incremento de iniciativas educativas que coloquem essa população no centro das discussões, protagonista do cuidar de si, de modo a garantir maior qualidade de vida e resignificação social acerca da doença e do agir-cuidativo, valorizando seus saberes e conhecimentos.

074

Avanços técnicos na detecção de hemoglobínúria paroxística noturna por citometria de fluxo

Correia RP¹, Bento LC¹, Apelle AC¹, Alexandre AM¹, Vaz AC¹, Kanayama RH¹, Nozawa ST¹, Schmidell D¹, Mendes CE¹, Bacal NS^{1,2}

¹Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, Brasil

²Centro de Hematologia de São Paulo, Brasil

Hemoglobínúria paroxística noturna (HPN) é uma desordem clonal da célula tronco hematopoietica, caracterizada por hemólise intravascular, trombose e falência da medula óssea. A etiologia da doença está na ineficiência da biossíntese de glicosilfosfatidilinositol (GPI). Pacientes com HPN possuem uma deficiência em proteínas ancoradas pelo GPI, como é o caso das moléculas de CD55 e CD59 responsáveis por proteger as hemácias e granulócitos da ação lítica do sistema complemento. O diagnóstico de HPN é importante para condutas clínico-terapêuticas, e neste contexto, a técnica de citometria de fluxo (CF) é o método mais recomendado por ser específica, sensível e rápida. O objetivo deste trabalho é discutir os avanços técnicos relacionados a novas metodologias e marcadores imunofenotípicos utilizados para o diagnóstico de HPN no setor de citometria de fluxo do Laboratório Clínico do Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), Brasil. Nosso serviço tem uma experiência acumulada de nove anos na investigação de HPN por CF. Entre 2004 a julho de 2013, analisamos 641 amostras de sangue periférico de pacientes com suspeita clínica de HPN, representando 1,6% do total de exames realizados. Até meados de dezembro de 2012, a investigação de HPN se baseava na avaliação da expressão antigênica de marcadores como CD14, CD55 e CD59 através dos equipamentos Epics XL-MXL e Cytomics FC500 (Beckman Coulter). Durante este período, analisamos 580 amostras, e destas, 8,3% (48/580) apresentaram

alterações relacionadas a clone HPN. Com advento tecnológico e científico, nossa técnica foi otimizada recentemente nos quesitos metodológicos, utilização de novos marcadores imunofenotípicos, como o CD24, CD235a e FLAER, bem como a utilização do equipamento BD[®]FACSCantoll. Após esta otimização, observamos que a sensibilidade de detecção do clone HPN pouco se alterou, pois dos 61 casos analisados com a nova metodologia (dezembro de 2012 a julho de 2013), 9,8% (6/61) foram fidedignos de HPN. O fato de não visualizarmos mudança na sensibilidade entre as técnicas, demonstrou a acurácia entre as mesmas. Vale ressaltar, porém, que as ações de melhoria adotadas trouxeram vantagens técnicas e interpretativas muito importantes para a conclusão diagnóstica como um todo. De maneira geral, na avaliação das hemácias passamos a utilizar os marcadores CD235aFITC e CD59PE seguindo a recomendação de diluição do último, que além de diminuir a formação de agregados, possibilitou a identificação de clones tipo I e tipo II. Os granulócitos e monócitos passaram a ser avaliados através de um painel de 4-cores combinando FLAERAlexaFluor488/CD24PE/CD15PECy5/CD45PECy7 e FLAERAlexaFluor488/CD14PE/CD64PECy5/CD45PECy7, respectivamente. Conforme dados da literatura, estas combinações conferem maior sensibilidade e acurácia do que a marcação com CD55 e CD59. A CF é a técnica *gold-standard* no diagnóstico de HPN, mas muito se discute sobre sua complexidade e necessidade de extensa padronização. Devido a avanços científicos e tecnológicos, houve a possibilidade de tornar a técnica cada vez mais sensível. Dessa forma, ao seguir recomendações internacionais, percebemos melhorias técnicas e interpretativas, que foram evidenciadas em controles externos de qualidade como o UKNEQAS (United Kingdom National External Quality Assessment) e CAP (College of American Pathologists), realizados desde 2004 e 2006, respectivamente.

075

Aspectos epidemiológicos da doença falciforme em pacientes atendidos no Hemocentro da Paraíba

Damascena LC¹, Fernandes CM¹, Leal MD¹, Tenório ML¹, Guedes GC¹, Figueiredo SS¹, Béchade AH², Santos SS¹, Soares LF^{1,3}

¹Hemocentro da Paraíba

²Consorg

³Universidade Estadual da Paraíba - UEPB

Introdução: A doença falciforme designa um grupo de anemias hemolíticas hereditárias caracterizadas pela alteração estrutural na cadeia da beta globina levando à produção de uma hemoglobina anormal denominada HbS. A ocorrência de vaso-oclusões, principalmente em pequenos vasos, representa o evento fisiopatológico determinando origem da maioria dos sinais e sintomas presentes no quadro clínico dos pacientes com doença falciforme, tais como as crises algícas, úlceras de membros inferiores, síndrome torácica aguda (STA), sequestro esplênico, priapismo, necrose asséptica do fêmur, acidente vascular encefálico (AVE), retinopatia, insuficiência renal crônica, entre outros. Manifestações clínicas da doença ocorrem a partir do primeiro ano de vida e seus portadores apresentam variabilidade sintomatológica, tais como a síndrome torácica aguda e infecções bacterianas, responsáveis por consideráveis taxas de morbidade e mortalidade em nosso país. No Brasil, aproximadamente 78,6% dos óbitos devidos à doença falciforme ocorreram até os 29 anos de idade. Apesar de todo o desenvolvimento tecnológico vivenciado pelo homem moderno nas últimas duas décadas e cumprimento da Portaria 822/01 do Ministério da Saúde, de 06 de junho de 2001, que instituiu o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) para a doença falciforme, não existe cura definitiva para tal alteração genética. Além disso, como em outras doenças crônicas, aspectos psicossociais afetam a adaptação emocional, social e acadêmica dos pacientes com doença falciforme. O objetivo deste estudo é identificar os aspectos epidemiológicos da doença falciforme em paciente portadores da enfermidade que são usuários do Hemocentro da

Paraíba. Métodos: Trata-se de um estudo descritivo, realizado no Hemocentro da Paraíba, no período de julho de 2013, cujos dados foram extraídos dos prontuários dos pacientes de doença falciforme que são atendidos na referida instituição. **Resultados e Discussão:** Os dados coletados revelam que a idade média dos pacientes foi de 17 anos, quanto ao estado civil, 84,2% dos pacientes são solteiros e 15,8% são casados; 68,4% tem ensino fundamental incompleto, 10,5% estão no pré-escolar, médio completo são 7,9%, médio incompleto 7,9% e superior completo apenas 5,3%; para o quesito renda familiar 76,3% apresentam de um a três salários mínimos, 21,1% declaram menos de um salário mínimo e 2,6% tem renda de quatro a sete salários mínimos; com relação ao tipo de tratamento da água utilizada para consumo 42,1% tem água filtrada, 36,8% fazem uso de água clorada, sem tratamento 5,3%, poço 2,6% e os demais não informaram; de acordo com o item tratamento dos dejetos 60,5% apresentam fossa em seu domicílio, 23,7% possuem sistema de esgoto, 2,6% despejam os coliformes a céu aberto e 13,2% não declararam. Observa-se que com este estudo que a doença apresenta reflexos nas atividades laborais e na qualidade de vida do paciente falciforme. **Conclusão:** Em síntese, a consolidação da política de atenção integral ao doente falciforme, preconizadas pelo Ministério da Saúde através do Sistema Único de Saúde (SUS), nos âmbitos federal e estadual é de fundamental importância na garantia da qualidade de vida destes pacientes, já que grande parte encontra-se sob vulnerabilidade social.

076

Hemoglobinúria paroxística noturna

Mota RB¹, Silva AC¹, Perez PH¹, Freire TS¹, Araruna CH¹, Azevedo A¹, Costa W¹

¹Hospital Regional de Taguatinga - HRT, SES/DF

Objetivo: Relatar dois casos de hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) diagnosticados no Serviço de Clínica Médica no Hospital Regional de Taguatinga -HRT, SES/DF. **Métodos:** Caso 1: WS, 22 anos, masculino, pardo, atendido no HRT em 30/04/12 com história de urina escura e lombalgia há 1 mês. Negava episódios semelhantes previamente. À admissão, apresentava palidez, icterícia, dispnéia aos esforços e dor em região lombar. Sem antecedentes patológicos ou familiares relevantes. Negava: febre, viagens recentes, passado transfusional e cirúrgico. Sem outras alterações ao exame físico. Durante a internação, a coloração da urina mostrava-se mais escurecida pela manhã e, no decorrer do dia, apresentava aspecto mais claro. Exames laboratoriais revelaram: Hb=8,2g/dl, VCM=107fl, anisocitose; L=2,22x10⁶/μL; P=29x10⁶/μL; reticulócitos corrigidos=3,06%. Coombs direto positivo. Sorologias não reagentes. Mielograma: medula óssea hiperplásica com partículas mielóides. Série eritróide = 75,5%, hiperplásica e discretamente megaloblástica. Série granulocítica monocítica = 14% hipoplásica, normoblástica. Série linfocítica = 10,5%, sem atípicas. Citometria de fluxo confirmou o diagnóstico de HPN. Alta com corticóide oral, em seguimento ambulatorial, aguardando liberação do ecilizumab para tratamento. Caso 2: FGO, 29 anos, masculino, pardo. Admitido em 14/02/13 referindo lombalgia, episódios de urina escura tipo cor de coca-cola intermitente, predominantemente pela manhã e febre diária há 25 dias da admissão hospitalar. Relatava dois episódios semelhante prévios com melhora espontânea nos últimos 18 meses. Queixava ainda de impotência sexual. Antecedentes pessoais: história de tratamento para anemia de origem desconhecida há 1 ano com necessidade de hemotransfusão na ocasião e de infecções recorrentes. Negava comorbidades associadas, etilismo, tabagismo, uso de medicações de uso crônico, viagens recentes, antecedentes familiares dignos de nota. Encontrava-se em REG, hipocorado, icterico, hepatomegalia discreta a palpação, sem outras alterações ao exame físico. Apresentava ainda pancitopenia (anemia macrocítica com anisocitose e reticulocitose), hiperbilirrubinemia às custas de fração indireta, LDH= 7019, hemoglobinúria. Coombs direto negativo. Sorologias não reagentes. Mielograma com hiperplasia da série

eritróide e hipoplasia granulocítica. Atestado hipótese de HPN e solicitado citometria de fluxo que evidenciou presença de clone HPN em hemácias, neutrófilos e monócitos, confirmando o diagnóstico. Em uso de corticóide oral, mantendo seguimento ambulatorial e aguardando início do tratamento com ecilizumab. **Discussão:** A HPN é um distúrbio clonal da célula-tronco hematopoética que torna as linhagens celulares portadoras desta anormalidade propensas ao efeito lítico exercido pelo sistema do complemento. Sua incidência não é totalmente conhecida, não só pela sua raridade como pela dificuldade diagnóstica que ela impõe. Ambos os casos apresentaram-se com anemia hemolítica, pancitopenia em graus variados. Excluiu-se outros possíveis diagnósticos diferenciais, sendo o diagnóstico de HPN confirmado pela citometria de fluxo. **Conclusão:** É importante ressaltar a HPN como diagnóstico diferencial frente a casos de anemia hemolítica intravascular adquirida associada a granulocitopenias, trombocitopenia e eventos tromboembólicos ou anemia aplásica sem outra causa aparente, principalmente quando em adultos jovens.

077

Taliglucerase alfa long-term clinical safety and efficacy: interim results in patients from extension trial PB-06-003 who were previously treated with imiglucerase

Schwartz I¹, Chertkoff R²

¹Hospital de Clinicas de Porto Alegre

²Protalix Biotherapeutics

Taliglucerase alfa is a beta-glucocerebrosidase enzyme replacement therapy that is approved in the USA, Brazil, and other countries for treatment of Gaucher disease (GD) in adults and is the first approved plant cell-expressed biotherapeutic. Study PB-06-003 is an extension study of the taliglucerase alfa pivotal study PB-06-001 and switch-over study PB-06-002, wherein taliglucerase alfa was given every 2 weeks at the same doses as in the original studies. PB-06-002 was a phase 3, multicenter, open-label, 9-month study that assessed the safety and efficacy of taliglucerase alfa in adult patients with GD who had been treated with imiglucerase for the previous 2 years. Eligible patients were evaluated for 12 weeks to establish disease stability based on hemodynamic parameters. Patients with stable disease were switched from imiglucerase to intravenous infusions of the same dose of taliglucerase alfa every 2 weeks for 9 months. A total of 26 adult patients had been treated at least once with taliglucerase alfa (mean dose=29.2 U/kg [range, 11-59 U/kg]) in study PB-06-002. This report summarizes the interim results of 18 patients from study PB-06-002 who continued open-label treatment in study PB-06-003 with available data through 24 total months of treatment. Mean (SD) absolute spleen volume decreased from 848.4 (691.1) mL at baseline to 609.1 (442.7) mL and mean absolute liver volume decreased from 1837.0 (424.7) mL to 1757.1 (357.0) mL. Mean (SD) spleen and liver volumes expressed as multiples of normal (MN) decreased by 10.5% (22.0) and 2.8% (9.6), respectively. Mean hemoglobin levels remained unchanged. Platelet counts continued to improve from baseline (mean change [SD], 8633.33 [39,324]) and chitotriosidase, a biomarker of GD, was reduced by 32.9% from baseline. According to the pre-specified protocol definition, 2 patients in study PB-06-003 presented clinical deterioration in spleen volume (percent change ≥20%) or liver volume (percent change ≥10%). One patient had a baseline spleen volume of 813.8 mL, which increased by 22% to 989.49 mL at month 9, and 1024.94 mL at 24 months. This represented a change in spleen volume from 5.43 MN at baseline to 6.37 MN at month 9. The second patient had a baseline liver volume of 2130.97 mL, which increased by 22% at month 9 to 2604.25 mL, but decreased to 2223.11 mL by month 24. This represented a change in liver volume from 0.9 MN at baseline to 1.04 MN at month 9. All patients were stable by protocol-defined criteria. All treatment-related adverse events were mild or moderate in severity and transient in nature. The findings from this

interim analysis demonstrate that taliglucerase alfa is a safe and effective alternative treatment for Gaucher disease in patients switched from imiglucerase to taliglucerase alfa. This study was sponsored by Protalix Biotherapeutics and Pfizer. Trial PB-06-003 is ongoing. The analysis was completed using a validated database. The authors also acknowledge the trial investigators.

078

Three-category efficacy response analysis of enzyme replacement therapy for gaucher disease: taliglucerase alfa and comparisons to imiglucerase and velaglucerase alfa

Schwartz I¹, Chertkoff R², Paz A², Brill-Almon E², Golemb M²

¹Hospital de Clínicas de Porto Alegre

²Protalix Biotherapeutics

Taliglucerase alfa is a beta-glucocerebrosidase enzyme replacement therapy (ERT) that is approved in the USA, Brazil, and other countries for treatment of Gaucher disease (GD) in adults and is the first approved plant cell-expressed biotherapeutic. The objective of this retrospective analysis was to assess the efficacy of taliglucerase alfa according to a 3-category efficacy response classification system for visceral and hematologic GD manifestations recommended by the European Medicines Agency and to compare it with the available ERTs, imiglucerase and velaglucerase alfa, at comparable doses. Efficacy data were obtained from clinical trials PB-06-001 and PB-06-003 for taliglucerase alfa 60 U/kg (9, 12, and 24 months), from HGT-GCB-039 for imiglucerase 60 U/kg (9 months), and from HGT-GCB-039 and TKT-032 for velaglucerase alfa 60 U/kg (9 and 12 months). Responses were categorized with respect to changes from baseline of the following: spleen or liver volume reduction—good ($\geq 30\%$), moderate ($\geq 10\%$ to $< 30\%$), no response ($< 10\%$); hemoglobin concentration increase—good (≥ 1.5 g/dL), moderate (> 0.5 to < 1.5 g/dL), no response (≤ 0.5 g/dL); platelet count increase—good ($> 30 \times 10^9/L$), moderate ($> 15 \times 10^9/L$ to $\leq 30 \times 10^9/L$), no response ($\leq 15 \times 10^9/L$). Following 9, 12, and 24 months' treatment with taliglucerase alfa 60 U/kg, respectively, 86.7%, 92.9%, and 100% of patients achieved good spleen volume response and none had no spleen volume response; 83.3%, 83.4%, and 100% achieved good or moderate liver volume responses; at each time point, 87.5% achieved good hemoglobin response and none had no hemoglobin response; 56.3%, 57.1%, and 71.4% achieved good platelet response while 37.5%, 21.4%, and 14.3% fell into the no-response category for platelets. Mean baseline liver volume and hemoglobin concentration were similar for HGT-GCB-039, TKT-032, and PB-06-001; however, mean baseline spleen volume ranged from 12.7 to 21.2 multiples of normal across the 3 studies and 59% of patients in HGT-GCB-039 were splenectomized resulting in substantially higher baseline mean platelet counts than in the other studies. Analysis of response rates to taliglucerase alfa, velaglucerase alfa, and imiglucerase across the 4 clinical parameters were comparable at the common evaluation time point of 9 months; assessment of taliglucerase alfa and velaglucerase alfa at 12 months also revealed comparable response rates. In conclusion, efficacy responses to taliglucerase alfa 60 U/kg continued through 24 months of treatment, and at this dose, appeared to be comparable to imiglucerase and velaglucerase alfa in this retrospective analysis using a 3-category classification system. This study was sponsored by Protalix Biotherapeutics and Pfizer. Trial PB-06-003 is ongoing. The analysis was completed using a validated database.

079

Anemia de Diamond-Blackfan em paciente córtico-dependente com sobrecarga de ferro transfusional: relato de caso

Souza LC¹, Loggetto SR², Seber A³, Gouveia RV³, Lopes LF^{4,5}, Papaléo-Paes JM⁶, Tabosa GV⁶, Monteiro TV⁶, Santos PC⁶, Santos JL⁶

¹Instituto de Hematologia e Hemoterapia do Amapá - HEMOAP - Macapá, AP, Brasil

²Centro de Hematologia de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

³Instituto de Oncologia Pediátrica, Grupo de Apoio ao Adolescente e à Criança com Câncer, Universidade Federal de São Paulo - IOP/GRAACC/UNIFESP - São Paulo, SP, Brasil

⁴Hospital de Câncer de Barretos, Barretos, SP, Brasil

⁵Centro de Tratamento Fabiana Macedo de Moraes, Grupo Cooperativo Brasileiro de Síndrome Mielodisplásica Pediátrica, Grupo de Assistência à Criança com Câncer - CTFM/GACC - São José dos Campos, SP, Brasil

⁶Universidade Federal do Amapá - UNIFAP - Macapá, AP, Brasil

Introdução: Anemia de Diamond-Blackfan (ADB) é hereditária, rara (5-7 casos/1.000.000 nascidos vivos), caracterizada por insuficiência medular da série vermelha, baixa estatura, malformações congênitas e predisposição a câncer. Pertence ao grupo das ribossomopatias e a principal mutação ocorre no gene *RPS19*. **Relato de Caso:** Paciente feminina, 14 anos, branca, pais não-consanguíneos, pré-termo (pré-eclâmpsia), sem infecção congênita. Com 1 mês teve desconforto respiratório, dificuldade ao mamar, irritabilidade, palidez, anemia grave, sem visceromegalias ou icterícia. Nos primeiros 10 meses, Hb variou entre 5-10,9 g/dL, tornando-se dependente de transfusão de hemácias. A partir do 10º mês, iniciou corticóide com boa resposta, cessando as transfusões. Observou-se quirdactilos curtos, manchas café com leite, déficit pondero-estatural. Crânio, face, desenvolvimento neuropsicomotor e cognitivo normais. Com 5 anos havia déficit importante de crescimento e corticóide foi suspenso, voltando a transfundir mensalmente. Com 11 anos concluiu-se pelo diagnóstico de ADB devido a anemia normocrômica e normocítica grave sem alteração das outras séries, reticulocitopenia, HbF 5,4%, mielograma com RGE 5,2:1,0, hipocelularidade eritrocítica e megacariocítica e hiperplasia granulocítica, biópsia de medula óssea hipocelular global com retardo de maturação de eritroblastos, cariótipo normal e DebTest negativo. Aos 12 anos tinha ferritina sérica= 3690ng/mL, RNM T2 com sobrecarga de ferro grave no fígado e coração normal. Irmão sadio HLA totalmente compatível. Indicado transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH), porém pela sobrecarga de ferro optou-se reintroduzir corticóide e iniciar terapia quelante de ferro. Com 14 anos, é independente de transfusão, está em redução progressiva da dose de corticóide e em quelação para reavaliação da indicação de TCTH. **Discussão:** O diagnóstico de ADB geralmente ocorre em menores de 1 ano com anemia macrocítica, ocasionalmente normocítica, reticulocitopenia, neutrófilos e plaquetas normais e medula óssea normocelular com insuficiência da série vermelha. HbF e atividade da adenosina deaminase da hemácia estão elevadas. A celularidade da medula óssea pode reduzir com a idade, justificando o achado de hipocelularidade nesta paciente. O diagnóstico diferencial inclui anemia de Fanconi, síndrome de Shwachman-Diamond, síndrome de Pearson, disqueratose congênita, citopenia refratária. Além da baixa estatura, 50% dos casos tem anomalias congênitas (craniofaciais, ósseas, genito-urinárias ou cardíacas). 80% respondem ao corticóide e o restante torna-se dependente de transfusões evoluindo para sobrecarga de ferro. A suspensão do corticóide na paciente ocorreu pelo déficit importante de crescimento, não explicado apenas pela baixa estatura esperada na ADB. A sobrecarga de ferro transfusional está em tratamento antes da indicação do TCTH, uma vez que pode comprometer o resultado final do transplante. **Conclusão:** Embora rara, a ADB faz parte do diagnóstico diferencial

de anemia nos primeiros meses de vida. O diagnóstico por vezes é difícil devido à variabilidade da expressão clínica. Corticoterapia a longo prazo em pacientes responsivos e sobrecarga de ferro transfusional podem comprometer o estado geral do paciente. A opção do transplante alogênico de células-tronco pode ser ponderada em razão da taxa de sucesso de 85%

080

Hemoglobinopatia C: relato de caso

Barros LE¹, Farias NH¹, Rodrigues LP¹, Padilha CK¹

¹Universidade Católica de Brasília

Introdução: A hemoglobinopatia C é uma doença genética, rara na população brasileira, tendo origem em populações africanas. A HbC por duas cadeias alfa e duas variantes da cadeia beta. A substituição de um ácido glutâmico por uma lisina na posição 6 da cadeia beta, leva ao surgimento da hemoglobina C. É dada maior relevância quando ocorre em combinação com a hemoglobina S, originando uma das formas da anemia falciforme. Quando o indivíduo é heterozigoto, geralmente a doença é assintomática, sendo possível o diagnóstico apenas pela eletroforese de hemoglobina em pH alcalino, revelando nestes casos a presença de duas hemoglobinas HbA, a hemoglobina normal, e HbC, hemoglobina com migração mais lenta. A visualização apenas de HbC somente poderá ocorrer em duas ocasiões, sendo essas, em indivíduos homozigotos ou em heterozigose com β -talassemia. Em geral, é possível a visualização no esfregaço sanguíneo de hemácias em alvo, células irregulares contraídas e cristais de HbC com microcitose, sendo os cristais um achado raro. A manifestação clínica mais comum é a esplenomegalia, o que induz muitas vezes, ao diagnóstico, tendo em vista que muitas dessas doenças são descobertas ao acaso, quando é realizada alguma investigação familiar ou para a determinação da causa da esplenomegalia. **Relato de Caso:** E.A.M, sexo masculino, 38 anos, casado, pai de três filhos, residente em Brasília (DF), natural de Canápolis (BA), procurou um serviço de saúde com queixas de dores e inchaço na região abdominal. Em maio 2012, o paciente procurou ajuda médica com a suspeita de coledolitíase, relatando que 4 irmãos já foram submetidos a processos cirúrgicos para retirada de cálculos biliares. O paciente foi submetido a exames laboratoriais e de imagem que revelaram esplenomegalia, medindo o baço do paciente 19,58 centímetros em junho de 2012. No primeiro exame laboratorial foram observados os seguintes valores: Hm 5,94 milhões / Hb 13,8 g/dL / Ht 38,2% / VCM 64,3 fl / HCM 23,2 pg / CHCM 36,1 g/dL / RDW 19%, tendo nas observações da série vermelha microcitose (+++), anisocitose (++), na série branca foram observados 12.800 leucócitos totais, com contagens absolutas e relativas normais, número de plaquetas: 187.000. Reticulócitos: 2,4%. Perfil lipídico, hepático e renal, glicose, DHL normais. Ferritina 528,8 ng/mL. O paciente foi submetido a exames de biologia molecular, o qual revelou hemoglobinopatia C. Foi relatado ainda histórico de hemoglobinopatia familiar, tendo a mãe do paciente chegado a óbito em decorrência de complicações ocasionadas por Anemia Falciforme. O paciente ressaltou sentir dores nos mesmos inferiores desde a infância, além de ocasionalmente sentir dores de cabeça e apresentar-se ofegante ao esforço físico. Em 14/06/2013, após sentir-se mal o paciente foi submetido a novos exames que revelaram: Hm 4,80 milhões / Hb 11 g/dL / Ht 34,9% / VCM 73 fl / HCM 23 pg / CHCM 31,7 g/dL / RDW 19,1%, sendo liberado nas observações da série vermelha anisocitose (+++), microcitose (++), poiquilocitose (++) e hemácias em alvo (+). Leucócitos totais 16.300, com contagem relativa e absoluta normais. Plaquetas: 149.000. O paciente apresentou leve comprometimento hepático, lesão de acetábulo e um tumor no fêmur não relacionado à doença hematológica. Atualmente o paciente faz acompanhamento em clínica particular em Taguatinga Norte (DF), não sendo necessária até o momento a realização de transfusões sanguíneas.

081

A dolorosa relação entre priapismo e anemia falciforme

Guimarães TG¹, Alencar LC¹, Dumont SV¹, Ribeiro MD¹, Silva PR¹, Barbosa FM¹, Cunha VB¹, Nicolau DI¹

¹Universidade Federal do Maranhão

Introdução: Anemia falciforme (HbSS) é uma doença autossômica recessiva caracterizada pela herança homozigota da hemoglobina S (HbS). Clinicamente apresenta-se com anemia hemolítica e vaso-oclusão, afetando cerca de 30 mil pessoas no Brasil. Segundo a Sociedade Brasileira de Urologia, priapismo é definido como uma ereção peniana prolongada e persistente, frequentemente dolorosa, desencadeada ou não por estímulo sexual com mais de 4 horas de duração. A forma típica de priapismo em pacientes portadores de doença falciforme (DF) é o isquêmico (baixo fluxo ou veno-oclusivo), ocorrendo em três formas clínicas: repetitivo, ereção dolorosa prolongada e persistente. O objetivo do tratamento está em reverter as ereções indesejáveis, aliviar a dor e preservar a função sexual. **Objetivo:** Revisar a literatura, a fim de reforçar a importância da atenção ao paciente falciforme focando no priapismo como complicação. **Métodos:** Fez-se uma busca criteriosa de trabalhos científicos publicados nos últimos dez anos que abordam a complicação priapismo na doença falciforme através dos bancos de dados como MEDLINE, LILACS, SCIELO e PUBMED. **Resultados:** Na prática urológica mais de 25% dos casos de priapismo são por DF. Encontra-se uma prevalência de 2% a 6% em pacientes falciformes nas admissões hospitalares. Mas sabe-se que 28% a 38% destes pacientes apresentam histórico de priapismo em análise retrospectiva. Tende-se a manifestar após os 10 anos com idade média de acometimento de 20 anos, sendo raro primeiro episódio após os 30 anos. Os fatores precipitantes mais comuns são atividade sexual (incluindo masturbação), desidratação, febre e exposição a um ambiente frio. O priapismo da DF pode causar impotência persistente, disfunção erétil e problemas comportamentais no âmbito sexual, uma vez que os indivíduos afetados temem a ocorrência de um episódio de ereção dolorosa no curso da atividade sexual normal, que é a causa mais comum de episódios de priapismo após a puberdade. A maioria dos autores relata que entre 25 e 50% dos pacientes se tornam impotentes após episódios prolongados de priapismo. **Conclusão:** Conclui-se que o priapismo interfere em todos os componentes da saúde (OMS) do doente falciforme: físico, mental e social. Ressalta-se a importância de educar médico e paciente para detecção precoce dos episódios recorrentes de priapismo tendo em vista a prevenção de casos agudos. Deve-se atentar para classificação correta em alto e baixo fluxo para que se possa fornecer o tratamento adequado, menos agressivo e eficiente, para evitar sequelas permanentes.

082

Prevalência do traço falciforme em doadores do Hemocentro de Campina Grande-PB

Soares LF^{1,2}, Marques ES¹, Araújo BL¹, Marques LM¹, Melo LA¹, Oliveira HS¹, Alencar MD¹, Gurgel RS¹, Santos SS¹

¹Hemocentro da Paraíba

²Universidade Estadual da Paraíba - UEPB

Introdução: As variantes estruturais da hemoglobina (Hb), em sua grande maioria, são decorrentes de mutações pontuais nos códons dos genes da globina, resultando na substituição de aminoácidos na cadeia polipeptídica. Entre as variantes estruturais mais frequentemente descritas está a HbS. A anemia falciforme é definida como uma hemoglobinopatia, caracterizada pela expressão clínica da homozigose do gene da hemoglobina S. O termo doença falciforme

(DF) é utilizado para definir as formas clínicas associadas à presença da HbS seja em homozigose ou em associação com outras hemoglobinas variantes ou talassemias. Os heterozigotos para a Hb S são denominados portadores do traço falciforme (HbAS) e suas hemácias contêm aproximadamente 20 a 45% de HbS e não possuem alterações hematológicas ou clínicas, apesar do diagnóstico dessa herança ser importante para fins de aconselhamento genético. O presente estudo objetiva apresentar a prevalência do traço falciforme em doadores do Hemocentro da Paraíba (Hemonúcleo de Campina Grande), bem como o seu perfil de sexo, raça/cor e níveis de escolaridade. **Métodos:** Trata-se de um estudo descritivo retrospectivo, realizado no Hemocentro da Paraíba com 22.368 doadores que realizaram o exame de cromatografia líquida de alta performance para a triagem de hemoglobinas variantes, de dezembro de 2010 a abril de 2013. **Resultados e Discussão:** Os doadores do Hemocentro da Paraíba apresentaram uma prevalência de 1,5% para o traço falciforme, o sexo feminino apresentou uma prevalência de 23% e o sexo masculino de 77%. Quanto ao quesito raça/cor: Caucasiano 16%; caucasiano brasileiro 82%; mestiço 0,3%; negro 0,9%; não declarou 0,8%. Analisando o nível de escolaridade obtivemos os seguintes resultados: não alfabetizados 3,0%; 1º grau incompleto 27,5; 1º grau completo 8,0%; 2º grau incompleto 11,1%; 2º grau completo 30,1; 3º grau incompleto 12,0%; 3º grau 7,3% completo; não declarou 1,0%. Como o quesito raça/cor segue padrão anterior à classificação do IBGE, a denominação mestiço e negro equivale ao quesito pardos e pretos, que segundo o IBGE equivale a população negra, assim a prevalência do traço falciforme ocorreu na população negra em um total de 4,9%. Levando-se em consideração as literaturas que relatam uma maior prevalência na população negra, consideramos que o baixo índice pode estar referido a dificuldades nos critérios de autorealização do quesito raça/cor ofertado pelo sistema Hemovida. **Conclusão:** A prevalência observada para o traço falciforme em doadores do Hemocentro da Paraíba (Hemonúcleo - Campina Grande) expressa o ponto de partida na geração de indicadores sobre as hemoglobinas variantes na população paraibana, objetivando a continuidade na implementação de políticas públicas para a saúde do doente falciforme, bem como a orientação genética da pessoa com o traço falciforme.

083

Hemoglobinas variantes em sangue de cordão umbilical de recém-nascidos em maternidade pública na cidade de Campina Grande – PB

Pereira EV¹, Junior FA¹, Oliveira FK¹, Lucena MM¹, Soares LF¹

¹Universidade Estadual da Paraíba - UEPB

Introdução: As hemoglobinopatias constituem uma das principais e mais frequentes doenças genéticas que acometem seres humanos. Sendo considerada a patologia genética de maior prevalência mundial, a anemia falciforme, possui uma frequência de 25 a 40% em países africanos. Essa condição é mais comum em indivíduos da raça negra. No Brasil, representam cerca de 8% dos negros, mas devido à intensa miscigenação historicamente ocorrida no país, pode ser observada também em pessoas de raça branca ou parda. A anemia falciforme é decorrente de um processo mutagênico, o que acarreta em deformações na estrutura das hemácias e posteriormente alterações circulatórias que podem provocar a formação de trombos, causando má circulação sanguínea em vários órgãos provocando infarto ou outros processos patológicos isquêmicos. **Objetivo:** O presente estudo objetiva diagnosticar as hemoglobinas variantes no sangue do cordão umbilical de recém-nascidos, em uma maternidade, na cidade de Campina Grande (PB), na perspectiva da construção do perfil epidemiológico da doença falciforme no estado da Paraíba. **Métodos:** Trata-se de um estudo transversal, onde após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido por parte das parturientes, foi coletado sangue do cordão umbilical de 122 recém-nascidos

em uma maternidade pública na cidade de Campina Grande, antecedido de aplicação de questionários socioeconômico. O diagnóstico de hemoglobinas anormais foi realizado através da técnica da cromatografia líquida de alta performance HPLC, no laboratório central (LACEN) da Paraíba. **Resultados:** No presente estudo a prevalência observada para o traço falciforme foi de 0,8% (1), a etnia da mãe foi subdividida em negra, parda e branca seguida de seus respectivos percentuais, sendo 22,1% (27), 55,7% (68) e 22,1% (27). Dentre as amostras coletadas e analisadas do cordão umbilical de recém-nascidos (RN), apresentou-se 53,3% (65) RNs do sexo masculino e 46,7 (57) RNs do sexo feminino. Foi avaliado o grau de escolaridade constatando-se que 54,9% (67) das mães cursam o ensino fundamental e 39,9% (45) delas cursam o ensino médio. As faixas etárias mais representadas no estudo foram entre 14 – 19; 20 – 24; 25 – 29. Quanto a renda mensal, constatou-se que 50% (61) das mães recebem 1 salário mínimo e 40,2% (49) não possuem salário fixo. A naturalidade das mães que participaram do estudo foram 93,4% (114) da Paraíba (PB), 3,3% (4) do Pernambuco e 0,8% são dos estados do Rio Grande do Norte, Ceará, São Paulo e Brasília cada. **Conclusão:** A expressividade dos resultados encontra-se em consonância com estudos realizados nos estados do Norte – Nordeste do Brasil. Tornando relevante a recomendação a triagem de hemoglobinas variantes dos recém-nascidos, a continuidade desta pesquisa visa contribuir na implementação de políticas públicas para a saúde do doente falciforme, bem como a orientação genética da pessoa com o traço falciforme no estado da Paraíba.

084

Taliglucerase alfa 36-month clinical safety and efficacy: interim results in treatment-naïve patients from extension trial PB-06-003

Durán G¹, Mehta A², Giraldo P³, Rosenbaum H⁴, Giona F⁵, Amato DJ⁶, Petakov M⁷, Munoz ET⁸, Solorio-Meza SE⁹, Elstein D¹⁰

¹Pontificia Universidad Catolica de Chile, Division de Pediatria

²Royal Free and University College School of Medicine, Department of Haematology, Royal Free Hospital

³Hospital Universitario Miguel Servet, Servicio de Hematologia CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER),

⁴Department of Hematology, Rambam Medical Center

⁵"Sapienza" University, Department of Cellular Biotechnologies and Hematology, Hematology Section

⁶Mount Sinai Hospital, Toronto

⁷Clinical Center of Serbia, Institute of Endocrinology, Diabetes and Metabolic Disease

⁸Centro Médico Nacional Siglo XXI, Servicio de Hematologia

⁹Hospital de Especialidades No. 1, Unidad de Investigacion, colonia Los Paraísos

¹⁰Gaucher Clinic, Shaare Zedek Medical Center, Hebrew University and Hadassha Medical School

Taliglucerase alfa is a beta-glucocerebrosidase enzyme replacement therapy (ERT) approved in the USA, Brazil, and other countries for treatment of Gaucher disease (GD) in adults and is the first approved plant cell-expressed biotherapeutic. Study PB-06-003 is an extension of the pivotal study PB-06-001 and switchover study PB-06-002, wherein taliglucerase alfa was given every 2 weeks at the same doses as in the original studies. PB-06-001 was a 9-month, randomized, double-blind, dose-ranging (30 and 60 U/kg) trial to assess safety and efficacy of taliglucerase alfa in treatment-naïve patients with GD. Efficacy measures included change from baseline in spleen and liver volumes, platelet counts, hemoglobin levels, and chitotriosidase activity. Here we report interim results of 26 treatment-naïve patients with GD from study PB-06-001 who continued double-blind treatment in study PB-06-003. At 36 months of treatment, the following changes were observed for taliglucerase alfa 30 and 60 U/kg, respectively: Mean spleen volumes expressed in MN were 16.4 and 16.8 MN at

baseline and were reduced by 50.0% and 64.6%; mean liver volumes expressed in MN were 1.7 and 1.5 MN at baseline and were reduced by 25.1% and 24.4%; mean hemoglobin concentrations at baseline were 12.5 and 11.4 g/dL and increased by 1.8 and 3.0 g/dL; platelet counts were 64,900/mm³ and 69,043/mm³ at baseline and increased by 29,783/mm³ and 71,700/mm³; mean chitotriosidase activities were 28,033 and 22,935 nmol/mL/h and decreased by 73.5% and 83.0%. Quantitative chemical shift imaging (QCSI) showed that the bone marrow fat fraction increased in all patients with available data (n=8), including those with "bone at risk" (n=6; fat fraction $\leq$ 0.23) at baseline. All treatment-related adverse events (AEs) were mild/moderate and transient. The most common AEs were nasopharyngitis, arthralgia, upper respiratory tract infection, headache, and pain in extremity. This interim report of the longest multiple-dose ERT study for GD demonstrated that taliglucerase alfa is a safe and effective treatment for GD. Trial PB-06-003 is ongoing. This analysis was sponsored by Pfizer, and completed using a validated database.

085

Hemoglobinas anômalas em heterozigose composta: relato de caso

Lavelle NC¹, Cavalcante SC¹, Zillig SA¹, Frana ND¹, Pintao MC¹

¹Setor de Hematologia, Imunohematologia e Eletroforese de Hemoglobinas, Grupo Fleury

Os métodos de avaliação das alterações da hemoglobina (Hb) baseiam-se nas suas características físicas e químicas. O diagnóstico requer do analista habilidade para reconhecer estas características, o que é especialmente desafiador nos casos de associação de Hbs anômalas. O objetivo deste trabalho é relatar um caso que ilustra esta complexidade. Foi avaliada a amostra de uma paciente do sexo feminino, 31 anos. A análise automatizada da série vermelha mostrou os seguintes resultados: Hb 11,7 g/dL (VR: 13,0 a 15,5); VCM 79,3 fL (VR: 82,0 a 98,0); e RDW 14,8 % (VR: 11,9 a 15,5), evidenciando uma discreta anemia microcítica. A eletroforese de Hbs pelo método capilar (Capillarys®, Sebia) revelou além dos picos correspondentes às Hbs A1 (41,2% do total de Hbs) e A2 (2,6%) a presença de três frações anômalas de Hb. A primeira migrou em posição próxima a de HbS (43,2%), a segunda em posição de HbC (11,7%) e a terceira mais lentamente que a HbA2 (1,3%). A avaliação por cromatografia líquida de alta performance (HPLC, VARIANT®II, BioRad) confirmou a presença das Hbs A1 e A2 e revelou quatro outros picos. A fração correspondente à Hb em posição de S na eletroforese capilar eluiu em duas frações, aos 4,22 min e aos 4,40 min; esta última corresponde à HbS. A fração correspondente à Hb em posição de C na eletroforese capilar eluiu aos 4,82 min. A terceira e mais lenta eluiu aos 4,59 min. A amostra do filho da paciente foi também avaliada. A eletroforese em capilar evidenciou além das Hbs A1 e A2, duas frações anômalas. A primeira migrou em posição próxima a de HbS (32,4%) e a segunda migrou mais lentamente que a HbA2 (1,0%). Na HPLC, a primeira fração eluiu na janela de HbS, aos 4,24 min. A segunda fração, de migração mais lenta, eluiu aos 4,58 min. Este conjunto de resultados sugere que a mãe seja portadora de uma associação de hemoglobinas anômalas que envolve, provavelmente, a HbS (variante de cadeia β) e uma variante de cadeia α ainda não identificada, herdada pelo filho. Para esclarecimento diagnóstico, foi feita a análise por biologia molecular da amostra da paciente índice. O gene da α -globina foi dosado e os genes da α - e da β -globina foram sequenciados. O resultado confirmou a presença de uma cópia da mutação Glu6Val no gene da β -globina (característica da HbS) e revelou a presença de uma cópia da mutação Asn78Lys no gene da α -globina, que caracteriza a Hb Stanleyville II, e a deleção de uma cópia deste mesmo gene. A Hb Stanleyville II, quando em heterozigose, não tem impacto clínico. Frequentemente, esta mutação ocorre em associação à deleção de uma cópia do gene da α -globina. As características eletroforética e cromatográfica do filho são típicas desta hemoglobina anômala. A associação da Hb Stanleyville II à Hb S, em heterozigose

composta, não tem impacto sobre o quadro clínico ou hematológico do traço falciforme. Entretanto os resultados laboratoriais podem ser complexos e causar dificuldade diagnóstica. A Hb Stanleyville II migra, em eletroforese capilar, na mesma fração em que migra a Hb S. A Hb híbrida, formada pelas cadeias α -Stanleyville II e β S, têm a mesma mobilidade em eletroforese capilar que a HbC. Finalmente, a Hb α -Stanleyville II e δ formam a fração anômala que corre depois da HbA2 e que nem sempre é aparente. Em conclusão, esta avaliação mostra características típicas que ajuda a direcionar o diagnóstico de hemoglobinopatias complexas.

086

Complicação neurológica secundária a hematopoese extramedular em paciente com beta talassemia: relato de caso

Casati MF¹, Vieira F², Pallotta R³, Jablonka F³, Borducchi DMM³, Giglio AD³

¹Acadêmicos do curso de Medicina, Sociedade Acadêmica de Estudos em Hematologia, Faculdade de Medicina do ABC

²Médica residente do serviço de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina do ABC

³Disciplina de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina do ABC

Introdução: A β -talassemia é uma doença hereditária diretamente relacionada com povos de países banhados pelo mar Mediterrâneo, de onde foi trazida para as Américas. Sua maior incidência encontra-se, ainda, nos países europeus e asiáticos. No Brasil, existem cerca de 10 milhões de indivíduos heterozigotos para os genes da β -talassemia, Hb S e Hb C, representando, portanto, um problema de saúde pública. Essa doença se caracteriza, principalmente, por anemia hemolítica crônica, eritropoiese deficitária e relevante sobrecarga de ferro no organismo. A β -talassemia apresenta início sem relevantes sinais e sintomas e suas complicações neurológicas são atribuídas a fatores como a hipoxemia crônica decorrente da anemia e a sobrecarga de ferro. **Relato de Caso:** Paciente do sexo masculino, 48 anos, portador de β -talassemia intermídia, apresentando como comorbidades hipertensão arterial e hemossiderose secundária. Desenvolveu progressivamente um quadro algóico que gerou importante limitação de movimentos, os estudos de imagem apontaram lesão expansiva na região vertebral com densidade de partes moles sugerindo hematopoese extra-medular comprovada em biópsia. O paciente foi devidamente tratado com radioterapia, observando-se reversão total do quadro neurológico. **Comentários:** O paciente em questão possuía uma complicação neurológica secundária à hematopoese extra-medular, mecanismo fisiológico compensatório decorrente da incapacidade da medula óssea de suprir a demanda corporal de células sanguíneas, sendo o fígado e o baço os sítios mais observados. O acometimento vertebral é menos freqüente e se manifesta, geralmente, sob a forma de massas lobuladas com densidade de partes moles. Seu diagnóstico pode ser feito com segurança através de biópsia, contudo, esta deve ser muito ponderada devido à elevada vascularização deste tecido.

087

Dor e seu impacto em adolescentes com anemia falciforme

Cunha VB¹, Garcia JBS¹, Moraes EB², Fortes GC¹, Barbosa FM¹, Abreu KC¹, Dumont SV¹

¹Universidade Federal do Maranhão – UFMA

²Universidade de São Paulo - USP

A dor é a razão mais comum para os cuidados médicos nas populações. Dor em pacientes com anemia falciforme normalmente é

conceituada como a dor associada com eventos vaso-oclusivos. Dor na forma de episódios vaso-oclusivos pode começar tão cedo quanto 6 meses de idade, pode ser frequente e grave, e pode durar de horas a semanas. O objetivo do estudo foi avaliar a dor e seu impacto nos adolescentes com diagnóstico de anemia falciforme. Trata-se de um estudo com corte transversal, realizado em um período de 14 meses, em um Centro de referência em hemoglobinopatias no Estado do Maranhão-Brasil. A amostra foi constituída por 39 adolescentes, de 13 a 17 anos, com prevalência do sexo feminino (56,4%) e não-brancos (95%). Todos sentiam dor, localizada principalmente em membros superiores (41%) e inferiores (59%), e em mais de um local em 63,1%. O escore médio da dor (EN) no pior momento foi 8,87 e no contexto geral foi 5,74, cujas características predominantes foram pontada (48,7) e aperto (35,9%) e latejante (35,9%), tendo como principais fatores acompanhantes, edema (38,5%) e alteração da força (35,9%). Como consequência da dor, 89,7% faltaram a escola, 69,2% tinham distúrbio do sono e 82% deixaram de realizar suas atividades diárias. Todos utilizam algum medicamento para dor e destes, 97,4% ingerem analgésicos não opióide buscando alívio da dor. O presente estudo possibilitou conhecer o perfil da dor dos adolescentes com anemia falciforme, caracterizando-se como intensa no pior momento e moderada no contexto geral, tendo como principais locais acometidos, ambos os membros, gerando significativos absteísmo escolar, alteração do sono e impacto nas suas atividades diárias.

088

Aplasia pura adquirida crônica de série vermelha pós-reação vacinal: relato de caso

Pontes CL¹, Albuquerque LM¹, Cavalcanti NS¹, Botelho LF¹, Neves FF¹, Carvalho NB¹, Ferreira CF¹, Júnior AL¹, Lira AR¹, Bonates JF²

¹Universidade Federal da Paraíba

²Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba

Introdução: A Aplasia Pura Adquirida Crônica da Série Vermelha (APASV) é uma síndrome clínica rara, caracterizada por anemia grave, hipoproliferativa (com reticulocitopenia importante) e marcada pela diminuição ou até inexistência de eritroblastos na medula óssea, com presença normal de precursores das outras séries celulares⁵. APASV pode ocorrer como doença primária ou secundária a diversas outras doenças. Dentre as causas secundárias, desenvolve-se mais comumente em associação com tipos específicos de malignidade, infecções ou uso de determinados medicamentos¹. Na maioria dos casos, não é possível identificar um fator etiológico específico para a doença, a qual pode estar associada a diversos mecanismos, sobretudo os imunológicos². Este é um estudo tipo relato de caso que objetiva apresentar a evolução clínica de um paciente com APASV. **Relato de Caso:** Paciente de 26 anos, feminino, parda, caixa de frigorífico, evangélica, recebeu imunização contra H1N1 em junho de 2010. Uma semana após a vacinação, começou a manifestar queixas de fadiga, cefaleia, dispneia e desmaios, acompanhados por sinais de adenomegalia cervical, febre e palidez. A paciente foi atendida no Hospital de Trauma Senador Humberto Lucena, sendo realizado hemograma que evidenciou anemia importante (Hb=7,8 g/dL), sem outras alterações; foi realizada hemotransfusão de 2 unidades de sangue total e obteve alta hospitalar (Hb = 10,4 g/dL). Durante os meses de julho a novembro de 2010, alternou momentos de discreta melhora e de exacerbação do quadro. Nesse período, buscou atendimento em vários hospitais, sempre com queixas de astenia e apresentando valores de hemoglobina bastante baixos (3,7g/dL; 5,32g/dL); foi politransfundida, sendo 8 unidades de sangue total e 2 unidades de lavado de hemácias. Deu entrada no Hemocentro, apresentando taquicardia e com Hb = 4,8g/dL e Hto = 13,7%, sendo encaminhada ao Hospital Edson Ramalho. Nessa ocasião, foi iniciada Prednisona 20 mg – 60mg/dia; apresentou melhora inicial, mas voltou a ter recaída do quadro (Hb = 5,9g/dL). Foi iniciado tratamento com Imunoglobulina – 400mg/kg/dia – porém, não houve melhora clínica

(Hb = 5,1g/dL). Em virtude disso, foi iniciado uso de Azatioprina 50mg – 100mg/dia. Foi realizado mielograma que revelou hiperplasia de série granulocítica. Apresentava-se com sorologias para hepatites e HIV negativas; USG de abdome e Raio-X de tórax normais; biópsia de medula óssea normal. Paciente continuou evoluindo de forma insatisfatória. Em 13/01/2012: Prednisona e Azatioprina foram suspensas; introdução de Ciclosporina 150 mg/dia. Valores de hemoglobina após uso de Ciclosporina: 9,58g/dL; 12,71g/dL; 12,38 g/dL. **Discussão:** A APASV é uma rara patologia, cuja etiologia ainda não é plenamente conhecida, fato que pode dificultar o diagnóstico da doença. A terapia da APASV é usualmente sugerida pelo distúrbio associado com o seu desenvolvimento. Nos pacientes com formas autoimunes, o tratamento com prednisona usualmente melhora a eritropoese. Pacientes refratários também podem responder à ciclosporina ou ciclofosfamida em baixas doses¹. A recidiva é bastante comum com os esquemas terapêuticos atualmente disponíveis, por essa razão, os pacientes devem seguir em acompanhamento em serviços de Hematologia e Hemoterapia por, pelo menos, 05 anos⁴. A APASV é compatível com uma sobrevida longa com tratamento de apoio².

089

Pancitopenia em paciente jovem com aumento de IDH: diagnósticos diferenciais mais comuns – relato de caso

Silva HF¹, Barbosa ST¹, Benevides FL¹, Farias SD¹, Oliveira DS², Gomes HA², Correia JW¹

¹Hospital Geral Cesar Cals de Oliveira

²Universidade Estadual do Ceará

Introdução: A abordagem inicial de um paciente com pancitopenia é um dos grandes desafios com os quais o médico se depara. Os diagnósticos plausíveis vão desde um processo hematológico benigno, como a megaloblastose, até processos malignos, qual leucemias/linfomas ou infiltrações neoplásicas, sem citar afecções de outros capítulos do conhecimento médico, quais infecções bacterianas, protozoóticas ou fúngicas. Nesse contexto, a avaliação inicial dos dados indicados pelo hemograma e pela bioquímica é de patente relevância para o direcionamento diagnóstico; entretanto, muitas vezes, não se pode chegar a um diagnóstico de certeza com esses métodos, valendo-se, pois, o clínico de outros exames complementares. A avaliação da medula óssea, por intermédio do aspirado e da biópsia, tem por mote a elucidação do processo subjacente. Apesar de tais esforços, muitas vezes o processo patológico inicial ainda não pode ser identificado, necessitando-se, portanto, de avaliações mais apuradas, como a imunofenotipagem. **Métodos:** Trata-se de estudo de caso investigado no período de janeiro a fevereiro de 2013 no Hospital Geral César Cals de Oliveira (HGCCO). **Relato de Caso:** Mulher, 34 anos, parda, admitida no Serviço de Clínica Médica do referido hospital, encaminhada de Centro de referência em hematologia (Hemoce) da capital para investigação de pancitopenia. Relatava astenia e adinamia cerca de três meses antes da internação. Procurou atendimento médico em Unidade de Pronto Atendimento (UPA), na qual foram realizados exames. **Resultados:** Hb=4,4g/dL, VCM=129,2 fL, neut=713/mm³, plaquetas=37000/mm³ e LDH=1519U/L. Fora encaminhada para Hemoce, depois de hemotransfusão em UPA, com hipótese de megaloblastose, sendo, nesse serviço, realizados exames da referida hipótese bem como mielograma e sorologias para HIV1-2, HTLVII e hepatites virais. Realizou reposição de vitamina B12 e de ácido fólico. No mês seguinte retornou ao referido centro para consulta com resultado de exames. Índices vitamínicos não foram compatíveis com megaloblastose, as sorologias negativas e mielograma demonstrou medula hiperplásica com moderada disritropoese (>10%). Indicou-se internamento no HGCCO para investigação complementar. Na propedêutica inicial cogitou-se possibilidade de Hemoglobinúria Paroxística Noturna (HPN) e de Síndrome Mielodisplásica (SMD). Seguiu-se estudo do caso com biópsia de MO, cariótipo e pesquisa

dos clones da HPN. A primeira demonstrou presença de ALIPs e de hipocelularidade com leve diseritropoese (<10%); o segundo foi normal (46, XX) e a terceira foi compatível com HPN, confirmando-se, assim, o diagnóstico. **Conclusão:** Na paciente em questão, a macrocitose (VCM>100 fL) abriu para hipótese de megaloblastose e de, com menor peso diagnóstico, SMD. Com a evolução do estudo diagnóstico, foi possível refutar a hipótese primeira e focar mais na possibilidade de um processo hemolítico que cursasse com outras citopenias que não apenas a da série eritroide. A patologia que melhor se adequa a tal cenário é a HPN, sendo esse, depois do estudo da expressão das proteínas de superfície, o diagnóstico final do caso em questão.

090

Impacto da terapia de reposição enzimática durante a gestação e o parto em pacientes com doença de Gaucher tipo 1

Bortolheiro TC¹, Kobashikawa G¹, Fortier SC¹, Chiattonne CS¹

¹Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa São Paulo

A doença de Gaucher é a mais prevalente doença de depósito lisossômico, autossômica recessiva, heterogênea, com discrepância entre genótipo e fenótipo, mesmo em pacientes homozigotos para a mesma mutação. A terapia de reposição enzimática (TRE) trouxe uma mudança de paradigma, com melhora dos sintomas, prevenção de progressão da doença e do surgimento de complicações, resultando em melhor qualidade e maior expectativa de vida. A TRE é baseada na intensidade dos sintomas e promove a reintegração dos pacientes à vida normal. A imiglucerase foi liberada rapidamente para o uso, pois não havia tratamento disponível e seu impacto foi imensamente positivo nos testes clínicos iniciais, não houve testes controlados em animais ou humanos para avaliar sua segurança na gestação. No nosso meio, não é infrequente que a gestante perceba sua condição já no terceiro ou quarto mês de gestação. Após 15 anos de TRE em nosso ambulatório de referência para DG na Santa Casa de São Paulo, avaliamos o impacto da TRE em mulheres em idade fértil, na gestação e no parto. Foram avaliadas 35 pacientes do sexo feminino, portadoras de DG, acompanhadas no ambulatório de DG da Santa Casa de São Paulo. Na maioria das pacientes a menarca foi tardia, por volta do 15 anos. Antes da instituição da TRE, que ocorreu a partir de 1996, observamos 28 gestações em 13 pacientes, ocorrendo 13 abortos espontâneos, a maioria por hemorragias. Nas gestações levadas a termo, houve piora das citopenias, coagulopatia, hemorragias, crises ósseas, aumento das visceromegalias. Após o início da TRE, 8 pacientes tiveram 12 gestações. Em duas gestações a TRE foi suspensa, resultando em crises ósseas e piora das citopenias. Nas gestações em que a TRE foi mantida, não ocorreram complicações. Não houve nenhum aborto. A maioria dos partos foi normal. **Conclusão:** A manutenção da TRE tem um impacto positivo na gravidez e no parto, sem evidências de danos ao feto.

091

Trombose de veia porta após esplenectomia: relato de caso em paciente com esferocitose hereditária

Guedes NR¹, Melo MK¹, Domingos MR¹, Lacerda MP¹, Mancilha EM¹, Souza GR¹, Loureiro AD¹, Nogueira DS¹, Mecabo G¹, Figueiredo MS¹

¹UNIFESP

Introdução: Tromboembolismo venoso (TEV) ocorre em até 10% dos pacientes hematológicos submetidos a esplenectomia, independente do diagnóstico etiológico da esplenomegalia. Risco aumentado de trombose de veia porta (TVP), embora menos frequente, tem sido descrito em pacientes esplenectomizados com diagnóstico

de beta-talassemia, púrpura trombocitopênica imunológica e linfoma. A Esferocitose Hereditária (EH) é anemia hereditária caracterizada pela presença de microesferócitos no sangue periférico, hemácias microcíticas e hiperocrômicas. Apesar de, na sua maioria, os portadores de EH apresentarem anemia hemolítica compensada, em alguns casos está indicada a esplenectomia: anemia hemolítica importante, hiperesplenismo, atraso no desenvolvimento somático, presença de sintomatologia e complicações como litíase biliar, úlcera de pernas, ou massas eritropoéticas. **Resumo:** Paciente JFSS, 21 anos, do gênero feminino, teve diagnóstico de esferocitose hereditária aos 4 anos de idade. Vinha em acompanhamento no Ambulatório de Anemias Hereditárias da Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Escola Paulista de Medicina, desde 2010, tendo realizado colecistectomia prévia. Como apresentava acentuada esplenomegalia (índice esplênico: 1580, normal até 480) e diminuição dos níveis hematócritos, foi indicada esplenectomia com vacinação antipeumocócica, anti-menigocócica, e anti-Haemophilus prévia. Submetida à esplenectomia em agosto de 2012, quando evoluiu com dor abdominal importante no 12º pós-operatório, em que foi diagnosticada trombose de veias porta, mesentérica superior e esplênica. Iniciou tratamento anticoagulante usual (heparina e anticoagulante oral, ACO). Apesar de controle adequado da ACO (RNI entre 2-3), paciente continuou com quadro de dor importante, sendo indicada trombólise in situ, com retorno ao ACO após. Evoluiu com melhora do quadro doloroso, estando em uso de ACO desde então, sem novos eventos trombóticos. **Discussão:** Embora incomum, a TVP é manifestação potencialmente grave da esplenectomia. Pacientes com anemia hemolítica, em especial a beta-talassemia, tem sabidamente risco elevado de TEV e TVP após esplenectomia, geralmente associado ao conhecido estado de hipercoagulabilidade que eles apresentam. Estudo recente com este grupo de pacientes, mostrou incidência de TVP de 8,3% e o tamanho do baço foi o único fator independente associado à presença de TVP, sendo considerado que o cutoff para predição de risco de TVP era baço maior de 1543g (Alexakis et al, 2013). Existem poucos estudos de TVP em EH, embora esta manifestação já tenha sido relatada anteriormente. Devido à sua relativa baixa frequência, existe uma tendência a anticoagulação profilática inapropriada nestes pacientes. **Conclusão:** O risco de TVP está aumentado em pacientes hematológicos submetidos a esplenectomia e, talvez, este risco esteja associado ao tamanho do baço. Embora mais estudos sejam necessários para definir esta complicação na EH, é importante que anticoagulação profilática adequada seja realizada nestes pacientes.

092

Estomatocitose hereditária e ascite perinatal: a propósito de um caso

Kerbaui LN¹, Scanhola GQ¹, Suganuma LM¹, Fonseca GH¹, Silveira PA², Gualandro SF¹

¹Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

²Hospital Israelita Albert Einstein

Estomatocitoses hereditárias (EH) são doenças constitucionais caracterizadas por anormalidades no mecanismo de regulação do volume eritrocitário, decorrentes de defeitos da permeabilidade da membrana aos cátions monovalentes Na⁺ e K⁺. A Xerocitose hereditária ou EH desidratada é um subtipo de estomatocitose caracterizada por anemia hemolítica compensada, macrocitose e número variável de estomatócitos no sangue periférico. São comumente associados a presença de sobrecarga fêrrica e a pseudo-hipercalcemia. O diagnóstico é feito pela história clínica, morfologia do sangue periférico, estudo da ferocinética e aumento da resistência na curva de fragilidade osmótica. A ectacitometria em gradiente osmótico é, até o momento, o teste diagnóstico mais importante. Do ponto de vista terapêutico, opta-se pelo tratamento conservador, com intervenção na sobrecarga fêrrica, evitando-se esplenectomia. Tem sido demonstrado que a XH pode

cursar com edema perinatal (ascite, hidrotórax, efusões pericárdicas e infiltrações subcutâneas). Descrevemos aqui o caso clínico de uma criança com ascite intra-útero e neonatal com xerocitose hereditária (XH). **Relato de Caso:** Paciente de 27 anos de idade, portadora de XH, filha do caso-índice de uma família acompanhada em nosso serviço com diversos casos desta doença. A paciente apresentava leve anemia macrocítica e discreta sobrecarga férrica. Tinha acompanhamento clínico irregular, com poucas intercorrências, não sendo aderente ao plano de sangria terapêutica. Procurou o serviço na 18ª semana de gestação, com proposta do serviço de obstetrícia da realização de transfusão intraútero pelo feto estar hidrótico. A reavaliação com USG, confirmou-se a presença de ascite no feto. Hemograma obtido por cordocentese demonstrou valor de Hb de 12,5 g/dL, abaixo do normal, mas insuficiente para causar hidropsia. Morfologia exibiu grande número de estomatócitos. Optado manter observação clínica, com USG seriado, onde observou-se bom desenvolvimento do feto com redução progressiva da ascite. A criança nasceu de parto vaginal, com boa vitalidade, apresentando leve ascite, diátese de reto e flacidez da parede abdominal, permitindo observar facilmente os movimentos peristálticos. Após 6 meses de observação criança continua saudável, com resolução completa da ascite, apresentando quadro de hemólise compensada. **Discussão:** A XH é uma síndrome que pode apresentar manifestações clínicas diversas e intrigantes. O edema perinatal é uma complicação específica da doença. É importante frisar que o edema perinatal não está relacionado ao grau de anemia fetal. Sendo assim, a transfusão intraútero não é recomendada. O quadro tende a apresentar resolução espontânea em semanas ou meses e, somente em casos graves com risco de hipoplasia pulmonar ou morte, a necessidade de punção de alívio. A fisiopatologia do edema fetal não é conhecida. A recente identificação do gene *Piezo1* (localizado no braço longo do cromossomo 16), cuja mutação associa-se às variadas formas clínicas de EH poderá permitir a elucidação da fisiopatologia desta complicação. **Conclusão:** O diagnóstico de EH pode ser postergado por anos, sendo confundido com outras anemias hemolíticas ou hemocromatose. No caso da ascite neonatal pode ocorrer confusão com hidropsia fetal. O seu reconhecimento é importante para evitar tratamentos potencialmente danosos para o feto, como transfusão intraútero ou exsanguineotransfusão.

093

Paciente adulto jovem desenvolve síndrome de Budd-Chiari secundária a policitemia vera: relato de caso

Gontijo C^{1,2}, Vilaca D^{1,2}, Carvalho L^{1,2}, Hosni E^{1,2}, Brito L^{1,2}, Guerra B^{1,2}, Rosa E^{1,2}, Duarte M^{1,2}, Ciriaco V^{1,2}, Pacheco J^{1,2}

¹Instituto de Pesquisa e Pós-Graduação Ciências Médicas

²Hospital Madre Teresa, Belo Horizonte-MG.

Introdução: A Policitemia Vera é uma neoplasia dos precursores de hemácias que são capazes de se proliferar mesmo sem o estímulo da eritropoetina com consequente pancitose e hiperviscosidade sanguínea a pode de causar eventos tromboticos graves. Manifesta-se tipicamente com pleura facial, prurido e esplenomegalia. É comum sintomas inespecíficos como cefaléia, distúrbios visuais, tontura, fraqueza, dispnéia e parestesias. É mais frequente em homens com mais de 50 anos. O tratamento é feito com flebotomia a fim de manter o hematócrito < 45% na fase aguda associado a terapia imunossupressora. **Objetivo:** Apresentar criticamente a evolução de um caso de Policitemia Vera que se apresentou pela síndrome de Budd-Chiari em paciente adulto jovem. **Métodos:** Coletado dados a partir da revisão do prontuário e resultado de exames. Delineamento: B.A.B., 32 anos, previamente hígido, com quadro de dispepsia e aumento de volume abdominal, em propedêutica ambulatorial realizou: EDA que evidenciou úlcera péptica, USG com achado de congestão venosa portal, ascite e hepatoesplenomegalia. Laboratorialmente apresentou aumento da hematimetria (Hematócrito: 65% e Hemoglobina: 21,7g/dL), leucocitose, sorologias para Hepatites negativas, EPO normal,

Vitamina B12 aumentada, transaminases discretamente elevadas e RNI alargado. Internado realizou flebotomia e mielossupressão com Hidroxiuréia em altas doses. Optou-se por anticoagulação com heparina não fracionada, doses com aumento progressivos, até a queda do hematócrito, além de diurético para controle da ascite. Durante a internação feito Mielograma inconclusivo e biópsia da medula óssea que descartou malignidade, ECO normal. A Angioressonância demonstrou sinais compatíveis com síndrome de Budd-Chiari, ascite moderada, derrame pleural bilateral e hepatoesplenomegalia. Diante do apresentado foi solicitado JACK2 para diagnóstico definitivo do caso, porém até o momento em andamento. **Conclusão:** O caso ilustra uma grave complicação que seria evitada com diagnóstico e tratamento precoce para o controle da doença primária. A síndrome de Budd-Chiari compromete a função hepática levando à cirrose em pouco tempo, piorando assim a qualidade e expectativa de vida do paciente.

094

Caracterização de polimorfismos de glicoproteínas de membrana plaquetária e correlação com o perfil hematológico e bioquímico em indivíduos com anemia falciforme em Salvador - Bahia

Cardeal AL¹, Alves GO¹, Silva FC¹, Sobrinho TL¹, Carvalho SP¹, Rocha LC², Barbosa CG¹, Goncalves MS³, Adorno EV¹

¹Universidade Federal da Bahia

²Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia

³Fundação Oswaldo Cruz - Bahia

A anemia falciforme (AF) é decorrente da homozigose para hemoglobina S (HbS), cujas manifestações clínicas levam a alterações em órgãos diversos, com a presença de hemólise contínua e fenômenos vaso-oclusivos (VO). Os complexos de glicoproteínas (GPs) presentes na membrana das plaquetas estão associados a adesão, ativação, agregação e imunogenicidade plaquetária. Os polimorfismos de GPs de plaquetas estão associados à expressão aumentada e função alterada destas GPs e, consequentemente, a alteração do processo de hipercoagulabilidade e da formação do trombo. Este estudo teve como objetivo, caracterizar os polimorfismos HPA1, HPA2, HPA3 e C807T nos genes GPs de membrana plaquetária em um grupo de indivíduos com AF de Salvador-BA, correlacionando aos dados hematológicos e bioquímicos. Foram estudados 29 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 realizadas no programa EPIinfo v 6.04, sendo considerados estatisticamente significativos os resultados com valor de $p < 0,05$. A mediana da idade dos pacientes foi de 12 anos (3 – 17) e o nível médio de hemoglobina fetal (HbF) foi de 28% (11,68±7,25). A frequência alélica do polimorfismo HPA1 foi de 67,3% para o alelo A, de 32,7% para o alelo B e a frequência de heterozigose foi de 57,7%; a frequência alélica para o polimorfismo HPA2 foi de 77,78% para o alelo A, de 22,22% para o alelo B e de 29,63% para a heterozigose; para o HPA3, a frequência para o alelo A foi de 68%, para o alelo B foi 32%, e a frequência de heterozigose foi de 56%; para o polimorfismo 807C>T a frequência do alelo C foi de 75,44%, para o alelo T foi 24,56%, e a frequência de heterozigose foi de 25,93%. Para o HPA1, os indivíduos portadores do alelo B demonstraram níveis diminuídos de plaquetas e glicose ($p = 0,02$; $p = 0,03$, respectivamente); para o HPA2 o alelo B esteve associado à redução do RDW e do número de plaquetas ($p = 0,008$; $p = 0,02$, respectivamente) e elevação de creatinina em relação aos indivíduos homozigotos AA ($p = 0,003$). Para o HPA3, o alelo B esteve associado a redução da CHCM ($p = 0,03$). Os indivíduos portadores do alelo T para 807C>T apresentaram aumento nos valores de RDW ($p = 0,025$) e no número de leucócitos ($p = 0,016$) e concentrações diminuídas de creatinina ($p = 0,004$), quando comparados aos CC. A presença do alelo B nos indivíduos com os polimorfismos HPA1 e HPA2 esteve associada a valores reduzidos de RDW, contagens

menores de reticulócitos e concentrações diminuídas de colesterol LDL ($p=0,025$; $p=0,023$; $p=0,024$, respectivamente); os portadores do alelo B para os polimorfismos HPA2 e HPA3 apresentaram valores de CHCM e bilirrubina direta diminuídos ($p=0,02$; $p=0,025$). Através desse estudo foi possível caracterizar os polimorfismos em genes de glicoproteínas de membrana em indivíduos com AF de Salvador-BA, sugerindo que a presença de alguns alelos podem estar relacionados a alterações em marcadores associados a hemólise, a inflamação, ao perfil lipídico e renal. Dessa forma, espera-se que, futuramente, o conhecimento desses marcadores possa auxiliar no estabelecimento de fatores relativos ao prognóstico, podendo contribuir para o aumento da sobrevida e da qualidade de vida dos indivíduos com AF.

095

Incidência de hemoglobinopatias na região sul do Triângulo Mineiro, a partir dos métodos de triagem e dos fatores epidemiológicos e clínicos, empregados na rede de saúde pública

Carlos AM¹, Souza RA¹, Souza BM¹, Pereira GA¹, Moraes-Souza H¹

¹Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Introdução: Dentre as *desordens* genéticas das células vermelhas mais comuns, destacam-se as hemoglobinopatias, que compreendem um grupo complexo de anemias hereditárias que apresentam significativa morbidade em todo o mundo. Dentre estas, as falcemias e as talassemias são as mais prevalentes, variando conforme a composição geográfica e/ou étnica. Têm grande relevância para a saúde pública, pois envolvem o sistema de saúde em todos os níveis de atenção, devido ao seu caráter crônico, com agravos agudos e ampla variação clínica, evidenciando assim a importância da investigação e do diagnóstico precoce destas alterações genéticas. O objetivo do estudo foi determinar a incidência de hemoglobinopatias em recém-nascidos (RNs) atendidos no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, no período de setembro de 2011 a dezembro de 2012. **Sujeitos e métodos:** Amostras de sangue de RNs foram coletadas do cordão umbilical, com EDTA e analisadas por eletroforese em pH alcalino, dosagens das hemoglobinas (Hb) A2e fetal. A confirmação da HbS e HbC foi realizada por eletroforese em pH ácido e da HbH em pH neutro, além de testes citológicos para pesquisa dos corpúsculos de inclusão de HbH pela coloração azul de cresil brilhante a 1%. Os dados foram analisados a partir do teste qui-quadrado com 5% de significância. **Resultados:** Dos 1004 RNs, 81% eram procedentes de Uberaba, 11% de municípios vizinhos e limítrofes e 8% de outras cidades e estados; 503 eram do gênero feminino (50,1%); 53,09% eram negros ou pardos, 39,24% brancos com ascendentes negros ou pardos e 7,47% brancos com ascendentes brancos. Das 1004 amostras analisadas, a partir dos testes de triagem, 836 (83,27%) apresentaram perfil hemoglobínico normal (Hb FA), enquanto que 168 (16,73%) apresentaram padrão hemoglobínico alterado nas formas homozigotas, heterozigotas e interativas, condicionando os fenótipos: FAH (sugestivos de talassemia alfa), FAS (traço falciforme), FS (anemia falciforme), FAC (traço para HbC) e FA A2 (sugestivos de talassemia beta). A hemoglobinopatia mais incidente foi a talassemia alfa com 105 casos correspondendo a 10,46%, sendo 13 em associação com a HbS (1,29). Foi observado ainda 61 casos positivos para a HbS (6,08%) (59 (5,88%) em heterozigose e 2 (0,2%) em homozigose), 9 de heterozigose para HbC (0,9%) e 6 sugestivos de talassemia beta (0,6%). A incidência de hemoglobinopatias no gênero feminino foi de 8,57% e no masculino de 8,11% ($p=0,822$); nos brancos de ascendência branca foi de 1,1%, nos brancos com ascendentes negros ou pardos de 6,08% e negros ou pardos foi de 9,56% ($p=0,524$). Os métodos utilizados foram capazes de identificar uma grande variedade de perfis hemoglobínicos. Contudo, torna-se evidente a necessidade de métodos moleculares na investigação de Hb variantes em associações com as talassemias, já que os achados no presente estudo caracterizam

um problema de saúde pública. **Conclusão:** A incidência da talassemia alfa e do traço falciforme estão de acordo com o encontrado em outros estudos no sudeste do país e no estado de Minas Gerais. Em síntese, a alta incidência de talassemia em nosso meio, não identificada na triagem neonatal de rotina, reforça a necessidade de sua pesquisa, especialmente em pacientes com anemia microcítica a esclarecer. Apoio Financeiro: Fapemig

LEUCÓCITOS, INFLAMAÇÃO, INFECÇÃO E IMUNOLOGIA

096

Alterações dos valores hematológicos relacionados à prática do tabagismo em voluntários do Distrito Federal

Figueiredo FL¹, Junior MR¹

¹Centro Universitário de Brasília

O tabagismo segundo a OMS (Organização Mundial da Saúde) é uma dos principais fatores para o desenvolvimento principalmente de câncer, doenças cardiovasculares, doenças obstrutivas crônicas (DPOC) e acidente vascular encefálico (AVE). Pelo fato do tabagismo estar relacionado à tantas patologias, exames clínicos se tornam extremamente importante para que haja a observação de qualquer alteração decorrente desse hábito. O hemograma é um dos exames de rotina mais importante clinicamente, logo esse presente trabalho teve como objetivo observar se o tabagismo é capaz de causar alterações hematológicas que interfiram nas séries que compõe o hemograma. A nossa pesquisa consistiu na realização de hemogramas de 37 voluntários, dividido em 2 grupos, um grupo controle composto de 20 integrantes não fumantes e o grupo de fumante com 17 participantes. Os resultados obtidos demonstraram que o grupo composto por fumantes apresentaram alterações hematológicas em todas as séries do hemograma, principalmente nos valores plaquetários, chegando à uma diferença entre os grupos de aproximadamente 37%. Na série vermelha o aumento foi mais evidente na contagem de hemácias, onde a diferença entre as médias dos dois grupos chega à 11,4%. Na série leucocitária também foi observado que alguns parâmetros apresentaram diferenças quando os grupos foram comparados, como os linfócitos, neutrófilos e leucócitos totais, sendo que esse último chegou à uma diferença média quando os grupos foram comparados de até 19,8%. Essas alterações juntamente com outros trabalhos que também chegaram à esses resultados, cria a possibilidade de associar o tabagismo com alterações em componentes sanguíneos que consequentemente facilitam o desenvolvimento de certas patologias que quando agravadas pode ter como consequência o óbito.

097

Síndrome de Stevens-Johnson e toxicidade medular farmacológica pelo uso de Damin: relato de um caso no Baixo Amazonas

Borges KO¹, Fortes MF¹, Silva AC², Corrêa CB², Peixoto IG²

¹Hospital Regional do Baixo Amazonas do Oeste do Pará

²UEPA

Introdução: A Síndrome de Stevens-Johnson (SSJ) teve seu primeiro caso relatado em 1922, e foi caracterizada como uma doença inflamatória aguda que afeta a pele e as mucosas. É uma entidade de ocorrência rara, sua incidência estimada é de um a três casos por um milhão de habitantes ao ano (BULISANI et al, 2006). Ocorre, predominantemente, em adolescentes e adultos jovens. (AZULAY, 2011). Esta síndrome está relacionada principalmente a efeitos adversos

de alguns fármacos. A fisiopatologia da Síndrome está associada à agressão das células epidérmicas, mediada imunologicamente pelas células T citotóxicas causando necrose da epiderme, via apoptose de ceratinócitos. O período de latência varia de 1 a 3 semanas, porém o sintoma podem se manifestar até 8 semanas depois do uso dos medicamentos. (BULISANI ET AL., 2006). **Relato de Caso:** D.F. 23 anos, feminina, solteira, estudante, com pancitopenia e SSJ. Segundo a história colhida, depois de fazer uso de um comprimido de Dramin B6® para estado nauseoso, há uma semana da entrada ao HRBA, apresentou vermelhidão da pele e prurido generalizado, respeitando palmas, plantas e mucosas, evoluindo progressivamente com múltiplas lesões dermatológicas difusas, hematomas, sufusões hemorrágicas, edema flogístico, descamação, febre alta e desconforto respiratório. Realizou hemograma que mostrou pancitopenia severa, com contagem de neutrófilos inferior a 200 mm³ e plaquetopenia de 24000 mm³. Foi internada em caráter de urgência, com diagnóstico de SSJ e pancitopenia periférica, iniciando a terapêutica antimicrobiana, suspensão do fármaco indutor do quadro, além de fluidoterapia venosa, sintomáticos, GCSF para recuperação rápida da neutropenia e redução do risco séptico. Foi avaliada por uma equipe multiprofissionais e diferentes especialidades para minimização das sequelas e orientações específicas. Após cinco dias de internação a paciente apresentava melhora do quadro e recuperação hematológica. **Conclusão:** As características encontradas neste caso são de acordo com a maioria dos trabalhos pesquisados, apenas as alterações oculares não são encontradas, que segundo Falcão et al (2008) estão presentes em 50% dos casos de SSJ. A conduta utilizada condiz com a indicada pelos autores pesquisados, de suspensão do fármaco indutor, medidas sintomáticas para melhorar a qualidade de vida do paciente, correção hematológica e prevenção de infecções secundárias e sepse.

098

Avaliação e comparação entre a contagem manual e automatizada (Cell Dyn Ruby) de células nos líquidos cavitários

Noronha TR¹, Cunha MC¹, Cicarelli LM¹, Martinez MB¹

¹Universidade de São Paulo

A análise dos líquidos cavitários (pleural e ascítico) inclui a contagem total de células, o que é crucial para diferenciar transudado de exsudado, bem como a diferenciação de quadros reacionais, infecções e doenças malignas. Atualmente, a maioria dos contadores hematológicos não é padronizada para contagem de células em líquidos cavitários, e a técnica considerada padrão ouro para esses materiais ainda é a manual. O método utiliza a câmara de Fuchs-Rosenthal, o que torna o exame demorado, trabalhoso e nos casos em que há aumento da celularidade, diluições são necessárias, o que aumenta a possibilidade de erros, pois envolve cálculos matemáticos. A contagem de células automatizada oferece alta precisão, reprodutibilidade, excelente linearidade com curto tempo de análise, otimizando o tempo de execução do exame, conhecido pelo termo inglês *Turnaround Time* (TAT). O objetivo deste trabalho foi comparar a contagem total de células dos líquidos cavitários obtidas no Cell Dyn Ruby (CD-Ruby) com os resultados obtidos no método de contagem manual. 125 líquidos (67 pleural, 58 ascítico) coletados em tubo contendo anticoagulante EDTA foram analisados no CD-Ruby utilizando o modo aberto e os resultados comparados com a contagem manual. Estudos do coeficiente de correlação, precisão, linearidade e carryover foram realizados. Para o estudo de correlação foram analisados os resultados obtidos pelo CD-Ruby e contagem manual de 125 líquidos cavitários com variação de 3 a 210.460 células/mm³, o coeficiente de correlação foi de 0,998. Para o estudo de precisão, 10 medidas sucessivas usando líquidos cavitários (3 níveis) foram realizadas e comparadas. Para o nível de 269/mm³ o CV manual foi 17,3% e o CV CD-Ruby foi 7,2%, para o nível de 407/mm³ o CV manual foi 13,8% e o CV CD-Ruby foi 6,7%,

para a nível de 2.057/mm³ o CV manual foi 13,4% e o CV CD-Ruby foi 2,6%. A linearidade da contagem de células foi analisada a partir da diluição seriada de uma amostra (10 diluições) e o intervalo medido pelo CD-Ruby foi de 0 a 2.120 células/mm³ e os resultados são lineares. O intervalo reportável não foi avaliado neste experimento. Para o carryover utilizamos uma amostra de líquido cavitário com contagem de células elevada, foram realizadas 3 contagens consecutivas e em seguida outra amostra com baixa contagem de células foi analisada 3 vezes consecutivas, e o carryover foi de 0,14%. Concluímos que os resultados do CD-Ruby correlacionam-se bem com o método manual, diminui o TAT e, a aplicação da contagem total de células automatizada no CD-Ruby fornece melhorias significativas sobre o método manual anteriormente utilizado.

099

Síndrome hemofagocítica associada à síndrome de hipersensibilidade à sulfona: relato de caso

Costa TC¹, Neto ES¹, Melo AC¹, Oliveira MS¹, Ganacini PR¹, Nicácio JM¹

¹Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP

A Síndrome Hemofagocítica, também conhecida como Linfohistiocitose Hemofagocítica ou Síndrome de Ativação Macrofágica, é uma desordem causada pela desregulação do sistema imunológico, caracterizada por sinais e sintomas inflamatórios graves. O diagnóstico clínico consiste em cinco de oito achados: febre, esplenomegalia, citopenia, hipertrigliceridemia e/ou hipofibrinogenemia, hiperferritinemia, atividade de células natural killer baixa ou ausente, níveis elevados de receptor alfa da interleucina-2 e presença de figuras de hemofagocitose vistas em material de medula óssea, baço, linfonodo ou fígado. Apresenta-se como doença primária (hereditária) ou secundária (adquirida) associada a infecções, neoplasias, doenças reumatológicas, drogas e outras doenças sistêmicas como a Síndrome de Hipersensibilidade a Medicamentos, sendo os mais comumente descritos a carbamazepina, fenitoína, lamotrigina e sulfametoxazol. A Síndrome de Hipersensibilidade a Medicamentos é descrita como uma reação severa caracterizada por febre, rash cutâneo e falência de múltiplos órgãos, ocorrendo em uma a oito semanas após a introdução da droga e seu tratamento consiste em corticoterapia em altas doses. O diagnóstico e o tratamento da Síndrome Hemofagocítica são um desafio para a equipe médica devido à sua raridade, apresentação variável, tempo para realização dos exames e efeitos do tratamento imunossupressor quimioterápico, essencial para a resolução do caso e que algumas vezes traz riscos ao paciente já infectado. Em pacientes com Síndrome Hemofagocítica adquirida e estabilidade clínica e hemodinâmica, a terapia da condição de base pode ser associada ou não à corticoterapia, porém a maioria dos pacientes não apresenta boa resposta a esta conduta menos agressiva. Em nosso serviço utilizamos o protocolo HLH-94 modificado, que consiste em corticoterapia, imunossupressão (Etoposídeo) e quimioterapia intratecal, esta última em casos com comprometimento de sistema nervoso central. Neste relato mostramos um caso atípico com evolução favorável de um jovem de 16 anos com Síndrome Hemofagocítica associada à Síndrome de Hipersensibilidade à Sulfona, quatro semanas após o início do tratamento para Hanseníase. O diagnóstico de Hanseníase foi realizado devido à presença de múltiplas máculas acastanhadas em membros, além de epidemiologia positiva para Hanseníase (contato domiciliar com o pai, que estava em tratamento), sendo então iniciado o uso de Dapsona e Rifampicina. Após quatro semanas, surgiram sinais e sintomas compatíveis com a Síndrome de Hipersensibilidade à Sulfona e Síndrome Hemofagocítica. O paciente apresentou seis dos oito critérios para diagnóstico da Síndrome Hemofagocítica (febre, esplenomegalia, DHL elevado, hiperferritinemia, hipertrigliceridemia, hipofibrinogenemia e figuras de hemofagocitose vistas em mielograma), além de outros sinais e sintomas da Síndrome de Hipersensibilidade à Sulfona, como placas eritematosas infiltradas em membros, linfadenomegalia,

hepatomegalia, anemia hemolítica. Foi iniciada rapidamente corticoterapia em altas doses, inicialmente para tratamento da Síndrome de Hipersensibilidade, enquanto aguardavam-se os demais exames para o diagnóstico da Síndrome Hemofagocítica. O paciente apresentou melhora completa do quadro em poucos dias, sem necessidade de tratamento quimioterápico, permanecendo em acompanhamento até então com a equipe da hematologia.

100

Castleman e síndrome POEMS : relato de caso

Azevedo PD¹, Faria AA², Santana KR¹, Cerqueira ML³, Carlos KM¹, Ferrari ML², Azevedo PH²

¹Universidade Estadual de Montes Claros

²Universidade Federal de Minas Gerais

³Instituto da Previdência dos Servidores do Estado de Minas Gerais.

Trata-se de paciente de 46 anos, casada, natural de Francisco Sá, procedente de Montes Claros. Iniciou há cerca de dois anos quadro de diarreia aquosa, com restos alimentares e de moderado volume. Concomitantemente, identificou aumento do volume abdominal, astenia, perda ponderal de 7 quilogramas, epigastria em peso com saciedade precoce e cefaléia. Relatava também parestesias em membros inferiores. Ao exame físico foi identificada pele escurecida, linfadenomegalia cervical e axilar, além de volumosa hepatoesplenomegalia. Há cerca de um ano esteve internada devido a desidratação secundária a diarreia. Nessa ocasião foram diagnosticados um derrame pericárdico e hipotireoidismo. Em nosso serviço, exames radiológicos evidenciaram lesões osteoblásticas predominando em úmero; eletroneuromiografia demonstrou polineuropatia sensitivo-motora desmielinizante e eletroforese de proteínas mostrou gamopatia monoclonal. À fundoscopia foi diagnosticado papiledema. Os elementos descritos fecham critérios diagnósticos para síndrome POEMS. A biópsia linfonodal foi conclusiva para doença de Castleman. Atualmente a paciente encontra-se em tratamento quimioterápico com boa resposta. A síndrome POEMS é caracterizada pela presença de gamopatia monoclonal, neuropatia periférica e uma ou mais das seguintes características: mieloma osteosclerótico, doença de Castleman, organomegalia, endocrinopatia, alterações de pele, papiledema e aumento dos níveis séricos de fator de crescimento endotelial. O diagnóstico depende dos critérios clínicos e laboratoriais e o tratamento baseia-se em quimioterapia com melfalan e corticóide. Esporadicamente pode haver indicação de radioterapia e outros agentes quimioterápicos. A associação com Castleman é freqüente, ocorrendo em aproximadamente 15% dos casos. O prognóstico não é ruim, com cerca de 75% de resposta a quimioterapia.

101

Diagnóstico de malária realizado com auxílio do analisador hematológico

Rezende DC¹, Cunha MC¹, Noronha TR¹, Salgado VP¹, Martinez MB¹

¹Univesidade de São Paulo

A malária é uma doença parasitária tropical reconhecida como grave problema de saúde pública mundial, ocorrendo em quase 50 % da população, em mais de 109 países e territórios, transmitida pelo mosquito fêmea do gênero *Anopheles*. Cinco espécies afetam humanos sendo que no Brasil somente encontramos três espécies: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, e *Plasmodium malariae*. A região amazônica é considerada a área endêmica do país para malária no qual em 2008, aproximadamente, 97% dos casos de malária se concentraram em seis estados desta região. Na região extra-amazônica,

mais de 80% dos casos registrados são importados dos estados pertencentes à área endêmica, continente Africano e Paraguai. Esta é uma doença que se não for diagnosticada e tratada de forma rápida e adequada, poderá evoluir em poucos dias para suas formas graves podendo muitas vezes ser letais. O diagnóstico clínico da malária não é preciso, uma vez que os sinais e sintomas provocados pelo parasita são inespecíficos e semelhantes a outras doenças. Desta forma, a decisão de tratar um paciente infectado com malária deve ser baseada na confirmação laboratorial da doença. O exame considerado padrão para diagnóstico rápido de malária é feito pela pesquisa do parasita por microscopia através de coloração de sangue periférico, "gota espessa". Os equipamentos hematológicos oferecem alta precisão, reprodutibilidade, excelente linearidade e com curto tempo de análise, otimizando o tempo de execução dos exames, mas, não existe automação para a detecção das formas parasitárias do *Plasmodium*. Contudo, os equipamentos possuem uma série de alarmes que bloqueiam a liberação automática do exame. Alguns alarmes, por exemplo, indicam a presença de blastos, linfócitos atípicos, granulócitos imaturos, macroplaquetas, plaquetas agregadas, entre outros. Neste estudo, avaliamos a importância de se considerar o alarme despolarização atípica (ATYPDEP) do equipamento Cell Dyn Ruby. Alguns estudos reportaram que despolarização atípica pode ser atribuída ao parasita *Plasmodium sp.*, pois os eritrócitos infectados pelo parasita rompem-se na fase de esquizonte e os parasitas livres na circulação junto com pigmentos de hemozoinas são fagocitados por neutrófilos e monócitos. Essas células quando passam pelo sistema óptico do equipamento despolariza o laser de ângulo 90°fazendo com que as células contendo o pigmento de hemozoina sejam plotadas em regiões específicas ativando o alarme ATYPDEP. O laboratório clínico do Hospital Universitário da USP recebeu uma solicitação de exames, entre eles o hemograma, de um paciente masculino, 57 anos, sem hipótese diagnóstica específica. Na realização do hemograma, o analisador hematológico apresentou alarme ATYPDEP. Para confirmação do alarme foi realizada a análise microscópica em lâmina de distensão sanguínea, sendo evidenciada a presença do parasita *Plasmodium sp.* O resultado do hemograma foi liberado com a observação de presença de *Plasmodium sp.* e comunicado ao corpo clínico que conduziu o paciente para um serviço de referência para receber tratamento adequado, minimizando os efeitos adversos causados pela doença. Concluímos que interpretar e confirmar os alarmes fornecidos pelos equipamentos hematológicos são importantes para evitar a liberação de resultados falso-negativos, colaborando com informações para um diagnóstico rápido propiciando início e tratamento adequado ao paciente.

102

O tratamento antifúngico baseado na monitoração seriada da galactomanana é capaz de reduzir a utilização de antifúngicos de alto custo?

Gonzaga Y¹, Velasco E¹, Nucci M²

¹Instituto Nacional de Câncer

²Universidade Federal do Rio de Janeiro

Introdução: Pacientes com neutropenia grave e prolongada são considerados de alto risco para desenvolver infecções fúngicas invasivas (IFI), especialmente a aspergilose invasiva (AI). Como o seu diagnóstico é difícil de ser realizado e a letalidade é elevada nesta população, o início empírico de antifúngico antifilamentoso (AF) no paciente neutropênico com febre persistente apesar de antibiótico-terapia se tornou a prática padrão. Esta conduta está associada ao uso excessivo de AF, aumento de toxicidade e custo. O tratamento AF baseado na detecção de biomarcadores como a galactomanana vem sendo estudado e parece ser uma alternativa segura e capaz de reduzir o uso dessas medicações sem aumentar a mortalidade atribuída às IFI. **Métodos:** Foram avaliados retrospectivamente 37 pacientes oncohematológicos que apresentavam critério para início

de AF empírico, baseado na persistência ou retorno da febre a partir do 5º dia de antibioticoterapia e que foram submetidos a monitoração seriada da galactomanana no mínimo 2x/semana. O objetivo principal foi avaliar se houve potencial redução no uso de AF nesta população. **Resultados:** O AF empírico teria sido iniciado em média 9 (5-36) dias após o episódio febril e apenas 4 pacientes (11%) iniciaram. Mais 25 pacientes utilizaram AF em algum momento, com base em critérios clínicos, radiológicos e laboratoriais. O intervalo médio entre a data que teria sido iniciado o AF empírico e a data em que o AF foi iniciado nesses pacientes foi de 9 dias (1-27). 8 pacientes (22%) não utilizaram AF. De acordo com a classificação vigente, 13 pacientes (35%) apresentaram IFI provável ou provada. Todos utilizaram AF. O tempo médio de seguimento foi de 206 dias (21-762) e 27 pacientes (73%) faleceram no 1º ano, a maioria por refratariedade da doença de base. Apenas 3 óbitos foram atribuídos a IFI. Destes, 2 casos foram classificados como AI provável e 1 como IFI provada (fusariose disseminada). Todos receberam antifúngico e todos apresentavam leucemia em progressão no momento do diagnóstico da IFI. A única variável que se correlacionou com a sobrevivência no primeiro ano foi o status da doença de base (Controlada 53% x Progressão 9%; $p=0.006$). **Discussão:** O estudo mostrou que a monitoração seriada da galactomanana em uma população de risco tem o potencial para reduzir a utilização de AF. Esse resultado foi obtido, aparentemente, sem aumento nas taxas de mortalidade relacionadas a IFI, uma vez que não houve nenhum óbito relacionado a IFI em paciente que não utilizou AF. Este estudo, entretanto, tem diversas limitações, entre elas seu desenho retrospectivo e o número limitado de casos. Além disso, não foram incluídos todos os casos de neutropenia febril persistente, apenas os que realizaram a monitoração da galactomanana, impedindo que se possa afirmar que de fato houve redução na utilização de AF na Instituição. Diversos outros estudos, alguns prospectivos e controlados, já demonstraram redução na utilização de AF nessa população sem aumento da mortalidade, com base na monitoração seriada de biomarcadores, associada a critérios clínicos e radiológicos. **Conclusão:** Protocolos de monitoração seriada da galactomanana em pacientes oncohematológicos de alto risco têm o potencial de reduzir o uso de AF de alto custo sem aumento da mortalidade e devem ser vistos como uma alternativa ao tratamento empírico.

103

Influência da refrigeração e do tempo de estocagem na contagem global e na caracterização morfológica das células sanguíneas em amostras colhidas com EDTA

Souza IP¹, Gonçalves RP¹, Arruda ABL¹, Barros AE¹, Santos FM¹, Mota AM¹, Mateus CS¹, Timbo IM¹, Ferreira CM¹, Vitoriano BF¹

¹Universidade Federal do Ceará

O hemograma proporciona avaliação dos três componentes principais do sangue periférico (eritrócitos, leucócitos e plaquetas) sendo, portanto, a base de qualquer avaliação hematológica. Na investigação de funções biológicas e disfunções do sangue, é fundamental que, dentro do possível, testes laboratoriais não forneçam informações enganosas devido a erros técnicos. Por isso, é importante evitar erros na coleta, no armazenamento e no transporte das amostras ao laboratório. Este estudo teve como objetivo verificar de que maneira o tempo de estocagem, à temperatura ambiente e em refrigeração de amostras de sangue coletadas com EDTA podem interferir na morfologia das células sanguíneas. Foram utilizadas duas amostras de sangue periférico com anticoagulante (EDTA) de sete indivíduos voluntários com idade superior a 18 anos de ambos os sexos. Um tubo foi armazenado à temperatura ambiente (25 °C) e outro em geladeira (0-8°C). Foram feitas extensões sanguíneas de cada indivíduo sem o uso de anticoagulante para a realização da análise morfológica controle. As análises das amostras foram realizadas a

partir as extensões sanguíneas confeccionadas para cada um dos tubos (Tubo 1 - à temperatura ambiente e Tubo 2 - armazenado em geladeira 2-8°C) em tempos pré-determinados: T 1 - 1 h após a coleta; T 2 - 4 h após a coleta; T 3 - 8 h após a coleta; T 4 - 12 h após a coleta; T 5 - 24 h após a coleta; T 6 - 48 h após a coleta; T 7 - 72 h após a coleta; T 8 - 120 h após a coleta. As alterações na morfologia das células sanguíneas se iniciaram a partir de quatro horas em temperatura ambiente e discretamente após doze horas em refrigeração. O efeito da armazenagem em EDTA nos eritrócitos foi em sua membrana e nas plaquetas foi o aumento de volume. As principais alterações morfológicas ocorrem nos glóbulos brancos, levando a destruição destas células em ritmo mais acelerado quando armazenadas em temperatura ambiente. Concluiu-se que o tempo ideal de armazenamento é doze horas em temperatura ambiente e dois dias em refrigeração, uma vez que as alterações morfológicas são mínimas nas linhagens celulares sanguíneas e estas alterações não interferem intensamente na diferenciação de leucócitos e, portanto, na sua caracterização celular.

104

A influência do tempo de estocagem na análise de parâmetros hematológicos em processo automatizado do hemograma de humano em Fortaleza - Ceará

Souza IP¹, Gonçalves RP¹, Arruda ABL¹, Nobre WF², Leorne LN¹, Mota AM¹, Viana NA¹, Mateus CS¹, Garcia LU¹, Maldonado KK¹

¹Universidade Federal do Ceará

²Hospital Geral de Fortaleza

O hemograma é, dentre todos os exames requeridos por médicos de diversas especialidades, o mais solicitado. Após a realização da coleta, os laboratórios devem seguir procedimentos específicos de armazenamento de sangue total para preservar as características celulares. Dessa forma, o presente trabalho busca avaliar a influência do tempo de estocagem na análise de parâmetros hematológicos, em processo automatizado, no hemograma humano, estabelecendo um intervalo de tempo máximo entre a coleta e o processamento da amostra, para obtenção de resultados confiáveis. Foi realizado um estudo retrospectivo com as amostras de sangue de 57 pacientes adultos, de ambos os sexos, coletadas através de punção venosa em tubos com EDTA, atendidos no Hospital Geral de Fortaleza. As amostras foram mantidas sob refrigeração de 2°- 8°C e analisadas em contador automático Cell Dyn Ruby, com periodicidade de 1, 24, 48, 72 e 96 horas após a coleta. Os resultados foram tabulados nos seguintes programas computacionais: Microsoft Word 2007, Microsoft Excel 2007, SPSS versão 19 e RGui 3.0.0. Para a análise estatística foi utilizado o teste de Friedman com intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$). Dos parâmetros analisados em nosso estudo, observamos que a análise descritiva não foi comprovada se houve aumento ou diminuição dos parâmetros analisados, notamos através dos resultados e pela similaridade dos dados que houve indícios de que existe similaridade entre os tempos, dessa forma, tornou-se necessária a utilização de testes estatísticos para comparar os resultados preliminares para tanto aplicamos o teste de Friedman. No Eritrograma observamos que a Contagem de Hemácias apresentou significância estatística apenas no tempo 5 (96:00h após a coleta) com $p = 0,001$, na Dosagem de Hemoglobina apesar da oscilação nos diferentes tempos de estocagem houve significância em todos eles com $p < 0,001$, quanto a Determinação do Hematócrito houve aumento significativo em todos os tempos estudados com $p < 0,001$. Os Índices Hematimétricos apresentaram aumento significativo em todos os parâmetros analisados para VCM ($p < 0,001$), HCM ($p < 0,004$) e RDW ($p < 0,001$) quanto ao CHCM ($p < 0,001$) apresentou diminuição significativa apenas no tempo 3, ou seja, no terceiro dia após a coleta. Quanto aos Leucócitos houve declínio significativo na quantidade média ao longo do tempo com ($p < 0,001$) e a Contagem de Plaquetas foi o único parâmetro analisados que não apresentou significância estatística com ($p < 0,553$). Diante disso, concluímos

que os parâmetros do hemograma realizados a partir de amostras de sangue periférico, coletadas através de punção venosa em tubos com EDTA, armazenadas sob-refrigeração de 2ª a 8°C, podem ser dosados no aparelho Cell Dyn Ruby em até 48 horas após a coleta, sem que haja alteração significativa nos valores da Contagem Global dos Leucócitos, Hemácias, Hemoglobinas, Hematócritos, Índices Hematimétricos e Plaquetas.

105

Taxa de infecções respiratórias virais em pacientes internados no setor de hematologia do Hospital Universitário Walter Cantídio

Dantas EL¹, Dantas FE¹, Carvalho LE¹, Lopes GS¹, Florencio CM², Leitão JP¹, Araújo BS¹, Kaufmann J¹, Moura F², Duarte FB¹

¹Serviço de Hematologia do Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará (HEMOCE)

²Laboratório de Virologia da Departamento de Patologia e Medicina Legal da Universidade Federal do Ceará

Introdução: Infecção respiratória viral (IRV) é causa significativa de morbidade e mortalidade em pacientes submetidos à quimioterapia. A progressão de uma IRV alta para as vias aéreas inferiores depende de fatores específicos do hospedeiro, como doenças de base e terapêutica assim como da virulência dos agentes virais envolvidos. A identificação viral nas amostras clínicas pode ser feita por métodos de amplificação de ácido nucleico, detecção de antígeno e isolamento viral em cultura de células. O manejo clínico das IRV inclui terapia de suporte e antiviral específica, a exemplo do uso do Oseltamivir e Zanamivir no caso de infecções pelo vírus influenza. O diagnóstico precoce, além de permitir tratamento imediato, orienta medidas de controle de infecção no ambiente hospitalar. **Objetivo:** pesquisar a taxa de IRV em pacientes internados no serviço de Hematologia e identificar os vírus associados a essas infecções. **Material e métodos:** de Agosto de 2012 a Junho 2013 foi realizada coleta de aspirado nasofaríngeo de pacientes internados no Hospital Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará, que apresentavam sintomas respiratórios altos, tais como coriza, tosse e obstrução nasal. As amostras coletadas foram submetidas à imunofluorescência indireta para pesquisa de vírus sincicial respiratório, influenza A e B, adenovírus, vírus parainfluenza 1, 2 e 3. **Resultados:** no período de estudo ocorreram 249 internações no setor da hematologia e 9 dos pacientes apresentaram sintomas respiratórios altos durante a evolução (3,61%). A detecção viral ocorreu nos 9 casos analisados (100%), estando presentes os seguintes vírus: vírus sincicial respiratório (2 pacientes – 22,2%); parainfluenza tipo 3 (5 paciente – 55,6%); influenza A (2 pacientes – 22,2%). Os vírus influenza A identificados foram substituídos como H3N2, sendo instaurada terapêutica com Oseltamivir no tratamento das infecções a eles associadas. **Conclusão:** Neste estudo foi verificada a relevância das viroses respiratórias como causa de febre de origem indeterminada em pacientes internados na hematologia, sob tratamento quimioterápico. Sugerimos estudos no intuito de consolidar tais achados evitando o uso excessivo de antibióticos de amplo espectro.

106

Doença das crioaglutininas como manifestação de adenocarcinoma de próstata: relato de caso

Santos DG¹, Lira AR¹, Sousa GB¹, Dourado AC¹, Neves FF¹, Sales VC¹, Ribeiro ML¹, Costa VR¹, Ferreira CF¹, Botelho LF¹

¹Universidade Federal da Paraíba

Introdução: A Doença das Crioaglutininas é caracterizada pela presença de auto-anticorpos frios, geralmente IgM, que se ligam a

antígenos eritrocitários levando a hemólise, havendo hemoaglutinação em temperaturas inferiores a 37°C. A anemia hemolítica auto-imune a frio é relativamente rara, acometendo indivíduos entre 50 e 70 anos. Pode ser primária ou secundária a doenças sistêmicas, sendo rara a relação com tumores sólidos. O quadro clínico é decorrente da anemia (dispneia, fadiga) e/ou hemoaglutinação (palidez, cianose, fenômeno de Raynaud). O diagnóstico baseia-se na presença de título elevado de crioaglutininas (superior a 1:40), teste de antiglobulina direta positivo e diagnóstico de outras patologias de base, sendo solicitados exame da medula óssea (MO) e tomografia computadorizada (TC) na pesquisa de linfomas ou tumores sólidos. O tratamento pode incluir proteção contra o frio, corticosteróides, agentes citotóxicos e plasmáfereze, e quando há associação com linfomas malignos ou tumores, pode haver desaparecimento desta desordem após terapia direcionada. **Relato de Caso:** Paciente, 87 anos, masculino, apresentou quadro de parestesia em membros inferiores, intolerância ao frio e alterações de memória há seis meses, associado à emagrecimento significativo, discreta confusão mental e presença de equimoses em membros superiores. Após solicitação de exames de rotina, foi encaminhado ao hematologista. Apesar da amostra aquecida, as hemácias permaneceram aglutinadas, levantando-se a hipótese de Crioglobulinemia. Os exames evidenciaram: anemia; leucocitose discreta; plaquetose; reticulocitose; DHL elevado; teste de antiglobulina direta positivo; eletroforese de proteínas séricas com pico monoclonal migrando na região das gamaglobulinas (conc. 0,21), cuja imunofixação revelou ser IgM kappa com títulos de crioaglutininas superior a 1:512. O mielograma mostrou infiltração de MO para células não hematopoiéticas, sem evidência de neoplasia hematopoiética à imunofenotipagem. A biópsia de MO confirmou a infiltração por células tumorais, cujo perfil imunohistoquímico revelou positividade para AE1+AE3 e PSA de forma difusa e negatividade para CK7, CK20, TTF-1, proteína p63 (células basais), cromogranina A e CDX-2. Iniciou-se prednisona (1mg/kg) para controle das crioaglutininas e pesquisa de outras neoplasias. Com o PSA elevado (>2000ng/ml) e a TC da região pélvica revelando hipertrofia prostática e aumento da densidade óssea da pelve, foi interrogada neoplasia secundária. Sorologias para Hepatite C e crioaglobulinas foram negativas. A família optou pelo tratamento paliativo e o paciente foi a óbito em poucas semanas. **Conclusão:** Neste caso, observa-se a rara relação entre doença das crioaglutininas e o adenocarcinoma de próstata, assim como a importância do diagnóstico de outras desordens associadas e da instituição precoce do tratamento da patologia de base.

107

Otimização de técnica por citometria de fluxo para avaliação de produtos de ativação do complemento ligados a reticulócitos no lúpus eritematoso sistêmico

Ferreira KS¹, Loures CG¹, Silva MV¹, Nunes FF², Toledo VP¹, Neiva CL³, Consoli RV³, Dias AF³, Guimarães TM¹, Carvalho MD¹

¹Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG

²Centro de Pesquisas René Rachou – Fiocruz

³Serviço de Reumatologia da Santa Casa de Belo Horizonte.

Evidências mostram que anormalidades na ativação do complemento podem ser elementos fundamentais na patogênese do LES. Dentro desse contexto, o desenvolvimento e validação de ensaios para avaliar a expressão de produtos de ativação do complemento (CB-CAP= Cell-bound complement activation products), tais como C4d ligado a reticulócitos (R-C4d) como potenciais biomarcadores do estado de ativação do LES, podem assumir grande importância como ferramentas para o melhor entendimento da fisiopatologia e do controle clínico dessa doença. Dessa forma, o presente estudo objetivou otimizar um método para avaliar os níveis de expressão de produtos de ativação do sistema complemento ligado a reticulócitos visando aplicar o mesmo em amostras de sangue de pacientes

com LES para estabelecer um perfil de risco de ativação/reativação da doença. A otimização desta técnica baseou-se no estudo de LIU (2005), tendo sido utilizadas amostras de sangue de duas pacientes com LES, com idade de 18 e 30 anos, diagnosticadas pela equipe de Reumatologia da Santa Casa de Belo Horizonte. A atividade clínica do LES foi determinada segundo o índice SLEDAI (*Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*). Uma delas apresentava a doença recém diagnosticada com significativo grau de atividade e a outra com diagnóstico mais antigo, porém com a doença em reativação. A determinação dos níveis de R-C4d foi realizada por citometria de fluxo (Fortessa - BD) através de separação da população de reticulócitos pela utilização de Thiazol Orange (Retic Count-BD) e marcação da mesma com anticorpos anti-C4d (Quidel). Seguindo-se à leitura em citômetro, foi realizada a análise por meio do software Flow Jo. Como controle negativo da reação, foi utilizada uma amostra de sangue de indivíduo comprovadamente negativo para LES. Verificou-se que os níveis de R-C4d se mostraram correlacionados com a atividade clínica do LES. Assim, a paciente recém diagnosticada portadora da doença na forma mais grave (SLEDAI=18), apresentou elevada expressão de R-C4d (84,3% dos reticulócitos), enquanto a paciente que apresentava reativação, em estado menos grave (SLEDAI=12), apresentou uma menor expressão de R-C4d (34,1% dos reticulócitos). Dessa forma, é hipotetizado que níveis de R-C4d podem refletir o *status* atual de atividade/reatividade da doença em um determinado momento. Como os reticulócitos estão presentes no sangue periférico por um período de 24-48 horas, após transformando-se em eritrócitos maduros, presume-se que a avaliação de R-C4d pode ser um biomarcador precoce de atividade do LES, portanto, um promissor parâmetro norteador da conduta médica. O andamento do presente estudo dar-se-á mediante a aplicação desta técnica otimizada para avaliar a expressão de R-C4d em um grupo de pacientes com LES, em diferentes situações clínicas. Suporte Financeiro: CNPq, FAPEMIG e CAPES.

108

Deteção do antígeno de galactomanana para o diagnóstico de aspergilose invasiva em pacientes com doenças hematológicas em Goiânia-Goiás

Leal CB^{1,2}, Paula HS², Arantes AM², Saddi VA^{1,2}¹Programa de Mestrado em Genética, Pontifícia Universidade Católica de Goiás²Laboratório de Transplante de Medula Óssea e Setor de Hematologia do Hospital Araújo Jorge, ACCG

A aspergilose invasiva é uma infecção grave e geralmente fatal em pacientes com doenças hematológicas e submetidos ao transplante de medula óssea. A frequência desta infecção ainda não é totalmente conhecida, ora por falta de notificação, ora pela inexistência de instalações adequadas ao diagnóstico sorológico. Diagnósticos e tratamentos tardios levam a baixa sobrevida destes pacientes. A detecção do antígeno de galactomanana por meio de Enzima Imunoensaio (ELISA) pode facilitar sobremaneira o diagnóstico desta doença. O principal objetivo deste estudo foi avaliar a frequência de casos positivos para o antígeno galactomanana entre pacientes com doenças hematológicas, a fim de se estabelecer a frequência de aspergilose invasiva em serviços de hematologia da cidade de Goiânia, Goiás. O teste foi realizado em 496 espécimes provenientes de 121 pacientes. As amostras de sangue total foram coletadas de novembro de 2012 a junho de 2013. Após a coleta de sangue periférico as amostras foram analisadas no laboratório de Transplante de Medula Óssea, ACCG. Para a detecção do antígeno galactomanana foi utilizado um teste de ELISA (Platelia® *Aspergillus*, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). O antígeno de galactomanana foi detectado em pelo menos uma amostra de 22 (18.2%) pacientes. Apenas quatro pacientes tiveram três ou mais amostras positivas. Dos 121 pacientes avaliados, 34 (28.1%) foram submetidos ao transplante de medula óssea, 77(63.3%) estavam

neutropênicos por pelo menos sete dias e alterações em TC de tórax foram relatadas em 56 pacientes (46.3%). Uma associação estatisticamente significativa foi encontrada entre neutropenia e a presença do antígeno de galactomanana nas amostras analisadas ($p=0.050$). Nenhum outro parâmetro clínico avaliado esteve associado significativamente à presença do antígeno de galactomanana. Dentre os parâmetros estudados incluem-se o uso de antibióticos, drogas imunossupressoras, história de transplantes, uso prolongado de corticoides, infecção por HIV e alteração sugestiva de aspergilose em TC de tórax. A prevalência de aspergilose invasiva relatada em diferentes populações varia em taxas de 5 a 20%. Os resultados deste estudo mostraram uma frequência de 18.2% para detecção do antígeno de galactomanana em pelo menos uma amostra. Dentre os critérios para diagnóstico de aspergilose invasiva, a detecção de galactomanana deve ser positiva em três amostras seriadas. De acordo com esta norma, nossos resultados de frequência de aspergilose invasiva são menores que 4%. Esta baixa frequência se deve ao fato de que após a primeira detecção de galactomanana, em grande parte dos casos, inicia-se o tratamento ou novas amostras não são enviadas para confirmação do resultado. Este estudo confirmou a hipótese de que pacientes neutropênicos estão mais susceptíveis à infecção por aspergilose ($p=0.05$). Nossos resultados demonstram que a detecção de galactomanana é um método bastante útil no diagnóstico de aspergilose invasiva em pacientes com doenças hematológicas. Entretanto, a falta de amostras seriadas e o tratamento após a primeira detecção não permitem um conhecimento exato da frequência de aspergilose invasiva em serviços de hematologia de Goiânia, Goiás.

109

Glutathione s-transferase P1 A313G mutation is associated with increased risk of anemia in severe p. vivax patients- Manaus, Brazil

Lima BL¹, Mathias JL¹, Lacerda MV², Nogueira PA³, Goncalves MS⁴, Lalwan P¹, Lima ES¹, Neto JP¹¹Universidade Federal do Amazonas – UFAM²Fundação de Medicina Tropical FMT/AM³Instituto Leônidas e Maria Deane – Fiocruz/AM⁴Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz – Fiocruz/BA

Plasmodium vivax threatens ~40% of the world's population, with a wide spectrum of asymptomatic to severe clinical manifestations. Glutathione S-transferase (GST) gene polymorphisms have been shown to influence their ability to reduce oxidative stress. Using molecular tools we identified and compared GSTM1, GSTT1 and GSTP1 gene polymorphism in uncomplicated and severe vivax patients. There were no differences in the frequency of GST alleles between uncomplicated and severe malaria. Nevertheless, a comparison of biochemical and hematological parameters in severe malaria, we observed patients with GSTM1 double-deletion had more platelets ($p<0.04$) suggesting a decreased risk of thrombocytopenia. In addition, patients with single and/or double deletion of GSTT1 and GSTM1 also had a reduced risk for thrombocytopenia ($p<0.045$, $p<0.026$, respectively) compared to wild type allele. In contrast, individuals with GSTP1 heterozygous or homozygous A313G mutation had an increased risk of jaundice ($p<0.034$, $p<0.022$) and anemia as observed with decreased RBCs ($p<0.008$), hemoglobin ($p<0.019$) and hematocrit ($p<0.008$) levels in serum. Our results, not only indicate a direct influence of GST polymorphism on biochemical and hematological parameters but also its diagnostic potential in assessing disease progression during clinical malaria.

110

Doença de Castleman em mulher adultaSilva AC¹, Azevedo A¹, Costa W¹, Zapata JM¹, Camilo C¹, Rodrigues E¹, Mota RB¹¹SES-DF Hospital Regional de Taguatinga

A doença de Castleman é uma patologia linfoproliferativa rara caracterizada pelo aumento hiperplásico do linfonodo. Estima-se que o número de casos nos Estados Unidos varia de 30.000 a 100.000. Ocorre ainda sem predileção raça e pode surgir em qualquer idade. Verifica-se um pico de incidência entre os 10-40 anos. Quanto a sua localização, segundo Keller, Liselotte e Castleman (1972, p.671) aproximadamente 70% dos casos de DC ocorrem no tórax, 10-15% no pescoço e 10-15% no abdômen, retroperitônio e na pelve. Clinicamente, apresenta-se sob duas formas, a unicêntrica, limitada e de curso benigno e a multicêntrica, difusa e com curso menos favorável. Várias classificações foram propostas para a doença. A mais utilizadas é a de Keller (1972); que considera duas formas, a variante vascular hialina (VVH) e a variante de células plasmáticas (VCP) ou plasmocitárias. Apresenta características histológicas bem definidas, apesar da etiopatogenia ainda ser controversa. A base etiopatogênica da DC parece ser uma alteração na regulação imunológica, que produziria um aumento nas concentrações de interleucina-6 (IL-6) como resposta a um estímulo viral ou endógeno, causando a superprodução e proliferação de células plasmáticas e linfócitos nos nódulos linfáticos. Estudos demonstram a associação desta patologia com várias doenças, como o Sarcoma de Kaposi, síndrome de POEMS, linfoma, pênfigo paraneoplásico e infecções virais pelo herpes vírus humano-8 e o HIV. O tratamento da doença de Castleman ainda é controverso e baseia-se na terapia padrão para doenças linfoproliferativas, incluindo a excisão cirúrgica, quimioterapia e terapia com radiação citorrredutora. O uso de corticosteróides pode melhorar rapidamente os sintomas, parcialmente a linfadenopatia e corrigir algumas alterações laboratoriais, porém, de modo temporário. Raramente os corticosteróides são administrados como agentes únicos para aliviar os sintomas antes de prosseguir com a quimioterapia mais agressiva devido a curta duração da remissão induzida por eles. Outra abordagem terapêutica atualmente utilizada é o rituximab, que consiste em um anticorpo monoclonal contra o CD20 nas células B, promovendo a depleção dessas células (MARCELIN et al, 2003). Respostas duradouras foram obtidas com rituximab usado como um agente único ou em combinação com quimioterapia citotóxica. O conhecimento e a suspeita clínica precoce são indispensáveis para permitir o tratamento oportuno e evitar complicações da doença. O presente estudo tem como objetivo realizar uma revisão de literatura sobre a doença de Castleman e relatar um caso de uma paciente do sexo feminino de 37 anos, atendida no Hospital Regional de Taguatinga com história de náuseas e vômitos pós-alimentares há 08 meses, acompanhados de febre de 38 °C. Apresentava adenomegalias cervicais, axilares e inguinais, móveis, indolores. Realizado estudo histológico e imunohistoquímica de linfonodo axilarque mostrou fenótipo normal, CD20+, CD79+, CD10+, CD21+, Bcl2+ nas células T, CD30+ na área paracortical - hiperplasia linfóide atípica com expansão paracortical e eosinofilia, sugestivo de Doença de Castleman, contudo os estudos virais (HVV-8) foram negativos. Recebeu tratamento com anticorpo anti CD20 (rituximab), porém evoluiu com complicações infecciosas e óbito.

111

G6PD A- 202A/376G mutation: molecular characterization in p. vivax patients from Manaus, BrazilMathias JL¹, Almeida AC^{1,2}, Lacerda MV², Nogueira PA³, Goncalves MS⁴, Neto JP¹¹Universidade Federal do Amazonas – UFAM²Fundação de Medicina Tropical FMT/AM³Instituto Leônidas e Maria Deane – Fiocruz/AM⁴Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz – Fiocruz/BA

Plasmodium vivax (P. vivax) for a long time was erroneously considered benign and threatens 40% of the world's population, with a wide spectrum of asymptomatic to severe clinical manifestations. Several studies have suggested that the deficiency of glucose-6 phosphate dehydrogenase (G6PD) has a protective effect against P. falciparum, however, there are few studies related to P. vivax. Using molecular tools, a total of 162 patients was screened for 202A/376G (A-) and 1003A (Chatham) mutations in patients from Manaus-Amazon. Of male presented 15.85% (13/82) for A- and 6.10% (05/82) Chatham variants, while 11.25% (09/80) of female presented A- in heterozygous and 1.25% (1/80) in homozygous. Male with G6PD A- demonstrated a higher frequency of severe malaria (OR=2.01, 95% CI: 1.23-3.31, p=0.020) and strongly associated with previous malaria episodes (OR=2.35, 95% CI: 1.58-2.52, p=0.004), while heterozygous female were statistically not significant. When compared with G6PD wild type (WT), male patients A- presented high platelet number (p=0.009), increased lactate dehydrogenase (p<0.001) and level of direct bilirubin (p=0.045), while decreased in Gamma-Glutamyl transpeptidase (p=0.035). Both gender presented decreased in number of erythrocytes (p=0.002) (p=0.015), amount of hemoglobin (p=0.017) (p=0.031) and hematocrit (p=0.013) (p=0.020), male and female, respectively. We observed decreased hemoglobin (p=0.018), hematocrit (p=0.014), platelets (p=0.003), reticulocyte count (p<0.001) and glucose level (p=0.031) among male patients in severe malaria with G6PD A- compared to severe malaria patients with wild type allele. In contrast, we did not observe any significant differences in uncomplicated malaria patients with same analysis. In summary, few G6PD mutations studies were performed from Amazonian communities. Additional G6PD deficiency surveys in both these areas of high P. vivax endemicity would be valuable, particularly focused in areas of high population density. Additional G6PD deficiency surveys in both these areas of high P. vivax endemicity would be valuable, particularly focused in areas of high population density. We consider relevant performed the molecular diagnosis in all patients who are diagnosed with malaria the 202A and 376G mutations, since, can developed severe hemolytic anemia and hyperbilirubinemia, which can worsen your clinical condition and cause death. Our results, not only indicate a direct influence of G6PD genotypes on biochemical and hematological parameters but also its diagnostic potential in assessing disease progression during clinical malaria.

112

Caracterização molecular da desidrogenase da glicose 6-fosfato e hemoglobinopatias em pacientes com malária por plasmodium vivaxMathias JL¹, Oliveira MA¹, Lacerda MV², Nogueira PA³, Goncalves MS⁴, Lima ES¹, Neto JP¹¹Universidade Federal do Amazonas – UFAM²Fundação de Medicina Tropical FMT/AM³Instituto Leônidas e Maria Deane – Fiocruz/AM⁴Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz – Fiocruz/BA

Introdução: A compreensão da doença malária tem aumentado muito nos últimos anos. Apesar de décadas de pesquisa contra a doença, esta continua a ser um dos principais problemas de saúde pública.

Um dos desafios na luta contra esta doença é avaliar suscetibilidade genética e decifrar os mecanismos envolvidos para utilizá-los como novos alvos contra a malária. **Objetivo:** Caracterizar molecularmente a Desidrogenase da Glicose 6-Fosfato (G6PD) e determinar o perfil de hemoglobinas em pacientes com Malária vivax de Manaus-AM. **Métodos:** A caracterização molecular da G6PD foi realizada pelas técnicas de RFLP-PCR e q-RT-PCR em 162 pacientes. O perfil de hemoglobinas por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) em 178 pacientes. Os achados clínicos, hematológicos e bioquímicos foram associados com as hemoglobinas variantes e as mutações para a G6PD na tentativa de identificar possíveis biomarcadores de gravidade clínica da malária vivax. **Resultados:** O perfil de hemoglobina apresentou 106 AA (92,7%), 09 AS (5,05%) e 04 AC (2,25%). Malária grave acometeu 25% em AC e 44,4% em AS. Diminuição significativa dos valores de Neutrófilos ($p=0,019$); VCM ($p=0,004$) e HCM ($p=0,008$) e aumento de Bastonetes ($p=0,049$) e Eosinófilos ($p=0,046$), ocorreram apenas nos pacientes AC. RDW apresentou elevado em ambos, AS ($p=0,039$) e AC ($p=0,019$) quando comparados AA. A parasitemia febril foi o evento clínico mais frequente 92,30% nos pacientes AS/AC. A densidade parasitária foi menor nos AS ($9.352,4 \pm 11.622,8$) e AC ($11.604,8 \pm 11.931,9$), quando comparado com AA ($32.431,6 \pm 88.719,6$), porém, sem significância estatística ($p=0,854$). O estudo molecular para G6PD demonstrou 15,85% (13/82) para as mutações 202A/376G (A-) concomitantemente nos homens e pela primeira vez descrita na Região Amazônica, a mutação 1003A (Chatham) em 6,10% (05/82), enquanto nas mulheres 11,25% (09/80) heterozigostas e 1,25% (1/80) homozigostas para a A-. Homens A- demonstraram associação significativa para malária grave (RR=2,01, $p=0,020$) e episódios anteriores de malária (RR=2,35, $p=0,004$), aumento de plaquetas ($p=0,009$), lactato desidrogenase ($p<0,001$) e bilirrubina direta ($p=0,045$) e diminuição da gama-glutamil transferase ($p=0,035$). Ambos os gêneros, homens e mulheres, apresentaram diminuição das hemácias ($p=0,002$) ($p=0,015$), hemoglobina ($p=0,017$) ($p=0,031$) e hematócrito ($p=0,013$) ($p=0,020$), respectivamente. Foi demonstrado decréscimos significativos para hemoglobina ($p=0,018$), hematócrito ($p=0,014$), plaquetas ($p=0,003$), reticulócitos ($p<0,001$) e glicose ($p=0,031$) entre homens A- com malária grave quando comparado com homens normais para G6PD com malária grave. **Conclusão:** Acreditamos que com o aumento do número de participantes para o estudo do perfil de hemoglobina, conseguiremos aprofundar o conhecimento de como os seres humanos se adaptaram a esta terrível doença, enfatizando algumas hipóteses importantes para fornecer caminhos que levem a uma solução duradoura e até permanente para a Malária. Além disso, poucos estudos das mutações para G6PD foram realizados em comunidades amazônicas. Outras pesquisas sobre a deficiência de G6PD em áreas de alta endemicidade para *P. vivax* seria valioso, especialmente focado em áreas de alta densidade populacional.

113

Estudo de fenótipos celulares em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico em tratamento, sob controle ou em recidiva

Loures CM¹, Ferreira KS¹, Silva MV¹, Santos LI², Guimarães TM¹, Consoli RV³, Neiva CL³, Dias AF³, Toledo VP¹, Carvalho MD¹

¹Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFMG

²Departamento de Bioquímica e Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG

³Serviço de Reumatologia da Santa Casa de Belo Horizonte – Minas Gerais

O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) é uma doença autoimune de etiologia desconhecida e que apresenta um amplo espectro de manifestações clínicas. É caracterizada por uma resposta imune direcionada contra antígenos nucleares e pelo depósito de imunocomplexos

em órgãos causando uma resposta inflamatória e dano tecidual. A produção de autoanticorpos e a falha nos mecanismos de tolerância realizada por células T são os fatores de patogênese nos indivíduos geneticamente predispostos. O LES apresenta grande variabilidade de prevalência, gravidade e desfecho entre as populações no mundo. Na população brasileira, raros estudos foram conduzidos para conhecer a frequência dos fenótipos celulares dos pacientes com LES. Nosso estudo tem como objetivo caracterizar fenotipicamente, por citometria de fluxo, células T helper, T reguladoras, B e NK do sangue periférico de pacientes com LES em tratamento, sob controle ou em recidiva da doença. Foram recrutados 4 indivíduos saudáveis como controle e 21 pacientes da Santa Casa de Belo Horizonte, portadores de LES, distribuídos em dois grupos de acordo com os valores obtidos pela aplicação do índice SLEDAI (*Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*). Pacientes em tratamento com SLEDAI ≤ 4 foram classificados como portadores da forma inativa do lúpus (LES-I, $n=14$), e aqueles com SLEDAI ≥ 6 como portadores da forma ativa do lúpus (LES-A, $n=7$). Células mononucleares, obtidas de sangue periférico em EDTA, foram marcadas com diversos anticorpos segundo protocolo estabelecido previamente. Em seguida, estas foram adquiridas em citômetro de fluxo (LSR-Fortessa) e analisadas por meio do software Flow Jo. Foram estudados os seguintes fenótipos linfocitários expressos em percentual (%): CD19⁺CD3⁺CD16⁺, CD3⁺CD56⁺, CD3⁺CD56⁺CD56^{dim}, CD3⁺CD56^{bright}, CD3⁺CD8⁺, CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD4⁺HLA-DR⁺ e CD3⁺CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺. Os resultados obtidos preliminarmente, analisados utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis, indicam que houve diferença apenas no fenótipo CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺ ($p<0,035$), porém para os demais fenótipos não foram observadas diferenças entre os grupos controle, LES-A e LES-I. Utilizando o teste de Mann-Whitney para o fenótipo CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺ foi observada diferença significativa entre os grupos controle e LES-A (1,25 versus 3,97; $p=0,006$) e entre o controle e o LES-I (1,25 versus 4,19; $p=0,043$), enquanto entre os grupos LES-A e LES-I não foi observada diferença significativa (3,97 versus 4,19; $p=0,785$). Com o andamento deste estudo, novos dados serão obtidos, os quais poderão contribuir para o delineamento de diferentes perfis para pacientes em tratamento, sob controle ou em recidiva da doença, o que poderá impactar favoravelmente na conduta clínica.

114

Aplasia medular secundária a leishmaniose visceral: relato de caso

Borges KO¹, Fortes MF¹, Lacerda D², Amorin SV², Resende WJ³, Hummes CA¹, Quiroga M¹

¹Hospital Regional do Baixo Amazonas do Oeste do Pará

²UEPA

³RESGATE

A Leishmaniose Visceral é uma protozoose endêmica no Velho e no Novo Mundo. Na América, o Brasil é responsável por 90% dos casos. É considerada pela OMS uma das seis endemias de grande prioridade. A leishmaniose visceral possui vários espectros de apresentação clínica, desde formas assintomáticas e oligossintomáticas até formas graves que culminam em óbito. A leishmaniose visceral clássica se manifesta por febre, hepatoesplenomegalia, pancitopenia periférica, emagrecimento, tosse seca e hipergamaglobulinemia. O rápido diagnóstico e a intervenção terapêutica é primordial, pois, caso não haja intervenção precoce ou se ela for inadequada, esta patologia pode cursar com mortalidade de 90% aproximadamente. Este trabalho se objetiva relatar a evolução clínico-laboratorial e terapêutica de um paciente com leishmaniose visceral que apresentou em concomitância anemia aplásica. Foram realizadas visitas e análise do prontuário do paciente, em seguida, confronto com a literatura com os aspectos clínico-laboratoriais e terapêuticos coletados. O paciente, ao longo dos meses, apresentou queda do estágio geral

associado a um quadro de febre e esplenomegalia, que culminou ao longo de sua evolução com uma aplasia medular associado à pancitopenia. Desenvolveu um quadro de pneumonia na internação, e foi tratado imediatamente com antibioticoterapia empírica. Foi diagnosticado por sorologia, e tratado com antimônio pentavalente, apresentando excelente evolução e alta hospitalar.

115

Diagnóstico da doença de Gaucher tipo I em gestante

Velano CE¹, Rabelo IB¹, Silva DC¹, Barros AT¹, Nogueira AL¹, Bernardino AF¹, Teixeira AS¹, Santos KD¹

¹Universidade José do Rosário Velano - UNIFENAS

Introdução: Doença de Gaucher é um Erro Inato do Metabolismo incluído nas doenças lisossômicas de depósito. Trata-se de uma doença autossômica recessiva, com deficiência da enzima beta-glucosidase, caracterizada pelo acúmulo de glucocerebrósidos nos macrófagos na medula óssea, fígado e baço, gerando as chamadas células de Gaucher, características da doença. As principais manifestações clínicas são hepatoesplenomegalia, alterações hematológicas e lesões ósseas. É classificada em três subtipos, sendo os subtipos II e III mais raros, com comprometimento do Sistema Nervoso Central (SNC). **Relato de Caso:** F.A.S.X, 29 anos, leucoderma, procedente de Poços de Caldas, gestante de 12 semanas foi encaminhada ao hematologista para investigar trombocitopenia iniciada há 2 anos. Relatava epistaxe e astenia associadas. Ao exame físico, mostrava-se hipocorada, com presença de hepatoesplenomegalia vultuosa (confirmadas pela ultrassonografia de abdome). Contagem de Plaquetas de 8600/mm³. Excluídas demais etiologias de trombocitopenia, foi realizado mielograma que mostrou presença de células em casca de cebola (Células de Gaucher), sendo o diagnóstico confirmado através de teste da atividade enzimática, com 30 semanas de gestação. Conta que desde criança apresentava sinais inespecíficos de sangramento, cansaço e baixo rendimento escolar, porém sem diagnóstico. Foi submetida a cesárea sem intercorrências, sendo indicado o tratamento com reposição enzimática específica (Imiglucerase) após o período de puerpério. **Discussão e Conclusão:** A Doença de Gaucher tipo I ou não-neuropática é a forma mais comum e compatível com maior sobrevida, portanto, mais encontrada em adultos. Sintomas inespecíficos dificultam a suspeita clínica e o acompanhamento de pré-natal, como no caso supracitado, pode contribuir para o diagnóstico através dos exames complementares de rotina. A reposição enzimática mostrou benefícios e melhora clínica da doença para as formas clínicas do tipo I e III, sendo a imiglucerase incluída na lista de medicamentos excepcionais do SUS pelo Ministério da Saúde.

116

A contagem diferencial de glóbulos reprodutível sem citômetro ou marcadores específicos como alternativa para uma contagem manual

Hosken B¹, Bitencourt R¹, Tozetti PB¹, Neto EP¹, Falqueto T¹, Andrade TU¹, Endringer DC¹, Lenz D¹

¹Universidade Vila Velha

Introdução: A contagem de glóbulos diferencial (DBCC) representa uma parte substancial na rotina clínica diária. Uma DBCC é conduzida manualmente ou usando técnicas de citometria e marcadores fluorescentes específicos. Citometria é de custo elevado. Uma contagem de células manual é tediosa, demorada e não é reproduzível. **Objetivo:** realizar um sistema automatizado de análise de alto rendimento de imagens de microscopia de luz de leucócitos com coloração inespecífica (hematoxilina-eosina, HE) e uma posterior classificação dos subgrupos (linfócitos, monócitos e neutrófilos). Metodologia:

Amostras de sangue periférico coradas das com HE e analisadas em microscópio óptico(MO). Outra alíquota foi utilizada para a contagem de leucócitos, numa câmara de Neubauer e uma outra foi enviada a um laboratório de análises clínicas. Feitas 300 imagens, utilizando um MO e uma câmera digital e armazenadas em HD. Foi utilizada para a análise de imagem, o software livre Cellprofiler (CP) 2.0. Primeiro a análise foi realizada por contagem diferencial de leucócitos. A janela principal do CP permite ao usuário programar os pipelines (módulos) que serão de interesse para pesquisa. Cada conduta executa uma tarefa específica na imagem. Os módulos a seguir foram utilizados para o programa de análise: O arquivo de dados gerados durante a análise fornece dados morfológicos e intensidade para cada objeto identificado. Posteriormente, as amostras foram avaliadas estatisticamente. Dentro do arquivo excel fornecida pelo CP, cada linha representa um objeto identificado. Cada coluna representa um parâmetro de quantificação. Um citologista experiente e descreveu cada tipo de células (linfócitos, monócitos, neutrófilos) com base nas imagens dos objetos identificados e a imagem original. Neste ponto, foram excluídos os artefatos não celulares. Após identificação das células, o software Tanagra foi usado para encontrar os seus parâmetros, com os quais uma previsão das células de origens mais eficaz e preciso. Usando os parâmetros encontrados, gráficos foram feitos. Os melhores parâmetros e intervalos para cada tipo de célula de três amostras e uma média foram obtidos para estes parâmetros. Um filtro foi criado utilizando esta média, este filtro foi feito no programa Java SE. **Resultados:** Durante a análise das imagens de cor CP foram convertidos em tons de cinza e as intensidades foram invertidas, resultando em objetos brilhantes e fundo escuro. Subsequentemente, os objetos de interesse (leucócitos) foram identificados CP. Para cada identificação, parâmetros morfológicos e intensidade foram quantificados. Para a análise de imagem, foi utilizado o CP. A posterior classificação dos subtipos de leucócitos foi realizada utilizando o software Tanagra. Contagem de leucócitos por volume foi realizada por análise de imagem das amostras numa câmara de Neubauer. **Conclusão:** Todos os resultados foram comparados com os dos laboratórios hematológicos. Houve uma grande similaridade entre os resultados obtidos por ambos os métodos, $R \approx 0,95$ para a contagem diferencial, e $r2 = 0,89$ para a contagem total. Pode-se concluir que o DBCC usando MO, de corante não específico e análise de imagem avançada é precisa, reprodutível e menos dispendiosa quando comparada com outras técnicas. Os resultados mostraram uma forte correlação quando comparado aos métodos tradicionais.

117

Síndrome do X frágil: análise hematológica, fonoaudiológica e molecular

Silva CM¹, Vitoriano AC¹, Fujita CR¹, Neto FG¹, Silva MC¹, Oliveira ML¹

¹Fujisan Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará

A Síndrome do "X"Frágil (SXF) é caracterizada pela deficiência mental herdada em seres humanos, o comprometimento intelectual esta ligado ao sexo com o achado de um cromossomo dominante. Afeta cerca de um em 4000 nascidos vivos, é uma das etiologias genéticas mais frequentes de danos mentais, precedida apenas pela trissomia do cromossomo 21. A temática do presente trabalho surgiu da observação de uma paciente, atendida no FujidayClinic por especialistas em hematologia e hemoterapia. O objetivo do presente trabalho é expor a importância do atendimento multidisciplinar e a busca do tratamento ideal para o paciente. O presente estudo é um relato de caso de uma mulher, que foi encaminhada pelo seu médico psiquiatra para acompanhamento médico na área de hematologia, devido ao uso de psicotrópicos. A paciente chegou ao consultório da médica hematologista acompanhada da sua mãe aos 24 anos com o diagnóstico de bipolaridade em maio de 2000, durante o atendimento foi relatado dificuldade de memória, depressão sem

tendência suicida, descamação de pés e mãos e olhos amarelados. Alguns exames foram realizados e tiveram os seguintes resultados: hemoglobina e hematócrito normais, plaquetas 120.0000, leucócitos 4.630, neutropenia e função hepática normal, foi realizada sorologia para detecção de anticorpos específicos contra infecção pelo vírus do dengue, e os resultados foram: positivo para IgM e negativo para IgG. A paciente foi acompanhada até dezembro de 2004, realizando hemogramas mensais e todos com resultados normais, durante a realização das consultas foi observado algumas características físicas como: olheiras, face alongada e lábios entreabertos, porém o que chamou a atenção foi a restrição da fala espontânea e a fala dirigida em alguns momentos sendo ininteligíveis. Em janeiro de 2006 a paciente retornou ao consultório com queixa de equimose não traumática e sangramento gengival, foi realizado hemograma e tempo de sangria e os resultados foram normais, sumário de urina, reticulose e função hepática normais, porém o exame de agregação plaquetária com os seguintes resultados: colágeno 66%, epinefrina 70%, ADP 68% e ristocetina 47%. A paciente foi encaminhada para avaliação fonoaudiológica e os resultados foram os seguintes: discreta assimetria facial, olheiras, face longa, lábios entreabertos em repouso e durante a mastigação, hipofuncionalidade das bochechas, língua hipotônica, alargada e com marcas laterais, palato duro ogival e palato mole com boa mobilidade, dentição apinhada e discreta mordida aberta anterior. As alterações de comunicação, devido a dificuldade de organização de pensamento, fazem com que ela se mantenha sempre calada, a sua fala é rápida e apresenta desvio fonético-fonológico e déficit de memória. As alterações encontradas na avaliação fonoaudiológica correspondem a alterações presentes em portadores da SXF, teve base no histórico familiar onde a genitora afirmou ser portadora da síndrome do X Frágil, isso fez com que fosse realizada na paciente em estudo a pesquisa de cromossomo X Frágil, realizada por PCR, utilizando DNA extraído de células do sangue colhido em EDTA, sendo necessário de 4 ml de sangue para o estudo. Concluímos que as características clínicas, assim como as alterações comportamentais e fonoaudiológicas, fornecem subsídios para garantir boa qualidade de vida dos nossos pacientes, ofertando a inclusão social e o bem estar familiar.

118

Classificação fenotípica de células pelos programas livres Cell Profiler e Cell Profiler Analyst baseadas nas análises com programa pago feito por Hamilton 2007

Hosken B¹, Bitencourt R¹, Moscon L¹, Cordeiro SG¹, Hamilton NA², Lenz D¹

¹Universidade Vila Velha

²University of Queensland

Introdução: Foi proposto um software livre para análise de imagem, CellProfiler (CP). Este programa é capaz de realizar análise de imagem reprodutível, de alto rendimento e definido pelo usuário. Além disso e de fácil manuseio. O CP tem sido amplamente utilizado para estudos biológicos. Em 2008, um novo software livre, CellProfilerAnalyst (CPA), foi liberado. Supõe-se para analisar as análises feitas anteriormente com CP. CPA está equipada com um classificador, entre outros, isto é, utilizando os dois programas livres, para uma classificação diagnóstica celular. Hamilton em 2007 já desenvolveu algoritmos para identificar e classificar diferentes proteínas celulares usando um software de alto custo e ou software que tinha de ser programado por especialistas de tecnologia de informação. Considerando que o nosso grupo produziram provas recentemente, que CP produz resultados comparáveis àqueles de software comercialmente disponível. Portanto, o nosso grupo poderia fazer a classificação de proteínas no trabalho citado usando os softwares livres CP e CPA. O objetivo do estudo era, portanto, comparar os resultados de Hamilton com os do nosso grupo sendo os resultados pelo menos comparáveis, a vantagem de CP e CPA seria óbvio. **Métodos:** Foi utilizado um software

gratuito CP e CPA versões CP r 1.710 r 11.710 CPA. As imagens analisadas para o presente estudo foram feitas e analisadas anteriormente por Hamilton e cedidas pelo mesmo. Para cada proteína de uma análise separada foi realizada. No entanto, exceto para o Golgi, o mesmo algoritmo foi utilizado ao longo de todas as análises. Durante cada análise um arquivo de dados foi criado automaticamente pelo software. Os dois arquivos foram fundidos (por exemplo, núcleo e Golgi, Retículo Endoplasmático e citoplasma). Exportar-se os arquivos mesclados para a análise posterior com CPA que classifica as duas classes de uma só vez. O progresso da aprendizagem de máquina pode ser verificado com o "progress check". Após a criação de um conjunto de treinamento de pelo menos 50 células por classe, o usuário ordenou o programa exibir 100 células de cada classe. Com os falsos positivo e negativo, foram calculados a sensibilidade e especificidade. **Resultados:** O presente estudo teve como objetivo comparar os resultados de Hamilton com os de nosso trabalho. Hamilton produziu uma elevada sensibilidade e especificidade. Diferente de Hamilton, um software livre foi utilizado para a análise e classificação de imagem. O software foi utilizado por biólogos, sem conhecimento profundo em informática. Usando CP analisamos as mesmas imagens fornecidas por Hamilton. As proteínas foram identificadas e classificadas com êxito. A diferenciação e análise estatística subsequente foram realizadas com CPA. O programa de treinamento tem alcançado resultados significativos, com sensibilidade e especificidade média de 0,9802 média 0,9741. **Discussão:** Usando CP e software livre versátil, analisamos as mesmas imagens fornecidas por Hamilton. As proteínas foram identificadas e classificadas com êxito. O programa teve resultados com sensibilidade média de 0,9802 e especificidade média de 0,9741. Software utilizado nesta pesquisa é gratuito. Provavelmente o computador nunca será uma ferramenta para diagnosticar, mas é um bom método para confirmar o diagnóstico de um patologista.

119

LES na infância com citopenia refratária: relato de caso

Braga RG¹, Martins JL¹, Assis CL¹, Manicoba PE¹, Cassiano VC¹, Campos TA¹, Dantas IG¹, Moraes CG¹, Nunes JC¹, Sena E²

¹Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba

²Universidade Federal da Paraíba

Introdução: O lúpus eritematoso sistêmico juvenil (LESj) é uma doença inflamatória crônica, multissistêmica, de natureza autoimune, caracterizada pela presença de diversos auto anticorpos. Evolui com manifestações clínicas polimórficas, e as alterações hematológicas são frequentes, sendo utilizadas como critério de diagnóstico. O desenvolvimento da doença está ligado à predisposição genética e fatores ambientais. É uma doença muito rara na infância, incidindo, mais frequentemente, em mulheres jovens. Para o diagnóstico de LES utilizam-se os critérios de classificação propostos pelo American College of Rheumatology. O tratamento é feito com corticosteroides, imunossupressão, uso de anticorpos monoclonais anti CD 20 e até transplante de medula óssea, reservados aos casos refratários. **Objetivo:** o objetivo do presente trabalho é relatar um caso clínico de LES na infância com pancitopenia auto-imune altamente refratária. **Relato de Caso:** JKAD, masculino, 2 anos e 9 meses, caucasóide, encaminhado por anemia grave de instalação abrupta, úlceras orais e otites e pneumonias de repetição. Ao exame apresentava estado geral regular, palidez acentuada, taquipneia, hipoatividade, ictérico, esplenomegalia e ausência de linfonodomegalia. O sangue periférico apresentou Hb de 3.6 g/dl, VCM=106 fL, leucometria de 700/mm³ com 15% de segmentados e plaquetas de 2.000/mm³. Contagem de reticulócitos 13%, bilirrubina total 4 g/dL, com 3.1g/dl de Bb indireta, DHL 1340 UI, teste da Antiglobulina positivo. FAN positivo 1:640 padrão nuclear pontilhado fino e anti Sm positivo. A biópsia de medula óssea revelou

hiperplasia da série eritróide, ausência de fibrose e elementos estranhos à medula. O estudo citogenético da MO evidenciou em 25 metáfases composição cromossômica compatível com sexo masculino, sem anormalidades. A HPLC de hemoglobina evidenciou padrão AA, sem aumento de hemoglobina fetal. O conjunto de achados remeteu para a classificação fisiopatológica de anemia hemolítica auto-imune, e as alterações das demais séries em sangue periférico com celularidade aumentada na MO, associado aos demais achados, preencheram critérios clínicos e laboratoriais para diagnóstico de LES juvenil com pancitopenia. Foi instituído tratamento com metilprednisolona, imunoglobulinas e manutenção com prednisona 2mg/kg, associado a azatioprina e apenas melhora transitória com recaídas por 5 internamentos. Foi então instituída terapia com rituximabe 370mg/m². Atualmente apresenta-se em desmame completo da prednisona e uso de ácido fólico, mantendo-se sem queixas clínicas. **Conclusão:** A pancitopenia refratária em crianças com LES é uma condição rara, sendo, portanto, necessários relatos de casos para descrição de aspectos clínicos relacionados à terapêutica, em função do componente hemolítico e neutropênico oferecerem risco elevado de morbimortalidade e poucos trabalhos utilizando-se da terapia biológica com anti CD 20 como alternativa terapêutica na em casos de refratariedade.

120

Doença de Rosai-Dorfman em associação à síndrome de anticorpo antifosfolípideo (SAF)

Assis RA¹, Rodrigues M¹, Helman R¹, Santos FP¹, Perini GF¹, Hyppolito JE¹, Menezes Y², Hamerschlag N¹

¹Departamento de Hematologia do Hospital Israelita Albert Einstein

²CICAP - Centro de Imuno-Histoquímica, Citopatologia e Anatomia Patológica

Introdução: A doença de Rosai-Dorfman é uma doença rara e benigna, caracterizada pela proliferação de histiócitos em linfonodos ou sítios extras nodais (até 43% dos casos). Sua etiologia ainda não foi completamente elucidada, mas aventa-se a possibilidade de infecção prévia pelos vírus Epstein Barr e Herpes-vírus tipo 6. Acomete todas as faixas etárias, predominando em pacientes jovens e do sexo masculino. Os achados anatomopatológicos clássicos mostram dilatação dos sinus linfonodais, decorrente da proliferação de histiócitos e emperipoese, e perfil imuno-histoquímico demonstra positividade dos marcadores S-100, CD68 e negatividade para CD1a, diferenciando-os de histiocitose de Células de Langerhans. **Resumo do caso:** Relatamos o caso, de paciente jovem, branca, que se apresentou com pequenos linfonodos abdominais e enormes massa renais bilaterais, mimetizando tumor renal, associado à perda ponderal, aumento de provas inflamatórias, Coombs direto positivo (TAD) e SAF (abortamento de repetição, associado a presença de anticoagulante lúpico, anti beta2 glicoproteína 1 IgG e IgM, anticardiolipina IgG e IgM positivos). Foi submetida à laparoscopia diagnóstica, com retirada de gânglio em hilo hepático, cujo achado foi compatível com Doença de Rosai-Dorfman. Introduzida terapia com corticosteróides 2mg/kg/dia, com resposta importante já no primeiro mês de tratamento (negativação de painel sorológico de SAF e TAD, além de normalização de hemoglobina e valores de VHS). Tomografia de controle mostrou resolução completa das adenomegalias abdominais e redução de 50% do tamanho das massas renais. No momento encontra-se em redução de dose de corticóide para 1 mg/kg/dia, com boa tolerância. **Discussão:** Há relatos de doença de Rosai-Dorfman em concomitância com doenças auto-imunes como AHA e lúpus, alguns incluindo portadores de SAF, configurando a estes casos um pior prognóstico. É provável que a desregulação do sistema imune seja a responsável pela patogênese de ambas as doenças. Existem ainda, descrições de casos com depósito amilóide nos tecidos afetados bem como associado à doença esclerosante relacionada à IgG4+. As lesões da doença de Rosai-Dorfman são hipercaptantes no PET-CT e devem ser diferenciadas de linfomas

e outros tumores. Em até 50% dos casos não há necessidade de tratamento específico, com taxas de 20% de remissão espontânea. Em contrapartida, alguns casos podem ser graves o suficiente para levar a morte. O tratamento baseia-se classicamente no uso de corticosteróides (1 a 2 mg/kg/dia). Alternativamente, a combinação de Metotrexate semanal (12mg/m²/sem) e 6-Mercaptopurina (60mg/m²/d) pode ser útil. Trabalhos recentes mostraram benefício e respostas satisfatórias com uso de Rituximab (particularmente nos casos associados a outras doenças auto-imunes).

121

Doença de Niemann-Pick tipo B em adulto - relato de caso

Rilhas GP¹, Correia MC¹, Correia CW¹, Costa MF¹, Domingues AL¹, Koury J¹, Inojosa AC¹, Viana B²

¹Universidade Federal de Pernambuco

²HEMOPE

Introdução: A Doença de Niemann-Pick (DNP) é classificada nos subtipos A, B e C. Os tipos A e B consistem em um distúrbio de armazenamento dos lipídios resultante da deficiência da enzima lisossomal esfingomielinase ácida e do acúmulo subsequente de seu substrato, a esfingomielina. O tipo C consiste principalmente no transporte deficiente do colesterol. A doença do tipo B, é frequente em crianças e adultos, tratando-se de uma forma rara não neuropática. O acúmulo lisossomal de esfingomielina no cérebro, fígado, rins e pulmões foi documentado em órgãos de pacientes com DNP dos tipos A e B. Pacientes com DNP do tipo B possuem pouco ou nenhum armazenamento de lipídios em seu sistema nervoso central. Em geral, pacientes com DNP tipo A tem esfingomielinase ácida abaixo de 1% do normal em culturas de fibroblastos e linfócitos, enquanto células de pacientes com doença de Niemann-Pick tipo B tem alguma atividade residual, impedindo o desenvolvimento de sintomas neurológicos. A presença de células de Niemann-Pick na medula óssea embasa o diagnóstico. **Relato de Caso:** Os autores descrevem o caso raro de Doença de Niemann Pick tipo B em adulto. Paciente, 46 anos, sexo feminino, natural e procedente da zona rural de Pernambuco, encaminhada ao ambulatório de Hematologia do Hospital das Clínicas-UFPE em março de 2013, com queixa de anemia crônica, trazia tomografia de abdome de 2011 com linfonodos periportais aumentados de tamanho em tronco celíaco e veia porta, hepatomegalia sem fibrose periportal; endoscopia digestiva alta com esôfago normal, atrofia gástrica, pólipos hiperplásicos duodenais e pesquisa para *Helicobacter pylori* negativa. Antecedentes pessoais: tratamento empírico para tuberculose pulmonar por seis meses pela presença de nódulo em pulmão; cardiopatia por degeneração mixomatosa com insuficiência mitral e passado de esplenectomia em 1990, com o histopatológico do fígado e do baço com histiócitos lipofágicos, não revelando a presença de granulomas esquistossomóticos. Na ocasião do atendimento ambulatorial, não havia queixas de perda de peso, sudorese noturna, febre, anorexia ou prurido, porém, um quadro aparente de retardo mental. Hemograma com microcitose hipocromia, hemácias em alvo, esférócitos, neutropenia, linfócitos em números aumentados e com morfologia normal. Realizado mielograma que mostrou presença de numerosos macrófagos repletos de inclusões azuladas compatíveis com Doença de Niemann Pick. **Conclusão:** Após revisão de literatura nas bases de dados *Scielo* e *Pubmed*, identificou-se a raridade desta afecção em adultos acima de vinte anos. A percepção clínica, o diagnóstico precoce e uma boa triagem para o diagnóstico diferencial, como a esquistossomose hepato esplênica neste caso, pelos profissionais de saúde, com a realização do mielograma, evitaria erros e atrasos no diagnóstico, minimizando complicações cardíacas e hepáticas tardias muitas vezes letais ao paciente.

122

Imunização de camundongos deficientes de FVIII utilizando PDFVIII e rFVIII

Silveira AC¹, Ribeiro IG², Chaves DG², Filho OA¹¹Centro de Pesquisas René Rachou - FIOCRUZ/MG²Fundação Hemominas

Introdução: A Hemofilia A (HA) é uma coagulopatia com transmissão hereditária resultante da deficiência ou defeito do fator VIII (FVIII). O tratamento da HA requer infusões de concentrados de FVIII derivado de plasma humano (pdFVIII) ou FVIII recombinante (rFVIII). Durante o tratamento, o FVIII infundido pode desencadear uma resposta imune humoral que induz a produção de anticorpos policlonais (inibidores) por células B estimuladas por células T CD4+. Atualmente não existe terapêutica eficiente na eliminação da atividade inibitória desses anticorpos, nem terapia que suprima a resposta imune que desencadeia sua produção. Adicionalmente, não se sabe por que somente alguns pacientes desenvolvem uma resposta imune contra o FVIII exógeno produzindo aloanticorpos. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi acompanhar os parâmetros imunológicos após imunização de camundongos deficientes de FVIII (Hemophilic A - FVIII-KO) utilizando pdFVIII e rFVIII. **Métodos:** Camundongos FVIII-KO foram divididos em 4 grupos de 5 animais cada, sendo: grupo controle não imunizado (GC), grupo controle negativo (GN), grupo pdFVIII (GpdFVIII) e grupo rFVIII (GrFVIII). Os animais foram imunizados com 3 doses intravenosas na base da cauda, com intervalo de 7 dias entre cada dose, utilizando 0,2 mL de tampão fosfato-salino (PBS) para o grupo GN, 0,2 mL de pdFVIII a 10 µg/mL para o grupo GpdFVIII e 0,2 mL de rFVIII a 10 µg/mL para o grupo GrFVIII. Transcorridos 30 dias após o início do protocolo de imunização, foi realizada coleta de sangue periférico via retrorbital para detecção plasmática de anticorpos anti-FVIII por ELISA (IgG total) e detecção dos títulos de inibidores por Bethesda, sendo realizada ainda excisão do baço para realização de imunofenotipagem de leucócitos no contexto ex-vivo. **Resultados:** Em relação à avaliação plasmática por ELISA, no grupo GpdFVIII ocorreu uma maior produção de anticorpos anti-FVIII quando comparado aos outros grupos. Já na detecção dos títulos de inibidores por Bethesda, o grupo GrFVIII apresentou títulos superiores de inibidores quando comparados aos demais grupos. Na avaliação ex-vivo ocorreu uma redução do percentual das subpopulações de linfócitos CD3+NK1.1+ e um aumento no percentual das subpopulações de linfócitos CD8+ e CD19+ com co-expressão de CD16+/CD32+ no grupo GpdFVIII quando comparado ao grupo GC. Não foram observadas alterações no perfil de leucócitos nos animais do grupo GrFVIII. **Conclusão:** Com base nesses achados sugere-se que os camundongos FVIII-KO foram mais eficientemente imunizados quando utilizamos infusões intravenosas de pdFVIII e que os inibidores policlonais provavelmente foram produzidos via linfócitos B ativados em um microambiente pró-inflamatório devido à ativação de células NK e linfócitos T CD8+. Os resultados corroboram com a tese de que o rFVIII é mais fortemente associado à produção de inibidores e o pdFVIII estimula a produção de inibidores e mais frequentemente de aloanticorpos não inibidores. Suporte Financeiro: FAPEMIG, Fundação HEMOMINAS e FIOCRUZ.

123

Síndrome hemofagocítica - relato de dois casos e revisão da literatura

Santos FO¹, Vaez R¹, Oliveira MM¹, Martins VL¹¹Hospital 9 de Julho

A Síndrome Hemofagocítica é uma patologia rara, caracterizada por hiperinflamação e proliferação descontrolada de linfócitos e macrófagos

secretores de citocinas. Isto resulta em disfunção imune. Usualmente é associada a um defeito genético, mas também está presente em pacientes com doenças reumatológicas, infecciosas, oncológicas e hematológicas. A patologia é rara e subdiagnosticada e para mudar esse quadro é necessário ter em mente o diagnóstico para solicitar os exames que entram nos critérios e tentar fechar o diagnóstico. Geralmente o paciente encontra-se debilitado e com outros fatores que poderiam causar o quadro clínico de febre, pancitopenia e esplenomegalia. **Objetivo:** Exemplificar casos de Síndrome Hemofagocítica em paciente grave e familiarizar com a possibilidade de diagnóstico. **Métodos:** Relato de dois casos. Caso 1: Paciente com 45 anos internado em hospital geral com quadro de pancreatite necro-hemorrágica secundária ao álcool. Inicialmente apresentava anemia e plaquetopenia, sem sinais de CIVD. Evoluiu com choque séptico refratário, pancitopenia e estava em franca progressão clínica. Foi aventada a hipótese de síndrome hemofagocítica e após confirmação do diagnóstico iniciamos terapêutica com prednisona 2mg/kg/d com resposta em 48 horas. Evoluiu com neuropatia do paciente crítico, e iniciado desmame do corticóide após 15 dias da resposta inicial. Atualmente encontra-se com resposta sustentada e em seguimento ambulatorial. Caso 2: Paciente de 63 anos, com diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico e antecedente de resposta pobre a imunossupressão com rituximab e ciclofosfamida, evoluiu com insuficiência renal crônica e internou para realização de fístula. Após o procedimento apresentou quadro de instabilidade clínica com choque séptico e piora hematológica as custas das três séries. Solicitado mielograma para avaliação de atividade lúpica e visualizado intensa atividade macrofágica e figuras de hemofagocitose. Realizado exames complementares com elevação da ferritina, febre, hipertrigliceridemia, esplenomegalia e concluindo o diagnóstico da Síndrome Hemofagocítica. Apesar de iniciar doses elevadas de imunossupressão a evolução foi desfavorável. **Conclusão:** A Síndrome Hemofagocítica pode ser primária encontrada na infância ou secundária como em doenças hematológicas principalmente ao linfoma T; doenças infecciosas como EBV, CMV, Leishmania, Aspergilose e doenças reumatológicas como LES, artrite reumatóide entre outras patologias. O diagnóstico se baseia em critérios clínicos e histopatológicos dentre os quais o mais frequentemente utilizado é a medula óssea. Além de demonstrar figuras de hemofagocitose, é necessário ter 4 de 8 critérios 1. febre 2. Esplenomegalia 3. Citopenias (em ≥2 of 3 linhaagens) 4. Hipertrigliceridemia ou hipofibrinogenemia (triglicerídeos > 265 mg/dl, fibrinogênio ≤1.5 g/dl) 5. Hemofagocitose 6. Ausência atividade cel NK 7. Ferritina ≥500/ µg/dl 8. CD25 solúvel. É importante frisar que os pacientes apresentam quadro clínico grave e sem o diagnóstico a evolução é fatal. Para mudarmos esse quadro é necessário ter em mente que pacientes graves podem evoluir com Síndrome Hemofagocítica secundária, e se adequadamente tratado mudaremos a evolução conhecida da patologia.

124

Anomalia de Pelger-Hüet – um relato de caso

Pioneer N^{1,2}, Schulz LA², Barreto MF², Galvão AC^{1,3}, Poeta J¹¹Faculdade da Serra Gaúcha²Hospital Mãe de Deus – Canoas³Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: A anomalia de Pelger-Hüet (APH) é uma alteração hematológica associada a um defeito no braço curto do cromossomo 22. A mesma caracteriza-se pela dificuldade ou incapacidade dos neutrófilos, ou mesmo eosinófilos de se lobularem. AAPH é uma desordem genética benigna, ou seja, não compromete a função imunológica dos granulócitos, apesar de suas alterações morfológicas tais como: núcleo redondo ligeiramente recurvado com cromatina densa e, praticamente, ausência de células com mais de dois lóbulos. **Relato de Caso:** I.S., feminino, 88 anos. Deu entrada ao Pronto-Atendimento do Hospital Mãe de Deus da cidade de Canoas - RS em 06.12.2012, por apresentar calcinose da ventrícula biliar sem colecistite. Foram

realizados três hemogramas, em datas diferentes e a automação utilizada para determinação dos índices hematimétricos foi do ABX Pentra-80. Dentro disso, nos três exames foram realizados esfregaços sanguíneos para análise morfológica das células. Esse processo foi determinante para a identificação da APH. Foram observados nos hemogramas: em 06.12.2012 com total de 9.900 leucócitos: 56% de bastonados e 24% de bilobulados; em 07.12.2012 com total de 9.700 leucócitos: 57% de bastonados e 25% de bilobulados; e em 13.12.2012 com total de 8.100 leucócitos: 44% de bastonados e 26% de bilobulados. Foi sugerida, a critério clínico, avaliação cromossômica. Foi realizada uma colicistectomia sem conlangiografia na paciente e após melhora, foi dada alta. **Conclusão:** No presente relato, mostramos um caso de um possível diagnóstico de anomalia de Pelger-Huet de uma senhora aos 88 anos. Com isso, ressaltamos que o diagnóstico de APH precoce é extremamente relevante, visto que, a não segmentação dos neutrófilos induz a acreditar que o paciente está em vigência de processo infeccioso agudo. Apesar de benigna, a APH apresenta características laboratoriais que, quando não interpretadas corretamente, podem influenciar no diagnóstico médico, levando ao tratamento equivocado, podendo agravar o prognóstico do paciente.

125

Achados de eosinofilia em pacientes com o diagnóstico de hepatite C na admissão no Ambulatório de Infectologia da FCMS-PUCSP/CHS

Miralhes PB¹, Lucena RV¹, Ruiz F¹, Cliquet MG¹

¹Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde da PUC-SP

As causas mais comuns de eosinofilia são relacionadas a quadro alérgicos, como rinite, asma brônquica, urticária; parasitoses, como ascaridíase, amebíase, toxocaríase; e alergia a medicamentos. Está também relacionada a doenças reumáticas e dermatológicas e como diagnóstico diferencial as doenças mieloproliferativas crônicas, doença de Hodgkin e tumores metastáticos. A eosinofilia ocorre, por definição, quando há aumento do número absoluto de eosinófilos, superando 400/mm³. É relatado ainda na literatura que pode ser observada uma eosinofilia transitória em pacientes portadores de hepatite aguda pelo vírus C, bem como em pacientes com hepatite crônica ativa. Foram analisados os hemogramas da primeira consulta nos prontuários de 98 pacientes atendidos no Ambulatório de Infectologia da Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde da PUC-SP/Conjunto Hospitalar de Sorocaba (CHS) a partir do ano de 2002. Foi considerada eosinofilia a contagem absoluta maior do que 400/mm³. Entre os 98 pacientes analisados, foram encontrados dez casos de eosinofilia (10,20%). A variação de eosinófilos nesses pacientes foi de 0 a 3266/mm³, com média de 250,8/mm³ e mediana de 155/mm³. A idade variou de 47 a 67 anos, com média de 53,4 anos e a maioria, oito do total (80%), são do gênero masculino. Em relação ao perfil hematológico, houve variação de hemoglobina de 12,6 a 17,1g/dl, com média de 15g/dl e mediana de 14,7g/dl; variação de leucócitos entre 2911 e 11300/mm³, com média de 6301,1/mm³ e mediana de 5450/mm³; variação de plaquetas de 78000 a 297000/mm³, com média de 181564,28/mm³ e mediana de 174000/mm³, sendo que esse dado foi analisado em apenas sete dos pacientes. A eosinofilia encontrada nesse grupo de 10 pacientes variou entre 423 a 3266/mm³, com média de 1028/mm³ e mediana de 726/mm³. Em relação ao genótipo do vírus desses pacientes, quatro (40%) apresentam genótipo 3A e seis (60%) apresentam genótipo 1, sendo dois do subtipo B, um do subtipo A e os três restantes não possuem o subtipo identificado. Observamos então uma expressiva frequência de pacientes com eosinofilia na amostra estudada, o que nos leva a propor que a sorologia para hepatite C seja realizada na triagem de pacientes com eosinofilia. Pretendemos avaliar a evolução destes pacientes, ou seja, o que ocorreu com o número de eosinófilos após o tratamento da hepatite C.

126

Otimização de técnica por citometria de fluxo para avaliação de produtos de ativação do complemento ligados a plaquetas como marcador de atividade do lúpus eritematoso sistêmico

Silva MV¹, Ferreira KS¹, Loures CM¹, Nunes FF², Toledo VP¹, Guimarães TM¹, Neiva CL³, Consoli RV³, Dias AF³, Carvalho MD¹

¹Universidade Federal de Minas Gerais

²Centro de Pesquisas René Rachou – Fiocruz

³Serviço de Reumatologia da Santa Casa de Belo Horizonte

Introdução: O Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) manifesta-se de forma extremamente heterogênea, levando ao desenvolvimento de uma série de complicações cardiovasculares, renais, neuropsiquiátricas, musculoesqueléticas, gastrintestinais e cutaneomucosas. As doenças cardiovasculares, em especial as trombozes (tanto venosas quanto arteriais) resultantes do *status* hipercoagulável, estão entre as principais causas de mortalidade relacionadas ao LES. Estudos recentes indicam que anormalidades na ativação do Sistema Complemento podem estar envolvidas na patogênese do LES e que produtos de ativação do complemento ligados a superfícies celulares (CB-CAP – *Cell-bound Complement Activation Products*), tais como C4d ligado a plaquetas, podem ser úteis como biomarcadores do estado de ativação da doença. Os Níveis de P-C4d podem ainda ser relacionados à maior predisposição trombótica em pacientes com LES, tornando este biomarcador de interesse ainda maior na avaliação prognóstica de tais indivíduos. **Métodos:** Para otimização da técnica de citometria de fluxo para análise de P-C4d, foram utilizadas amostras de sangue de duas pacientes com LES, com idade de dezoito e trinta anos, diagnosticadas pela equipe de Reumatologia do ambulatório da Santa Casa de Belo Horizonte. A atividade clínica do LES foi determinada segundo o índice SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index), tendo a paciente de dezoito anos um SLEDAI=18, e a paciente de 30 anos, um SLEDAI=12. As amostras de sangue destas pacientes foram diluídas em PBS e preparadas para análises em citômetro de fluxo, usando anticorpo anti-CD42b conjugado com ficoeritrina (BD Biosciences, San Jose, CA) e um anticorpo monoclonal anti-C4d (reativo com fragmentos contendo C4d de todos os alotipos de C4) conjugado com Alexa Fluor 488 (Molecular Probes, Eugene, OR), segundo técnica descrita por Navratil *et al.* (2006). Para marcação de P-C4d foram utilizados três volumes do anticorpo: 25µL (diluição 1:100), 50µL (diluição 1:100) e 1µL sem diluição. **Resultados:** Na paciente com SLEDAI=18, as porcentagens de expressão de P-C4d foram de 93,9% (25µL, diluição 1:100), 96,1% (50µL, diluição 1:100) e 96,8% (1µL). Na paciente com SLEDAI=12, as porcentagens de P-C4d foram de 84,5% (25µL, diluição 1:100), 87,9% (50µL, diluição 1:100) e 85,7% (1µL). **Conclusão:** Com base nos resultados acima, foi escolhido o volume de 50µL (diluição 1:100) do anticorpo anti-C4d para otimização da técnica para determinação dos níveis de expressão de P-C4d. Os resultados obtidos indicam que os níveis de P-C4d estão mais elevados em indivíduos com maior atividade da doença. Portanto, o estudo dos níveis de P-C4d pode ser um promissor biomarcador de ativação da doença, com potencial impacto em prognóstico e controle da doença. Dessa forma, esta técnica será aplicada a um grupo de pacientes com LES, sob tratamento, em diferentes situações clínicas. Suporte: CNPq, FAPEMIG e CAPES.

127

The role of micrnas on the generation of induced regulatory T cells: directing the generation of tregs instead of proinflammatory TH17 cells

Haddad R¹, Schiavinato JL², Scheucher PS², Araújo FS³, Araujo AG², Rego EM², Covas DT^{2,4}, Zago MA^{2,4}, Panepucci RA^{2,4}

¹Universidade de Brasília - UnB/FCE

²Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP

³Universidade de Brasília - UnB/FS

⁴Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto

Regulatory T cells (Tregs) develop a pivotal role in the balance between pro- and anti-inflammatory responses. Due to this feature, Tregs are being used in umbilical cord blood (UCB) transplantation clinical trials for the treatment of GVHD. On the other hand, the optimal natural Tregs (nTreg) to PBMC ratio for the suppressive effect *in vivo* could not be achieved. Therefore, the generation *ex vivo* of large numbers of induced regulatory T cells (iTregs) may offer an alternative to nTreg cells. Previously, our group showed the generation of iTregs from naïve T cells obtained from UCB. These cells showed immunophenotypic characteristics of classical Tregs and immunosuppressive capacity *in vitro*. Now, our focus was detecting the role of microRNAs in this generation. So, CD4⁺CD25⁺CD45RA⁺ naïve T cells were isolated from UCB and activated with anti-human CD2/CD3/CD28 beads (1:2 beads:cell ratio) in the presence of IL-2 (50U/ml) with (iTregs) or without (CD4Med) TGF- β (5ng/ml) and atRA (100nM). After 5 days, microRNAs and mRNAs profiles of cells generated in both conditions (iTregs and CD4Med) were analyzed by microarrays. *In silico* analysis showed 33 microRNAs were exclusively expressed in iTregs, including miR-10a, 23a, 30a, 422a, 610, 636 and 1299. The miR-10a expression has been identified as marker of Tregs. Studies revealed that atRA acts directly and indirectly in the increase of miR-10a expression. In addition, others studies showed that miR-10a is involved to the inhibition of differentiation of Tregs in Th17 cells. Bioinformatics analysis showed that the others microRNAs exclusively expressed in iTregs (23a, 30a, 422a, 610, 636 and 1299) may control the expression of IL-6R and GP-130. Both constitute the IL-6 receptor complex, that when stimulated activates several pathways related to differentiation and activation of T cells, including STAT-3. The IL-6-GP130-STAT3 pathway has been identified as the central regulator of Th17 and Tregs balance, and its activation induces the generation of Th17 cells. Interestingly, the microarray of mRNAs showed that IL-6R, GP-130 and STAT3 were downregulated in iTregs compared to CD4Med, indicating the involvement of this pathway on the generation of Tregs in our system. This suspected is supported by the fact that other study have shown that the treatment of naïve T cells with atRA in the presence of IL-6 increase the FoxP3 expression, and inhibits the differentiation to Th17 cells. Still, the treatment of nTregs with atRA decrease the expression of IL-6R, and this reduction is related to the FoxP3 expression stability and suppressive capacity of Tregs, even in the presence of IL-6. In conclusion, our results indicate that the treatment of UCB naïve T cells with TGF- β and atRA induces the expression of exclusive microRNAs that favors the generation of Tregs (e.g. miR-10a). In addition this treatment also induces the expression of microRNAs related to decreasing of IL-6 receptor complex expression, favoring the generation of Tregs instead of proinflammatory Th17 cells. Finally, the enhanced understanding of molecular mechanisms of the iTregs generation will stimulate future studies examining the translational potential of these cells. Support: FAPESP, CNPq.

128

Hydroxylation of 5-methylcytosine by TET family promotes active DNA demethylation in induced tregs

Schiavinato JL¹, Haddad R², Scheucher PS¹, Araujo AG¹, Rego EM¹, Covas DT¹, Zago MA¹, Panepucci RA¹

¹Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

²Universidade de Brasília

Regulatory T cells (Tregs) are one of the key elements of peripheral tolerance and suppression of autoimmune diseases. The establishing and maintaining these cells are controlled by transcription factor Foxp3. Stability of Foxp3 expression depends on DNA demethylation in Foxp3 locus, which is composed by promoter and 3 evolutionarily conserved noncoding sequences (CNS1, 2 and 3). Studies revealed that Foxp3 locus is totally demethylated in natural Tregs (nTregs), but the methylation status in induced Tregs (iTregs) generated from naïve T cells upon T cell receptor (TCR) stimulus in conjunction with TGF- β and atRA remains undefined. DNA demethylation can be passive (driven by reduced DNMT levels) or active (through Ten-Eleven Translocation family, TET1, 2 and 3). Tet family proteins, recently reported as crucial regulating the differentiation process, are enzymatically responsible for converting 5-methylcytosine (5mC) to 5-hydroxymethylcytosine (5hmC). Hence, understanding the mechanisms that cause demethylation of Foxp3 locus in iTregs could allow the generation of stable iTregs for therapeutic application. For this purpose, we evaluated the status of methylation (promoter, CNS2 and CNS3 regions) of umbilical cord blood (UCB) naïve T cells (CD4⁺CD25⁺CD45RA⁺) freshly isolated, activated with anti-human CD2/CD3/CD28 beads (1bead:-2cells ratio) in the presence of IL-2 (50U/ml) with (iTregs) or without (CD4Med) TGF- β (5ng/ml) and atRA (100nM). For this, we used a kit that distinguishes 5mC from 5hmC by the enzymatic digestion and the technique hydroxymethylated DNA immunoprecipitation (hMeDIP). Additionally, we evaluated by qPCR the expression of Tet family protein. Our results show that while naïve T cells and CD4Med presented low level of 5hmC (hydroxymethylation) in CNS2 (~1%); upon *in vitro* induction, generated iTregs presented higher levels of 5hmC (~5%). The immunoprecipitation with antibody against 5hmC revealed similar results, 6-fold enrichment. Furthermore, CNS3, which was found to be partially demethylated in naïve T cells (45%), presented even higher levels of demethylation upon activation (77% in iTregs and 82% in CD4Med). Interestingly, hMeDIP showed that iTregs had 20 times more 5hmC in CNS3 region than naïve T cells. We didn't observe demethylation in the promoter for any populations. Also, our results revealed that the increased hydroxymethylation of Foxp3 locus in iTregs was accompanied by the upregulation of all three hydroxymethylases (TET1, 2 and 3), revealing an additional epigenetic mechanism driven by atRA and TGF-beta. In summary, our results indicate that the process of demethylation in iTregs occurs through an active mechanism that involves the 5hmC and Tet family proteins. Finally, we evaluated the immunosuppressive capacity of generated iTregs by immunosuppression assay (CFSE), and our results demonstrated that iTregs are functional cells. Together, our results suggest that CNS3 demethylation and initiating CNS2 demethylation in iTregs implies in stabilization of Foxp3 expression, and guarantees suppressor potential these cells. These findings advance the understanding of iTregs differentiation and may facility the therapeutic use of iTregs in immune disorders. Support: FAPESP, CNPq.

129

Differential expression of transcripts among naïve T cells, activated T cells and induced regulatory T cells

Schiavinato JL^{1,2}, Haddad R³, Araujo AG¹, Scheucher PS¹, Rego EM¹, Covas DT^{1,2}, Zago MA^{1,2}, Panepucci RA²

¹Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

²Hemocentro de Ribeirão Preto

³Universidade de Brasília

CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T regulatory cells (Tregs) are central for immune homeostasis controlling many aspects of immune responses such as autoimmune diseases, inflammation and cancer. The successful use of Tregs in clinical intervention has increased interest for the use of these cells on cellular therapy. Tregs can be thymus-derived natural Tregs (nTregs) or peripherally generated induced Tregs (iTregs). Also, iTregs can be generated *in vitro* from naïve T cells by TCR activation in presence of TGF β and aTRA (all-trans retinoic acid). However, these cells exhibit some specific differences such as differential mRNA expression profiles. Thus, we evaluate and compared the mRNA expression profiles among induced Tregs, naïve T cells and activated T cells (CD4Med). For this, CD4⁺CD25⁺CD45RA⁺ naïve T cells were isolated from umbilical cord blood (UCB) by negative selection and were activated with anti-human CD2/CD3/CD28 beads (1beads:2cells) in the presence of IL-2 (50U/ml) with (iTregs) or without (CD4Med) TGF- β (5ng/ml) and aTRA (100nM). Immunophenotyping by flow cytometry and the expression profiles (by microarrays of mRNA and qPCR) were performed after 5 days. The activated cells (CD4Med and iTregs) showed high expression of FOXP3, TNFR2, CTLA4 and GITR (markers of nTregs). However, iTregs demonstrated absence of CD127, while CD4Med revealed high expression of this marker, indicating that iTregs generated from UCB exhibit surface marker profile closer to nTregs compared to CD4Med. The mRNA microarray analysis showed 5396 probes differentially expressed. Of these, 1454 were identified as downregulated in iTregs (as compared to naïve T cells or CD4Med). These probes correspond to 1287 distinct transcripts, including STAT3, TLR2, TLR5, IL6ST, IL6R, SMAD3 and PTEN. While, among the transcripts upregulated in iTregs (as compared to naïve T cells or CD4Med) are FOXP3, IL17R, TET1, HEY1, RBPJ, DLL3 and RELB. The results obtained from microarrays of mRNAs were validated by qPCR. We found more 3 fold expression of FOXP3 in iTregs compared to CD4Med and 40 fold compared to naïve T cells. Furthermore, our results revealed smaller expression of STAT3 (1 and 2 fold), TLR2 (4 and 4 fold) and PTEN (1 and 2 fold) in iTregs compared to CD4Med cells and naïve T cells respectively. The high FOXP3 expression in iTregs is important, because it's crucial for development and functional of regulatory T cells. Whereas, the downregulation of the TLR2 and TLR5 (Toll-like receptors) is involved in repression of Th17 cells polarization from naïve T cells. Therefore, the low expression TLRs in iTregs ensures the maintenance of phenotype and function of these cells. Additionally, the STAT3 expression, together with IL6 signaling, prevent functional immune suppression by Tregs, because have a direct positive role in promoting Th17 differentiation. In summary, our results demonstrate that the expression of specific transcripts or the absence of these acts controlling the generation and function of iTregs. Support: FAPESP, CNPq.

130

Amiloidose secundária à doença intestinal inflamatória: relato de caso

Costa VR¹, Albuquerque LM¹, Peixoto RL¹, Botelho LF¹, Júnior AL¹, Gomes BA¹, Duarte CM¹, Dantas EA¹, Sousa GB¹

¹Universidade Federal da Paraíba

Introdução: As Amiloidoses correspondem a um grupo heterogêneo de doenças que se caracterizam pela deposição tecidual de substância amiloide no meio extracelular, podendo acometer diversos

órgãos e sistemas. As doenças amiloides podem ser divididas em sistêmicas ou localizadas, de acordo com a extensão do seu depósito, ou ainda em formas adquiridas ou hereditárias, de acordo com o caráter do depósito. Apresentam-se através de várias formas clínicas, sendo a Amiloidose Secundária ou Reativa, também conhecida como Amiloidose subtipo AA, a mais comum em todo o mundo. A idade de apresentação varia de 8 a 80 anos, com uma média de 40 a 60 anos. Parece haver uma predominância pelo sexo masculino, com uma relação de 3:1, mas sem preferência racial. **Relato de Caso:** JMS, masculino, 60 anos, portador de Doença Inflamatória Intestinal (DII), encaminhado da Gastroenterologia por suspeita de Amiloidose. Apresentava história de alteração do hábito intestinal, distensão abdominal e eventos esporádicos de melena. Além dos sintomas relacionados ao trato gastrointestinal, o paciente referia episódios de tontura, síncope e fadiga. Negava edema periférico, alterações urinárias, perda de peso, sangramentos e quaisquer outras queixas. Fazia uso de mesalazina 800 mg, 2 comprimidos, 12/12hrs. A Tomografia Computadorizada de Abdome revelava espessamento parietal, com realce pelo meio de contraste, acometendo o duodeno e alças jejunais, com múltiplos linfonodos aumentados. A colonoscopia apresentava gastrite erosiva plana moderada de antro com irregularidade da mucosa duodenal. A biópsia de duodeno foi conclusiva para duodenite crônica com extenso depósito de material amorfo vermelho-congo positivo, confirmando o diagnóstico de Amiloidose. A imunofluorescência da urina de 24 hrs, padrão-ouro para identificar o tipo de proteína amiloide, revelou o achado de proteína monoclonal cadeia leve lambda isolada. A pesquisa para acometimentos outros, como cardíaco, renal e neurológico foi negativa. **Discussão:** A Amiloidose do trato gastrointestinal acontece principalmente na forma AA. Esse tipo de Amiloidose desenvolve-se no curso de estados inflamatórios crônicos, como Tuberculose, Artrite reumatoide e Doença Inflamatória Intestinal. Sua apresentação clínica típica é Síndrome Nefrótica associada à Hepatoesplenomegalia. Caracteristicamente, órgãos como coração e cérebro são poupados. O paciente em questão, ao contrário do que mostra a literatura, não possuía o padrão clássico, apresentando acometimento exclusivo de trato gastrointestinal. **Conclusão:** As manifestações clínicas da amiloidose variam com o sítio de acometimento da patologia. A doença é clinicamente significativa quando afeta a função orgânica pela substituição da estrutura celular normal. O comprometimento do tubo digestivo pode ocorrer em qualquer parte de seu trajeto, condicionando espessamento da parede e/ou dismotilidade, sendo o sistema nervoso autônomo comumente afetado.

131

Infecção por CMV em pacientes onco-hematológicos não transplantados: série de casos

Prioste T¹, Velasco E¹, Filho MA¹, Gonzaga Y¹

¹Instituto Nacional de Câncer

Introdução: A infecção / doença por CMV é uma complicação grave relacionada a imunossupressão mediada por linfócitos T. No contexto da Hematologia, o vírus acomete principalmente pacientes submetidos a transplante alogênico de medula óssea (aloTCTH) que desenvolvem doença enxerto versus hospedeiro (DECH). Nestes pacientes, o tratamento preemptivo (início do antiviral baseado na detecção da antigenemia, antes do desenvolvimento de sinais clínicos de doença pelo vírus) é uma estratégia consagrada. Em pacientes hematológicos não transplantados, a infecção por CMV é pouco frequente, mas sua incidência pode estar aumentando, associada a tratamentos mais intensos e imunossupressores. **Métodos:** Foram revisitos 6 casos consecutivos de pacientes oncohematológicos não transplantados do Serviço de Hematologia, que apresentaram antigenemia positiva para CMV, detectada através de imunofluorescência indireta. Foram avaliadas a neoplasia hematológica de base, os sinais e sintomas

que motivaram a pesquisa da infecção, o tratamento utilizado e a evolução clínica. Os dados foram obtidos dos registros médicos e analisados retrospectivamente. **Resultados:** A idade média dos 6 pacientes foi de 41 anos (10-83) e 3 pacientes (50%) eram do sexo masculino. Todos os pacientes apresentavam diagnóstico de neoplasia hematológica linfóide (2 LLA, 1 LLC, 1 Linfoma de Burkitt, 1 Tricoleucemia e 1 ATLL) e apenas 1 não fez uso de corticosteroide. 4 pacientes (67%) fizeram uso de análogo de purina. A sintomatologia que motivou a pesquisa de antigenemia foi febre persistente de origem indefinida em 4 pacientes e diarreia persistente e inexplicada nos outros 2 pacientes. Nenhum deles apresentava neutropenia grave. Todos receberam tratamento com Ganciclovir por 13 dias em média (4 – 20) e apresentaram resolução dos sintomas, exceto 1 paciente, cuja diarreia foi atribuída posteriormente a infiltração linfomatoso do cólon, detectada em biópsia. Apenas 1 paciente não negatizou a antigenemia, mas a mesma foi colhida antes do término do tratamento e houve resolução clínica. Não ocorreu nenhum óbito relacionado ao episódio infeccioso. 3 pacientes faleceram posteriormente, todos de progressão da doença hematológica de base. Os demais encontram-se em remissão, fora de tratamento imunossupressor e sem novos episódios de reativação do CMV. **Discussão:** A incidência de infecção por CMV em pacientes oncohematológicos não submetidos a alogTCTH ou terapia com Alemtuzumab é considerada baixa. Entretanto, com a utilização crescente de tratamentos cada vez mais imunossupressores (fludarabina e outros análogos da purina, rituximab, corticosteróides), especialmente no tratamento dos linfomas, pode-se esperar um aumento nesta incidência. Em nossa pequena série, não houve documentação histológica da infecção em nenhum paciente. Entretanto, a resolução dos sintomas, associado a negatização da antigenemia após o tratamento antiviral, aponta para um provável mecanismo de causa e efeito. **Conclusão:** A infecção por CMV deve ser considerada no diagnóstico diferencial de pacientes tratados com análogos da purina, corticosteróides e rituximab que apresentem febre persistente não explicada, principalmente na ausência de neutropenia. O tratamento com Ganciclovir parece ser eficaz e a taxa de recidiva baixa após a reconstituição imunológica que normalmente ocorre com o controle da doença hematológica de base.

132

Telomere length measurement by flow-fish method (fluorescence in situ hybridization and flow cytometry)

Rodrigues FG¹, Scheucher PS¹, Calado RT¹¹Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Telomere length has been investigated for its relationship to telomere components and its involvement in the aging process as well as several major diseases referred to as syndromes of telomere shortening. These diseases include bone marrow failure, hepatic cirrhosis, idiopathic pulmonary fibrosis and a proclivity to cancer. Therefore, telomere length has become an important tool to investigate the role of telomere dysfunction in degenerative disorders. The development of a reliable method to measure telomere length is crucial for diagnostic and treatment of these diseases. Telomere length analysis has been greatly simplified by the quantitative flow cytometry technique, flow-FISH, and has become an important adjunct to the more laborious Southern blotting method (SB). In this study, we standardized our protocol based on previous studies of flow-FISH in order to accurately measure telomere length of white blood cells (WBC) and evaluated the efficiency of this technique. For this purpose, whole blood of healthy donors (2 mL) of different ages were collected and WBC were isolated and frozen in 10% DMSO. In each experiment, donor samples were thawed and washed twice with PBS+0.1% BSA. Samples were divided into two tubes (A and B), prepared by mixing 8×10^5 WBC and 10^5 bovine thymocytes, which were used as internal control cells (CT). Thus, 400 μ L of hybridization solution with and without telomere probe labeled with FITC was added to tube A and

B, respectively. Cells were hybridized at 82°C for 15 min and stored overnight at room temperature. Samples were then washed twice with washing buffer (Dako Telomere PNA Kit/FITC) and then DNA counterstained with LDS751. After 1h of incubation at 4°C, cells were analyzed by flow cytometry. Before analysis, FITC channel was calibrated and linearity of the cytometer checked with MESF beads, giving a standard curve for MESF values used to calculate telomere length ($R^2=0.9970-0.9995$). Standardized protocol for telomere length analysis began with a single gate on WBC and CT populations at FSC x SSC dot plot, in order to exclude particles and aggregates. Then, a bivariate plot of forward light scatter signal versus LDS751 fluorescence was used to distinguish WBC from CT, due to their LDS 751 staining difference. PNA probe fluorescence for each population gated was displayed as FITC histograms and mean fluorescence intensity (MFI) for samples hybridized in the presence or absence of fluorescein-labeled PNA (autofluorescence) were recorded. Telomere length was calculated using the equivalent MESF values associated with MFI value of each donor sample obtained by subtracting the median autofluorescence from MFI labeled cells. Linear regression was performed to evaluate the correlation between donor age and telomere length and showed that telomere decreased with age, with a coefficient correlation around 0.5. It was observed that running the control cells with each assay provided reliable outcomes, being critical to check the hybridization process. Our data are in accordance with the results obtained by SB analysis, considered the gold standard in telomere length measurement. Thus, this study provides the first results about telomere length measurements by flow-FISH, becoming essential to the future implementation of this technique as a diagnostic tool to telomere diseases at our institution healthy service.

133

Síndrome hemofagocítica em paciente transplantado renal com tuberculose miliar

Farnese VC¹, Aranha MA¹, Kerbauy LN¹, Fontenele LP¹, Fatobene G¹, Chamone DA¹, Lage LA¹¹Universidade de São Paulo

Paciente do sexo masculino, 55 anos, transplantado renal em 2006 devido síndrome nefrótica secundária a GNMP, procurou o HC-FMUSP em junho de 2013 com febre, diarreia e dor abdominal. Uso diário de micofenolato, tacrolimus e prednisona. Exames revelaram piora da função renal, anteriormente com creatinina de 2,3, durante admissão 8,3, além de acidose metabólica e hipercalemia. Evoluiu com dispnéia refratária a medidas dialíticas e febre apesar de antibioticoterapia. Hemograma inicial com Hb 9,0, VCM 79,9, plaquetas 162 mil, evoluindo durante a internação com plaquetopenia, com valores próximos a 50mil. Em investigação de bicitopenia, realizado exames laboratoriais com os seguintes resultados: dosagem de ferro 13, saturação de ferro 14,94%, ferritina 5138, reticulócitos 0,78%, esquizócitos 4,8%, DHL 1422, haptoglobina 71, fibrinogênio 159. Feito hipótese de anemia microangiopática secundária a lesão endotelial local por perda de enxerto renal, não podendo ser afastada a hipótese de SHU, apesar da reticulopenia. O paciente evoluiu com insuficiência respiratória e suporte ventilatório. Realizado tomografias que revelaram micronódulos pulmonares aleatoriamente disseminados por ambos os campos pulmonares, compatível com tuberculose miliar, além de hepatoesplenomegalia. Iniciado esquema RIPE, o paciente evoluiu com hepatotoxicidade sendo suspenso após 5 dias. Como o paciente mantinha febre com piora progressiva das citopenias, foi realizado mielograma, com presença de numerosas figuras de hemofagocitose. Ferritina 23826, fibrinogênio 106, triglicerídeos 220. Feito hipótese diagnóstica de síndrome hemofagocítica secundária a micobacteriose. O paciente evoluiu para óbito apesar das medidas intensivas, antes de receber tratamento específico. A síndrome hemofagocítica ou linfocitose hemofagocítica é uma doença agressiva e potencialmente fatal, que se apresenta em pacientes pediátricos

como uma doença autossômica recessiva e em adultos como uma forma adquirida, secundária a diferentes infecções, incluindo tuberculose, doenças autoimunes, neoplasias malignas ou em pacientes transplantados renais e de fígado associado a EBV. Nestes pacientes ocorre falência dos mecanismos dependentes de perforina na inativação do processo imune, levando a incontrolável produção de citosinas derivadas de células T, com acúmulo de linfócitos T ativados e macrófagos e conseqüente hemofagocitose e dano tecidual. O diagnóstico pode ser feito de forma clínica com os pacientes apresentando bicitopenia, febre, organomegalias, hiperferritinemia, hipofibrinogenemia e/ou hipertrigliceridemia, ausência de atividade de células NK, aumento dos níveis séricos de CD25 solúvel, além de figuras de hemofagocitose em aspirado de medula óssea. O relato descreve um paciente transplantado renal, com perda aguda de enxerto, secundária a processo infeccioso, com padrão radiológico sugestivo de tuberculose miliar. Apesar das evidências de anemia microangiopática, o paciente apresentou reticulopenia com hemoglobina estável durante toda internação, o que motivou investigação da medula óssea, revelando numerosas figuras de hemofagocitose. O relato é ilustrativo por apresentar um paciente transplantado renal em vigência de imunossupressão, com anemia e plaquetopenia. O diagnóstico diferencial de síndrome hemofagocítica deve ser lembrado em casos semelhantes, síndrome esta que apesar de rara é potencialmente fatal.

134

Avaliação do seguimento ambulatorial dos pacientes portadores de infecção pelo HTLV-I/II atendidos no hemoce

Silva HF¹, Barros LM¹, Gomes FV¹, Barbosa JL¹, Nepomuceno EA¹, Carvalho PG¹, Oliveira DS²

¹Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará

²Universidade Estadual do Ceará

Introdução: O vírus linfotrópico de células T do tipo I e II foi identificado como agente etiológico da leucemia/linfoma de células T do adulto (ATLL) e de mielopatia associada ao HTLV/ paraparesia espástica tropical (HAM/TSP) em 1978. Atualmente mais de 20 milhões de indivíduos são infectados no mundo. A maioria dos indivíduos permanece assintomática durante toda a vida, porém apresenta um risco potencial de transmissão. Em torno de 4% dos portadores de anti-HTLV podem desenvolver ATLL ou HAM/TSP, e em torno de 10% dos portadores de HTLV-II podem desenvolver alguma doença neurológica. O acompanhamento ambulatorial é importante no sentido de oferecer orientação quanto aos riscos de transmissibilidade da infecção e quanto ao desenvolvimento de doenças relacionadas.

Métodos: estudo transversal realizado no ambulatório de HTLV- I/II do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), sede Fortaleza, dos pacientes com HTLV-I/II. Todos os pacientes tiveram seu diagnóstico confirmado pelo *Western – Blot*. **Resultados:** no período de 18/08/2011 a 31/07/2013 foram atendidos 75 pacientes com HTLV-I/II. A maioria foi encaminhada do próprio hemocentro coordenador de Fortaleza. Dos 75 pacientes atendidos, 46 (61%) eram mulheres e 29 (39%) homens, sendo 60 (80%) pacientes com infecção pelo HTLV-I, 11 (15%) pelo HTLV-II e quatro (5%) indeterminado. O diagnóstico de ATLL não foi encontrado e o de HAM/TSP em três pacientes. Cinco tinham diagnóstico prévio de hemoglobinopatia (HbSS e HbSC), dois de púrpura trombocitopênica imunológica, um de anemia aplásica adquirida, um de hemoglobinúria paroxística noturna, um de doença de von Willebrand e um de sífilis. **Conclusão:** o grupo de pacientes analisado é na sua grande maioria composto por pessoas que realizaram triagem no momento da colheita de hemocomponente para doação. Tal fato é de vital importância, na medida que reflete ainda a dificuldade de se realizar um manejo mais próximo dos pacientes com HTLV, ficando o diagnóstico relacionado muito com o ato ou não da doação. Nesse contexto, nota-se a presença de pacientes com risco maior de infecção via hemocomponentes, como

os que necessitam de suporte transfusional crônico. As patologias associadas ao HTLV possuem diferentes espectros de expressão a depender da forma inicial de contágio, como a literatura internacional cita. Na forma de contágio por transfusão, a HAM/TSP é mais comum do que a ATLL, fato que explica a maior prevalência da paraparesia em nossa população. A história natural da ATLL necessita de exposição especialmente pelo leite materno com décadas de dano imunológico que culmine com o surgimento das alterações leucêmicas da doença. Pelo potencial de transformação em doenças graves e de alta morbidade, os pacientes com HTLV devem ser seguidos e acompanhados para o diagnóstico precoce e orientação quanto às complicações da infecção. Faz-se, portanto, necessário aumento dos investimentos no diagnóstico da contaminação e manejo desse grupo de pacientes que ainda é subdiagnosticado.

135

Estudo de precisão da quantificação de linfócitos T CD4 E CD8 pelo método de plataforma única por citometria de fluxo

Lopes AC¹, Konecsni CA¹, Piratelo AS¹, Finazzo C¹, Beirigo ML¹, Carvalho MA¹, Barbosa MC¹, Barroso RS¹, Sales MM¹

¹Seção de Citometria de Fluxo da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP/ LIM 03

Introdução: A disponibilidade de anticorpos monoclonais associada aos avanços na tecnologia de Citometria de Fluxo (CMF) possibilitou a ampla difusão da metodologia dos centros de pesquisa para laboratórios clínicos, tornando-a o método de escolha para o estudo imunofenotípico de células hematopoiéticas. O diagnóstico acurado e confiável apoia-se fundamentalmente em padronizar procedimentos e no estabelecer rotinas de controle de qualidade (CQ). Os laboratórios de CMF encontram dificuldades na utilização de controles comerciais devido ao alto custo e baixa estabilidade, bem como prescindem de dados de literatura estabelecendo variação biológica e limites aceitáveis para precisão e erro total.

Objetivo: Verificar a precisão da quantificação de linfócitos T CD3, CD4 e CD8 em sangue periférico (SP) pela técnica de plataforma única por CMF. **Métodos:** O estudo foi iniciado em maio/10 satisfazendo a exigência do Colégio Americano de Patologistas (CAP) da utilização diária de 2 níveis de controle celular para a quantificação de CD4 pela técnica de plataforma única, um deles compatível com o nível de decisão clínica (200/uL na infecção pelo HIV). Foi implantado o CQ interno a partir de uma amostra de SP selecionada diariamente da rotina de hemograma satisfazendo o critério de cerca de 2.000 linfócitos/uL, que foi alíquotada sendo uma das alíquotas diluída na proporção de 1:4 com PBS para atingir o nível de decisão clínica para o CD4. Para a quantificação de linfócitos, foi utilizado o método *Lyse No Wash* com Tubos BD Trucount. Para marcação celular foi utilizado o reagente BD Multitest CD3/CD8/CD45/CD4 (20uL/teste) conforme protocolo do fabricante. As amostras em nível normal e baixo foram adquiridas e analisadas 2 vezes no mesmo dia, no início e durante a realização da rotina (após até 8h), armazenadas no intervalo em TA e no escuro. Para aquisição e análise foi utilizado o Citômetro de Fluxo *BD FACSCalibur* e o software *BD Multiset*, utilizando-se *gates* automáticos na região de linfócitos pelo gráfico do CD45xSSC. Foram realizadas previamente a calibração diária com *BD Calibrite* e o controle comercial de quantificação celular (*BD Trucount Controls*) utilizando como critério de aceitabilidade os intervalos fornecidos pelo fabricante. **Resultados:** Foram avaliadas 713 amostras de SP, no período de 01 de maio de 2010 até 30 de junho de 2013. Os valores percentuais (%) médios de CD3, CD4 e CD8 foram respectivamente 74,6%, 44,6% e 27,5% para o nível normal e 74,7%, 44,8% e 27,4% para o nível baixo. Os valores absolutos (Abs) médios para os mesmos analitos foram respectivamente, 1607/mm³, 960/mm³ e 593/mm³ para o nível normal e 378/mm³, 227/mm³ e 137/mm³ para o nível baixo.

Os coeficientes de variação (CV) médios obtidos no período para CD3%, CD4%, CD8%, CD3Abs, CD4Abs e CD8Abs em nível normal foram respectivamente 0,9%, 1,6%, 2,3%, 3,1%, 3,4% e 3,7%. Para o nível baixo, os CV foram respectivamente 1,0%, 1,9%, 3,0%, 3,0%, 3,5% e 4,1%. **Conclusão:** Os CV obtidos foram inferiores à especificação desejável para imprecisão estabelecida pela literatura (12,5%) - disponível no Banco de Dados de Especificações de Variação Biológica (Dra. Carmen Ricos) apenas para o CD4. A utilização de amostras da rotina demonstrou ser uma excelente alternativa para controles comerciais, demonstrando baixo custo, fácil execução e resultados altamente reprodutíveis.

136

Síndrome antifosfolípide catastrófica: relato de caso

Ramos AF¹, Arantes AQ¹, Vassali LC¹, Candolo AA¹, Leal CT¹, Oltramari MR¹, Cle DV¹, Dalmazzo LF¹, Oliveira LC¹, Simoes BP¹

¹Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto HCFMRP-USP

A síndrome antifosfolípide catastrófica (SAC) é uma apresentação rara da síndrome do anticorpo antifosfolípide (SAF), acomete <1% dos pacientes. Está associada a anticorpos antifosfolípidos e se caracteriza por trombose de múltiplos órgãos, em curto período de tempo, levando à falência dos mesmos com taxa de mortalidade de 50%. Relatamos a seguir o caso de uma mulher de 32 anos, admitida no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto com história de febre diária, rash malar, artralgia, dor em hipocôndrio direito, alteração da função hepática há 3 semanas e FAN positivo. Em outro serviço, foi feita hipótese de Lúpus Eritematoso Sistêmico e realizada pulsoterapia com metilprednisolona 1g/d, por 3 dias, antes da transferência para o HC. Na admissão, matinha febre, dispnéia, artralgia, colúria e icterícia. Os exames mostravam: Hb=8,1 Ht=23 VCM=88 HCM=30 GB= 23700 N=20400 PLQ=98000, reticulócitos= 14000, Coombs D positivo, LDH=4029, BT=1,93 BD= 0,51, Alb=3,1, Cr=1,1 U= 29, TGO=128 TGP=107, TP/INR=1,2, TTPA=1,66, sorologias para HIV, hepatite B, C e VDRL negativas, ACA negativo, anticorpo anti-beta2 microglobulina negativo e pesquisa de anticoagulante lúpico positiva. Foi solicitada tomografia computadorizada de tórax que mostrou áreas de velamento em vidro fosco e derrame pleural bilateral. Foi iniciada antibioticoterapia de amplo espectro e Anfotericina B lipossomal. Após 3 dias, a paciente evoluiu com piora das funções renal e hepática, necessitando de hemodiálise, apresentou alteração do coagulograma e insuficiência respiratória aguda. Teve episódio de crise convulsiva tônico-clônica e rebaixamento do nível de consciência. Foi intubada, apresentou instabilidade hemodinâmica, sendo transferida para o CTI. Foi ampliada a terapia antimicrobiana e iniciado manejo do choque. Devido à piora importante da anemia (Hb=4,3), plaquetopenia (62000), provas de hemólise (LDH=10495, BT=6,3) e coagulograma (TP/INR= 3,8, TTPA>6) foi realizada avaliação pela hematologia, sendo visualizados até 10 esquizócitos/campo em sangue periférico. Como havia evidências de microangiopatia associada à falência de múltiplos órgãos e presença de anticoagulante lúpico, foi aventado o diagnóstico de SAC provável (não havia confirmação anatomo-patológica) e instituída a terapia específica com imunoglobulina, heparinização, corticóide e plasmáfereze. Apesar da introdução dessas medidas, a paciente evoluiu com choque refratário, sangramento do sistema nervoso central e óbito. Relatamos este caso para ilustrar a dificuldade de diagnóstico e a gravidade do quadro, a paciente faleceu a despeito da instituição de medidas terapêuticas adequadas. O diagnóstico precoce da SAC é extremamente importante para evitar a progressão da trombose e deterioração da função dos órgãos. Entretanto, muitas vezes, isso não ocorre, devido à falta da suspeita clínica dessa entidade, bem como à dificuldade de estabelecer o diagnóstico diferencial com outras microangiopatias trombóticas, como púrpura trombocitopênica trombótica, sepsis, síndrome hemolítica urêmica, coagulação intravascular disseminada

e síndrome HELLP. Dessa maneira, em pacientes com falência de múltiplos órgãos, de evolução rápida, principalmente aqueles com diagnóstico prévio de SAF ou de outras doenças auto-imunes, a hipótese de SAC deve ser aventada e as medidas terapêuticas não devem ser postergadas, mesmo sem a confirmação anatomo-patológica, já que a taxa de mortalidade é elevada.

137

Lipid metabolism and inflammatory mediators in sickle cell crisis: a potential target for therapeutic approach

Cerqueira BA^{1,2,3}, Boas WV³, Oliveira JH³, Pitanga T³, Zanette A⁴, Neto JP⁵, Goncalves MS^{2,3}

¹Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC, Bahia, Brazil

²Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue - INCTS, São Paulo, Brazil

³Laboratório de Hematologia, Genética e Biologia Computacional - LHGB/CPqGM/FIOCRUZ, Bahia, Brazil

⁴Fundacao de Hematologia e Hemoterapia da Bahia - HEMOBA, Bahia, Brazil

⁵Universidade Federal do Amazonas- UFAM, Amazonas, Brazil

Sickle cell anemia (HbSS) is a severe monogenic disorder characterized by the homozygous state of a single beta globin (HBB) gene mutation. The clinical profile is extremely heterogeneous, where episodes of pain, stroke, acute chest syndrome, priapism and others are frequently reported. These clinical events are guided by vascular occlusion with ischemia-reperfusion, endothelium and circulating cells activation and procoagulant state linked to inflammatory and oxidative stress imbalance. This study proposed to evaluate lipid metabolism molecules, associating to pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines profile from crisis state and steady-state HbSS patients. We studied 45 HbSS patients in steady-state (21 men, 24 women, mean age: 16.00 ± 13.99 years) and 31 HbSS patients in crisis state (16 men, 15 women, mean age: 10.00 ± 4.36 years) from Northeast Brazil diagnosed in attendance of the outpatients clinic of the Foundation of Hematology and Hemotherapy of Bahia (HEMOBA) and admitted patients in Saint Antonio Hospital. The study was approved by the FIOCRUZ ethical committee and informed consents were signed by patients or official responsible. Hematological analysis and hemoglobin profile were performed using an electronic cell counter and HPLC respectively. Cytokines were measured by cytometric beads array (CBA), soluble adhesion molecule was evaluated by ELISA and biochemical markers were characterized by colorimetric methodology. HbSS patients in crisis had the highest leukocyte number (p=0.004), elevated serum concentration of aspartate aminotransferase (p=0.006), increased serum concentration of soluble vascular adhesion molecule (sVCAM-1) (p=0.001), decrease serum concentration of total cholesterol (p=0.004) and low serum levels of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) (p=0.0001). It was observed a higher serum concentration of IL-1 beta, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 and TNF-alpha in HbSS patients in crisis state compared to steady-state (p<0.001). Low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) was positively correlated with IL-beta (p=0.011), while HDL-C was negatively correlated with IL-beta (p=0.001) in HbSS patients in crisis (Figure 1). TNF-alpha values above the 50th percentile were associated with an increased serum concentration of sVCAM-1 (p=0.018) and IL-beta (p=0.003) in HbSS patients in crisis (Figure 2). However, TNF-alpha values above the 50th percentile were associated with an increased serum concentration of IL-10 in both HbSS studied groups (p<0.001), while IL-1 beta values above the 50th percentile were associated with an increased serum concentration of IL-12 only in HbSS patients in crisis (p=0.004) (Figure 2). The characterization of distinct cytokines profile in crisis state and steady-state HbSS patients, associating with lipid metabolism may suggest influence of these molecules in HbSS pathogenesis, with a complex involvement of cellular, endothelial and

pro-inflammatory interactions. Additional studies should be carried out in order to explore mechanism, clarify participation of molecules and contributing to search of therapeutic target on prevention of vascular events among HbSS patients, taking in account the low levels of lipids frequently presented by these patients.

138

Perfil antioxidante e níveis de malondialdeído em militares submetidos a esforços físicos intensos

Bacha TJ¹, Neto JP², Souza RO², Oliveira MA², Lima LJ², Dias AJ¹, Coimbra MA¹, Lima ES²

¹Centro de Instrução de Guerra na Selva – CIGS

²Universidade Federal do Amazonas - UFAM

Diversos estudos têm demonstrado correlação entre atividade física e aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) teciduais e séricas. A produção aumentada de EROs podem produzir lesões musculoesqueléticas e, principalmente, prejuízo no desempenho de militares submetidos a treinamentos físicos intensos. A caracterização do perfil antioxidante em participantes de cursos de aperfeiçoamento militar tem como objetivo identificar previamente o desenvolvimento de lesões tissulares. Foram avaliados cinquenta militares antes (1ª coleta (1C)) e após 8 dias (2ª coleta (2C)) de atividades físicas intensas. O dano musculoesquelético foi caracterizado pela dosagem das concentrações de malondialdeído (MDA), capacidade de oxidante total (COT), capacidade de antioxidante total (CAT), proteínas totais (PT), albumina (Alb), ácido úrico (AU), Creatina quinase (CK - CKMB) e marcadores de hemólise como bilirrubinas direta, indireta e Total (BD, BI e BT, respectivamente). Valores contínuos foram comparados por meio do teste t-student, enquanto a associação e a quantificação da força da relação linear entre as variáveis contínuas pelo teste de correlação Pearson. Correlações positivas e negativas foram encontradas para diversas associações. As principais foram Alb/AU ($r=0,566$); COT/CKMB ($r=0,282$); CAT/CKMB ($r=0,282$); CAT/BT ($r=-0,402$); MDA/Alb ($r=0,403$); MDA/PT ($r=0,349$); MDA/BD ($r=0,704$). As concentrações médias quando comparadas antes e depois dos mesmos marcadores, demonstraram resultados significativos para Alb (1C :3,904; 2C : 4,292 - $p=0,010$), CK (1C :189,6; 2C : 2639,1 - $p<0,001$), CKMB (1C :22,3; 2C :104,6 - $p<0,001$) e para BD (1C :0,22; 2C :0,26 - $p<0,043$), BI (1C :0,52; 2C :0,84 - $p<0,001$) e BT (1C :0,75; 2C :1,11 - $p<0,001$). Os resultados sugerem que o MDA pode ser um marcador de lesão oxidativa/hepática nos indivíduos submetidos a estresse físico uma vez que houve uma forte correlação deste com os níveis de bilirrubinas. Apesar da fraca correlação entre a capacidade antioxidante e os níveis de CK-MB, este resultado sugere a possibilidade de uma adaptação do organismo ao estresse causado pela lesão muscular. Comparando as médias houve uma tendência ao aumento da capacidade antioxidante do soro na segunda coleta o que pode ser devido há uma resposta do organismo ao estresse físico como um mecanismo compensatório.

139

Histiocitose azul-marinho: relato de caso

Dutra VF¹, Maio KT¹, Bellintani LM¹, Koury LC¹, Costa LH¹, Sa MB¹, Ramos AF¹, Cle DV¹, Dalmazzo LF¹, Simoes BP¹

¹Disciplina de Hematologia FMRP USP

Introdução: A Histiocitose Azul-Marinho é um achado morfológico que pode estar associado a qualquer condição hematológica em que há aumento do turnover celular ou a erros inatos do metabolismo. É uma doença rara, descrita primeiramente em 1970, e o curso é geralmente benigno. Estudos mais recentes têm classificado a Histiocitose Azul-Marinho como um subgrupo da doença de Niemann-Pick, o tipo F,

que ocorre na população adulta. Há uma diminuição da atividade da esfingomielinase e aumento no número de macrófagos vacuolados, que se acumulam em órgãos viscerais, principalmente fígado e baço, preservando o envolvimento do sistema nervoso central. **Relato de Caso:** Relatamos o caso de paciente de 43 anos, encaminhado de serviço primário com quadro febril, mialgia, artralgia e cefaléia holocraniana há cerca de 7 dias. Evoluiu com náuseas e tonturas. Feita hipótese diagnóstica de Dengue, confirmada por exame sorológico IgM positivo. Tinha diagnóstico de Histiocitose Azul-Marinho desde 1991, feito em outro serviço, devido a investigação de esplenomegalia. À entrada, apresentava dosagem de hemoglobina de 8,1 g/dL, sem outras citopenias. Foi realizada punção aspirativa e biópsia de medula. A histologia, em HE, mostrou numerosos macrófagos com citoplasma macrovacuolizados, amarelo pálido com núcleo de localização central em meio a tecido hematopoético, por vezes formando agrupamentos. O mielograma mostrou inúmeros macrófagos com citoplasma preenchido por grânulos azurófilos, sugestivos de doença de depósito. A paciente foi encaminhada ao serviço de genética para investigações complementares. **Conclusão:** Trazemos um caso raro de Histiocitose Azul-Marinho em paciente adulto, sem comprometimento neurológico e com boa evolução clínica, sem necessidade de tratamento.

140

Neutrophils profile in sickle cell anemia: correlation with biomarkers of hemolysis and inflammation

Cerqueira BA^{1,2,3}, Boas WV³, Pitanga T³, Santana SS³, Zanette A⁴, Goncalves MS^{2,3}

¹Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC, Bahia, Brazil

²Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue - INCTs, São Paulo, Brazil

³Laboratório de Hematologia, Genética e Biologia Computacional - LHGB/CPqGM/FIOCRUZ, Bahia, Brazil

⁴Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia - HEMOBA, Bahia, Brazil

The leukocyte activation profile of sickle cell anemia (HbSS) patients could provide insight into patients' prognosis and improve pathogenesis knowledge of vascular episodes. We investigate the surface molecules on neutrophils in basal state and during LPS challenge, associating with chemistry markers and soluble adhesion molecule. The average expression of surface molecules on neutrophils of HbSS patients at the basal state showed an increased expression of CD11b and decreased expression of CD62L when compared to healthy controls. When we compared the expression of these molecules under LPS challenge, an up-regulation occurred in CD11b, CD18, CD32 and down-regulation of CD62L adhesion molecules, exacerbating the response profile in HbSS and healthy controls neutrophils. CD11b expression on neutrophils of HbSS patients were positively correlated with low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), while CD62L expression was negatively correlated with platelet. Increase of surface expression of CD11b on neutrophils was associated with splenic sequestration and splenectomy. We suggest that expression of surface molecules on specific leukocytes may contribute for maintenance of the chronic inflammatory process as well as for the clinical severity of HbSS, and are correlated with hemolysis and inflammation biomarkers.

141

Respostas hematológica, bioquímica e muscular em militares submetidos a esforços físicos intensos

Bacha TJ¹, Lima ES², Oliveira MA², Lima LJ², Dias AJ¹, Coimbra MA¹, Neto JP²

¹Centro de Instrução de Guerra na Selva – CIGS

²Universidade Federal do Amazonas - UFAM

A prática de exercícios físicos por militares é comum e tem sido descrito como benéfico no processo aeróbio, melhorando a capacidade funcional e cardíaca. Porém, quando realizada intensamente, pode causar graves lesões musculares, prejudicando o desempenho e induzindo a um estado oxidativo elevado pela oxidação dos lipídios e proteínas, provocando diversas alterações na função celular e tecidual. Foram avaliados 50 militares com a 1ª coleta (1C) realizada antes e a segunda (2C) após 8 dias de intensas atividades físicas. Como marcadores de dano muscular foram avaliadas as enzimas creatina quinase (CK e CKMB) e lactato desidrogenase (LDH) e de hemólise as bilirrubinas direta, indireta e Total (BD, BI e BT, respectivamente). Além disso, foram avaliados o perfil sérico de colesterol total (CT) e frações LDL, HDL, Triglicerídeos (TG), Proteínas totais (PT), Albumina (ALB) e globulina (GLOB), aspartato aminotransferase (TGO), alanina aminotransferase (TGP), uréia (URE), creatinina (CREAT), ácido úrico (AU) e glicemia (GLI). Valores contínuos foram comparados por meio do teste t-student, enquanto a associação e a quantificação da força da relação linear entre as variáveis contínuas pelo teste de correlação Pearson. Níveis séricos aumentados com significância estatística foram encontrados para ALB ($p=0,010$), AU ($p<0,001$), CK ($p<0,001$), CKMB ($p<0,001$), TGO ($p<0,001$), TGP ($p<0,001$), HDL ($p<0,001$), BD ($p=0,043$), BI ($p<0,001$), BT ($p<0,001$), URE ($p=0,04$) e CREAT ($p=0,003$), enquanto diminuição significativa para CT ($p<0,001$), LDL ($p<0,001$), VLDL ($p<0,001$), TRIG ($p<0,001$) e GLIC ($p<0,001$). Coeficientes de correlação foram encontradas para diversas associações e os com maior poder de correlação foram para PT-1C/AU-1C ($r=,597$); CKMB-1C/TGO-1C ($r=,613$); CK-2C/TGO-2C ($r=,701$); CKMB-2C/TGO-2C ($r=,903$); LDL-2C/CT-2C ($r=,842$). Os resultados do maior consumo de lipídeos e glicose e aumento da CK já eram de se esperar. A enzima creatina quinase é demonstrada amplamente como marcador indireto de dano muscular, com seu aumento levando a diminuição da potência e força muscular. Outro resultado esperado foi o aumento significativo do consumo de lipídios pela oxidação dos ácidos graxos livres pelas fibras musculares. Contudo, apesar de esperado, é necessário ter cautela, uma vez que exercícios mais intensos podem provocar um rápido emagrecimento com perda da gordura absoluta e também da massa muscular, o que não é bom para o praticante. As correlações positivas para CK/TGO e CKMB/TGO em ambas coletas (1C e 2C) demonstra a importância da dosagem destas enzimas concomitantemente, afim de prevenir danos musculares severos e até mesmo infarto do miocárdio, uma vez que estão relacionadas ao metabolismo muscular. Portanto, a análise precisa de seus valores durante todo o treinamento e ao final do mesmo, é o ideal para o manejo clínico dos militares, caso aja necessidade. Entendemos também que uma boa hidratação e balanceada alimentação durante os exercícios físicos intensos são necessários afim de se evitar e/ou diminuir lesões musculares comuns. Concluímos que a idéia de mensurar a magnitude do dano muscular é essencial, principalmente antes e durante intensa sessão de exercícios, uma vez que a atividade física intensa, mesmo por pequeno período como foi (apenas oito dias) foi suficiente para promover alterações importantes no perfil bioquímico e muscular do militar.

142

Niemann-Pick tipo C em adulto: relato de caso com alterações hepáticas e hematológicas

Santos FO^{1,2}, Deguti MM^{1,2}, Vaez R², Oliveira MM², Hariz M², Martins VL²

¹Faculdade de Medicina da USP

²Hospital 9 de julho

Niemann-Pick é uma doença de depósito hereditária rara mais comumente diagnosticada na infância e associada a sintomas neurológicos e organomegalias. Tem curso clínico caracterizado por degeneração cerebral progressiva que corre uma acumulação de glicolipídeos e colesterol não esterificado nos lisossomos celulares. Apresentamos um caso de doença de Niemann-Pick diagnosticada em adulto acima dos trinta anos, com quadro de hepato esplenomegalia associada a hiperbilirrubinemia e leucocitose com eosinofilia. Apenas 3 casos foram descritos previamente, sendo o último como achado de autópsia para investigação de embolia pulmonar por Dvorakova, L que sugere que a patologia possa ser subdiagnosticada por falta de pesquisa diagnóstica; Ao realizarmos mielograma visualizamos inúmeras células de depósito compatível com doença de Niemann-Pick visceral. Na pele demonstramos xantoma e no fígado não foram visualizadas as células características. As células da medula foram confirmadas em nova abordagem após 15 dias. A doença de Niemann-Pick deve ser lembrada como um diagnóstico diferencial importante a ser pesquisado em casos de hepatoesplenomegalia e deve ser confirmado por amostras histopatológicas.

143

Medida de comprimento telomérico por PCR quantitativo: uma ferramenta promissora no diagnóstico e tratamento de doenças

Scatena NF^{1,2}, Rodrigues FG¹, Lemos BA¹, Calado RT^{1,2}

¹Universidade de São Paulo

²Departamento de Genética

Telômeros são sequências hexaméricas (5'TTAGGG3'- em humanos) que se repetem centenas a milhares de vezes nas extremidades dos cromossomos eucarióticos e se associam a um grupo de proteínas, denominadas shelterinas. Este complexo telomérico é responsável por evitar a ativação da maquinaria de reparo do DNA, impedir a perda de material genético e a ocorrência de fusões ponta-a-ponta, proporcionando a estabilidade cromossômica. O comprimento dos telômeros diminui à medida que as células se dividem, podendo levar aos eventos de senescência celular e/ou apoptose. Este encurtamento está associado ao envelhecimento celular, a uma série de doenças (também conhecidas como "telomeropatias") e a alguns tipos de cânceres, como leucemias em geral. Para conter esse encurtamento, células com alta capacidade proliferativa expressam uma transcriptase reversa chamada telomerase, que catalisa a síntese de DNA para a manutenção telomérica. Existem pelo menos quatro métodos para se estimar o comprimento telomérico: FISH (Hibridização in situ por fluorescência) que utiliza sondas específicas para extremidades de cromossomos em metáfase, porém é laboriosa e requer uma grande quantidade de material; Flow-FISH que combina citometria de fluxo e FISH, com necessidade de uma grande quantidade de células intactas; Southern blot, que é considerado padrão-ouro para este fim, porém utiliza quantidades muito altas de DNA (aproximadamente 0,8µg/indivíduo), além de ser uma técnica cara e demorada (cerca de 2 dias) e; PCR em tempo real ou PCR quantitativo (qPCR) que é mais simples, rápido e requer pouco DNA (menos de 5 ng/indivíduo). Este último método determina o resultado usando a razão T/S entre telômero e *single gene* (36B4) com o cálculo do ΔCt

$[C_{\text{telomero}}]/[C_{\text{single gene}}]$, sendo normalizado para os valores da amostra referência $[2^{-(\Delta C_{\text{tel}} - \Delta C_{\text{ref}})}] = 2^{-\Delta \Delta C_{\text{tel}}}$, que será usada para a curva padrão. No entanto, os valores obtidos por qPCR precisam ser convertidos de razão T/S para média de TRF (Terminal Restriction Fragment), obtido por Southern blot, cujo resultado é dado em kb. Com o objetivo de estabelecer o comprimento telomérico a partir de metodologia mais simples, foram realizados testes de qPCR com amostras de sangue periférico de 338 indivíduos saudáveis do município de Ribeirão Preto, variando de zero (cordão umbilical) a 87 anos, utilizando o equipamento Rotor Gene-Q (Qiagen). O resultado foi positivo de acordo com a literatura, demonstrando uma correlação inversa entre a razão T/S e idade. Dentre estes indivíduos, 55 também foram avaliados por Southern blot, confirmando perda telomérica em função da idade e apresentando um coeficiente de correlação (R^2) de 0,6443 em relação ao método qPCR, similar a dados previamente descritos (Cawthon, 2002). Portanto, a técnica de PCR quantitativo demonstrou alta sensibilidade na detecção do comprimento telomérico, apresentando um forte potencial em aplicações clínicas, já que não requer uma grande quantidade de DNA e pode ser feito em um tempo muito inferior ao estimado pelo método de Southern blot, podendo atuar como uma ferramenta importante no diagnóstico de doenças e na escolha de condutas terapêuticas.

144

Subpopulações linfocitárias: estudo em 100 voluntários sadios de origem nipônica residentes na cidade de São Paulo

Borges F¹, Rodrigues CA¹, Kimura EY¹, Guirao FP¹, Sandes AF², Faria MF¹, Almeida J³, Orfao A³, Yamamoto M¹

¹Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo

²Fleury Medicina e Saúde

³Universidad de Salamanca

Introdução: A análise das subpopulações linfocitárias é uma importante ferramenta para avaliação do sistema imune, como no monitoramento de tratamentos imunomodulatórios e nas imunodeficiências. Fatores demográficos e ambientais podem exercer influência sobre a frequência dessas subpopulações em diferentes regiões geográficas. A citometria de fluxo tem sido utilizada de forma cada vez mais precisa e reprodutiva na determinação dessas células. **Objetivo:** Avaliar as subpopulações linfocitárias em idosos saudáveis de origem nipônica residentes em SP. **Métodos:** Foram avaliados no momento do *check-up*, 100 voluntários saudáveis, de origem nipônica sem miscigenação racial e residentes em SP, com idade ≥ 40 anos (mediana 64, variação 40-88 anos), sendo 61% do gênero feminino. Após consentimento e assinatura do TCLE, foram coletadas amostras de SP em EDTA para os exames: hemograma (aparelho Cell Dyn Ruby) e imunofenotipagem por citometria de fluxo de 8 cores. As células foram marcadas pelo método *lase-wash* usando os anticorpos monoclonais (CD3, CD4, CD5, CD8, CD19, CD20, CD38, CD45, CD56, kappa, lambda), conjugados com FITC, PE, PerCPCy5, PECy7, APC, APCH7, Pacific Orange e Pacific Blue. Aquisição de dados foi realizada no citômetro FACSCantoll (BDB, San Jose, CA) utilizando-se o programa FACSDiva (BDB) e análise foi realizada pelo programa *Infinicity* (Cytognos, ES). Os resultados obtidos foram analisados através do programa de estatística SPSS (IBM software). Para análise foram considerados grupos de idosos (≥ 65 anos) e muito idosos (MI) (≥ 75 anos). **Resultados:** Os valores medianos da hemoglobina (Hb) foram de 14,6g/dL (11,2-17,6 g/dL), de plaquetas $225 \times 10^9/L$ ($106-492 \times 10^9/L$), leucócitos totais $5,7 \times 10^9/L$ ($2,8-10,0 \times 10^9/L$), linfócitos (Li) $1,7 \times 10^9/L$ ($0,5-3,4 \times 10^9/L$). A mediana de LiT(CD3+) foi $1,04 \times 10^9/L$ ($0,354-2,15 \times 10^9/L$), sendo TCD4 $0,6694 \times 10^9/L$ ($0,18-1,44 \times 10^9/L$), TCD8 $0,245 \times 10^9/L$ ($0,065-0,80 \times 10^9/L$), LiB $0,137 \times 10^9/L$ ($0,03-0,82 \times 10^9/L$), células linfoplasmócitos (LP) $3/\mu L$ ($0-56/\mu L$). A Hb média foi maior no masculino (M) que no feminino (F) ($15,28 \pm 1,29$ g/dL vs $14,25 \pm 1,1$ g/dL, $p=0,000$). A Hb média nos MI ($n=20$) foi menor que nos não-MI

($14,15 \pm 1,14$ vs $14,78 \pm 1,29$, $p=0,04$). Na análise das subpopulações linfocitárias não foi observada diferença significativa entre os gêneros e idade, com exceção dos LiB, que diminuíram com a idade. A média do valor absoluto LiB foi menor em idosos do que não idosos ($149,3 \pm 102,8$ vs $199,7 \pm 137,4/\mu L$, $p=0,039$) e ainda nos MI que não-MI, tanto em valores relativos ($1 \pm 1,68\%$ vs $1,99 \pm 3\%$, $p=0,001$), como absolutos ($60,56 \pm 106,46/\mu L$ vs $104,48 \pm 163,65/\mu L$, $p=0,005$). Em relação às LP, observamos que havia diminuição com a idade, apesar de não alcançar significância estatística (médias: MI = $4,82 \pm 6,83$, não MI = $5,22 \pm 7,08$). **Discussão:** Relatos de literatura mostram diminuição de LiB e LP em indivíduos acima de 60 anos no Ocidente. Em nosso estudo, utilizando uma ampla combinação de AcMo em um único tubo, também observamos diminuição destas células com o avançar da idade em indivíduos de origem nipônica, na cidade de São Paulo, demonstrando o impacto do envelhecimento na produção de LiB

145

Avaliação do perfil leucocitário em primatas não humanos da espécie *Cebus apella* submetidos a coletas seriadas sanguíneas

Feio DC¹, Oliveira NC¹, Silva WB², Muniz JA², Burbano RR¹, Lima PD³

¹Laboratório de Citogenética Humana, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará

²Centro Nacional de Primatas/ Instituto Evandro Chagas/Ministério da Saúde

³Laboratório de Biologia Molecular, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual do Pará

Introdução: O uso de primatas não humanos como modelo experimental *in vivo*, é de grande importância em trabalhos de aplicação à saúde humana, devido as suas semelhanças anatômicas, hematológicas e filogenéticas com os humanos, gerando resultados que podem ser interpretados de forma mais próxima e segura. Além disso, o tamanho do animal e de seus órgãos torna possível a repetição de diagnósticos, tais como: coleta de sangue e biópsia de um mesmo animal por um longo período. A utilização de *Cebus apella* embora pouco frequente oferece subsídios indispensáveis em estudo principalmente de farmacocinética para novas drogas de interesse humano, sendo que para tal são necessárias diversas coletas de amostras de sangue. **Objetivo:** Avaliar possíveis alterações hematológicas a nível leucocitário em *Cebus apella* submetidos a coletas seriadas de sangue periférico. **Métodos:** O projeto foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa com animais de experimentação da UFPA (BIO008-11). Foram utilizados 03 animais, *Cebus apella*, machos, adultos, saudáveis, com peso médio de 3,750 kg, mantidos em cativeiro no Centro Nacional de Primatas (CENP), sob as condições padrões do mesmo. Os primatas não humanos foram submetidos a diversas coletas sanguíneas durante 24 horas, sendo previamente sedados por injeção via intramuscular de cloridrato de Tiletamina associado ao cloridrato de Zolazepam (0,2 ml/kg). O sangue foi coletado por venopunção da veia femoral direita e/ou esquerda com a utilização de seringas e agulhas descartáveis e após a desinfecção da face interna da coxa. Logo após foi realizado o esfregaço sanguíneo e corado pelo kit Panótico rápido (Laborclin). Para determinar diferenças significativas entre os parâmetros avaliados foi realizado o teste ANOVA, através do BioEstat® 5.3. **Resultados:** Não foram observadas diferenças estatísticas significativas na análise quantitativa do diferencial leucocitário (neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos) nas diversas coletas realizadas nos *Cebus apella*. **Conclusão:** O crescente uso de *Cebus apella* como modelo experimental no Brasil, principalmente em testes farmacológicos de novas drogas expõem a necessidade de estudos sobre as características e possíveis alterações hematológicas sofridas por estes animais, assim, os resultados apresentados neste estudo proporcionam uma base de apoio para futuras pesquisas nestas áreas.

146

Serendipity: quando uma imagem vale mais que mil palavras

Matias RL¹, Botelho LF², Neves FF², Albuquerque LM², Júnior AL², Carvalho NB², Ferreira CF²

¹Hemocentro da Paraíba

²Universidade Federal da Paraíba

Introdução: O termo "serendipity" foi sugerido há alguns séculos por Holace Walpole e não apresenta tradução específica, mas seu provável significado seria a descoberta afortunada, realizada aparentemente, por acaso. Eventualmente, a análise do sangue periférico pode levar a um fortuito diagnóstico que pode ser decisivo e muito importante para paciente, por exemplo, o achado de parasitas no sangue periférico. A histoplasmosse clássica ou capsulata é infecção fúngica cosmopolita causada pelo *Histoplasma capsulatum*. Este é habitante natural do solo, encontrado principalmente em locais com excretas de aves ou de morcegos. Um grama de solo contaminado pode conter até 6.000 elementos fúngicos infectantes. Em pacientes imunossuprimidos, a doença comporta-se como micose oportunística, disseminada em 95% dos casos. A partir dos pulmões, o fungo pode, por via hematogênica, disseminar-se para outros órgãos, sendo a infecção controlada na medida em que se desenvolve a resposta imune celular e a hipersensibilidade a elementos antigênicos do fungo. De acordo com o Ministério da Saúde, no Brasil, entre 1980 e 2000, 0,7% dos pacientes com AIDS e maiores de 13 anos apresentavam histoplasmosse disseminada no momento da notificação do caso de Aids. O diagnóstico exige um alto índice de suspeita clínica, uma vez que suas manifestações podem mimetizar uma variedade de infecções oportunistas. O achado na hematoscopia é muito importante como forma de suspeita diagnóstica. O objetivo deste trabalho é relatar um caso de histoplasmosse disseminada detectada através da hematoscopia, bem como expor imagens de esfregaços de sangue periférico que ilustram o caso. **Relato de Caso:** GPS, sexo feminino, 20 anos, apresenta diagnóstico de SIDA há quatro anos, deu entrada no pronto socorro Hospital Clementino Fraga em João Pessoa, com tosse, odinofagia, vômitos e tontura há aproximadamente 60 dias, encontrava-se com estado geral comprometido, eupneica, hipocorada, presença de crepitos em base pulmonar esquerda e placas esbranquiçadas em cavidade oral. Neste momento os exames laboratoriais demonstravam anemia e raio-X sem alterações relevantes. Foi iniciado tratamento específico para candidíase oral e tratamento empírico para *Pneumocystis jirovecii*. Porém dois dias após sua admissão a mesma evoluiu com quadro de desconforto respiratório agudo sendo necessário suporte em UTI. Nesta ocasião o laboratório apresentava lâmina para revisão da hematoscopia, em que foram vistas diversas estruturas arredondadas, boa parte delas fagocitadas, compatíveis com histoplasma. Foi então realizado diagnóstico "por acaso" de histoplasmosse disseminada e solicitada Unidade de Terapia Intensiva para iniciar a terapêutica adequada. Infelizmente o caso obteve desfecho negativo com falecimento paciente três dias após. **Discussão:** O sangue periférico pode nos dar dicas interessantes e intrigantes sobre os mais difíceis casos, nos levando a contribuir para diagnóstico e como no caso em questão ser decisivo para implementar uma terapêutica precoce que possa salvar a vida do paciente caso diagnostique a tempo.

147

Polymorphisms in perforin gene in patients with hematological malignancies

Garcia FB^{1,2}, Souza BM¹, Moraes-Souza H^{1,2}

¹Universidade Federal do Triângulo Mineiro

²Fundação Hemominas, Hemocentro Regional de Uberaba

Background: Cytotoxic T lymphocytes and natural killer cells play a crucial role in eliminating tumor and virus infected cells. The perforin

is a key part of the arsenal that these cells use to destroy their targets. In humans, polymorphisms and synonymous substitutions in the gene that codes perforin (PRF1) are associated with familial hemophagocytic lymphohistiocytosis, a rare and rapidly fatal immune disease characterized by the inability of activated CTLs to eliminate the targets on antigen presenting cells. Due to the crucial role of perforin in immunovigilance, especially in tumors, we decided to investigate the presence of polymorphisms in exon 2 of perforin gene in patients with hematological malignancies. **Methods:** The exon 2 was evaluated by direct sequencing in 63 patients with hematological malignancies, treated at the Clinical Hospital of the Federal University of Triângulo Mineiro and in a control group of 59 blood donors. **Results:** We found single nucleotide polymorphisms (SNPs) in 10 (17.0%) controls. Five of them had 272C/T (A91V) in heterozygosity; other variations in this group were synonymous: 96G/A (K32K), 435G/A (V145V) and 462A/G (A154A). Analyzing the 63 patients, we observed that 25 (39.7%) present SNPs. Among these, ten had synonymous SNPs: 240A/T (L80L) in one and 273G/A (A91A) in nine. The others had amino acid change in the protein resulting from the variation of the nitrogenous base: 11G/A (H4P) in five, 113G/T (V38G) in one, 272C/T (A91V) in five – two of them in homozygosity, 371G/A (V124G) in five, 381G/A (D127N) in one. Assessing the presence of polymorphisms for type of disease, we found SNPs in 3 (60.0%) of 5 patients with Hodgkin's lymphoma, 4 (25.0%) in 16 Non-Hodgkin's lymphoma, 6 (46.1%) in 13 acute lymphoblastic leukemia, 2 (66.7%) in 3 chronic lymphocytic leukemia, 3 (42.9%) in 7 chronic myeloid leukemia, 4 (50.0%) in 8 multiple myeloma, 3 (42.9%) in 7 myelodysplastic syndrome. We did not find SNPs in any patient with acute myeloid leukemia. **Conclusion:** This study clearly shows that, despite the small number of subjects studied, there is a higher frequency of SNPs, especially not synonymous polymorphisms that may cause loss of functional protein, in patients with hematologic malignancies than in control subjects. Also, note that in some subtypes of cancer, the frequency of polymorphisms is higher than 50%. We continue to study these patients, seeking increase the amount of individuals analyzed, especially within each group that presented high frequency of SNPs in PRF1 gene for clarify the role of this gene and the functional impact of these polymorphisms in these diseases. Financial Support: FAPEMIG, UFTM, Fundação HEMOMINAS.

HEMOSTASIA E PAREDE VASCULAR: BIOLOGIA

148

Fisiologia esplênica e complicações da esplenectomia

Barros LE¹, Farias NH¹, Padilha CK¹, Rodrigues LP¹

¹Universidade Católica de Brasília

O baço é um órgão linfóide secundário, encapsulado, localizado na região do hipocôndrio esquerdo, abaixo do diafragma, anterior ao estômago. Tem aproximadamente 12 cm de comprimento, 8 cm de largura e 4 cm de espessura, tendo um peso médio de 200 g. É composto basicamente pela cápsula, os diversos vasos sanguíneos que o irrigam, poupa branca e poupa vermelha. No período fetal é responsável pela produção de células sanguíneas, e em um indivíduo adulto desempenha outras funções importantes como a remoção de hemácias senescentes da circulação após seu tempo de vida útil (aproximadamente 120 dias) e também possui um papel importante em processos infecciosos, sendo um dos sítios no organismo de ativação de linfócitos e produção de anticorpos, além da captação de antígenos exógenos presentes na circulação sistêmica. Diversos são os fatores que em algum momento podem levar a necessidade de uma esplenectomia, remoção do baço, quer seja por uma esplenomegalia ou não, seja alguma das anemias hereditárias (Anemia Falciforme ou Talassemias), ou alguma outra hemoglobinopatia: Hb

H, Hb C, etc. Outros fatores como rompimento da cápsula esplênica em um acidente automobilístico também é um dos fatores que podem levar a retirada do baço. Quando o paciente é submetido à esplenectomia é recomendado que o mesmo receba doses de vacinas polivalentes contra pneumococos, *H. influenzae* e meningococos, ainda assim, é necessário antibióticoterapia profilática durante toda a vida do paciente. Os processos sépticos ganham lugar de destaque em pacientes esplenectomizados, tendo em vista que a poupa branca do baço tem um papel fundamental na remoção de microrganismos da corrente sanguínea. Em indivíduos esplenectomizados a infecção fulminante é um processo grave, que requer atenção dos profissionais de saúde envolvidos no caso, que pode levar a óbito e pode ser confundido com outros processos infecciosos. Geralmente o quadro clínico inicial pode ser discreto, sendo apresentado por febre, porém com o agravamento o paciente poderá evoluir para choque séptico, apresentando assim anúria, hipotensão severa, confusão mental, coagulação intravascular disseminada, nesse estágio a evolução para óbito é rápida. Deve-se salientar que estes quadros de sepse podem ser desenvolvidos por bactérias gram-positivas e gram-negativas, portanto em pacientes asplênicos que apresentem febre de origem desconhecida deve-se iniciar antibióticoterapia intravenosa de amplo espectro em doses elevadas, deve-se utilizar antimicrobianos que possuam atividade contra microrganismos encapsulados como, por exemplo, *H. influenzae*, sendo este, um dos agentes mais frequentes identificados nestes casos.

149

Associação da variante CYP2C19*2 com a menor resposta ao clopidogrel

Botton MR¹, Bandinelli E¹, Manica AL², Sarmiento-Leite R², Polanczyk CA³, Hutz MH¹

¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul

²Instituto de Cardiologia - Fundação Universitária de Cardiologia

³Hospital de Clínicas de Porto Alegre

O clopidogrel é utilizado na prática clínica principalmente em desordens relacionadas à trombose arterial, tais como infarto agudo do miocárdio, síndromes coronarianas instáveis e profilaxia após cirurgia de revascularização e angioplastia. Entretanto, a terapia com o clopidogrel está associada com 10% de eventos isquêmicos recorrentes, sendo que pacientes que apresentam um fenótipo não responsivo à medicação possuem um aumento no risco de desenvolver esses eventos. A prevalência desse fenótipo é em torno de 15-30%, fazendo com que uma proporção substancial dos pacientes não se beneficie do tratamento. A enzima CYP2C19 é responsável pela transformação do clopidogrel em seu metabólito ativo. A variante CYP2C19*2 neste gene é associada à redução da atividade enzimática. O objetivo do estudo foi verificar se este polimorfismo está associado com o fenótipo não responsivo do clopidogrel. Foram estudados 94 pacientes que estavam utilizando clopidogrel há pelo menos 7 dias. Para a execução dos testes de agregação plaquetária foi utilizado o VerifyNow. As genotipagens da variante CYP2C19*2 foram realizadas pelo sistema TaqMan de discriminação alélica por PCR em tempo real. O fenótipo não responsivo foi encontrado em 35% dos pacientes considerando como ponto de corte o PRU=230. A média do PRU foi de 205. A maioria dos pacientes era do sexo masculino (63%) e euro-descendentes (87%). Os genótipos *1/*2 e *2/*2 foram mais frequentes no grupo de pacientes não respondedores quando comparado ao grupo de respondedores (31,3% e 9,4% vs. 22,6% e 0%, respectivamente; P=0,025). Além disso, pacientes com a variante CYP2C19*2 apresentam uma maior média de PRU do que pacientes *1/*1 (228 vs. 191, respectivamente; P=0,039). Sendo assim, sugerimos que a variante CYP2C19*2 desempenha um papel importante no efeito do clopidogrel.

150

Frequência de grupo sanguíneo e fator Rh nas crianças da Escola Municipal de Ensino Infantil e Fundamental Rosa Ferreira Dias, em Acaraú, Ceará

Souza IP¹, Goncalves RP¹, Arruda AB¹, Araujo KC², Santos FM¹, Ferreira LC¹, Garcia LU¹, Guilherme SM², Souza RD³, Junior JI²

¹Universidade Federal do Ceará

²Laboratório de Análises Clínicas de Acaraú - Laca saúde

³Lions Clube de Acaraú

Os grupos sanguíneos existentes na espécie humana manifestam-se pelas proteínas expressas na membrana externa de células sanguíneas e tais antígenos constituem-se como marcadores genéticos relevantes e seu reconhecimento individual apresenta importância em diversas áreas da medicina aplicada. Dentre os grupos sanguíneos existentes, o sistema AB0 apresenta-se com destaque, uma vez que há expressão abundante de seus antígenos na superfície de células sanguíneas e as proteínas A e B. A frequência dos grupos sanguíneos do sistema AB0 varia entre as diversas populações no mundo. O sistema Rh é caracterizado pela expressão do antígeno D na superfície das células sanguíneas. Entretanto, uma parcela significativa da população que não desenvolve reação de aglutinação nos testes normalmente utilizados, pode expressar o antígeno D em níveis diminuídos sendo então classificadas, erroneamente, como pessoas do tipo Rh negativo. Dessa forma, há a necessidade do conhecimento e da classificação correta deste sistema, a fim de se evitar tipagens sanguíneas errôneas e, conseqüentemente, expor o paciente a riscos desnecessários. O objetivo deste trabalho foi avaliar a frequência dos grupos sanguíneos dos sistemas AB0 e Rh em crianças da Escola Municipal de Ensino Infantil e Fundamental Rosa Ferreira Dias em Acaraú - Ceará. Foram avaliadas 69 crianças da referida escola de ambos os sexos e idade variando de 5 a 9 anos. Para a realização dos exames foram colhidos 2mL de sangue em tubos contendo EDTA. Os resultados revelaram a frequência de 56,5% para o grupo O; 33,3% do grupo A; 7,3% do grupo B e 2,9% do grupo AB. Na determinação do Fator Rh, a frequência encontrada foi de 92,7% para o grupo Rh+ e 7,3% do grupo Rh-. Pela análise dos resultados obtidos, concluímos que o tipo sanguíneo O e o fator Rh+ são os mais frequentes encontrados na população, coincidente com a evolução humana, embora a frequência do grupo A tenha aumentado significativamente no decorrer das últimas décadas.

151

Perfil hematológico e bioquímico em idosos assistidos pelo Lions Clube de Acaraú - Ceará

Souza IP¹, Goncalves RP¹, Arruda AB¹, Santos FM¹, Mendonça RC¹, Ferreira LC¹, Ferreira CM¹, Souza RD², Santos NR³, Junior JI³

¹Universidade Federal do Ceará

²Lions Clube de Acaraú

³Laboratório de Análises Clínicas de Acaraú

A anemia não deve ser considerada uma conseqüência inevitável do envelhecimento. Uma causa pode ser definida em aproximadamente 80 por cento dos pacientes idosos. As causas mais comuns são as doenças crônicas e a deficiência de ferro. A deficiência de vitamina B12 e de folato, o sangramento gastrointestinal e a síndrome mielodisplásica estão entre as outras causas de anemia nesse grupo de pacientes. O aumento da população de idosos verificada nas últimas décadas tem também aumentado a incidência de doenças crônico-degenerativas e suas complicações como o diabetes, a hipertensão arterial sistêmica, as dislipidemias e as doenças vasculares e coronarianas. O objetivo deste trabalho foi avaliar os aspectos hematológicos e bioquímicos em pacientes idosos assistidos pelo Lions Clube de

Acarau - Ceará. Foram realizados exames de 29 idosos com idade variando de 50 a 85 anos, sendo 3 (10,3%) do sexo masculino e 26 (89,7%) do sexo feminino. O estudo foi realizado no mês de julho de 2013 e as variáveis analisadas foram: Hemograma e Parâmetros Bioquímicos: Glicose, Uréia, Creatinina, Colesterol Total e Triglicerídeo. As análises foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas de Acarau - Laca Saúde. O hemograma foi realizado pelo aparelho automático Humacount 60 TS Marca Human Invitro® e a análise bioquímica pelo Humacount 80 TS Marca Human Invitro®. Os dados foram submetidos às análises estatísticas do Microsoft Excel®. Pôde-se observar que a maioria dos idosos não apresentaram anemia, sendo a morfologia das hemácias em sua grande maioria normocíticas e normocrômicas. Alterações no leucograma e plaquetograma também foram analisadas, prevalecendo valores normais na maioria dos pacientes. Nas análises bioquímicas verificamos aumento das taxas de glicose e uréia em 8 idosos (27,6%), do colesterol total em 18 (62,1%) e dos triglicerídeos em 15 (51,7%). As doenças cardiovasculares representam importante problema de saúde pública no Brasil, onerando custos no atendimento e nas baixas hospitalares. Deve-se, portanto, intensificar esforços na detecção precoce, prevenção e na educação em saúde para minimizar esses agravos que tanto causam prejuízos à qualidade de vida da população. Nossos dados são concordantes com a literatura e podem servir de base para a elaboração de protocolos terapêuticos a fim de garantir a qualidade do atendimento, bem-estar e evolução do paciente hospitalizado nessa faixa etária.

152

Hemofilia A: análise molecular do gene F8 na terapia por infusão do FVIII

Junior RL¹, Silva JF¹, Roberti MD², Silva DM³, Silva CC^{1,2}, Cruz AD^{1,2}

¹Pontifícia Universidade Católica de Goiás

²Secretaria de Saúde de Goiás

³Universidade Federal de Goiás

A hemofilia A (HA) é uma coagulopatia com transmissão hereditária ligada ao cromossomo X decorrente da deficiência ou defeito no fator VIII (FVIII) da hemostase sanguínea. Indivíduos portadores dessa coagulopatia necessitam de infusões constantes de FVIII para manter sua hemostasia e sua integridade física. Durante o tratamento alguns pacientes desenvolvem uma resposta imune que produz anticorpos (inibidores) anti-FVIII. Esses inibidores afetam a atividade pro-coagulante dessa proteína e diminuem a eficiência do tratamento, aumentando os custos desse e debilitando ainda mais o paciente. O objetivo do presente estudo é de analisar os fatores moleculares de risco envolvidos no desenvolvimento de inibidores relacionados à infusão do fator VIII da coagulação sanguínea. A identificação das inversões dos íntrons 22 e 1 do gene *F8* foram analisadas segundo o protocolo adaptado de Santos (2010). Os dados dos pacientes foram obtidos junto ao Sistema Nacional de Coagulopatias, *Hemovida Web Coagulopatias*, do MS/SUS e do Serviço Ambulatorial do Hemocentro de Goiás. De acordo com os dados obtidos foram observadas diferenças estatisticamente significativas, utilizando o teste de ANOVA. Comparando os grupos que apresentaram risco genético positivo (RG+), *inv* 22 ou 1 no gene *F8*, e negativo (RG-), ausência das inversões, foram observadas diferenças quanto à dosagem do FVIII infundido (KUI) [$p = 0,008$], sendo a dose média de FVIII para o grupo RG+ de 41,6 KUI/dia (DP±40,0) e 16,6 KUI/dia (DP±9,9) para o grupo RG-; quanto a dosagem de inibidor (Unidades de Bethesda-UB) anti-FVIII ($p = 0,002$), sendo a média observada para o grupo RG+ de 1,0UB (DP±0,9) e 0,2UB (DP±0,19) para o grupo RG-. Adicionalmente, foram observadas diferenças estatisticamente significativas, quanto a dosagem do FVIII endógeno (UI) dos hemofílicos estudados ($p = 0,04$), sendo a média observada de FVIII para o grupo RG+ de 0,88 (DP±0,5) e 6,41 (DP±6,2) para os hemofílicos que não apresentaram risco genético para os marcadores analisados. Os dados obtidos sugerem que a investigação molecular das mutações que envolvem

os íntrons 22 e 1 do gene *F8* representa potencialmente um alto valor preditivo tanto para o diagnóstico da hemofilia A, quanto para a conduta terapêutica por infusão do FVIII em pacientes hemofílicos com deficiência na produção do FVIII.

153

Implicações do risco genético no desenvolvimento de inibidores do FVIII na hemofilia A

Junior RL¹, Roberti MD^{2,3}, Silva DM³, Silva CC^{1,2}, Cruz AD^{1,2}

¹Pontifícia Universidade Católica de Goiás

²Secretaria de Estado da Saúde de Goiás

³Universidade Federal de Goiás

A hemofilia A (HA) é uma coagulopatia com transmissão hereditária ligada ao cromossomo X decorrente da deficiência ou defeito no fator VIII (FVIII) da hemostase sanguínea. Indivíduos portadores dessa coagulopatia necessitam de infusões constantes de FVIII para manter sua hemostasia e sua integridade física. Durante o tratamento alguns pacientes desenvolvem uma resposta imune que produz anticorpos (inibidores) anti-FVIII. Esses inibidores afetam a atividade pro-coagulante dessa proteína e diminuem a eficiência do tratamento, aumentando os custos desse e debilitando ainda mais o paciente. O desenvolvimento de inibidores contra o FVIII em pacientes hemofílicos compromete consideravelmente o tratamento destes pacientes, aumentando a morbidade e a mortalidade destes casos. Entre os fatores de risco previamente descritos estão o tipo de mutação presente no gene *F8*, além de aspectos específicos do sistema imunológico. O Hemocentro de Goiás desempenha um papel fundamental na distribuição de fator VIII, especialmente para a população com poucos recursos econômicos. A identificação das inversões dos íntrons 22 e 1 do gene *F8* foram analisadas segundo o protocolo adaptado de Santos (2010). O presente estudo apresentou resultados importantes de pacientes hemofílicos A e da terapia de reposição do FVIII. O estado de Goiás está entre os dez estados com a maior taxa de casos hemofilia A, representando cerca de 3% (231/8.369) dos casos dentro de um determinado ano. Foram avaliados 373 pacientes submetidos a um diagnóstico clínico de coagulopatia hereditária ao longo de Goiás em 2010. Destes, 231 pacientes foram diagnosticados com hemofilia A, que também foi avaliada para a gravidade da doença, a presença de inibidores de FVIII e contra o risco genético. Cerca de 62% (13/21) de todos os pacientes que desenvolveram inibidores contra FVIII apresentaram condições severas. O nosso estudo mostrou uma incidência geral (12,5%) [21/168] de inibidores em pacientes com hemofilia A. Destes, 61,9% (13/21) tiveram HA grave. De acordo com o risco genético, metade (13/26) dos pacientes com alterações moleculares positivas apresentaram inversão do *intron* 22 em HA grave. Ao considerar o risco de desenvolvimento de inibidores de acordo com grupos étnicos, como relatado em outras populações, observou-se uma incidência maior entre os pacientes afro-descendentes (35%) quando comparados com pacientes caucasianos (15%). O teste de *Odds ratio* indicou que pacientes com alto risco de mutações (inversão de íntrons 22:1) foram 3,3 vezes mais propensos a desenvolver inibidores quando comparados aos pacientes com o alelo do tipo selvagem. A prevalência de genótipos de alto risco (inversão do *intron* 22 ou 1) na população masculina em Goiás (2010) foi de $7,7 \times 10^{-6}$. Os nossos dados indicam uma alta probabilidade de transmitir a mutação do gene *F8* para outras gerações associados com um risco aumentado de desenvolver inibidores contra o FVIII.

**HEMOSTASIA E PAREDE VASCULAR:
DOENÇAS DE PLAQUETAS****154****Agregação plaquetária: experiência do Hospital Sarah nos últimos três anos**Soares AL¹, Mendona CA¹¹Rede SARAH de Hospitais de Reabilitação

Introdução: O exame de agregação plaquetária é comumente utilizado para o diagnóstico de alterações qualitativas de plaquetas, tais como trombastenia de Glanzmann, síndrome de Bernard Soulier, doença de von Willebrand e deficiência do pool plaquetário. A utilização deste exame para monitorar o tratamento de indivíduos em uso de antiagregantes plaquetários ainda não foi consolidada devido ao fato de pouco se conhecer sobre as possibilidades de alteração de protocolos clínicos a partir do resultado do exame. O objetivo deste estudo foi identificar a frequência do exame e a caracterização das respostas frente ao uso ou não de antiagregantes plaquetários dos pacientes avaliados pelo hospital. **Métodos:** Nos últimos três anos (2010 a 2012) o hospital SARAH Brasília realizou 43 exames de agregação plaquetária sendo que 19 pacientes estavam em uso de medicação antiagregante e 24 não estavam em uso de medicamento. Os agentes agregantes utilizados nos exames foram: ácido araquidônico, colágeno, ristocetina e ADP com análise de degranulação através de luminescência. Foram colhidos 3,5mL de sangue em citrato 3,2% de cada paciente e o exame foi realizado dentro do prazo de três horas após a coleta utilizando o agregômetro Chrono-log. **Resultados:** Todos os pacientes em uso de medicamento antiagregante (AAS, clopidogrel e ticlopidina) apresentaram inibição da agregação de acordo com o esperado, e os pacientes que não estavam em uso apresentaram agregação normal. Os pacientes que realizaram o exame para avaliar a suspensão do medicamento apresentaram agregação normal, porém sem degranulação. Nenhum paciente foi avaliado em dois momentos. **Discussão:** O exame de agregação quando realizado com sangue total permite a avaliação do paciente utilizando um volume de sangue significativamente menor (3,5mL) que o necessário para a técnica que utiliza plasma rico em plaquetas (20mL) além de mimetizar, durante o teste, o ambiente da formação do agregado plaquetário com os demais elementos celulares. Durante o período analisado não houve ocorrência de pacientes com deficiência funcional de plaquetas. Através da análise das curvas de agregação, pode-se observar que em pacientes com uso interrompido de AAS, a agregação ocorre após alguns minutos de latência, fato observado em dois pacientes que faziam uso contínuo de AAS. O exame de agregação plaquetária em sangue total apesar de quantificar a resposta de agregação em resistividade (ohms) conduz a uma interpretação qualitativa do resultado (presença ou ausência de agregação). Existe uma quantidade mínima de plaquetas necessárias para a execução do exame, entretanto não se tem um valor padronizado de número de plaquetas para cada teste. Dessa forma, valores aumentados da resposta, atualmente, não são bem compreendidos. O exame, apesar de suas limitações, é capaz de distinguir pacientes que estão ou não em uso de antiagregantes.

155**Validação do exame de agregação plaquetária - HEMOAL**Alves DC¹, Dias MB¹, Almeida HC¹¹Hemocentro Regional de Alagoas

A agregação plaquetária ocorre devido à formação de pontes de fibrinogênio, pois este se liga ao receptor na membrana plaquetária, GP IIb/IIIa, que na presença do Ca⁺⁺ forma um complexo estável na superfície das plaquetas ativadas. Essa também ocorre devido ao metabolismo do ácido araquidônico, sendo o mesmo liberado a partir da membrana fosfolipídica das plaquetas pela ativação da enzima fosfolipase A2 e, subsequentemente, a enzima ciclooxigenase (COX-1) converte o ácido araquidônico em endoperoxídeos cíclicos. Esses são então convertidos pela tromboxana sintetase à tromboxana A2 (TXA2), funcionando como um potente agonista que induz a agregação. A amplificação e propagação contínua da agregação plaquetária é ativada pela formação de agregados plaquetários e a expulsão de ADP e de outras substâncias ativas das organelas plaquetárias. Antes, ou ao mesmo tempo da reação de liberação, tem-se uma primeira alteração estrutural bem definida nas plaquetas ativadas, representada por uma transformação do formato discoide para esferas espinhosas com protrusões ou filópodes, sendo esta considerada como a primeira e reconhecida mudança no formato plaquetário. O exame de agregação plaquetária é realizado a partir do plasma do paciente em um instrumento fotóptico denominado agregômetro. O plasma enriquecido de plaquetas é colocado em contato com agentes agregantes. Ocorre, então, a formação crescente de grandes agregados plaquetários, acompanhados de diminuição da turbidez da amostra. A mudança na densidade ótica é transmitida pelo instrumento, em porcentagem de agregação. Os agentes agregantes normalmente utilizados no teste são ADP (adenosina difosfato), colágeno, adrenalina, ácido araquidônico e ristocetina. Como este exame é de extrema importância para o Serviço de Hemoterapia do Estado de Alagoas sendo o mesmo apenas realizado no Hemocentro de Alagoas, se fez necessário a validação do mesmo em relação a população a quem atendemos diariamente, foram colhidos de 34 funcionários da instituição (indivíduos normais, sem uso de medicamentos) 04 tubos de sangue em citrato de sódio 3,2% no período de 05 a 27 de junho de 2013, realizamos agregação plaquetária, de todos os indivíduos, com os seguintes agonistas plaquetários (Chrono-log): ADP 5 uM, ADP 1 uM, Adrenalina 5 uM, Ácido Aracídico 0,5 mM, Colágeno 2 ug/ml, Ristocetina 1,2 mg/ml e Ristocetina 0,6 mg/ml os resultados foram interpretados e descartados as curvas anormais. Após isso foram calculados a média, desvio padrão e o intervalo de referência da agregação plaquetária para cada agonista. Os resultados obtidos seguem abaixo conforme abaixo:

Agonista plaquetário: ADP – Concentração: 5 uM - Valor de referência: 60 -83%

Agonista plaquetário: Ristocetina – Concentração: 1,2 mg/ml - Valor de referência: 64-89 %

Agonista plaquetário: Ristocetina– Concentração: 0,6 mg/ml - Valor de referência: 0 – 5 %

Agonista plaquetário: Colágeno - Concentração: 2 ug/ml - Valor de referência: 67-95 %

Agonista plaquetário: Ácido aracídico - Concentração: 0,5 mM - Valor de referência: 71-93 %

Agonista plaquetário: Adrenalina - Concentração: 5uM - Valor de referência: 61-86 %

156

Epistaxe intensa em cão com doença de von WillebrandDalmolin ML¹, Lasta CS¹, Lacerda LA¹, Camargo VM¹, Coutinho ML¹, Junior IS¹¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul

A doença de von Willebrand (DvW) resulta de uma deficiência quantitativa e/ou qualitativa do fator de von Willebrand (FvW). É classificada como um defeito extrínseco à plaqueta, onde a falha da resposta hemostática é atribuída à deficiência de um fator plasmático necessário para a função plaquetária normal, e não a um defeito primário da plaqueta. Para o diagnóstico, o Ag:FvW é determinado em ensaios imunológicos que determinam a quantidade de proteína presente no plasma. Animais com concentrações de Ag:FvW abaixo de 50% são considerados potencialmente com DvW. Canino, fêmea, São Bernardo, seis meses de idade atendido em Hospital Veterinário com epistaxe bilateral contínua, apatia, inapetência e fezes escurecidas. Ao exame clínico observaram-se mucosas hipocoradas, desidratação de 8%, taquicardia, hipertermia, apatia, dispneia grave, estertores e condição corporal magra. Avaliação laboratorial demonstrou anemia grave (hematócrito: 13%; Intervalo de ref. 37 – 55%) regenerativa, leucocitose neutrofilica e hipoproteinemia; TP, TTPA e contagem de plaquetas dentro dos valores normais para a espécie; e tempo de sangramento da mucosa bucal prolongado (17 minutos). O Ag:FvW foi determinado por ELISA utilizando anticorpos monoclonais e policlonais anti-FvW humano. O paciente apresentou um valor de Ag:FvW de 4% em relação a um controle de plasma de cães normais. Após prova de compatibilidade, foram administrados concentrado de hemácias e plasma fresco congelado; porém, o paciente apresentou piora do quadro respiratório e veio a óbito no mesmo dia. A manifestação clínica da DvW é variável e depende de diversos fatores. A extensão da deficiência e o tipo de DvW são as variáveis mais importantes para determinar a probabilidade e a severidade da hemorragia. No presente caso a baixa quantidade de FvW foi o fator determinante para a ocorrência de sangramentos. O resultado do Ag:FvW demonstra que o paciente apresentava provavelmente uma deficiência do tipo I, a forma mais comum da doença, caracterizada por uma deficiência quantitativa parcial na concentração da proteína. As principais complicações da DvW são as hemorragias, que dependendo da intensidade e do local podem levar a anemias graves, hipóxia tecidual, hipovolemia, hipoproteinemia ou comprometimento de sistemas, como SNC ou urinário, por exemplo. A severidade e o tipo de anemia, e a hipoproteinemia refletem a cronicidade do processo hemorrágico oriundo da epistaxe e, além disso, o aspecto das fezes indicava hemorragia gastrointestinal concomitante. O quadro respiratório, associado à anemia contribuiu para a gravidade da hipóxia do paciente, e provavelmente este fato levou o mesmo ao óbito. Ainda, aspiração de sangue pode ter contribuído para o colapso respiratório. Doenças hereditárias devem constar no diagnóstico diferencial de pacientes jovens com distúrbios hemostáticos. Testes de triagem como contagem de plaquetas, TP e TTPA normais em paciente jovem com histórico de sangramento sugerem distúrbio de função plaquetária. A determinação do Ag:FvW é um teste essencial para pacientes com histórico de diátese hemorrágica sem coagulopatia e/ou trombocitopenia e pode ser conclusivo para o diagnóstico de DvW. Diagnóstico precoce, intervenção terapêutica adequada e reposição de FvW são essenciais para o controle da DvW. Com base nos achados clínicos e exames laboratoriais o paciente foi diagnosticado com DvW tipo I. Suporte Financeiro: CNPq e CAPES.

157

Paciente com trombocitopenia imune crônica tratado com Eltrombopag sem esplenectomia préviaGomes L¹, Costa AP¹, Guasti G¹, Medeiros C¹, Duarte C¹¹Hospital Central do Exército

Trombocitopenia Imune Primária é uma doença imunomediada caracterizada pela diminuição transitória ou persistente das plaquetas. A doença é causada por autoanticorpos ou por complexos imunes, que diminuem a meia-vida plaquetária e também atuam diminuindo o número de megacariócitos, inibindo sua maturação. O eltrombopague é um agonista não competitivo do receptor da trombopoietina que induz a proliferação e a diferenciação em células da linhagem megacariocítica. Descreveremos a seguir um caso de paciente tratado com eltrombopag sem esplenectomia prévia. Paciente de 92 anos, sexo masculino, branco, com queixa de "problema no sangue". O paciente foi encaminhado ao Serviço de Hematologia do Hospital Central do Exército, em maio de 2000, para investigação diagnóstica de trombocitopenia, com restante do hemograma normal. Os exames laboratoriais mostraram-se todos dentro da normalidade. Exame físico sem alterações. Perdeu seguimento em 2002 retornando em 2008 com mesmas alterações no hemograma. Mantinha consultas trimestrais com contagem plaquetária variando de $81 \times 10^9/L$ a $112 \times 10^9/L$ até maio de 2012, quando apresentou petéquias em membros superiores e vários hematomas em membros inferiores e tronco. Hemograma realizado na emergência do Hospital naquela noite que mostrava plaquetopenia de $4 \times 10^9/L$. Referiu que foi vacinado para gripe havia 10 dias. Devido à urgência não foi realizado o aspirado e a biópsia de medula óssea, sendo iniciado prednisona 1mg/kg/dia na Emergência. Apresentou resposta parcial após 4 semanas. Iniciada retirada progressiva do corticoide até a sua suspensão, porém, após uma semana, novo hemograma mostrou plaquetometria de $14 \times 10^9/L$. Decidido por pulso de dexametasona 40mg via oral/dia por 4 dias sem resposta. Prescrita imunoglobulina humana venosa 400mg/kg por 5 dias, juntamente com prednisona 1mg/kg/dia. Após duas semanas, apresentou resposta completa. Devido a efeitos colaterais do corticoide, foi decidido, depois de 4 semanas de uso, a retirada progressiva da corticoterapia. A medida que a dosagem da prednisona diminuía, a contagem plaquetária também reduzia, chegando a $16 \times 10^9/L$ com o uso de 10mg/dia da prednisona. A equipe da Hematologia e a da Cirurgia Geral conversaram com o paciente e seus familiares sobre a esplenectomia, expondo os benefícios e os riscos do procedimento. Tanto o paciente como os familiares se recusaram ao procedimento, sendo decidido, em agosto de 2012, iniciar o uso de eltrombopague 50mg/dia em associação com prednisona oral na dose de 20mg/dia. Após uma semana de eltrombopague, a contagem plaquetária atingiu $178 \times 10^9/L$, sendo iniciada a diminuição progressiva da prednisona. Após nove meses de uso de eltrombopague, o paciente não apresentou nenhum efeito colateral da droga nem manifestação hemorrágica e foi mantido com prednisona 10mg/dia. No último hemograma, feito em abril de 2013, a contagem plaquetária está em torno de $50 \times 10^9/L$. O consenso de 2011 da Sociedade Americana de Hematologia sugere o uso de agonistas do receptor da trombopoietina em pacientes adultos com PTI crônica com risco de sangramento, que não responderam à primeira linha de tratamento. Já o consenso internacional recomenda o uso dos agonistas do receptor da trombopoietina como terapia de segunda linha. O eltrombopague, mostrou-se eficaz e seguro no manejo da PTI crônica. Não foram observados efeitos colaterais que limitassem o uso do medicamento.

158

Storage pool plaquetária: diagnóstico e acompanhamentoOliveira NO¹, Neto CM¹, Cruz MG¹, Andrade IG¹¹Universidade Católica de Brasília

A doença do pool plaquetário ou storage pool, pode ser congênita ou adquirida, e é uma desordem plaquetária que acarreta em um prolongamento do tempo de sangramento dos indivíduos acometidos. Sabe-se que tal comorbidade ocorre pela redução dos níveis de ADP dos corpos densos (granulos alfa e delta) das plaquetas, impedindo assim a progressão de uma agregação plaquetária adequada. O diagnóstico pode ser feito por meio de microscopia eletrônica, mas em nosso meio o método mais comum é o teste de agregação plaquetária, sendo este deficitário na agregação com adrenalina e ADP. Este trabalho se propõe a apresentar o caso de uma paciente encaminhada ao ambulatório após a necessidade de uma histerectomia pós-parto decorrente de atonia uterina e sangramento de grande volume. Após uma investigação criteriosa foi diagnosticada a doença do pool plaquetário, que possibilitou um controle ambulatorial das alterações da paciente. Atualmente a mesma segue sem maiores intercorrências e necessita apenas de preparação pré-cirúrgica com concentrado de plaquetas (aférese).

159

Púrpura trombocitopênica imunológica induzida por diclofenaco: relato de casoSantos GL^{1,2}, Figueiredo SS^{1,2}, Pita DF¹, Gomes EM¹, Costa IN¹, Miranda LA¹, Litvin MA¹¹Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba²Universidade Federal de Campina Grande

Introdução: A púrpura trombocitopênica imunológica (PTI) é uma doença de caráter autoimune, na qual autoanticorpos antiplaquetários se ligam às proteínas da membrana de plaquetas circulantes, resultando na sua destruição pelo sistema reticuloendotelial. A trombocitopenia induzida por drogas (TID) é uma condição de alta prevalência, porém quando causada por anti-inflamatório não hormonal, no caso Diclofenaco, é raramente descrita. Para relacionar a ocorrência da trombocitopenia ao uso de determinada droga, devem ser satisfeitos alguns critérios tais como: o tratamento com a determinada droga deve preceder a trombocitopenia; outras causas para a trombocitopenia também devem ser descartadas; após a suspensão da droga, o número de plaquetas deve retornar, pelo menos, aos níveis basais; e a confirmação do diagnóstico pode ser feita *in vitro* na presença da droga. **Objetivo:** Relatar caso de mulher com apresentação de púrpura trombocitopênica imunológica induzida por uso de Diclofenaco Sódico. **Relato de Caso:** MPSC, 74 anos, sexo feminino, foi admitida no ambulatório de hematologia do Hemocentro da Paraíba em 25.03.13 apresentando hemorragias cutaneomucosas, petéquias e equimoses, além de plaquetopenia grave (2.000/mm³). A paciente ainda relatou que fez uso prévio constante de Diclofenaco sódico para lombalgia. Em seguida, foi encaminhada para o Hospital Santa Isabel, onde foi internada e iniciada a investigação diagnóstica juntamente à terapia com Imunoglobulina Endovenosa (4 frascos de 5g em dias seguidos por cinco dias); Metilprednisolona (1g EV/dia durante três dias); Prednisona - 20mg (2 comprimidos e meio/dia por 15 dias com posterior redução conforme hemogramas sequenciais); Omeprazol (20mg/dia em jejum). Após suporte terapêutico, a paciente evoluiu bem, com redução das equimoses e petéquias, não apresentando sangramento. No dia 02.04.13, a paciente recebeu alta hospitalar com contagem plaquetária de 256.000/mm³. **Discussão:** A trombocitopenia induzida por drogas (TID) é uma condição bastante prevalente,

sobretudo em pacientes hospitalizados, não sendo frequentemente de diagnóstico e manejo fácil. É uma patologia que carece de dados epidemiológicos relevantes sobre a sua incidência na população brasileira, dificultando o seu estudo. Por outro lado, quando induzida por diclofenaco é uma condição rara. Existem inúmeros testes para identificação de anticorpos induzidos por drogas, que podem causar a trombocitopenia ou até interferir no funcionamento das plaquetas; entretanto, o diagnóstico não pode ser baseado apenas nesses testes, devido a difícil realização e padronização dos mesmos. Diante disso, o diagnóstico de TID é feito, principalmente, através da investigação clínica. O tratamento da trombocitopenia induzida por droga é realizado a partir da suspensão do medicamento, e em casos de plaquetopenia severa utiliza-se corticoide e imunoglobulina endovenosa.

160

Plaquetopenia e esquistossomose na gestação: relato de casoAguar RA¹, Paula JC¹, Chianca LM¹, Souza SA¹, Shikanai S¹¹Hospital das Clínicas UFMG

A redução fisiológica de plaquetas na gestação é esperada e é predominantemente causada por hemodiluição, principalmente no terceiro trimestre. Esquistossomose é uma infecção endêmica no Brasil, atinge cerca de 40 milhões de mulheres em idade fértil no mundo, tal diagnóstico deve ser aventado como causa de plaquetopenia. Doença infecciosa parasitária provocada pelo *Schistosoma* de início assintomático, podendo evoluir para formas clínicas graves. Na fase crônica, a doença manifesta com obstrução pré-sinusoidal do fluxo sanguíneo acarretando hipertensão porta e hiperesplenismo secundário com consequente plaquetopenia. **Objetivo:**relatar caso de plaquetopenia secundária à esquistossomose crônica, internada no HC da UFMG. Paciente, 30 anos, apresentou, em 2010, hemograma indicando plaquetopenia, não investigada. Dezembro/2012, apresentou quadro de astenia, hiporexia e vertigens associada plaquetopenia (42.000/mm³). Março/2013, foi diagnosticada gestação. A paciente então encaminhada a um serviço de hematologia de uma maternidade de Belo Horizonte. A causa da plaquetopenia persistente foi atribuída a Púrpura Trombocitopênica Idiopática (PTI). Abril/2013, paciente conduzida a internação clínica para início do tratamento com corticoide (Prednisona 40mg/dia). A paciente refrataria ao tratamento com a dose inicial de corticoide, aumentada a dose até 80mg/dia de prednisona. Desenvolveu, secundário à corticoterapia, diabetes, sendo iniciada insulino terapia. Maio/2013, a gestante foi internada no HC - UFMG para investigação adicional de plaquetopenia persistente. Expandiu-se a propedêutica para investigação de diagnósticos diferenciais relacionados à plaquetopenia. Realizada à ultrassonografia abdominal que evidenciou alterações hepáticas sugestivas de hipertensão portal secundárias a esquistossomose, e em seguida, endoscopia digestiva alta, revelando varizes esofageanas e subcárdicas. Considerando a propedêutica realizada, afastou-se o diagnóstico clínico inicial de PTI e foi aventado que a paciente era portadora de esquistossomose. Foi iniciado o descalonamento gradual da prednisona e reduzida a dose de insulino terapia. A gestante recebeu alta hospitalar em boas condições clínicas com encaminhamento para os Ambulatórios de Gastroenterologia, Hematologia, Endocrinologia e Pré Natal de Alto Risco do serviço do HC-UFMG, onde mantém acompanhamento. **Discussão:** Trombocitopenia na gestação é um diagnóstico comum e multicausal. O tratamento da esquistossomose diagnosticada durante a gestação deve ser realizado durante o puerpério. Assinala-se que o sangramento das varizes esofageanas está associado a uma maior incidência de abortamento e morte perinatal. É indicada Endoscopia Digestiva Alta a cada trimestre para controle clínico das pacientes portadoras de varizes esofageanas. Embora a possibilidade de sangramento das varizes esofageanas seja aumentada, a via de parto pode ser definida por indicação obstétrica. No entanto, o período expulsivo não deve ser

prolongado, e a paciente deve ser submetida à profilaxia primária de sangramento com β -bloqueador. **Conclusão:** A ocorrência de casos de plaquetopenia a esclarecer em gestantes evidencia a importância de integração vertical entre as diversas especialidades clínicas com a obstetria a fim de implementar de medidas que possam proporcionar diagnóstico diferencial adequado com formação de rede de controle ágil e infra-estrutura adequada para sua gestão.

161

Fração imatura de plaquetas – determinação do intervalo de referência

Takihi IY¹, Mourad SC¹, Ferreira TZ¹, Franchini CA¹, Muramoto FJ¹, Chauffaille ML¹, Rizzatti EG¹, Sandes AF¹

¹Grupo Fleury

Introdução: Os equipamentos hematológicos modernos permitem, além da contagem de plaquetas ópticas por citometria de fluxo fluorescente, a quantificação da fração de plaquetas imaturas (IPF). O IPF representa as plaquetas jovens, também conhecidas como plaquetas reticuladas. Para a quantificação das plaquetas imaturas, o analisador necessita de um software específico e pode ser medida no equipamento Sysmex, através da utilização de dois corantes fluorescentes (oxazina e polimetina) no canal de reticulócitos, onde as plaquetas são divididas em plaquetas maduras e imaturas, de acordo com as suas intensidades de fluorescência. O IPF (%) corresponde à razão das plaquetas imaturas presentes no número total de plaquetas. Vários trabalhos mostram a relevância clínica deste parâmetro na diferenciação entre plaquetopenias secundária a diminuição de produção ou destruição periférica das plaquetas e na recuperação pós transplante de medula óssea. O IPF apresenta grande potencial para ser incorporado à prática clínica, especialmente no diagnóstico e monitoramento de pacientes com trombocitopenia e seu uso implica na necessidade da definição do intervalo de referência. **Objetivo:** Estimar o intervalo de referência para o IPF (%) utilizando os equipamentos Sysmex-2100 e Sysmex-5000 em indivíduos de todas as idades, a partir das análises da rotina laboratorial. **Métodos:** Foram avaliados os resultados de 287 análises consecutivas de IPF no período de 15/06 a 15/07 de 2013. Foram selecionadas amostras de sangue periférico de indivíduos normais, coletadas em tubo EDTA, com base nos seguintes critérios: hemogramas sem alertas do equipamento; contagem normal de reticulócitos; leucócitos de 3.500 a 10.500/mm³; plaquetas de 150.000 a 450.000/mm³; em associação aos seguintes valores de hemoglobina (Hb): sexo masculino > 16 anos (Hb: 13,5 a 17,5 g/dL); sexo feminino > 16 anos (Hb: 12,5 a 16,5 g/dL); ambos os sexos com idade de 1-15 anos (Hb: 11 a 14,5 g/dL). Dentre as amostras avaliadas, 147 eram do sexo feminino com idade entre 2-89 anos e 140 eram do sexo masculino, com idade entre 1-84 anos. Para a análise e cálculo do IPF foi utilizado o método da fluorocitometria de fluxo com laser semiconductor com o equipamento Sysmex. As rotinas foram monitoradas pelo uso diário de três níveis do controle E-check. Para a estimativa do intervalo de referência, foi utilizado o programa *EP Evaluator RI*, com base nos critérios da *National Commission for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)*. **Resultados:** Os valores obtidos de IPF (%) apresentaram distribuição Gaussiana, condicionando o uso de estatística não-paramétrica para a determinação de intervalo que incluísse os 95% dos dados centrais. Para o conjunto de todos os indivíduos testados, os limites inferior e superior de IPF foram, respectivamente, 1,1% (intervalo de confiança de 90%: 0,8 a 1,2) e 6,8 (intervalo de confiança de 90%: 6,0 a 7,1). **Discussão:** A análise de distribuição dos valores de IPF não apresentou diferenças significativas do intervalo de referência entre a população global avaliada e entre os diferentes subgrupos categorizados por sexo e idade. Dessa forma, os resultados obtidos no equipamento Sysmex permitem a utilização de um único intervalo de referência para o IPF.

162

Associação entre valores elevados de troponina I e volume plaquetário médio em uma população hospitalar

Loureiro G¹, Pintão MC¹, Bassitt RP¹, Oliveira LA¹, Firmiano A¹, Scarpellini B¹, Chauffaille ML¹

¹Fleury Medicina e Saúde

Introdução: O infarto agudo do miocárdio (IAM) é uma das principais causas mundiais de morbimortalidade. A dosagem das troponinas cardíacas, juntamente com o eletrocardiograma, formam as bases da investigação diagnóstica inicial e complementam a história clínica. O uso de dados laboratoriais adicionais pode contribuir para interpretação dos resultados. O volume plaquetário médio (VPM) é um parâmetro calculado pelos contadores automáticos modernos. A reatividade plaquetária aumentada está associada com aumento do VPM e também com o aumento do risco individual de desenvolvimento de IAM. O objetivo deste estudo foi avaliar a associação entre os valores de troponina I (TnI) e os valores de VPM em uma população hospitalar. **Métodos:** Levantamento retrospectivo de TnI e VPM obtidos num período de 6 meses (JAN a JUN 2013) num hospital de São Paulo. Para análise, foram selecionados casos que coletaram amostra para dosagem de TnI e hemograma (HMG) no mesmo momento. A TnI foi dosada no Cobas®E411 (Roche) com kit Troponin I STAT (Roche) e resultado expresso em ng/mL (VR: <0,16 ng/mL). VPM foi determinado em conjunto com o HMG (Sysmex XE-5000) e valores expressos em fL (VR: 9,2 a 12,6 fL). Para análise estatística foi usado teste t-Student e resultados foram considerados significantes quando p<0,05. **Resultados:** Avaliados 6383 casos consecutivos (62,2% sexo masculino, idade mediana 68 (5-102) anos) com resultados de TnI e VPM obtidos na mesma coleta. Esta população foi dividida em dois grupos, de acordo com o resultado do TnI (acima ou abaixo do VR). O VPM (média $\pm$ desvio padrão) mostrou-se maior no grupo de indivíduos com TnI elevado (1339 indivíduos (21%)) em comparação ao grupo com TnI normal: 10,44 $\pm$ 0,92 fL vs 10,22 $\pm$ 0,88 fL, respectivamente; p<0,0001. Adicionalmente, avaliamos o valor do VPM em um subgrupo de indivíduos com TnI elevado, porém próximo ao VR (0,16 a 0,20 ng/mL). O VPM mostrou-se maior também neste grupo em comparação aos indivíduos com TnI normal: 10,52 $\pm$ 1,03 fL vs 10,22 $\pm$ 0,88, respectivamente; p<0,0001. **Discussão e Conclusão:** O aumento do VPM está associado a processos inflamatórios crônicos, incluindo aqueles que contribuem para o IAM. Estudos associando IAM e aumento de VPM ainda são controversos. VPM aumentado foi associado a outras condições clínicas como diabetes e eventos cerebrovasculares, situações com aumento de risco de IAM. Nossos resultados sugerem que o valor do VPM é maior nos indivíduos com TnI aumentada em comparação aqueles com TnI normal, mesmo quando o grupo de indivíduos com TnI limítrofe é avaliado separadamente. Na ausência de outros comemorativos, o diagnóstico de IAM em pacientes com dosagem limítrofe de TnI representa um desafio e a inclusão de um marcador auxiliar poderia contribuir para a avaliação. Este estudo possui, porém, limitações. A avaliação foi baseada apenas em dados laboratoriais. A TnI pode estar aumentada também em condições como miocardites, ICC, entre outras. Análises futuras com mais dados poderão enriquecer a análise. Além disso, as dosagens representam amostras consecutivas, sendo que um mesmo paciente pode possuir várias dosagens seriadas. Por outro lado, a verificação da diferença entre o VPM médio em grupos estratificados é relevante, principalmente no grupo de amostras com TnI limítrofe. Mais estudos são necessários na tentativa de melhor caracterizar tais grupos.

163

Avaliação da fração de plaquetas imaturas (IPF) e outros parâmetros avançados plaquetários em pacientes com trombocitopeniaFerreira FL¹, Colella MP¹, Ozelo MC¹, Gilberti MF¹, Tomé DA¹, Castro V¹, Orsi FA¹, Annichino-Bizzacchi JM¹, Paula EV¹¹Universidade Estadual de Campinas

Introdução: Nos últimos anos, novos analisadores hematológicos disponibilizaram uma série de novos parâmetros analíticos potencialmente úteis na avaliação diagnóstica de pacientes com trombocitopenias. Recentemente, a capacidade de um destes parâmetros, o Volume Plaquetário Médio (VPM), em distinguir plaquetopenias hereditárias de plaquetopenias imunes, foi validada em um estudo multicêntrico conduzido sob condições próximas à da prática clínica diária. Dentre os novos parâmetros plaquetários, a fração de plaquetas imaturas (IPF) representa a proporção de plaquetas com conteúdo mais elevado de RNA dentro do pool de plaquetas circulantes. O IPF é determinado de forma automatizada, pela técnica de citometria de fluxo, durante a análise do hemograma completo. Estudos realizados na última década demonstraram que o IPF é um bom marcador da trombocitopenia, encontrando-se elevado em trombocitopenias imunes e reduzido em trombocitopenias hipoplásticas, como a aplasia de medula óssea. Mais recentemente, o IPF vem se revelando um potencial marcador prognóstico em condições inflamatórias como a sepse e as coronariopatias. **Métodos:** Neste trabalho, avaliamos uma população de 47 pacientes (masculino:feminino 16:31) com diagnóstico confirmado de Púrpura Trombocitopênica Imune (PTI) através da determinação do IPF, além de outros parâmetros plaquetários disponíveis no hemograma completo. A determinação do IPF foi realizada em um analisador Sysmex XE5000, após consentimento escrito de todos os pacientes. Os resultados foram comparados com os valores obtidos em uma população de 178 voluntários saudáveis, utilizada para determinação dos valores de referência local. **Resultados e Conclusão:** os valores de IPF (%), VPM (fL), largura da distribuição plaquetária (PDW) e da proporção de megaplaquetas (P-LCR; %) apresentavam todas diferenças estatisticamente significativas entre pacientes e controles (todos os valores de $P < 0,001$). O parâmetro com melhor correlação com a contagem plaquetária foi o IPF ($R_s = -0,65$; $P < 0,001$). A estimativa de acurácia diagnóstica pela análise da área sob a curva ROC mostrou que o IPF apresenta a melhor performance para segregação de pacientes e controles entre todos os parâmetros avaliados ($AUC = 0,96$; $IC_{95\%} 0,93-0,99$; $P < 0,0001$). Em conclusão, o IPF (%) apresenta-se elevado em pacientes com PTI em relação a indivíduos controle. Novos estudos estão em andamento para avaliação do papel deste parâmetro para o diagnóstico etiológico de pacientes com trombocitopenia.

164

Successful management of ITP during pregnancy: weekly IVIg is an optionVillaca PR¹, Okazaki E¹, Valim AK¹, Chamone DA¹, D'amico EA¹¹Universidade de São Paulo

Background: Primary ITP is an autoimmune disorder characterized by isolated thrombocytopenia (peripheral blood platelet count $< 100 \times 10^9/L$) in the absence of other causes or disorders that may be associated with thrombocytopenia. Pregnancy does not increase the risk of developing ITP nor does it exacerbate preexisting ITP, although anecdotal reports of exacerbation of ITP during pregnancy with improvement after delivery. Treatment is largely based on the risk of maternal hemorrhage. Studies have shown that pregnancy in women with ITP can proceed safely with low hemorrhagic risk,

with around 1/3 of patients requiring intervention. Throughout the first 2 trimesters a platelet count at 20 to $30 \times 10^9/L$ or higher do not routinely require treatment, unless the patient is symptomatic or to produce an increase in platelet count to a level considered safe for procedures. They should be monitored more closely as delivery approaches. Corticosteroids are the first line of therapy in pregnant women; intravenous immune globulin (IVIg) is commonly used in steroid resistant patients. Other treatments such as intravenously administered anti-D (IV anti-D) and splenectomy during pregnancy have been reported. The mode of delivery is determined by obstetrical considerations. **Case Report:** A 20-year-old woman was admitted to the hospital during week 20 of her first pregnancy because of thrombocytopenia ($3 \times 10^9/L$) without bleeding. She had no history of infection or drug intake. A subclinical hypothyroidism was diagnosed. Laboratory studies revealed a hemoglobin of 11.7 g/dL, WBC counts $12.300 \times 10^9/L$ (normal differential), and normal coagulation and serological tests. She was started on oral doses of 60 mg of prednisone daily and IVIg (1 g/Kg/d for 2 days) with a complete response. Despite being maintained with steroids, there was a significant drop in platelet count after 14 days. At this time she presented with petechiae on the trunk and limbs, and she was noted to be hypertensive. IVIg was administered again and a single weekly IVIg (400 mg/Kg) infusion was given, which provided a normal platelet count. In the absence of any response and because of hypertension, steroid was tapered to 30 mg. Cesarean section was performed and she gave birth to a female infant with a normal platelet count. **Summary:** Due to the paucity of RCTs, recommendations for the diagnosis and management of ITP in pregnancy are mainly based on clinical experience and expert consensus. First-line treatment of ITP in pregnancy include corticosteroids, IVIg, IV anti-D and splenectomy. There are no comparative trials of corticosteroids and IVIg in pregnant women; however, response rates are similar to those in non-pregnant patients. For the management of maternal ITP patients failing firstline treatment, azathioprine, cyclosporin A, splenectomy may be some options to be used before delivery. In our patient, a single weekly IVIg infusion was sufficient to prevent hemorrhage and provide an adequate platelet count for delivery. IGIV therapy offers a therapeutic modality in managing the difficult patients with ITP throughout their pregnancy.

165

Avaliação da agregação plaquetária em plasma rico em plaquetas nativo e normalizadoMartins EC¹, Silva CR¹, Oliveira PD¹, Braga JM¹, Leones AP¹, Pintao MC¹¹Setor de Hemostasia, Grupo Fleury

O teste de agregação plaquetária é o principal método para avaliação laboratorial da função plaquetária. A agregação por sistema óptico avalia a variação da transmissão de luz através de um plasma rico em plaquetas (PRP) a partir da adição de determinados agonistas (*light transmission aggregometry*, LTA). Apesar de ser o método de referência para a avaliação das plaquetopatias, existe grande variação entre os protocolos adotados para sua realização. Uma destas variações concerne o preparo do PRP. Até recentemente, a maioria dos protocolos preconizava o ajuste da contagem de plaquetas do PRP através da diluição do PRP nativo em plasma pobre em plaquetas (PPP) autólogo (PRP normalizado). Estudos recentes sugerem que o uso do PRP nativo (até cerca de 600.000 plq/mm³) não afeta o resultado da LTA e que a manipulação do plasma pode levar à inibição da função plaquetária. Para tentar criar um padrão internacional, o subcomitê de fisiologia plaquetária da ISTH publicou, recentemente, orientações para a realização da LTA e a não normalização do PRP é uma delas. Neste estudo, avaliamos os resultados de LTA obtidos em PRP normalizado e em PRP obtidos neste laboratório. Amostras coletadas em citrato 3,2% foram centrifugadas durante 8 min a 200g para obtenção do PRP nativo. Uma alíquota deste foi

centrifugado novamente durante 15 min a 1.200g para preparação do PPP. Uma parte do PRP nativo foi diluída em PPP para obtenção do PRP normalizado (200.000 plqs/mm³). A outra parte foi testada na concentração obtida na primeira centrifugação, até o máximo recomendado de 600.000 plq/mm³. O teste foi realizado no equipamento aggRAM® (Helena Laboratories). A leitura da densidade óptica foi feita durante 10 min após a adição do agonista e o resultado foi expresso em porcentagem final de agregação. Os testes foram realizados em dias diferentes, conforme a entrada das amostras, mas para um mesmo indivíduo os tubos de PRP nativo e normalizado foram testados em paralelo. Os agonistas utilizados e o número de amostras testadas (n) por agonista foram: adenosina difosfato (ADP) 2,5 (n=39) e 10,0 µM (n=41); colágeno (COL) 1,0 (n=32) e 5,0 µg/mL (n=33); epinefrina 5 µM (EPI) (n=55); ácido araquidônico 0,5 mM (AA) (n=53); e ristocetina (RIS) 0,5 (n=40) e 1,2 (n=50) mg/mL. Os resultados foram analisados por agonista no programa EP Evaluator®. O erro total permitido foi estabelecido em 1/3 do erro total (15%). Os resultados foram considerados equivalentes para os testes com os agonistas ADP 10,0 µM, COL 5,0 µg/mL, AA, RIS 0,5 e RIS 1,2 mg/mL. Nove das 32 amostras testadas com ADP 2,5 µM, sete das 32 testadas com COL 1,0 µg/mL e oito das 55 testadas com EPI tiveram resultados não comparáveis e o maior índice de erros ocorreu em torno das agregações abaixo de 25%. Estes dados sugerem que os resultados da agregação plaquetária em PRP nativo e diluído é semelhante para alguns, mas não para todos os agonistas testados. Esta diferença não indica, per se, qual a melhor estratégia a ser adotada. Com bases em estudos publicados, especialistas têm trabalhado para estabelecer protocolos internacionais para realização da LTA. A adoção destes protocolos contribuirá, no futuro, para avanços no estudo das doenças plaquetárias.

HEMOSTASIA E PAREDE VASCULAR: DOENÇAS DA COAGULAÇÃO E FIBRINÓLISE

166

Artropatia hemofílica em cão

Lasta CS¹, Dalmolin ML¹, Lacerda LA¹, González FH¹¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Hemofilia é o transtorno de coagulação hereditário de maior ocorrência em humanos e cães. É composta por dois defeitos distintos: hemofilia A e B, causados pela deficiência de fator VIII (FVIII) e fator IX (FIX), respectivamente. Os fatores VIII e IX atuam como sinal amplificador para gerar a *explosão* de trombina que transforma o fibrinogênio plasmático em um coágulo de fibrina insolúvel. A tendência hemorrágica é identificada principalmente pela formação de hematomas, hemartroses, hemorragias espontâneas ou após traumas menores. A hemartrose recorrente pode levar à artropatia hemofílica, e posteriormente à degeneração articular. Testes de triagem para o diagnóstico de hemofilia incluem TTPA e TP. O diagnóstico definitivo é possível através da determinação da atividade coagulante dos fatores. É relatado um caso atendido em Hospital Veterinário de um canino, macho, raça Rottweiler, de 11 meses de idade, com histórico de claudicação do membro posterior esquerdo (MPE) desde os três meses de idade. Ao exame clínico o paciente apresentou aumento bilateral das articulações úmero-radio-ulnar e dor intensa, dificuldade de extensão e flexão do MAD e claudicação, contratura em flexão e atrofia muscular do MPE. Além disso, foi relatado sangramento exagerado na língua devido a uma pequena ferida e após a retirada de carrapatos nas regiões interdigitais. Os exames laboratoriais revelaram anemia leve (VG 31%), leucocitose por neutrofilia e monocitose, trombocitose, TP de 6 segundos (ref. < 10 segundos) e TTPA de 34 segundos (ref. < 20 segundos). De acordo com o histórico, sinais clínicos e perfil de coagulação, o

diagnóstico provisório foi hemofilia, sendo confirmado com a determinação de 1% de atividade coagulante do fator VIII (ref. 60-160%) e 92% de atividade coagulante do fator IX (ref. 60-160%). Após o diagnóstico, o paciente apresentou episódio hemorrágico fatal decorrente de sangramento profuso no sistema nervoso central, confirmado pela necropsia. Uma das manifestações mais comuns em casos de hemofilia é a hemartrose, que pode levar à artropatia hemofílica, caracterizada por sangramento intra-articular recorrente seguido de resposta inflamatória e finalmente, um estágio de fibrose e contratura (artrose). Neste caso, foram observadas as três fases da síndrome: sangramento intra-articular que resultou no aumento de volume e dor, resposta inflamatória confirmada pelo leucograma inflamatório com trombocitose, e o estágio de fibrose, quando foram observados contratura em flexão e atrofia muscular do MPE. Concluiu-se tratar de hemartrose devido ao aumento articular associado ao prolongamento do TTPA. Os testes de avaliação de hemostasia secundária indicaram uma anormalidade na via intrínseca da coagulação e a determinação da atividade coagulante dos FVIII e FIX confirmou o diagnóstico de hemofilia A. O diagnóstico de hemofilia deve ser considerado em pacientes jovens com artropatia e histórico de sangramentos. O diagnóstico precoce melhora a qualidade de vida do paciente e pode evitar que a artropatia atinja o estágio de fibrose e contratura. Exames de triagem, como TP e TTPA são simples, de baixo custo e podem direcionar o diagnóstico, entretanto, a confirmação só é possível através da determinação da atividade de FVIII e FIX.

167

Perfil epidemiológico dos pacientes com diagnóstico de doença de von Willebrand atendidos no Instituto de Hematologia e Hemoterapia do Amapá

Souza LC¹, Alves DF², Leão AV², Tabosa GV², Santos JL², Papaléo-Paes JM², Santos PC², Barbosa RC², Barreto RD², Monteiro TV²¹Instituto de Hematologia e Hemoterapia do Amapá – HEMOAP²Universidade Federal do Amapá

Introdução: A Doença de Von Willebrand (DvW) é a coagulopatia hereditária mais comum, com prevalência estimada em 0,1 a 1% da população. Resulta de um defeito quantitativo e/ou qualitativo do fator de von Willebrand (FvW), uma glicoproteína com importante função na hemostasia primária. As manifestações hemorrágicas típicas são equimoses aos menores traumas e sangramentos mucosos. **Objetivo:** Descrever o perfil epidemiológico dos portadores de DvW atendidos no Instituto de Hematologia e Hemoterapia do Amapá (HEMOAP). **Métodos:** Foram incluídos na pesquisa pacientes com diagnóstico de DvW do HEMOAP. Os dados foram obtidos a partir do prontuário médico e de entrevista. **Resultados:** Participaram deste estudo 24 pacientes com idade entre 3 e 63 anos e média de 17,04 anos, sendo 18 pacientes do sexo feminino (75%) e 6 pacientes do sexo masculino (25%). Mais da metade dos pacientes (70,83%) possuía até 18 anos. Dentre os pacientes maiores de 18 anos, 42,86% eram solteiros, 42,86% eram casados e 14,28% possuíam união estável. A maior parte (83,33%) dos pacientes nasceu em Macapá e residia (91,67%) no mesmo município no momento da pesquisa. A cor predominante foi parda (79,17%), a ocupação mais prevalente foi estudante (77,27%) e o grau de instrução da maioria dos pacientes era até o ensino médio completo (75%). A renda familiar em 83,33% dos pacientes era de até 3 salários mínimos. A idade média ao diagnóstico foi 12,58 anos, variando de 11 meses a 61 anos e o tempo médio encontrado desde o início dos sintomas até o diagnóstico foi de 6,4 anos, variando de 8 meses até 19 anos. Em 62,50% dos casos havia história familiar de coagulopatia. Os principais fatores relacionados aos episódios hemorrágicos foram traumatismo mínimo (65,22%) e tempo de sangramento prolongado em ferimentos cortantes (60,87%). Em 78,26% dos casos, o paciente apresentou 2 ou mais sintomas hemorrágicos durante a evolução da doença, sendo que as manifestações mais

frequentemente relatadas foram equimoses (69,57%) e gengivorragia (47,83%). No primeiro ano de atendimento no HEMOAP, a maioria dos pacientes (75%) realizou até 3 consultas médicas e apresentou, no mesmo ano, de 1 a 2 intercorrências hemorrágicas que necessitaram atendimento médico (66,67%). Os valores médios do antígeno do FvW, atividade do FVIII, tempo de sangramento, tempo de tromboplastina parcial ativada e contagem de plaquetas ao diagnóstico foram, respectivamente, 32,9%, 34,29%, 3min1s, 42,30s e 326.476 plaquetas. A maioria (58,33%) dos pacientes realizou tratamento com concentrado do FvW/FVIII. Quando questionados sobre o seu nível de esclarecimento sobre a DvW, 17 pacientes (70,83%), ou seus responsáveis, se achavam esclarecidos. **Conclusão:** O conhecimento do perfil epidemiológico dos pacientes portadores da DvW é importante por difundir informações sobre a doença na comunidade médica e acadêmica, contribuindo para um melhor atendimento médico a esta população, haja vista que o diagnóstico tardio ocorre em razão do desconhecimento do quadro clínico da doença pelos profissionais de saúde. Em nosso meio, a DvW teve predomínio nos pacientes pardos, do sexo feminino e com até 18 anos de idade, tendo como principais manifestações clínicas equimoses e gengivorragia. Em mais da metade dos pacientes, houve necessidade de realização de terapia de reposição com concentrado FvW/FVIII.

168

Perfil epidemiológico dos pacientes hemofílicos atendidos no Instituto de Hemoterapia e Hematologia do Amapá

Souza LC¹, Barreto RD², Santos JL², Alves DF², Paes JM², Monteiro TV², Barbosa RC², Leão AV², Santos PC², Tabosa GV²

¹Instituto de Hemoterapia e Hematologia do Amapá-HEMOAP

²Universidade Federal do Amapá

Introdução: A hemofilia é uma doença hemorrágica, congênita e crônica, caracterizada por deficiência ou anormalidade de proteínas plasmáticas da coagulação, ou seja, dos fatores VIII (hemofilia A) ou IX (hemofilia B). É ligada à transmissão genética recessiva do cromossomo X. A hemofilia A é mais comum afetando 85% dos hemofílicos e a hemofilia B afeta 15%. Na maioria dos casos é transmitida ao filho pela mãe portadora e se manifesta em 1/10000 homens. A classificação da hemofilia varia conforme o nível antigênico ou de atividade coagulante do fator deficiente. O principal sintoma é a hemorragia causada por traumatismos, sendo as mais comuns, os hematomas e as hemartroses, e estas principalmente em joelho, cotovelo e tornozelo. O primeiro episódio hemorrágico ocorre entre 1 a 3 anos de idade. As hemofilias A e B tem as mesmas apresentações clínicas, sendo a dosagem específica dos fatores a forma de distinção entre as mesmas; essa diferenciação é importante, pois o tratamento é específico para cada tipo de fator a ser repostado. Sem o seu correto tratamento, as hemorragias poderão conduzir a maior morbidade, dor e diminuição do tempo médio de vida.

Objetivo: Descrever o perfil epidemiológico dos pacientes hemofílicos atendidos no Instituto de Hemoterapia e Hematologia do Amapá (HEMOAP). **Métodos:** Estudo retrospectivo e descritivo, de abordagem quantitativa e qualitativa, realizado a partir da coleta de dados sociodemográficos e clínicos obtidos por meio de 20 prontuários, do total de 22 prontuários de pacientes hemofílicos atendidos no HEMOAP. As variáveis analisadas foram: idade ao diagnóstico, sexo, local onde reside, tipo da hemofilia, presença de inibidor, número e tipo de intercorrências clínicas/ano, presença de artropatias crônicas e o seu tipo. A análise final dos dados foi realizada através de planilhas no Excel. Os participantes do estudo foram devidamente esclarecidos, prosseguindo-se para coleta de dados nos prontuários após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Resultados: Todos os pacientes hemofílicos são do sexo masculino e tiveram idade média ao diagnóstico de 2,5 anos; 65% moram na capital e 35% em outro município. A hemofilia A foi o tipo mais

frequente, 90% dos casos, enquanto que a tipo B representou 10%. A presença de inibidor foi ausente em todos os participantes. Sobre as intercorrências clínicas ocorridas por ano, 45% apresentaram de 1 a 5 intercorrências e outros 35%, mais de 15 intercorrências; as mais comuns foram as hemartroses de joelho, em 80%, seguidas de cotovelo, em 50%. As hemorragias também aconteceram na forma de gengivorragia 45%, hematoma muscular 45%, hematêmese 10% e epistaxe 5%. Houve comprometimento articular crônico em 55% dos pacientes, sendo a artropatia crônica de joelho o mais comum.

Conclusão: Observamos semelhanças entre as variáveis sociodemográficas e clínicas deste estudo com os dados da literatura apresentados, com exceção da variável presença de inibidor, ausente em todos os hemofílicos. Ressalta-se que apesar das intercorrências associadas à hemofilia, os pacientes com tratamento adequado podem usufruir de uma vida pouco restritiva. É importante o diagnóstico e tratamento precoce da doença que resultam em melhora da condição de vida e sobrevida destes pacientes.

169

Deficiência grave de fator XIII da coagulação: relato de caso

Souza LC¹, Tabosa GV², Barbosa RC², Monteiro TV², Santos JL², Paes JM², Leão AV², Alves DF², Barreto RD², Santos PC²

¹Instituto de Hematologia e Hemoterapia do Amapá

²Universidade Federal do Amapá

Introdução: A deficiência do fator XIII de coagulação (fator estabilizador de fibrina) sanguínea é uma doença rara, com prevalência de um caso a cada três milhões de nascimentos, sendo uma disfunção geneticamente determinada, o estado de homozigose autossômica recessiva para o gene codificador desse agente é o responsável pelos quadros graves da doença, os quais manifestam-se ainda na primeira infância, com sangramento do coto umbilical, eventos hemorrágicos intracranianos causados por trauma mínimo, sangramento prolongado após cirurgia e lesões traumáticas, bem como dificuldades de cicatrização. A suspeita clínica é fundamental para o diagnóstico, pois os testes laboratoriais convencionais para avaliar a função de coagulação são inalterados. **Métodos:** O estudo de caso procedeu-se através de investigação de prontuário clínico de um caso de deficiência de fator XIII de coagulação, atendido no Instituto de Hematologia e Hemoterapia do Amapá (HEMOAP), sendo realizado com a devida autorização da instituição e a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelo responsável do investigado, com o uso das informações coletadas exclusivamente para fins científicos, preservando o sigilo de identidade. As informações clínicas e laboratoriais mais relevantes durante a investigação e elucidação diagnóstica foram registradas e apresentadas nesse relato. **Relato de Caso:** Paciente do sexo feminino, um ano de idade, foi levada para atendimento ambulatorial no HEMOAP com quadro de hematomas em superfícies extensoras de membros superiores e inferiores, costelas e tórax, já durando três meses. Além disso, possuía histórico de transfusão sanguínea 11 dias após o nascimento e sangramento de coto umbilical, porém os sintomas apresentados nesse atendimento inicial resolveram-se espontaneamente. Dois anos após esse primeiro episódio, retorna ao serviço de hematologia com manchas roxas difusas pelo corpo e um ferimento em pé direito mal cicatrizado e com sangramento frequente, os exames de rotina solicitados não mostraram alterações significativas: plaquetas em 490.000/mm³, tempo de protrombina de 11,3 segundos com atividade de 100% e INR de 0,9; tempo de tromboplastina parcial ativada de 31,6 segundos; as dosagens de fatores von Willebrand, VIII e IX, estavam dentro dos parâmetros de normalidade. Nos meses seguintes, os sintomas hemorrágicos tornaram-se mais frequentes, com o profuso sangramento após um leve trauma na região frontal da cabeça, o qual, em dois dias, evoluiu para um volumoso hematoma em couro cabeludo associado a grande perda sanguínea, acarretando em internação numa

unidade hospitalar e tratamento com infusão de plasma fresco. A partir daí, realizou-se a dosagem do fator XIII de coagulação pelo método coagulométrico de substratos deficientes, com resultado de atividade do fator em 1,49% (faixa de referência de normalidade entre 55 a 140%), sendo diagnosticada a deficiência grave de fator XIII da coagulação. **Conclusão:** A deficiência de fator XIII, mesmo sendo uma doença rara, deve sempre constar como uma alternativa nos diagnósticos diferenciais das coagulopatias, pois o atraso na sua identificação e/ou tratamento pode levar a fenômenos hemorrágicos catastróficos que culminem com o óbito do paciente. O tratamento é contínuo, baseando-se na adequada orientação do doente, prevenção dos fatores e comportamentos de risco e a reposição do fator de coagulação deficiente.

170

Correlação entre o fenótipo hemorrágico de pacientes com hemofilia B grave e o tipo de mutação no gene do fator IX

Trento TH¹, Siqueira LH¹, Santos AD¹, Veiga MT², Thomas S³, Fujimoto DE⁴, Strevia AS⁵, Medina SS¹, Prezotti AN⁶, Ozelo MC¹

¹INCT do Sangue Hemocentro Unicamp, Campinas, SP

²Hemocentro do Paraná, Curitiba, PR

³Hemocentro do Mato Grosso, Cuiabá, MT

⁴Hemocentro do Acre, Rio Branco, AC

⁵Hemocentro da Bahia, Salvador, BA

⁶Hemocentro do Espírito Santo, Vitória, ES

Introdução: A hemofilia B (HB) é uma doença hemorrágica hereditária resultante da deficiência do fator (F) IX. O gene do fator IX (F9) está localizado no braço longo do cromossomo X (Xq27) e é composto por 8 éxons que origina um RNAm com 2,2kb. Mais de mil mutações foram descritas no F9, incluindo mutações missense, nonsense, frameshift e em sítios de splice. HB é classificada de acordo com a atividade coagulante residual do FIX, incluindo a forma grave (FIX<1IU/dl), moderada (FIX≥1 e <5IU/dl) e leve (FIX≥5 e <40IU/dl). Embora as manifestações hemorrágicas (fenótipo clínico) esteja associado à atividade residual do FIX, é comum observar variação clínica entre os casos. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho foi determinar o genótipo de pacientes com HB. Além disso, foi avaliada a correlação entre os tipos de mutação encontradas no F9 em pacientes com HB grave e o seu fenótipo hemorrágico. **Métodos:** Pacientes com HB acompanhados em seis centros de referência localizados em diferentes regiões do Brasil foram incluídos neste estudo. Amostras de DNA foram extraídas de pool leucocitário e as sequências de interesse submetidas à análise por sequenciamento direto. Os resultados foram avaliados de acordo com a referência NCBI Ref Seq NM_000133.3. Para avaliação do fenótipo hemorrágico, foi considerada a média dos últimos três anos do consumo de concentrado de FIX anual (UI/kg de peso/ano) entre os pacientes com HB grave (FIX<1 IU/dl). **Resultados:** Esse estudo incluiu 161 pacientes com HB de 95 famílias não relacionadas. 64 mutações foram encontradas incluindo onze novas mutações não descritas anteriormente. 51 famílias apresentaram HB grave. Entre elas foram observadas 34 (66%) mutações missense, 10 (18%) mutações nonsense, 4 (8%) mutações frameshift e 4 (8%) mutações em sítios de splice. Em 48 famílias com HB leve ou moderada (38 moderadas e 10 leves), foram observadas 45 (94%) mutações missense, 1 (2%) nonsense, 1 (2%) frameshift e 1 (2%) em sítio de splice. A correlação entre o genótipo de pacientes com HB grave e o fenótipo hemorrágico evidenciou uma diferença significativamente menor no consumo de concentrado de FIX entre os pacientes graves com mutações missense quando comparados aos pacientes graves com mutações nonsense. Ao comparar pacientes com HB grave decorrentes de mutações missense aos pacientes com mutações frameshift e em sítios de splice, o consumo foi menor, no entanto o resultado não foi estatisticamente significativo, provavelmente devido ao baixo número de pacientes com mutações do tipo frameshift e em sítios de

splice. **Discussão:** Este estudo identificou o genótipo de 161 pacientes com HB de diferentes regiões do Brasil. 64 mutações foram encontradas incluindo 11 não descritas. A correlação do genótipo e fenótipo entre os pacientes revelou que pacientes com HB grave com mutações missense apresentaram consumo de concentrado de fator IX significativamente mais baixo quando comparados aos pacientes com HB grave com mutações nonsense, sugerindo um fenótipo hemorrágico de menor gravidade entre os pacientes com HB grave que apresentam mutação missense. **Conclusão:** Este estudo possibilita melhor compreensão da relação entre o genótipo e o fenótipo hemorrágico apresentado pelos pacientes com hemofilia B e auxilia na melhor compreensão da fisiopatologia da doença.

171

Clinical and laboratory analysis to discriminate between type 2A and 2M von Willebrand disease in family of patients from hemominas foundation

Araujo NM¹, Namen-Lopes MS², Halabi NN², Brenner S², Velloso-Rodrigues C³

¹Departamento de Biologia Geral - Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

²Serviço de Pesquisa - Fundação Hemominas

³Departamento Básico - área de saúde- Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF-campus Governador Valadares)

Von Willebrand disease (VWD) is the most common inherited bleeding disorder in humans with prevalence ranging between 0.8 and 2% in studies of population screening. However, when its investigated patients with bleeding symptoms, prevalence is 30-100/1.000.000, similar to hemophilia A. In Brazil, this disease seems to be underdiagnosed. Patients with VWD can be classified into one of three disease types: a partial (type 1) or complete (type 3) quantitative or qualitative (type 2) deficiency of plasma von Willebrand factor (VWF). Type 2 VWD is subdivided into sub-types: 2A, 2B, 2M, 2N. Type 2A and 2M variants show a reduction in the platelet-dependent function of VWF. In type 2A disease this is due to the absence of high molecular weight (HMW) VWF multimers, while in type 2M VWD, there is a qualitative abnormality of VWF unrelated to the loss of HMW VWF. Almost all of the mutations resulting in types 2A and 2M show autosomal dominant inheritance, with complete penetrance and minimally variable expressivity. Approximately 75% of the type 2A VWD mutations are located in exon 28 of the VWF gene encoding the A2 domain of the protein. At type 2M VWD, about 90% of mutations involve the A1 domain-encoding region of exon 28. VWD type 2A and 2M shares most of the clinical and laboratory features. Classification of subtypes is based on initial VWD testing and other specialized VWD tests, combined with the clinical history. Over three years, 167 registered patients with VWD were investigated at the Blood Center of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil (Hemominas Foundation). We selected one case of a male patient who had clinical and laboratory findings of VWD: a lifelong history of bleeding problems (epistaxis, hematemesis, post-surgical bleeding) and family history of post-surgical bleeding. His father, now deceased, was recognized with VWD and had a history of spontaneous bruising; when elderly, had often digestive hemorrhagic events associated with telangiectasia that had contributed to his death. His mother did not have any bleeding symptoms. The patient had four brothers and one sister, without notice about them; three daughters and two sons, of them one daughter, both sons and one grandson also were diagnosed with VWD. At this family a prolonged bleeding time and a decrease in VWF:Rco were observed. Platelet aggregation studies were performed using ADP, collagen, epinephrine and ristocetin and resulted normal. Agglutination in response to ristocetin 1.2 mg/mL was decreased. For a woman at this family was given vasopressin because an intense allergic reaction to VWF concentrate was developed, an increase of VWF:Rco level was observed, however a variable hemostatic response had occurred in different

times. The probable diagnosis for this family is VWD type 2. Financial Support: FAPEMIG - APQ-03515-10 and MCT/CNPq/CT-SAÚDE - Clinical Genetics - 401962/2010-5.

172

Protocolo hidroterapêutico para pacientes com hemofilia

Feldberg G¹, Matta MA¹, Ricciardi JB¹, Medina SS¹, Ozelo MC¹

¹Unidade de Hemofilia "IHTC- Cláudio L. P. Corrêa" - INCT do Sangue Hemocentro Unicamp

Introdução: Hemofilia é uma doença hemorrágica hereditária caracterizada por manifestações de sangramento predominantemente no sistema músculo-esquelético, ocasionando sequelas, que incluem limitações articulares e musculares (artropatia hemofílica). A fisioterapia aquática (hidroterapia) é indicada como no tratamento e prevenção das complicações músculo-esqueléticas por utilizar os princípios físicos da hidrostática, como a flutuabilidade, com redução do impacto e manter a resistência multidimensional constante aos movimentos. A hidroterapia conta ainda com a vantagem de agir de uma só vez em todas as articulações e segmentos do corpo e por aumentar a amplitude de movimento, o que é precocemente afetado em pacientes com hemofilia. **Objetivo:** O objetivo deste estudo é apresentar um protocolo de fisioterapia aquática e avaliar os benefícios dessa terapia aos pacientes com hemofilia. **Métodos:** Nesse estudo pacientes com hemofilia maiores de 14 anos foram submetidos ao protocolo de terapia aquática, incluindo, exercícios visando ganho de força, flexibilidade e mobilidade. Os participantes foram submetidos ao protocolo de tratamento, com 2 sessões semanais de 60 minutos durante 12 semanas no Serviço de Fisioterapia do Hemocentro da Unicamp. Para avaliação pré e após 12 semanas de tratamento foram incluídos: escore de independência funcional (*Functional Independence Score in Hemophilia* -FISH), escore clínico (incluindo avaliação dos episódios de sangramento, dor, edema, ADM, deformidade em flexão, atrofia, crepitação e instabilidade articular), e avaliação aquática fisioterapêutica (teste de força muscular modificada para a água, grau de independência física e respiratória na água e habilidade da paciente de realizar movimentos e rotações em água rasa e profunda). **Resultados:** Quatro pacientes entre 16 e 36 anos (média idade 28±8,6 anos), incluindo 3 homens com hemofilia A grave e uma mulher com fenótipo de hemofilia B grave, foram avaliados nesse estudo. Ao início do tratamento, 3 pacientes apresentavam critérios para presença de 1a2 articulações alvo (≥3 hemartroses em uma mesma articulação em 6 meses). Na avaliação do escore clínico, todos os casos apresentaram melhora significativa no escore da amplitude de movimento articular ao término das 12 semanas de tratamento. Além disso, dois pacientes (50%) apresentaram melhora no escore de sangramento e dor da articulação alvo e três pacientes (75%) apresentaram melhora no escore do edema. Na avaliação do FISH, os 4 pacientes obtiveram melhora na atividade funcional de agachamento e caminhar; três pacientes (75%) obtiveram melhora no desempenho de subir as escadas, um paciente (25%) obteve melhora na transferência na cadeira e um (25%) na atividade de tomar banho. A satisfação e o prazer observados nos pacientes a cada sessão, ao realizar movimentos possíveis apenas na piscina e a diminuição da dor após a terapia resultaram no aumento da confiança e autoestima desses pacientes. **Conclusão:** Através do protocolo de terapia aquática houve uma diminuição do número de sangramentos, edema e dores articulares, além da melhora significativa na amplitude de movimento das articulações afetadas com subsequente melhora do desempenho das atividades funcionais como caminhar, agachar e subir escadas. Os resultados alcançados foram relevantes sugerindo que a terapia aquática pode ser uma ferramenta eficaz no tratamento do paciente com hemofilia.

173

Atuação do serviço social junto aos pacientes com coagulopatias hereditárias no Distrito Federal

Prado CR¹

¹Fundação Hemocentro de Brasília - FHB

O Ambulatório de Coagulopatias Hereditárias da Fundação Hemocentro de Brasília (FHB) vinha se estruturando internamente, desde o primeiro semestre de 2011, para o atendimento aos pacientes com doenças hemorrágicas resultantes da deficiência de um ou mais fatores da coagulação. Estudos e pesquisas foram realizados a fim de proporcionar um atendimento de qualidade e com inovações em relação a outros centros de tratamento, inclusive a nível internacional. Algumas dessas inovações incluem atendimentos que beneficiam o tratamento em nuances estrutural e social, como: a entrega dos medicamentos aos pacientes com hemofilias graves ou em profilaxia na residência e a realização de visitas domiciliares, executadas por assistente social e farmacêutica. As visitas domiciliares surgiram com a função de conhecer a realidade social dos pacientes e sua rede sociofamiliar; prestar orientações sobre direitos e benefícios sociais; estabelecer vínculo e integrar o paciente com a instituição; bem como, apresentar orientações farmacêuticas, especialmente sobre as condições de armazenamento dos fatores da coagulação. A partir das visitas domiciliares e com a atribuição legal da FHB como centro de referência para o tratamento dos pacientes com coagulopatias hereditárias do DF, pela Portaria SES nº162 de 09 de agosto de 2012, o Serviço Social vem consolidando sua atuação e realizando o acompanhamento dos pacientes e familiares em vulnerabilidade biopsicossocial. Desde as visitas domiciliares, observou-se a existência de famílias em situação vulnerável: situação de pobreza, privação (ausência de renda, precário ou nulo acesso aos serviços públicos, dentre outros) e/ou fragilização de vínculos familiares e afetivos, dentre outras. Assim, o Serviço Social proferiu orientações para garantia de direitos básicos e benefícios legais, com ênfase no empoderamento social e no exercício da cidadania desses usuários. Até julho de 2013, foram realizadas 170 visitas domiciliares e cerca de 180 atendimentos sociais no ambulatório, dos quais se obteve um quantitativo de 55 famílias e 62 pacientes em situação de vulnerabilidade, com a realização de aproximadamente 94 encaminhamentos para a rede de apoio socioassistencial. Em razão da efetivação das orientações e dos encaminhamentos sociais, o quantitativo de famílias em situação de vulnerabilidade reduziu para 19, somando 24 pacientes. Desse total, uma média de 60% está fora dos critérios para concessão de benefícios assistenciais ou previdenciários, o que limita a modificação da realidade social dessas famílias. Por fim, é importante destacar que a Saúde é um ramo de atuação da Seguridade Social, a qual incorpora mais duas áreas: a Assistência e a Previdência Social. Os pacientes com coagulopatias hereditárias são alvo de várias políticas sociais, a depender da peculiaridade de cada caso, o que tende a estimular as assistentes sociais dos centros de tratamento a atualizarem constantemente os estudos e aprimorarem sua atuação profissional em prol da saúde e qualidade de vida dos pacientes.

174

Fasciotomia eletiva em hemofílico com inibidor

Ribeiro JB¹, Piazeria FZ¹, Villela EA², Haje DP², Machado RC¹, Amorim TM¹, Xavier MA¹, Lima HG¹, Silva DC¹, Swain M¹

¹Fundação Hemocentro de Brasília

²Hospital de Base do Distrito Federal

Paciente de 25 anos com Hemofilia A Grave e inibidor (880 UB/mL) evoluiu com hematoma muscular grave, afetando sensibilidade e movimentos, após trauma em antebraço esquerdo. Foi diagnosticado

com Síndrome de Compartimento e tratado clinicamente com CCPa. Iniciou fisioterapia logo após o controle do sangramento, porém após 4 meses de reabilitação mantinha limitação para pronação e contratura em flexão dos quirodáctilos. O paciente foi avaliado pela Ortopedia, que indicou a realização de uma fasciotomia eletiva. Nesse intervalo, apresentou hemartrose em joelho direito, de difícil controle, momento em que foi considerado mau respondedor ao CCPa e passou a usar rFVIIa. Na véspera da cirurgia, iniciou o uso de ácido tranexâmico. O rFVIIa foi iniciado na indução anestésica, seguindo o esquema indicado pelo *guideline* britânico¹. O procedimento transcorreu sem intercorrências, com hemostasia bem sucedida. Recebeu alta 6 dias depois. A imobilização foi suspensa no 10º dia. No 11º dia, iniciou sangramento em antebraço e parestesia nos quirodáctilos. Avaliado pela Ortopedia, teve a sutura removida e o sangramento drenado, com uso inadvertido de CCPa. Reinternado durante 7 dias para controle do sangramento voltou a receber rFVIIa. A ferida cirúrgica evoluiu com necrose de pele e foi mantida aberta para fechamento por segunda intenção. Recebeu alta em uso de rFVIIa a cada 6 horas, em esquema de retirada até manter rFVIIa apenas antes das trocas de curativo, com evolução favorável da lesão e do membro. Historicamente, as cirurgias ortopédicas eletivas em pacientes com inibidores eram contraindicadas e os procedimentos invasivos restritos às emergências, devido ao elevado risco de complicações hemorrágicas². Para trafegar neste cauteloso território terapêutico, existem diversas referências na literatura abrangendo relatos de caso, estudos clínicos e *guidelines*. Pesquisa com as palavras-chaves "surgery and haemophilia and inhibitor" foi realizada na base de dados PubMed, em 29/07/2013, e revelou 395 resultados. Destas publicações indexadas, 30 foram disponibilizadas nos últimos 12 meses. Uma delas se destaca por contemplar uma interessante comparação entre as recomendações americana, canadense e britânica³. Escobar e cols reuniram-se numa mesa redonda multidisciplinar que buscou harmonizar os dados da literatura com a prática clínica de 9 centros americanos. As recomendações britânicas deixam claro que o rFVIIa é o agente de escolha e sugerem o esquema de doses empregado neste caso. As recomendações canadenses sugerem esquemas de doses para rFVIIa (similar ao britânico) e para CCPa. O painel de especialistas americanos não elegeu o agente bypass de escolha, mas destacou os riscos do uso simultâneo dos agentes bypass e a possibilidade do uso coadjuvante de antifibrinolíticos na terapia com rFVIIa, como realizado neste caso. Em busca de parâmetros comparativos mais próximos do nosso paciente, foi realizada outra pesquisa com as palavras-chaves "compartment syndrome and haemophilia and inhibitor"-que revelou apenas 13 publicações. Destas, 3 são relatos de caso: dois^{4,5} referentes ao uso de rFVIIa e um⁶ referente ao uso de CCPa, todos demonstrando a eficácia hemostática conferida pelo uso prolongado dos agentes bypass após a fasciotomia. Podemos atribuir o sucesso neste tipo de intervenção à elaboração de um esquema de doses bem estruturado e seguido à risca e ao acompanhamento contínuo por equipe multidisciplinar.

175

Deficiência do fator VII da coagulação paraneoplásica - relato de caso

Azevedo PD¹, Carvalho NG¹, Cerqueira ML¹, Marsiglio CF¹, Andrade DA¹, Silva TC¹, Giovani PB¹

¹Instituto da Previdência dos Servidores do Estado de Minas Gerais (IPSEMG)

O presente relato descreve quadro de deficiência adquirida de fator VII da coagulação, deficiência extremamente rara e pouco relatada na literatura. A deficiência foi classificada como paraneoplásica, secundária a câncer de próstata. Trata-se do paciente, JP, 68 anos, tabagista, iniciou dor importante em ombro esquerdo e quadril direito há 4 meses. Negava outros sintomas, uso de medicações, patologias prévias. Durante investigação, foi detectado PSA total de 90,91 e na

cintilografia óssea padrão compatível com comprometimento ósseo secundário a doença neoplásica nas regiões: mandíbula, cabeça do úmero à esquerda, gradil costal em múltiplos arcos bilateralmente, coluna vertebral em terço médio do segmento cervical, em T9, T11, T12, L2, L3, L5, articulações sacro-iliacas e pelve, região trocântica femoral bilateral. Proposto biópsia prostática, porém foi identificado tempo de protrombina (RNI) aumentado: 54,5% - RNI 1,57, que se normalizava após teste da mistura, sinalizando para deficiência de fator de coagulação. O tempo de tromboplastina parcial encontrava-se normal. Coagulograma prévio do paciente sem alterações. Dosado fatores da cascata de coagulação e identificado deficiência de fator VII: 19% do fator (Referência >50%). Demais fatores dentro da faixa de normalidade - Fator II 74%, Fator IX 82%, fator V 111% e fator VIII 91%. Como o paciente não possuía história de sangramento prévio e a porcetagem do fator encontrava-se acima de 10% - limite para realização de procedimentos invasivos sem necessidade de reposição do fator - indicou-se biópsia de próstata sem reposição do fator. A Biópsia prostática foi realizada sem intercorrências. Diagnosticado adenocarcinoma prostático acinar, pouco diferenciado, com infiltração vascular e perineural. Encaminhado a oncologia para terapêutica. A deficiência de fator VII é muito rara, principalmente a adquirida. Nestes casos o tempo de protrombina está alterado, porém o tempo de tromboplastina parcial encontra-se normal, já que o fator VII não participa da via intrínseca da coagulação nem da via final comum. Pela escassez de casos, poucas etiologias são relatadas na literatura, assim como não é descrito a melhor maneira de conduzir estes pacientes. Assim relatamos este caso, uma deficiência de fator VII da coagulação paraneoplásica. Baseado nas poucas informações encontradas, optamos por conduzi-lo como descrito para a deficiência hereditária de fator VII, cuja incidência é 1: 500.000. Estudos realizados com este grupo concluíram que pacientes que serão submetidos a cirurgia de grande porte com <10% do fator VII ou com fator entre 10-30% mas com história de sangramento prévio devem receber terapia de reposição pré-operatória. A meia vida do fator VII é curta (4 a 6 horas), dificultando sua reposição. As opções são fator VII recombinante ativado, fator VII derivado do plasma, plasma fresco congelado e complexo protombínico. Quando realizado, a reposição consegue atingir cerca de 20% do fator. Este paciente, portanto, não tinha indicação de terapia de reposição para realização da biópsia. Em casos em que há sangramento importante nestes pacientes com deficiência adquirida de fator VII podem ser utilizados imunoglobulina intravenosa, ciclofosfamida, corticóide ou plasmáfereze.

176

Perfil dos doadores acometidos por coagulopatias hereditárias atendidos no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí

Silva MD¹, Conceição AM¹, Bráulio CA², Neto AF¹, Barbosa MC¹, Bessa LS¹

¹Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí

²Hospital de Urgência de Teresina

Introdução: Coagulopatias são doenças crônicas do tipo hereditárias, decorrentes de um ou mais fatores de coagulação sanguínea, sendo a Hemofilia e a Síndrome de Von Willebrand as mais comuns. As hemofilias são classificadas de acordo com o nível de atividade coagulante do fator VIII (FVIII:C), sendo o nível normal definido como 1 UI/ml de FVIII:C (100%). a) graves, os que possuem FVIII:C inferior a 1 % do normal ou < 0.01 IU/ml; b) moderados, os que possuem FVIII:C entre 1 %-5% do normal ou 0.01 -0.05IU/ml; e c) leves, os que possuem FVIII:C > 5%-<40% do normal ou > 0.05 -<0.40 IU/ml. A incidência mundial é 1 a cada 10.000 indivíduos do sexo masculino, sendo que 80 a 85% dos casos são doentes de hemofilia A e 10 a 15% à hemofilia B. A gravidade da doença varia conforme a deficiência do fator, a hemofilia A é caracterizada por alterações quantitativas ou qualitativas do fator VIII, e a hemofilia B do fator IX.

Objetivo: Analisar dados epidemiológicos de coagulopatas registrados no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí, com a finalidade de levantar o perfil destes. **Métodos:** Trata-se de um estudo quantitativo do tipo transversal e descritivo. O número de pacientes avaliados foi de 247. A base de dados para a pesquisa foi o sistema online Hemovida Web - coagulopatias web do Data SUS. As variáveis utilizadas foram: sexo, faixa etária, tipo de coagulopatia e gravidade da doença. **Resultados e Discussão:** A prevalência de gênero do estudo se deu no sexo masculino, 210 pacientes (85,02%), contra 37 (14,98%) do sexo feminino. Em relação ao tipo de coagulopatia, 164 pacientes são acometidos de Hemofilia A (66,40%); 44 de Síndrome de Von Willebrand (17,81%); 20 hemofílicos do tipo B (8,09%); 2 tem deficiência no fator XIII da coagulação e 2 de fator VII (ambos representam 0,8%); os com Inibidor de fator VIII adquirido, Trombastenia de Glazmann, Síndrome de Bernard Soulier e Inibidor de fator de Von Willebrand adquirido apareceram com representação de 0,4%, ou seja, um paciente; 5 pacientes (2,02%) se apresentaram sem diagnóstico e os que tinham outros diagnósticos foram 6 (2,43%). O desvio padrão do estudo em relação ao número da amostra foi igual a 0,3. Os sintomas que mais acometem aos pacientes são ligados à hemostasia. As hemofilias são caracterizadas por sangramentos prolongados, principalmente em musculatura profunda (hematomas), em articulações (hemartroses) e, após procedimentos cirúrgicos, principalmente em cavidade bucal. De acordo com o Departamento de Atenção Especializada do Ministério da Saúde, a maioria das doenças ligadas à coagulação são diagnosticadas por meio do coagulograma e o tratamento é feito com a reposição dos fatores de coagulação envolvidos. **Conclusão:** O estudo apresentou dados confiáveis devido o tamanho significativo da amostra. O sistema de base de dados Hemovida Web, oferece bastante subsídio para os estudos epidemiológicos relacionados às doenças hematólogicas no Brasil. Os objetivos foram atingidos e os resultados serão bastante úteis uma vez que as pesquisas e dados relacionados ao tema sejam escasso na região nordeste.

177

Polymorphisms in the IL10 gene and the risk of the development of inhibitors in patients with hemophilia A

Alencar JB¹, Barros MF¹, Rosini PG¹, Rodrigues C¹, Macedo LC¹, Silvestre AP¹, Sell AM¹, Visentainer JE¹

¹Universidade Estadual de Maringá

Haemophilia A (HA) is a hereditary bleeding disorder linked to the X chromosome. It is characterized by the deficiency or abnormality of factor VIII (FVIII) coagulant activity. The hemophilic patients require constant infusions of FVIII to maintain their haemostasis. However, antibodies that block FVIII activity appear in some HA patients treated with FVIII replacement therapy. This reduces the effectiveness of therapy and causes one of the main complications in the treatment of these patients. Antibodies against infused FVIII affect about 20–30% of patients with severe HA. The immunogenetic studies in HA have shown the implication of the cytokine polymorphisms in inhibitors formation. The polymorphisms of the immune response genes, including genes encoding the tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-10 (IL-10) and cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 (CTLA-4), have been suggested to be contributing determinants of the inhibitor risk. The aim of this study is to evaluate the SNPs of cytokine genes that may influence the development of inhibitor in HA patients. A total of 38 patients who did not develop HA inhibitor and 37 who developed the inhibitor were studied, all registered in the state of Paraná. From the blood samples was selected the Buffy-coat and performed DNA extraction technique salting out. The typing of alleles is performed by PCR-SSP using the cytokine genotyping kit, Invitrogen®. The DNA fragments are separated by electrophoresis using 2.5% agarose gel. The interpretation of the results is based on the presence or absence of the specific DNA

fragment amplified. To assist the interpretation of the amplified product will be used a worksheet that comes with the kit. The statistical analysis was performed using the Fisher's exact test. The risk of developing FVIII inhibitor was calculated by odds ratio. The test were considered as statistically significant when p -value below 0.05. IL-10 is a pleiotropic cytokine that may act as a suppressor of systemic inflammatory immune responses. It also stimulates the secretion of immunoglobulins by activated B lymphocytes. Polymorphisms located at three sites in the IL10 promoter may alter the expression of IL-10 gene: 1082 (G > A), 819 (C > T) and 592 (C > A). The studies indicate that the 1082G allele is associated with higher IL-10 production and the A allele with lower IL-10 production. The cytokine genotyping revealed a predominance for allele A in region -1082 of IL10 (1082G > A) in patients without FVIII inhibitors development. The -1082A allele was identified in 24 of the 38 (63.16%) patients without inhibitors and in 8 of the 37 (21.62%) patients with inhibitor (OR= 3.80; CI= 1.58-9.17; $p=0.0037$). The differences between the two groups regarding the other cytokine polymorphisms were not statistically significant. Thus, we can suggest that individuals with the A allele may have a low production of the cytokine IL-10, which influences negatively the development of FVIII inhibitors in HA. The identification of polymorphisms in cytokine genes is important for hemophilia treatment to predict the development of inhibitors. The genetic profiles of each individual could be introduced in clinical practice to select among treatment strategies to minimize the risk of the development of inhibitors and improve the quality of life of severely affected haemophilia patients.

178

Hematoma intramuscular em um paciente com hemofilia B moderada: um caso clínico

Feijó AM^{1,2}, Gonzalez AD^{1,3}, Kaminski EL^{1,4}, Schiavon LE¹, Moraes GF^{1,5}, Nachtigal GC^{1,2}, Huth TC¹

¹Hemocentro Regional de Pelotas

²Universidade Federal de Pelotas

³Fundação Universidade do Rio Grande

⁴Universidade Católica de Pelotas

⁵Faculdade Anhanguera Pelotas-RS

Introdução: A Hemofilia é uma doença genética, de herança recessiva ligada ao sexo, resultante de mutações nos genes que codificam o fator VIII ou IX da coagulação, ambos localizados no braço longo do cromossomo X. A incidência nos diversos grupos étnicos é de 1:10.000 nascimentos. A Hemofilia B é responsável por 20 a 25% dos casos, sendo uma doença hemorrágica caracterizada pela deficiência do fator IX da coagulação. **Relato de Caso:** M.F.S., 12 anos, natural e procedente de Pelotas-RS, com diagnóstico de Hemofilia B moderada sem presença de inibidor, procurou o Hemocentro Regional após trauma em região anterior da coxa esquerda ocasionado por choque contra adversário em partida de futebol. Apresentando edema endurecido e dor intensa no local, sintomas sugestivos de hematoma intramuscular, com comprometimento funcional, porém sem alteração de perfusão. Orientado uso de fator IX, 50UI/Kg/dia, por 5 dias, gelo local e ibuprofeno. Após uma semana observou-se melhora parcial, com persistência de dor leve/moderada e diminuição de força, sendo então orientada a realização de ultrassonografia (US) e tomografia computadorizada (TC). A TC evidenciou hematoma em resolução, sem sinais de sangramento ativo. Orientado fisioterapia e mantida a profilaxia secundária, já iniciada há um ano, 40 UI/Kg duas vezes por semana, e planejado reavaliação em 3 meses. Realizou fisioterapia duas vezes por semana, sendo uma vez no solo e uma vez hidroterapia. Na região do traumatismo foram realizados US pulsado e exercícios isométricos e isotônicos. Com a evolução do caso, em 15 dias o edema foi reabsorvido, com redução do volume e da circunferência da coxa. Atualmente, 45 dias após o início do quadro, o paciente mantém exercícios para o restabelecimento da força muscular e da amplitude de movimentos, além de propriocepção

e equilíbrio, e realiza tarefas comuns e prática de atividade física usual, sem dor ou limitação. **Conclusão:** Hematoma intramuscular é um sangramento grave em pacientes com Hemofilia, principalmente pelo risco de Síndrome Compartimental, podendo ocasionar lesão nervosa e vascular com sequelas importantes. O caso descrito permite concluirmos que mesmo em situações de trauma e potencial gravidade, o uso profilático associado a precocidade da instituição de tratamento em situações de sangramento, conforme orientação de protocolo, e fisioterapia em momento oportuno, previnem o surgimento de sequelas graves e priorizam a qualidade de vida em pacientes com coagulopatias.

179

Deficiência combinada de fatores XII e XI em irmãos: relato de dois casos

Piazera FZ¹, Xavier MA¹, Amorim TM¹, Causanilhas AC¹, Ribeiro JB¹, Machado RC¹, Pimentel BM¹, Lima DS¹

¹Fundação Hemocentro de Brasília

A deficiência de fator XI (Doença de Rosenthal) é uma herança autossômica recessiva, afetando homens e mulheres, mais Ra que as hemofilias A e B com incidência de 5% na população de judeus. Geralmente apresenta um quadro hemorrágico de baixa gravidade pós procedimentos cirúrgicos. A deficiência de fator XII é um distúrbio autossômico recessivo cujas implicações clínicas continuam controversas. Apesar desta deficiência resultar em TTPa (Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada) prolongado, os pacientes não apresentam fenômenos hemorrágicos. Existem relatos desta deficiência com trombose. A deficiência combinada de fatores por si só constitui uma condição hemorrágica rara, em relação à deficiência combinada dos fatores XI e XII não apresenta precedentes literários. **Métodos:** Relatar dois casos de irmãos com diagnóstico de deficiência combinada de fatores XI e XII. **Resultados:** Caso 01: Paciente do sexo masculino, 10 anos, encaminhado ao serviço de coagulopatias hereditárias da FHB, devido a um alargamento do TTPa no pré-operatório de amigdalectomia sem antecedentes hemorrágicos. Os resultados dos exames laboratoriais apresentaram-se da seguinte forma: TTPa 42 segundos, Tempo de Protrombina 14,9 segundos, Tempo de trombina 14,8 segundos, Fibrinogênio 335 mg/dL, Anticoagulante Lúpico Ausente, Dosagem de Fator VIII 107%, Dosagem de Fator IX 70,5%, Dosagem de Fator XI 43,45%, Dosagem de Fator XII 33,35%, Pesquisa de Inibidor Negativa. Caso 02: Paciente do sexo feminino, 07 anos, encaminhado ao serviço de coagulopatias hereditárias da FHB, devido o irmão apresentar alargamento do TTPa nos exames pré-operatórios de amigdalectomia sem antecedentes hemorrágicos. Os resultados dos exames laboratoriais apresentaram-se da seguinte forma: TTPa 43,9 seg., Tempo de Protrombina 15,2 seg., Tempo de trombina 16,9 seg., Fibrinogênio 248 mg/dL, Anticoagulante Lúpico Ausente, Dosagem de Fator VIII 82,8%, Dosagem de Fator IX 68,3%, Dosagem de Fator XI 58,6%, Dosagem de Fator XII 56,25%, Pesquisa de Inibidor Negativa. Ambos os resultados foram repetidos e confirmados pelo laboratório. Realizada a mesma investigação nos pais, os quais apresentaram valores normais para os fatores XI e XII. Os valores de referência utilizados pelo laboratório para os fatores XI e XII são respectivamente de 70 a 120% e 65 a 150% (Fonte: Laboratório de Hemostasia da Universidade Estadual de Campinas - SP/ UNICAMP). **Conclusão:** A suspeita de deficiência combinada de fatores XI e XII deve ser lembrada durante a investigação laboratorial do alargamento do Tempo de Tromboplastina Parcial ativada - TTPa e diferenciada das coagulopatias mais frequentes. A deficiência combinada dos fatores XI e XII não apresenta precedentes literários até o momento.

180

Deficiência de fator XIII: relato de caso

Piazera F¹, Amorim TM¹, Xavier MA¹, Causanilhas AC¹, Ribeiro JB¹, Swain M¹, Pimentel BM¹, Lima DS¹

¹Fundação Hemocentro de Brasília

A deficiência congênita de fator XIII é um distúrbio raro de coagulação, sendo este fator responsável pela estabilização do coágulo, apresenta quadros hemorrágicos graves, quando a atividade do fator é inferior a 5%. O quadro hemorrágico aparece somente em pessoas homozigóticas com atividade do fator XIII inferior a 5%, enquanto as heterozigóticas são assintomáticas. As manifestações hemorrágicas iniciais são o sangramento do coto umbilical e hemorragia intracraniana ao nascimento. O modo de herança genético é autossômico recessivo, com prevalência de 1 caso para cada 1/5 milhões de habitantes. Os resultados dos testes de TP, TTPa, fibrinogênio e contagem de plaquetas estão dentro da normalidade. **Métodos:** Relatar um caso de deficiência congênita de fator XIII. **Resultados:** Paciente do sexo masculino, 1 ano e 1 mês, apresentando equimoses e pequenos hematomas em membros inferiores associado a gengivorragia volumosa. Histórico de sangramento do coto umbilical acima de 7 dias com necessidade transfusão de plasma para controle hemorrágico. Irmão falecido aos 30 dias de vida devido a hemorragia intracraniana, os pais não apresentam manifestações hemorrágicas. Os resultados dos exames laboratoriais apresentaram-se da seguinte forma: TTPa 37,8 segundos, Tempo de Protrombina 14,4 segundo, Fibrinogênio 278 mg/dL, Contagem de plaquetas: 183.000 pl/mm3, Antígeno do fator de Von Willebrand - Ag:FVW: 74,85%, Cofator de ristocetina - RCoFVW: 81,26% Relação RCoFVW/Ag:FVW: 1,086, Dosagem de Fator VIII 121%, Dosagem de Fator IX 93%, Pesquisa de Inibidor Negativa, Determinação qualitativa do fator XIII: AUSENTE. A mensuração indireta do fator XIII através do método da solubilidade em solução de ureia 5M e solução de ácido acético 2% é aceitável como um teste de triagem simples e específico, embora de metodologia demorada. Estes testes estão alterados somente nas deficiências graves de fator XIII (menor que 5% de atividade do fator). Assim é desejável que os testes enzimáticos de maior sensibilidade sejam realizados para confirmação de casos leves/moderados e estudo dos pacientes heterozigóticos. **Conclusão:** Deve-se pensar em deficiência congênita de fator XIII em crianças com quadros hemorrágicos graves desde o nascimento e exames de triagem normais.

181

Deficiência congênita de fibrinogênio: relato de caso

Piazera F¹, Amorim TM¹, Xavier MA¹, Causanilhas AC¹, Ribeiro JB¹, Machado RC¹, Pimentel BM¹, Lima DS¹

¹Fundação Hemocentro de Brasília

Alterações na molécula de fibrinogênio comprometem a fase final de coagulação. Estas alterações podem ser de natureza qualitativa ou quantitativa. A hipofibrinogenemia e a afibrinogenemia são relacionadas com uma alteração quantitativa de fibrinogênio. São doenças hereditárias raras transmitidas de modo autossômico recessivo. A prevalência na população é um caso para cada 3 milhões de habitantes. A classificação da deficiência é facilitada após a comparação dos resultados obtidos pelo método de Clauss, que determina a quantidade de fibrinogênio funcional. A confirmação e diferenciação entre casos de hipo e afibrinogenemia congênitas muitas vezes requer o conhecimento dos níveis de linearidade e sensibilidade dos procedimentos utilizados. Porém muitos casos só são confirmados com investigação molecular. **Métodos:** Relatar o caso de um paciente com deficiência congênita de fibrinogênio. **Resultados:** Paciente do sexo masculino, 31 anos, com histórico hemorrágico (hematomas,

equimoses, gengivorragia, hematúria) grave desde a infância sem doença hepática prévia, com várias reposições de plasma rico em crioprecipitado para controle hemorrágico. Histórico familiar de dois irmãos falecidos por hemorragia cerebral na adolescência após trauma. Os resultados dos exames laboratoriais apresentaram-se da seguinte forma: TTPa > 200 segundos, Tempo de Protrombina > 120 segundos, Fibrinogênio < 35 mg/dL. Os exames foram repetidos pela metodologia manual e os resultados foram compatíveis com a metodologia automatizada. Aventada a hipótese de deficiência congênita de fibrinogênio sendo iniciada reposição de fibrinogênio disponibilizado pelo Ministério da Saúde, os exames foram repetidos obtendo-se os seguintes resultados: TTPa 37 segundos, Tempo de Protrombina 18,7 segundos, Fibrinogênio 116 mg/dL, perfil de exames para Doença de Von Willebrand normal e anticoagulante lúpico ausente. **Conclusão:** As deficiências congênitas de fibrinogênio são casos de difícil diagnóstico, principalmente na diferenciação entre formas graves e formas mais brandas devido à ausência de conjuntos diagnósticos que sejam mais sensíveis para detecção da molécula de fibrinogênio.

182

Afibrinogenemia: importância da história clínica para o diagnóstico precoce de coagulopatias: relato de caso

Saraiva AS¹, Pinto IS¹, Oliveira AB¹, Soares CR¹, Filho JC², Francês LT¹, Depra MM³

¹Centro de Hemoterapia e Hematologia do Para - Fundação HEMOPA

²Universidade do Estado do Para – UEPA

³Centro Universitário do Para - CESUPA

As coagulopatias hereditárias são frequentes na prática hematológica, porém seu diagnóstico pode apresentar dificuldades. A história clínica detalhada pode facilitar este diagnóstico. A afibrinogenemia ou hipofibrinogenemia congênita, uma patologia muito rara, pode cursar com quadro clínico variável. Apresentamos um caso de afibrinogenemia congênita em criança com 1 ano de vida, cuja história de sangramento em coto umbilical facilitou o diagnóstico e tratamento eficaz. **Introdução:** Afibrinogenemia ou hipofibrinogenemia é uma coagulopatia congênita muito rara, autossômica recessiva, com frequência estimada em 1-2 casos/1.000.000 de nascimentos, com concentrações de fibrinogênio plasmático muito baixas, normalmente abaixo 20mg/dl (0,2g/L). O quadro clínico pode variar desde pacientes assintomáticos na infância até presença de sangramentos extremamente graves, sendo comum a presença de sangramento em coto umbilical. Esta informação pode direcionar os testes laboratoriais, promovendo o diagnóstico precoce e tratamento adequado. **Relato de Caso:** Menor GCB, sexo masculino, DN: 08/02/2012 atendido no hemocentro de Belém em 10/12/2012, com hematoma em região frontal após trauma. Sem antecedentes familiares de coagulopatia. Mãe referiu que após o nascimento, menor apresentou sangramento grave de coto umbilical, com necessidade de internação hospitalar e transfusão de sangue, além de equimoses com frequência. Negava hemartroses. Ao exame físico, menor se apresentava ativo, afebril, normocorado, sem visceromegalias ou adenomegalias, com hematoma em região frontal e equimose em mento, sem sinais de sangramento articular. Foram solicitados exames de coagulação, com os seguintes resultados: Tempo de Protrombina- TP : superior à 180 segundos, OBS: Coágulo indetectável ; Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado - TTPA : superior à 180 segundos, OBS: Coágulo indetectável ; Correção dos tempos do TP e TTPA em Teste da Mistura ; Dosagem de Fator IX:C: 70%; Dosagem de Fator V:C: 114%; Dosagem de Fator VII:C: 99%; Dosagem de Fibrinogênio : Coágulo indetectável (sensibilidade do equipamento STA Compact - Stago: leituras superiores à 64 mg/dl (valores de referência: 150-450mg/dl); FVW: 125%. Menor tratado com compressa de gelo local e gel anti-inflamatório, com regressão do hematoma. Em 16/04/2013, procurou

atendimento hospitalar com quadro de grande hematoma em região glútea, com compressão vascular e edema de membro inferior direito, sendo tratado com concentrado de fibrinogênio (500mg/dia) durante 2 dias, seguido de 500mg em dias alternados(4 dias). Houve redução total do hematoma e edema de membro inferior D, estando o paciente assintomático desde então. Os resultados dos testes de triagem e dosagem de Fibrinogênio dos pais foram normais. Não foi realizado o Teste de Trombina e estudo genético por não serem disponíveis em nosso Estado. **Conclusão:** Apesar de rara, a Afibrinogenemia foi diagnosticada precocemente graças ao adequado cumprimento do algoritmo laboratorial, associado ao relato de sangramento de coto umbilical, que está presente em cerca de 85% dos casos, sendo o episódio de hematoma tratado prontamente com a reposição de concentrado de fibrinogênio.

183

Deficiência combinada de fator V e fator VII: relato de um caso

Saraiva AS¹, Oliveira AB¹, Soares CR¹, Francês LT¹, Cardoso MD¹, Filho JC², Depra MM³

¹Centro de Hemoterapia e Hematologia do Para - Fundação HEMOPA

²Universidade do Estado do Para – UEPA

³Centro Universitário do Para - CESUPA

Introdução: A deficiência combinada de fator V e fator VII é um distúrbio hemorrágico muito raro. Neste distúrbio, os níveis de ambos os fatores encontram-se abaixo dos níveis normais. Considera-se um distúrbio autossômico recessivo, ou seja, ambos os pais tem de ser portadores para o transmitir. Em relação ao Fator V, o gene encontra-se no cromossoma 1 e o Fator VII, no cromossoma 13. **Métodos:** Relato de um caso de deficiência congênita combinada de fatores V e VII em um paciente atendido no Ambulatório de Hematologia da Fundação HEMOPA. Paciente masculino, 2 anos e 4 meses, branco, procurou atendimento hematológico em fevereiro/2013 por apresentar em exame pré-operatório (Postectomia), Tempo e atividade de Protrombina alterados (atividade diminuída). Previamente hígido, sem antecedentes pessoais e/ou familiares de sangramentos. Ele é filho único. Seu pai e sua mãe, de descendências polonesa e austríaca, respectivamente, não são consanguíneos. **Resultados dos testes laboratoriais** (Tempo de Protrombina – TP, Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado – TTPA, e dosagens de fatores) do paciente e seus pais: PACIENTE : TP: 16,5 segundos, TN:13,7 segundos, Atividade: 73%, INR: 1,20; TTPA: 39,9 segundos, TN: 35,4 segundos, R:1,13; Dosagem de fator V: 64 % (VR: 70 – 140%); Dosagem de fator VII: 38 % (VR: 70 – 140%). PAI: TP: 14,4 segundos, TN: Atividade: 86%, INR: 1,10; TTPA: 34,1 segundos, TN: 35,4, R:0,96; Dosagem de fator V: 62 % (VR: 70 – 140%); Dosagem de fator VII: 56 % (VR: 70 – 140%). MÃE : TP: 14,4 segundos, TN: 13,0, Atividade: 86%, INR: 1,10; TTPA: 33,9 segundos, TN: 35,4 segundos, R:0,96; Dosagem de fator V: 66 % (VR: 70 – 140%); Dosagem de fator VII: 65 % (VR: 70 – 140%). **Conclusão:** Diante do acima exposto, avaliamos os resultados deste estudo familiar como sugestivos de deficiência combinada de fator V e fator VII, condição extremamente rara, e para que possamos estabelecer correlação aos casos já reportados na literatura especializada (até o momento 4 casos) faz-se necessário realizar, por método imunoenzimático (ELISA), a determinação do antígeno do fator V e do fator VII, e assim, definirmos o tipo de mecanismo mais provável que originou esta deficiência, como também, ampliar o estudo genético das famílias envolvidas.

184

Experiência do HEMORGS em profilaxia primária para pacientes com hemofilia grave

Ferreira CB¹, Luz AC¹, Diaz GF¹, Ourique LO¹

¹HEMORGS

Introdução: A hemofilia é um distúrbio hereditário da coagulação ligado ao cromossoma X, onde ocorre uma deficiência quantitativa da produção do fator VIII na hemofilia A e fator IX na hemofilia B. Estima-se que existam cerca de 10.500 pessoas com hemofilia no Brasil, sendo considerada a terceira maior população no mundo. A hemofilia é classificada de acordo com a porcentagem de fator presente no plasma em leve 5 - 50%, moderada 1 - 5% e grave quando < 1%. Clinicamente se manifesta por sangramentos espontâneos, principalmente musculares e articulares, que levam ao desenvolvimento de uma reação inflamatória local. Ocorre deposição de hemossiderina que leva a hipertrofia e hiperplasia sinovial, com destruição de cartilagem articular e presença de neovascularização, o que predispõem a novos sangramentos, perpetuando então um ciclo vicioso. A longo prazo, este quadro clínico leva ao desenvolvimento da artropatia hemofílica, com perda de movimentação articular e dor crônica. Em 1958 foi verificado que os pacientes com diagnóstico de hemofilia grave estavam em maior risco para desenvolvimento de artropatia, sendo proposta a reposição regular do fator deficiente nestes pacientes, visando reduzir a incidência desta. Surgiu então o primeiro protocolo de profilaxia primária para tratamento de hemofilia grave, que até o momento era realizado sob demanda. Este protocolo consistia no uso de altas doses do fator deficiente regularmente. Em 2012 o Ministério da Saúde implementou o programa de profilaxia primária para pacientes com Hemofilia grave no Brasil utilizando esquema de doses escalonado. **Objetivo:** Compartilhar o primeiro ano de experiência do HEMORGS na utilização do protocolo de profilaxia primária. **Métodos:** Estudo de corte transversal, com revisão de prontuário dos 24 pacientes em profilaxia primária acompanhados no HEMORGS, avaliando número de sangramentos/ano, local do sangramento e escores articulares. **Resultados:** Dos 24 pacientes em programa de profilaxia primária, todos tinham diagnóstico de hemofilia A grave, com dosagem de fator VIII < 1%. A média de idade foi de 33 meses. 58% dos pacientes estão ainda na primeira fase de escalonamento de dose, 12% na segunda fase e 30% na última fase de escalonamento de dose. Houve apenas 1 paciente com > 18 meses de tratamento e sem hemartroses, 13 pacientes com 12-18 meses de tratamento, destes 38% não apresentaram hemartroses e 62% apresentaram, com uma média de 1,4 sangramentos articulares/ano. Destes 75% já estão na última fase de escalonamento de dose. 4 pacientes tinham entre 6-12 meses de tratamento, 2 sem hemartroses, 1 com 2 episódios e 1 com 8 episódios de sangramento articular. Dos 6 pacientes com menos de 6 meses de tratamento nenhum apresentou hemartrose. Nenhum dos pacientes apresentou articulação-alvo ou alteração dos escores articulares. A principal articulação afetada pelos sangramentos foi o joelho seguido pelo tornozelo. **Conclusão:** A profilaxia primária reduz os episódios de sangramentos articulares e musculares e melhora a qualidade de vida.

185

Doença de von Willebrand adquirida e gamopatia monoclonal de significado indeterminado: relato de caso e considerações terapêuticas

Halabi NN^{1,2}, Araujo NM^{1,3}, Velloso-Rodrigues C^{1,4}, Namen-Lopes MS¹

¹Serviço de Pesquisa - Fundação HEMOMINAS

²Centro Universitário de Belo Horizonte (UNI-BH)

³Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

⁴Departamento Básico - área de saúde- Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF-campus Governador Valadares)

Introdução: A prevalência da Doença de Von Willebrand Adquirida (DVWA) permanece não determinada com cerca de 700 casos descritos desde a primeira revisão relatada por Federici et al, em 2000. O primeiro caso foi relatado em 1968 em indivíduo com lúpus eritematoso sistêmico, mas pode se associar a doenças linfoproliferativas e mieloproliferativas, estenose aórtica, outras doenças autoimunes, e hipotireoidismo. A Gamopatia Monoclonal de Significado Indeterminado (GMSI) é uma desordem linfoproliferativa de células plasmáticas pré-malignas, com prevalência descrita em cerca de 1% a 3% em indivíduos acima de 50 e 70 anos. Dentre 186 casos de DVWA reportados em 2000, pelo registro Internacional em trombose e hemostasia, 23% estavam associados à GMSI. **Relato de Caso:** JRCM, branco, 64 anos, avaliado em janeiro de 2008 no Hemocentro de Belo Horizonte da Fundação Hemominas, com diagnóstico de GMSI, tipo IgG, e suspeita de DVWA. Informava epistaxe extensa em pós-operatório tardio de cirurgia otorrinolaringológica, e hematomas recorrentes nos últimos anos. Ausência de história pregressa de sangramento espontâneo ou após extração dentária e cateterismo cardíaco. Negava história familiar de coagulopatia ou uso de hemotransfusões. Encontrava-se em tratamento de hipertensão arterial sistêmica e doença de Parkinson. Exames laboratoriais mostraram alargamento do tempo de sangria: 14 min (VR:2'30"-9'30"), e do tempo de tromboplastina parcial ativado: 45" (Controle: 29"), Fator VIII: 14,5% (VR:50-150%); Cofator de Ristocetina: 16% (VR:50-200%); e Antígeno do FVW: 18% (VR:50-200). Teste de aglutinação plaquetária com ristocetina 1,2mg/dL: 4,5% e corrigido com mistura de pool de plasma normal 50%: 61,8%. Anticoagulante lúpico e anticorpos anticardiolipinas IgG; IgA; IgM não reagentes. Exames compatíveis com DVWA associado a GMSI. Paciente mantém-se estável, sem evidências de progressão da GMSI para mieloma ou amiloidose, sem manifestações hemorrágicas espontâneas e usou concentrado de FVIII/FVW em raras situações cirúrgicas. **Discussão e Conclusão:** O mecanismo da deficiência de FVW na DVWA é variável. Em doenças linfoproliferativas tais como GMSI o FVW é sintetizado normalmente mas é removido de forma acelerada do plasma devido a ligação às paraproteínas ou ainda ocorre a inibição do FVW ou FVIII circulantes por autoanticorpos. O manejo de episódios hemorrágicos ou preparo cirúrgico objetiva o retorno do FVW e FVIII a níveis hemostáticos no plasma. Em contraste com DVW congênita a efetividade da administração de DDAVP e concentrado de FVIII/FVW na DVWA é menor, devido ao rápido decréscimo nas concentrações de FVIII e FVW algumas horas após a administração, assim a infusão intravenosa de imunoglobulina (Ig), especialmente nos casos de GMSI de origem IgG constitui importante medida terapêutica. Associar o concentrado de FVW/FVIII pode ser necessário visto a necessidade de 4 dias para início da ação da Ig sobre os níveis do complexo FVIII/FVW que perduram em média 2 a 4 semanas. No caso do paciente em questão a combinação da clínica e das alterações laboratoriais nos permitiram o diagnóstico de DVWA. A hipótese e o reconhecimento da DVWA no contexto de manifestações hemorrágicas mucocutâneas de surgimento na idade adulta, em pacientes com outras doenças tais como a GMSI, permite a abordagem terapêutica diferenciada.

186

Hemofilia A adquirida e HIV – relato de casoViana BR¹, Ferreira AM¹, Hatzlhofer BL¹, Correia MC², Rilhas GP², Vanderlei AM¹, Araujo FA¹, Araujo MA¹¹Fundação Hemope²Universidade Federal de Pernambuco

Introdução: Hemofilia A adquirida (HAA) é uma doença rara caracterizada pelo desenvolvimento de auto-anticorpos contra o Fator VIII (FVIII), podendo estar associada a doenças autoimunes (LES e AR), neoplasias malignas, alterações dermatológicas ou puerpério. Em alguns casos não há associação identificável. **Relato de Caso:** Paciente, 47 anos, masculino, foi encaminhado ao nosso serviço referindo equimoses e hematomas extensos, há algumas semanas, em membros superiores e inferiores com surgimentos espontâneos. Negava sangramentos anteriores e coagulopatias na família. Antecedente de HAS e ICC. Medicações em uso: losartan, digoxina e furosemida. Os exames laboratoriais evidenciaram uma hemoglobina (Hb) de 5,42g/dL; plaquetas, TP e fibrinogênio normais; TTPA 87,5s. Após incubação do plasma do doente a 37°C durante duas horas com plasmas normais não mostrou correção, indicando presença de inibidor de um fator intrínseco da coagulação ou de anti-coagulante lúpico (AL). Foi solicitado dosagem dos fatores VIII, IX, XI e XII, e inibidores do FVIII e FIX. Em avaliação subsequente, foi observado AL negativo e a presença do inibidor do FVIII com título de 64UB/mL, e atividade de FVIII < 1%, confirmando o diagnóstico de HAA. Marcadores tumorais, FAN e fator reumatoide foram negativos. Identificou-se apenas uma sorologia positiva para HIV. Como terapêutica, além de transfusão de concentrado de hemácias (CH), foi iniciado pulsoterapia com metilprednisolona 1g/dia por três dias, seguido de corticoterapia oral com prednisona 1mg/kg/dia, e terapia antiretroviral, recebendo alta para acompanhamento ambulatorial. Em duas semanas o paciente retornou apresentando dor em região coxofemoral e dificuldade de flexão de coxa direita – hematoma de psoas pelo USG e queda da hemoglobina. Foi iniciado CCPA 75UI/KG 12/12h, CH, e mantido corticoterapia e terapia antiretroviral. Paciente evoluiu com regressão do hematoma e estabilização dos valores de Hb, mantendo, no entanto, valores de TTPA prolongados e presença de inibidor quando se reduzia a dosagem de corticoide. O paciente encontra-se assintomático, em uso de corticoterapia em doses baixas. Últimos exames em junho/2013: dosagem de inibidor 5,6 UB/mL, Hb 13,5g/dL e TTPA 41s. A proposta terapêutica para este paciente se não houver negatificação do inibidor será a utilização de Rituximabe como imunossupressor. **Discussão e Conclusão:** O desenvolvimento de auto-anticorpos contra o FVIII em doentes não hemofílicos é uma doença rara, mas clinicamente significativa pelas suas complicações hemorrágicas. Sua associação com doenças benignas e malignas está descrita, mas não encontramos casos na literatura associados ao HIV/SIDA. Não podemos afirmar em nosso relato se o HIV é responsável pelo desenvolvimento do inibidor, mas não foi possível identificar qualquer outra causa precipitante. O principal objetivo no tratamento da HAA, além do controle de episódios hemorrágicos, é o desaparecimento dos anticorpos anti-FVIII. Corticoterapia oral assim que se estabelece o diagnóstico é consenso, mas quando for ineficaz, outros agentes imunossupressores têm sido utilizados. Estudos randomizados são necessários para o melhor entendimento da etiologia e manejo da HAA, visto que a sua abordagem é baseada nos conhecimentos sobre a hemofilia hereditária. Futuros progressos na abordagem destes doentes irão se basear em avanços sobre o conhecimento da molécula do FVIII e sobre a resposta imune.

187

Interrupção nos estudos e trabalho, dores nas juntas e sobrepeso interferem negativamente na saúde de pacientes com hemofilia ACronemberger J¹, Chaves DG¹, Martins PR¹, Peixoto SV², Salomon T², Brener S¹¹Fundação Hemominas²CPqRR - Fiocruz

Hemofilia A (HA) é uma doença hemorrágica hereditária caracterizada clinicamente pelo tempo prolongado de coagulação sanguínea, podendo ocasionar hemartroses e comprometer movimentos de articulações. A doença é causada pela deficiência ou disfunção do fator VIII e afeta 1-2/10.000 meninos nascidos vivos. A autoavaliação do estado de saúde é um indicador de saúde muito empregado e que pode sofrer influência de uma série de fatores clínicos e comportamentais. Este estudo seccional objetivou investigar quais fatores sociodemográficos, hábitos de vida e comorbidades estão associados com estado de saúde ruim avaliado por pacientes com HA grave e moderada. Instrumentos específicos foram criados abordando questões sociodemográficas, estilo de vida, autopercepção da saúde e da qualidade de vida (HAEMO-A-QOL). Participaram do estudo pacientes com HA maiores de 18 anos que compareceram a sete ambulatórios da Fundação Hemominas no período de agosto/2011 a julho/2012 para receber algum tipo de atendimento ou por busca ativa. Todos os entrevistados assinaram TCLE. Dados laboratoriais foram obtidos nos prontuários médicos. Para a análise, a variável "como você considera sua saúde" foi separada em dois grupos: considerar a saúde "boa" (referência) ou "ruim". Os dois grupos foram comparados quanto à sua associação com 23 variáveis relacionadas a questões socioeconômicas, hábitos de vida e comorbidades. Foi feita distribuição das frequências absolutas e análise bivariada. Para avaliar as diferenças entre os dois grupos foi utilizado Teste de Qui-quadrado ou o Teste Exato de Fisher. Considerou-se o nível de significância de 5%. O programa EpiData 3.1 foi utilizado para entrada de dados e SPSS 17.0 para análise estatística. Foram analisados os dados de 128 pacientes com HA grave ou moderada. Verificou-se que os pacientes com as formas grave e moderada da doença não diferiam quanto à autoavaliação de saúde e às outras variáveis estudadas e por isso foram agrupados em um mesmo grupo para as avaliações de associação. Mais da metade dos participantes (54%) tinha entre 18 e 29 anos, com mediana de 28 ± 10,02, idade mínima de 18 e máxima de 63 anos. Constatou-se o predomínio de indivíduos sem união estável (60,9%) e com pelo menos 11 anos de estudo (52,6%). Cinquenta por cento deles estavam trabalhando e a mediana da renda *per capita* foi de 1,29 ± 2,56 salários mínimos. Dos pacientes entrevistados, 43,8% consideraram seu estado de saúde ruim. Quatro variáveis avaliadas estavam significativamente associadas a este estado de saúde auto-referido pelos pacientes: ter a hemofilia como motivo por ter parado de estudar ($p = 0,024$) e de trabalhar ($p = 0,021$), apresentar dor nas juntas ($p = 0,047$) e possuir alto índice de massa corporal (IMC) ($p < 0,01$). Os resultados encontrados evidenciam a necessidade de disponibilização de atendimento multidisciplinar para os pacientes com HA e a importância de se buscar soluções para as queixas da nova população de pacientes com hemofilia que vem se formando nos centros de tratamento especializados. Adicionalmente, é importante reforçar que problemas recorrentes dessa população, como dores nas articulações e dificuldade de se manter na escola e no trabalho, devem ser enfrentados para que os indivíduos tenham melhor qualidade de vida. Suporte Financeiro: Fundação Hemominas; FAPEMIG.

188

Pacientes com hemofilia A grave não têm adesão adequada ao Programa de Dose Domiciliar (DDU)

Cronemberger J¹, Chaves DG¹, Martins PR¹, Peixoto SV², Salomon T², Brener S¹

¹Fundação Hemominas

²CPqRR - Fiocruz

A hemofilia é uma doença hereditária que apresenta manifestações hemorrágicas espontâneas ou como consequências de traumas e cirurgias que podem comprometer movimentos de articulações. A hemofilia A (HA), que afeta 1-2/10.000 bebês do sexo masculino, é causada pela deficiência ou disfunção do fator VIII (FVIII). No Programa da Dose Domiciliar de Urgência (DDU), pacientes com hemofilia que atendem a critérios pré-estabelecidos e passam por treinamento teórico-prático recebem doses do fator VIII liofilizado para ser utilizado com presteza em casos de sangramentos de menor gravidade. Este estudo seccional objetivou avaliar a participação dos pacientes no DDU e o seu comportamento em relação aos episódios hemorrágicos. Instrumento específico (HAEMO-A-QOL) contendo perguntas sobre o DDU foi aplicado. Pacientes com HA maiores de 18 anos que compareceram a sete ambulatórios da Fundação Hemominas no período de agosto/2011 a julho/2012 para receber algum tipo de atendimento Foram abordados pela equipe do projeto. Foi também realizada busca ativa de pacientes por carta ou telefone. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Fundação Hemominas e todos os participantes assinaram TCLE. Para a análise, os pacientes foram separados como "grave" ou "moderado" de acordo com a classificação da doença. Foi feita distribuição das frequências absolutas e análise bivariada. Para avaliar as diferenças entre os dois grupos, foi utilizado Teste de Qui-quadrado ou o Teste Exato de Fisher. Considerou-se o nível de significância de 5%. O programa EpiData 3.1 foi utilizado para entrada de dados e SPSS 17.0 e para análise estatística. Foram analisados os dados de 60 pacientes com HA moderada e 68 com HA grave. Mais da metade (54%) tinha entre 18 e 29 anos, com mediana de 28 ± 10,02, idade mínima de 18 e máxima de 63 anos. Verificou-se que 51,7% dos pacientes com a forma moderada e 64,7% dos pacientes com a forma grave da doença participam do DDU. Dentre os pacientes com a forma moderada da doença, aqueles que participam do DDU ficam mais atentos quanto à possível ocorrência de sangramentos (96,8%) quando comparados àqueles que não participam do DDU (48,3%) ($p < 0,01$). Por ficar mais atenta aos processos hemorrágicos, a maioria dos pacientes moderados em DDU consegue controlar precocemente os sangramentos (74,2%), o que não acontece frequentemente com os pacientes que não estão em DDU (48,3%) ($p = 0,039$). Por outro lado, os pacientes com a forma grave da doença que participam do DDU ficam atentos quanto à possível ocorrência de sangramentos tanto quanto aqueles que não participam do DDU (75,0% e 87,5%, respectivamente). Por esse motivo, os pacientes graves em DDU conseguem controlar seus sangramentos na mesma proporção que os pacientes que não estão no programa (68,2% e 50,0%, respectivamente). Os resultados encontrados mostram que pacientes com HA podem apresentar resultados diferentes em relação ao DDU. Os dados evidenciam especialmente que pacientes com a forma grave da doença não têm adesão adequada ao programa. Acredita-se que por apresentarem episódios hemorrágicos mais frequentes e intensos que os pacientes com a forma moderada, os pacientes graves necessitam de mais treinamento para identificarem precocemente seus sangramentos e conseguirem minimizar seus efeitos. Suporte Financeiro: Fundação Hemominas e FAPEMIG.

189

Inibidor adquirido contra o fator VIII da coagulação: um relato de caso com manifestações hemorrágicas e trombóticas

Pinheiro PN¹, Loureiro AD¹, Silva AM¹, Rohr SS¹, Antunes SV¹, Morelli VM¹, Lourenco DM¹

¹Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Departamento de Oncologia Clínica e Experimental, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

Introdução: O inibidor adquirido contra o fator VIII (FVIII) ocorre pelo desenvolvimento de autoanticorpo específico e está associado à rara doença hemorrágica, também conhecida como hemofilia A adquirida, que pode resultar em sangramento grave e por vezes fatal. Tais anticorpos podem ser de ocorrência espontânea, porém, cerca de 50% dos casos relacionam-se com condição subjacente, como doença sistêmica autoimune, câncer, gravidez e puerpério. Os autores têm como objetivo relatar caso de inibidor adquirido contra o FVIII, com quadro hemorrágico e trombótico. **Relato de Caso:** Mulher, 21 anos, apresentou sangramento incisional importante no 8ºPO de parto cesáreo, com necessidade de reabordagem cirúrgica. Após 5 meses procurou o Hospital São Paulo (HSP) relatando dor e edema em MSD, com piora após punção venosa, evoluindo com equimose extensa local. O ultrassom Doppler mostrou trombose em veias braquial e axilar D, sendo iniciada heparina de baixo peso molecular (HBPM). Evoluiu com piora do sangramento associado à parestesia e limitação de movimento em MSD, além de hematomas em MSE. Investigação laboratorial: RNI: 1,12; rTTPA: 3,69; M1: 2,22; M2: 2,73; FVIII: 1%; Inibidor FVIII: 112 UB/mL; anticoagulante lúpico negativo. Optou-se pelo início de CCPA (50UI/Kg/dose - 2 doses) e por imunossupressão com prednisona (PDN) (1mg/Kg/dia), com melhora do quadro hemorrágico e alta hospitalar. Entretanto, persistiu com equimoses e TTPA alargado, com associação de ciclofosfamida (CTX) 100mg/dia após 2 meses da admissão. A paciente perdeu seguimento por cerca de 6 meses, tendo retornado ao HSP após este período com dor, edema e equimose em MID espontâneos há 24 horas. Evoluiu com queda importante de Hb e com parestesia e paresia. O ultrassom Doppler mostrou trombose de veia poplítea D e a TC foi sugestiva de hematoma muscular (rTTPA: 2,19; M1: 1,88; M2: 2,15; FVIII: 2%). Foram administrados HBPM, PDN (1mg/kg/dia), CTX 100mg/dia e CCPA (50UI/Kg a cada 12h - 10 doses) até resolução do sangramento. Ainda nesta internação, após punção venosa, formou-se hematoma em fossa antecubital E, sendo reintroduzido CCPA (7 doses); nesta ocasião houve elevação das enzimas hepáticas, com suspensão da CTX. Pela persistência do quadro clínico e laboratorial (rTTPA: 2,06; M1: 4,61; M2: 2,12; FVIII: 1%; Inibidor FVIII: 128 UB/mL), iniciou-se Rituximabe (375mg/m²; semanal, por 4 semanas). Após a última dose apresentava os seguintes exames: rTTPA: 1,31; M1: 1,09; M2: 1,25; FVIII: 173% e Inibidor FVIII: 8UB/mL. Após 15 dias do término do esquema evoluiu ainda com novo sangramento em panturrilha D, tratado com CCPA e manutenção da PDN. Atualmente mantém acompanhamento ambulatorial, sem novos episódios de sangramento ou imunossupressão. **Discussão:** Descrevemos um caso de inibidor adquirido contra FVIII, com possível surgimento após parto e presença de manifestações hemorrágicas e eventos trombóticos sempre associados aos episódios de sangramento local, sem relação com a administração de agente de *bypass*. Acreditamos que além da compressão extrínseca dos vasos (fator local), a doença, caracterizada pela produção de autoanticorpos, pode contribuir através de um perfil inflamatório sistêmico na gênese da trombose. Ademais, expõe-se a dificuldade por vezes encontrada na terapia de erradicação do inibidor, que é fator fundamental para um bom prognóstico.

190

Acquired factor VIII inhibitor associated to prostate cancer in elderlyVillaca PR¹, Okazaki E¹, Valim AK¹, Rocha TR¹, Chamone DA¹, D'amico EA¹¹Universidade de São Paulo

Background: Acquired factor VIII inhibitor is a rare bleeding disorder and accounts for 1.3–1.5 cases per million per year, with the mortality rate around 22%. It occurs most frequently in elderly people, and the incidence increases with age. Clinical features are characterized by a large spectrum of bleeding, from subcutaneous bruising to life threatening bleeding, such as muscle, intracranial or gastrointestinal hemorrhages. Search for an underlying cause is negative in up to 50% of the cases. Some relevant conditions associated are: rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, malignancy, pregnancy and pemphigoid. Treatment is based on the control of bleeding and eradication of the inhibitor. We describe a case of acquired FVIII inhibitor and lupus anticoagulant in a patient with prostate cancer, successfully treated with corticosteroids plus azathioprine. **Case Report:** A 77-year-old man with controlled rheumatoid arthritis and prostate cancer was referred with a history of bleeding after exeresis of a node in the left forearm and spontaneous multiple hematomas (upper and lower limb, and chest). Coagulation tests revealed a prolongation of activated partial thromboplastin time (APTT), and failure to correct after 1:1 mixing with normal plasma FVIII activity was severely decreased (<1%), with increased FVIII inhibitor level (512 BU). Other coagulation factors were normal. Lupus anticoagulant was negative at the time of the diagnosis. Treatment with activated prothrombin-complex concentrate (FEIBA), steroids and azathioprine led to improvement of his clinical symptoms. After five months of immunosuppressive therapy it was observed normalization of coagulation parameters (FVIII >50%, inhibitor negative). Surgery for the cancer was not indicated for urologic issues related to the age. Before 3 months of the complete withdrawal of immunosuppressive therapy, he presented another decrease of FVIII activity with no correction of APTT after mixing study, and a positive test for inhibitor. In order to investigate the cause of the lower level of FVIII, it was performed lupus anticoagulant test and substrate chromogenic FVIII assay (SCA) to quantify the inhibitor was performed. The presence of LA was confirmed, FVIII (SCA) was normal and FVIII inhibitor was negative using this methodology. After 2 months without immunosuppressors, the inhibitor was still negative (<0,6BU). **Summary:** Treatment of acquired FVIII is usually performed with corticosteroids plus cyclophosphamide. The decision to use azathioprine was based on the mortality rate of 22% due to infectious complications, possibly related to myelotoxicity of cyclophosphamide, and the frequent occurrence of factor VIII acquired inhibitors in elderly people. Lupus anticoagulant is common in cancer, and it can interfere with the determination of coagulation factors. It is important to use sensitive assays to avoid inadequate treatment. As the cancer was not eradicated, it is possible that the inhibitor relapses. This is an interesting case of acquired FVIII inhibitor associated to cancer in an elderly patient, which treatment with prednisone and azathioprine resulted in eradication of the inhibitor.

191

Avaliação das frações de plaquetas e reticulócitos imaturos em pacientes com síndrome da resposta inflamatória sistêmica ou sepseRodrigues MV¹, Andreguetto BD¹, Santos TM¹, Gilberti MF¹, Annichino-Bizzacchi JM¹, Dragosavac D¹, Filho MA¹, Paula EV¹¹Universidade Estadual de Campinas**Introdução:** Novos contadores hematológicos utilizados para a

realização do hemograma disponibilizaram uma série de parâmetros analíticos que permitem uma análise mais detalhada da maturação e circulação de leucócitos, hemácias e plaquetas. Parâmetros como a fração de reticulócitos imaturos (IRF) e a fração de plaquetas imaturas (IPF) detectam mais precocemente a retomada da atividade eritro- e trombocitopoiética, e vêm sendo estudados como biomarcadores prognósticos em diversas condições inflamatórias. Mais recentemente, um estudo realizado em pacientes críticos sugeriu que o IPF poderia representar um biomarcador mais adequado que a proteína C reativa e a procalcitonina para o desenvolvimento da sepse. No entanto, a exclusão de pacientes trombocitopênicos e a ausência de análises mecanísticas ainda limitam o alcance prático destes resultados. **Objetivo:** Avaliar a relação entre o IPF e o IRF com parâmetros clínicos e laboratoriais de gravidade em pacientes com síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS) e/ou sepse. **Métodos:** O IPF e o IRF de pacientes com SRIS e/ou sepse internados em 3 unidades de cuidados intensivos ao longo de 60 dias foram obtidos em através de um analisador Sysmex XE5000, durante a realização do hemograma completo. Dados clínicos e laboratoriais referentes aos 28 dias subsequentes à avaliação do IPF e IRF foram obtidos dos prontuários médicos. **Resultados e Conclusão:** No total, 41 pacientes foram incluídos no estudo (sepse: n=33; SRIS: n=8). Não foram observadas diferenças demográficas ou clínico-laboratoriais entre os dois grupos, cujos escores SOFA e APACHE-II (mediana; min-max) na entrada eram 5 (0-17) e 14 (2-37) respectivamente. Os valores de IPF (4,9 %; 1,1-17,4 vs 2,9%; 1,1-8,0) e de IRF (11,9; 1,6-47,1 vs 4,8; 1,4-13,0) encontravam-se significativamente mais elevados na população do estudo do que em voluntários sadios (ambos P<0,0001). No entanto, não foram observadas diferenças entre os grupos sepse e SRIS no que diz respeito a estes parâmetros. O IPF apresentou uma correlação negativa com a contagem de plaquetas e com a pressão arterial média. Por sua vez, o IRF correlacionou-se significativamente com a creatinina, débito urinário, bilirrubina total e proteína C reativa, e também com os escores APACHE-II na admissão, e SOFA do 7º, 14º e 21º dia após a avaliação. Quando os pacientes foram estratificados pelos valores da mediana dos parâmetros clínicos e laboratoriais incluídos na análise, valores de IRF mais altos foram observados no subgrupo com valores mais elevados de APACHE-II, creatinina, bilirrubina, e valores inferiores de débito urinário. Em conclusão, em uma população heterogênea de pacientes com SRIS, o IPF e o IRF apresentaram elevação significativa em relação aos controles sadios, mas não foram capazes de separar os pacientes quanto ao diagnóstico de SRIS ou sepse. Por outro lado, valores significativamente mais altos da IRF foram associados a marcadores clínicos e laboratoriais de gravidade. Novos estudos avaliando o papel do IRF nesta população serão importantes para o entendimento do papel deste parâmetro, de obtenção simples e de baixo custo, na avaliação de pacientes críticos.

192

Deficiência adquirida do fator VII da coagulaçãoSilva VA¹, Martins FF¹, Pardi TC¹, Pereira VC¹¹Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Entre as doenças auto-imunes que afetam o sangue a anemia hemolítica e trombocitopenia auto-imune são as mais frequentes. Mais raramente, auto-anticorpos podem se desenvolver contra o sistema hemostático gerando trombofilias ou hemofilias adquiridas. As hemofilias adquiridas tem uma incidência anual de cerca de um caso por milhão na população geral. Afetam não apenas os pacientes com doenças auto-imunes mas também pessoas previamente saudáveis. Seu curso é muito mais grave do que as hemofilias congênicas e o diagnóstico clínico muito mais difícil. O desenvolvimento de auto-anticorpos contra fator VIII é o mais comum, porém, auto-imunidade contra outros fatores da coagulação também podem ocorrer. **Relato de Caso:** Homen, 36 anos, negro, internado em março de 2013 devido

a lombalgia, equimoses no quadril, hematúria franca, gengivorragia há 4 dias. À admissão apresentava hemoglobina de 5,7 g/dl, tempo de atividade de protrombina (TAP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TPPA) incoaguláveis. Indicado transfusão de concentrado de hemácias, plasma fresco congelado e crioprecipitado e o paciente fora encaminhado à Unidade de Terapia Intensiva. Apresentava-se consciente, orientado, descorado, taquicárdico (108 batimentos por minuto), pressão arterial 123x89 mmHg, discreto edema e presença de varizes em membros inferiores, além de úlceras maleolares crônicas com sinais de sangramento e equimoses em região pélvica. Negava antecedentes pessoais ou familiares de distúrbios de coagulação. Foi descartado patologias renais e urológicas. Dois dias após, ainda com hematúria, equimoses, TAP incoagulável e necessidade de suporte transfusional, optado por iniciar pulsoterapia com metilprednisolona e administração de complexo protrombínico ativado. Dosagem do fator VII da coagulação 3%; demais normais. Dosado anticorpo anticardiolipina positivo, o que sugere etiologia auto-imune para o distúrbio de coagulação. Demais auto-anticorpos negativos. Paciente evoluiu bem, não houveram sangramentos após uso do complexo protrombínico e manutenção de corticoterapia. **Discussão:** A suspeita das hemofilias adquiridas deve ocorrer em pacientes com hemorragias sem causa aparente e sem história prévia de diátese hemorrágica. Estes pacientes tem, predominantemente, episódios de sangramento de tecidos moles e sistêmicos e, ao contrário de doenças hemorrágicas congênitas, hemorragias nas articulações são relativamente raras. As investigações de laboratório mostram tempo de trombina normal, tempo de protrombina e de tromboplastina parcial ativada prolongados. Podem se associar com gravidez, neoplasia, artrite reumatóide e outras desordens auto-imunes, mas na maioria dos casos a etiologia não é definida. Apesar de até 36% dos pacientes que não recebem os imunossupressores experimentem resolução espontânea dos seus anticorpos, esta ocorrência é imprevisível, e os pacientes permanecem com grande risco de hemorragia fatal. Hemofilia adquirida é tão rara que grandes ensaios terapêuticos randomizados não são viáveis, embora seja uma doença grave e com risco de vida. O controle de sangramentos pode ser obtido com plasmaférese, administração de factor VIII, concentrado de complexo de protrombínico ativado e o factor VII humano recombinante ativado. Novas estratégias de tratamento, como o emprego do anticorpo monoclonal anti CD20 (Rituximab) tem sido consideradas.

193

Intervenção da terapia aquática no ganho de equilíbrio em paciente com hemofilia

Feldberg G¹, Matta MA¹, Ricciardi JJ¹, Medina SS¹, Ozelo MC¹

¹Unidade de Hemofilia "IHTC- Cláudio L. P. Corrêa"- INCT do Sangue Hemocentro Unicamp

Introdução: A hemofilia apresenta como uma das principais complicações as alterações musculoesqueléticas. Os pacientes com hemofilia quando não tratados adequadamente com profilaxia desde a infância, podem evoluir com diferentes graus de artropatia hemofílica, associado de outras manifestações, como fraqueza muscular, diminuição da flexibilidade e dor crônica. Essas alterações contribuem para o déficit de equilíbrio e aumento do risco de quedas nesses pacientes. A Fisioterapia Aquática (Hidroterapia) é uma excelente alternativa terapêutica para esses pacientes, pois os movimentos são facilitados quando executado no meio aquático, onde há a diminuição da ação da gravidade, com consequente aumento na força muscular, flexibilidade e equilíbrio postural. O meio aquático é considerado seguro e eficaz na reabilitação do paciente hemofílico, pois a água atua simultaneamente nas desordens musculoesqueléticas e melhora o equilíbrio. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi avaliar a fisioterapia aquática associada a treinamento com exercícios domiciliares específicos na melhora do equilíbrio em um paciente com hemofilia. **Métodos:** Paciente com 16 anos e diagnóstico de hemofilia A grave

que apresentava considerável alteração de equilíbrio e frequentes traumas, foi submetido a 12 sessões de fisioterapia aquática de 60min semanais cada. Os exercícios aquáticos visavam ganho de força, flexibilidade e equilíbrio. Foram associados exercícios específicos para o equilíbrio, para serem executados 3-5 vezes por semana em ambiente domiciliar para intensificar os resultados. O paciente foi submetido a duas avaliações, sendo uma inicial ao programa e outra após o período de 12 semanas. As avaliações incluíram o escore funcional (FISH) e escore clínico para hemofilia, para a verificação da funcionalidade e estado clínico do paciente respectivamente e o questionário para avaliação de dor (questionário de McGill). Para determinação da capacidade de equilíbrio foram realizadas avaliações em solo, incluindo: Escala de Equilíbrio de Berg, Teste de Tinetti, Teste Timed Up And Go e On Leg Stance. **Resultados:** Foi observado ao final das 12 semanas um aumento significativo no equilíbrio do paciente em todas as escalas utilizadas, atingindo a pontuação máxima na Escala de Equilíbrio de Berg (inicial 46 e ao final 56). Igualmente as avaliações de FISH e avaliação musculoesquelética clínica específicos para hemofilia, evidenciaram uma melhora importante em tornozelos e cotovelos, embora os joelhos que apresentavam comprometimento maior não mostrou alteração. No presente estudo foi associado ao protocolo hidroterapêutico um programa de exercícios domiciliares individualizado, para que fosse intensificado o treino de equilíbrio estático e dinâmico, reproduzindo também os benefícios alcançados pelo programa hidroterapêutico em solo. A proposta desse estudo foi estimular as reações do equilíbrio promovendo assim um aumento do equilíbrio, consequentemente prevenindo as quedas. **Conclusão:** Embora se trate de um relato de caso, consideramos que a fisioterapia aquática, associada aos exercícios domiciliares específicos para o equilíbrio, contribui para a melhora do equilíbrio, potencializando a diminuição dos riscos de quedas, atuando diretamente na prevenção das complicações musculoesqueléticas decorrentes da hemofilia e restabelecimento do equilíbrio estático e dinâmico.

194

Procedência dos pacientes hemofílicos atendidos em um hemocentro de São Luís do Maranhão

Ribeiro MD¹, Neto CP¹, Martins BL¹, Junior SR¹, Marins JB¹, Alencar LC¹, Barbosa FM¹, Dumont SV¹, Silva PR¹, Nicolau DI¹

¹Universidade Federal do Maranhão

Introdução: A hemofilia é uma das patologias sanguíneas mais conhecidas, com um grande espectro de afecções e de grande interesse médico para o estabelecimento de uma vida saudável aos portadores. É uma coagulopatia hereditária ligada ao sexo masculino, caracterizada por uma deficiência isolada de um fator de coagulação, esse fator pode ser o fator VIII ou o IX. A deficiência do fator VIII é conhecida como hemofilia A ou hemofilia clássica, sendo a mais comum. A deficiência do fator IX é conhecida como hemofilia B ou doença de Christmas. **Objetivo:** Determinar o perfil epidemiológico das pessoas atendidas no ambulatório do Hemocentro do Maranhão (HEMOMAR) quanto à procedência, relacionando com as variáveis: tipos de hemofilia e graus de severidade. **Métodos:** Foi realizada uma pesquisa de caráter teórico-descritivo, retrospectivo e quantitativo com levantamento de dados fornecidos pelo HEMOMAR. A população compreendeu 193 pacientes portadores de hemofilia em acompanhamento no setor de Hematologia do HEMOMAR, em que quatro pessoas foram retiradas do estudo: uma por estar em processo de determinação da gravidade, duas por falta de dados sobre a procedência e outra por morar no município de Marabá - PA. Os dados fornecidos pelo HEMOMAR foram analisados em tabelas e gráficos dos programas Word e Excel 2010, em que foram relacionados os tipos e graus de hemofilia com procedência. Quanto à procedência, consideraram-se os residentes em São Luís - MA como procedentes da capital e os residentes nos outros municípios do Maranhão como procedentes do interior do estado. Quanto à gravidade, foi considerado grave o

paciente com menos de 1% do fator de coagulação, moderada entre 1% e 5% e leve entre 5% e 30%. Foi garantido o anonimato dos pacientes que tiveram os dados analisados. **Resultados e Discussão:** Percebeu-se que a maioria dos pacientes se encontra no interior do Maranhão (57,68%) em detrimento dos residentes na capital (42,32%). Quanto aos pacientes residentes no interior do estado, percebeu-se maior prevalência de portadores de hemofilia A (90,82%) em relação à hemofilia B (9,18%), onde a forma moderada se mostrou predominante nas duas formas (57,79%) e a forma grave só se mostrou presente em 15,15% dos pacientes com hemofilia A. Nos hemofílicos residentes na capital, a hemofilia A (82,50%) se mostrou mais predominante que a B (17,50%), e a forma moderada também foi a mais prevalente nos dois tipos (43,75%, onde 82,85% desse valor são do tipo A e 17,15% são do tipo B). Com essa análise percebe-se menos concentração de hemofílicos na capital em relação ao interior, dados importantes porque o Maranhão dispõe de apenas um hemocentro localizado na capital para atender todo o estado e esse estudo mostra a importância da construção de outras unidades em outras mesorregiões para otimizar o atendimento não só aos portadores de hemofilia como também aos de outras patologias sanguíneas por ter uma maior proximidade do centro ao paciente além de diminuir custos de transporte, estadia e alimentação. **Conclusão:** Conclui-se que o perfil epidemiológico da hemofilia dos pacientes atendidos no HEMOMAR é composto de uma maioria de residentes no interior portadores de hemofilia A com gravidade moderada, o que ressalta a importância da interiorização de serviços de saúde, mais especificamente na área de hematologia e na construção de hemocentros.

195

Púrpura trombocitopênica trombótica (PTT): relato de um caso

Vassalli LC¹, Prado-Júnior BP¹, Arantes AQ¹, Koury LC¹, Pinto AC¹, Prata KL¹, De-Santis GC¹, Santos FL¹, Fernandes AT¹, Covas DT¹

¹Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Introdução: Para o diagnóstico e tratamento da PTT é suficiente o achado de anemia hemolítica microangiopática (não autoimune) e plaquetopenia, embora alterações do estado mental, insuficiência renal e febre completem a síndrome. Em geral, está associada à deficiência da enzima ADAMS13 primária ou secundária. Potencialmente fatal, seu diagnóstico requer início imediato de trocas plasmáticas diárias com reposição de Plasma Fresco Congelado (PFC) ou transfusão de PFC até que as trocas sejam possíveis. As trocas plasmáticas elevaram a sobrevida de 10% para 80% nas últimas décadas. **Relato de Caso:** Mulher, 20 a, previamente hígida. Quadro clínico: um mês com cefaléia e diplopia, febre (38,5 °C), equimoses espontâneas e hematêmese. Entre os achados iniciais, hemoglobina de 5,7 g/dL, 6.000 plaquetas/ μ L, bilirrubina indireta de 2,41 mg/dL, Coombs direto negativo, Lactato desidrogenase de 6609 U/L e 8 a 10 esquizócitos por campo, sorologias para hepatites B e C, HIV, VDRL, Chagas, HTLV, CMV, Epstein-Barr negativas e Fator Anti-Núcleo e Anticorpos Anti-cardiolipina não reagentes. Iniciadas transfusões imediatas de PFC, ambulatorialmente e, no mesmo dia, trocas de 1 volêmia plasmática corrigida (VPC) com reposição 1:1 de PFC diariamente. Após 4 sessões, sem resposta clínica, com 20.000 plaquetas/ μ L e suspeita de pneumonia, iniciadas Claritromicina e Ceftriaxona endovenosas e Prednisona oral (1 mg/Kg/dia). Na 8ª sessão, ainda sem resposta, 20.000 plaquetas/ μ L, intensificamos as trocas para 1,5 VPC. Da 8ª até a 18ª sessão houve melhora progressiva atingindo 151.000 plaquetas/ μ L e, na 16ª sessão, reduzidos o volume de troca para 1 VPC. Na 19ª sessão, verificamos piora, com 47.000 plaquetas/ μ L e retomamos trocas de 1,5 VPC. Na 21ª sessão, ainda sem melhora, verificamos sinais de infecção por *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina em sítio de cateter, que foi retirado. Iniciada Teicoplanina com melhora progressiva. Na 27ª sessão, plaquetas

190.000/ μ L, reduzimos o volume de troca para 1 VPC, após 3 dias, com 269.000 plaquetas/ μ L, iniciamos o desmame, com sessões em dias alternados e, após a 31ª sessão, com 296.000 plaquetas/ μ L, suspendemos as trocas plasmáticas e a Teicoplanina. **Conclusão:** Infecção (Pneumonia) pode ter sido o fator desencadeante do quadro de PTT, ter retardado a resposta clínica e provocado recaída (cateter) ainda na vigência do tratamento. A presteza no início da terapia com PFC e as trocas plasmáticas, bem como a busca ativa e o tratamento dos fatores desencadeantes e as intercorrências infecciosas são fundamentais para o bom êxito da terapia.

196

Hemofilia A adquirida em paciente idoso associada a tuberculose pulmonar

Leal CT¹, Candolo AA¹, Arantes AQ¹, Ramos AF¹, Vassalli LC¹, Oltramari MR¹, Maio KT¹, Koury LC¹, Oliveira LC¹, Simões BP¹

¹Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

A Hemofilia A Adquirida (HAA) é um distúrbio hemorrágico com incidência de 1,0 – 1,5 milhão/ano, causada por autoanticorpos contra o Fator VIII da coagulação que neutralizam o efeito pró-coagulante do mesmo e resulta em sangramentos graves e potencialmente fatais. Afeta principalmente indivíduos idosos e manifesta-se com hemorragias espontâneas na pele, músculos, partes moles ou sangramento anormal em procedimentos cirúrgicos em pacientes sem antecedentes de distúrbios de coagulação. Pode estar associada a diversas patologias como doenças autoimunes, infecciosas (Hepatite B, C), medicamentos, gestação, tumores sólidos e neoplasias hematológicas, dentre elas distúrbios linfoplasmocitários. Entretanto, aproximadamente 50% dos casos são idiopáticos. O diagnóstico deve ser considerado em pacientes com sangramento anormal e prolongamento no Tempo de Tromboplastina Parcial ativado (TTPa) que não corrige com a adição de plasma normal, sugerindo a presença de inibidor do fator da coagulação. O principal objetivo terapêutico consiste no controle do evento agudo e erradicação do autoanticorpo, quer seja pelo tratamento da doença de base e/ou uso de imunossuppressores. O controle de eventos hemorrágicos pode ser realizado com o uso do fator recombinante VIIa e concentrado de complexo protrombínico ativado (FEIBA). Relata-se o caso de um paciente, masculino, 73 anos, previamente hígido, admitido em nosso serviço de Hematologia com quadro de dor e aumento de volume em MID, espontâneo. Exames de imagem foram compatíveis com hematoma em musculatura proximal da coxa direita e em região de íleo psoas. Exames iniciais: Hb: 7.5g/dl, HT: 22%, GB: 8100/ml e Plaquetas: 338mil/mm³; TTPa: 3.25s e 1,36s (após realização teste da mistura com plasma normal). Pesquisa de anticoagulante lúpico, negativa; quantificação da atividade do Fator VIII: 1.3% (VR:50-200%). A pesquisa do inibidor do Fator VIII foi positiva com a quantificação do mesmo em 10U e assim, constatado o diagnóstico de HAA. Investigação adicional revelou pico monoclonal na região de gamaglobulinas (0,52); razão kappa/lambda:2,50 (VR:0,25-1,65). Mielograma normal e BMO com infiltrado de plasmócitos (<10%) monoclonal kappa. Considerado o diagnóstico de Gamopatia Monoclonal de Significado Indeterminado. CT de tórax evidenciou nódulos centrolobulares com padrão de árvore em brotamento no lobo superior do pulmão direito. O PPD e BAAR no escarro foram negativos. Submetido à broncoscopia com BAAR positiva no fragmento pulmonar. Posterior cultura confirmatória para o diagnóstico de Tuberculose (TB). Iniciado tratamento com o esquema específico (RIPE) e optado por início de imunossupressão com Prednisona 1mg/kg/dia. O controle do hematoma foi realizado com a utilização de FEIBA na dose de 50 UI/Kg de 12/12 horas, desde a admissão, com controle tomográfico semanal. O paciente apresentou evolução favorável com normalização do TTPa e atividade do Fator VIII (84%) em 2 meses. Trata-se, portanto, de um caso de HAA provavelmente desencadeada por TB pulmonar. A HAA é uma

doença rara, acompanhada de altas taxas de mortalidade (superiores a 20%) e essa associação com TB é ainda pouco conhecida. O diagnóstico precoce e a rápida instalação de terapêutica adequada para o controle do sangramento, bem como avaliação minuciosa dos possíveis fatores desencadeantes dessa condição foram essenciais para o êxito do tratamento e um desfecho satisfatório.

197

Doença de von Willebrand e gravidez

Barbosa MA¹, Barbosa SA², Barbosa SF³, Pacheco TC², Gressler CI¹, Carvalho CT¹

¹Pontifícia Universidade Católica de Goiás

²Escola Superior de Ciências da Saúde

³Universidade Federal de Goiás

Introdução: A doença de von Willebrand (DvW) é causada devido a mutação no cromossomo 12 e caracteriza-se por deficiência no fator de von Willebrand. Assim, manifesta-se por disfunção plaquetária e diminuição dos níveis séricos do fator VIII coagulante. A prevalência da DvW relatada é de 0,6 a 1,3% na população em geral. Portanto, há grande possibilidade desta coagulopatia gerar problemas durante a gestação e o parto em mulheres em idade fértil. Nos Estados Unidos, a prevalência da DvW na gestação é de 1: 4000 partos. Entretanto, ainda não há dados referentes ao número de gestantes com a DvW no Brasil. Durante a gravidez, há uma elevação do fator de Von Willebrand (375%) e do fator VIII coagulante (200%), o que diminui o risco de hemorragias durante a gestação. Porém, após o parto, os níveis do fator de Von Willebrand e do fator VIII coagulante tendem a cair, o que aumenta, assim, a possibilidade de hemorragia pós-parto. É imprescindível a detecção precoce dos casos de DvW. Além disso, o acompanhamento de gestantes com DvW durante o pré-natal e principalmente após o parto deve ser feito. Ainda é necessário que sejam realizados estudos sobre a incidência de DvW em gestantes brasileiras, além da determinação de complicações hemorrágicas no pós-parto. **Objetivo:** Determinar o perfil da DvW na gravidez em mulheres brasileiras. **Métodos:** Análise de artigos científicos presentes em plataformas virtuais sobre o assunto: DvW e gestação em mulheres brasileiras. **Resultados:** Apesar de ser escassa a literatura em relação a DvW e gestantes brasileiras, foi possível observar diferentes casos. Destaca-se o caso de uma paciente com HIV e a DvW, que teve seu parto cesário. Durante o intra-operatório a paciente recebeu infusão de fator VIII que foi mantida a cada 12 horas por 4 dias. O feto nasceu sendo avaliado com Apgar 5 demonstrando sofrimento fetal. Contudo, não houve complicações hemorrágicas no pós parto pela mãe. Em um estudo realizado em São Paulo no Hospital das Clínicas com 13 gestantes portadoras da DvW, 9 submeteram-se a parto cesário e 4 a parto vaginal. De profilaxia, 3 das gestantes receberam fator VIII no pré operatório. Em relação às complicações hemorrágicas, 1 gestante teve descolamento prematuro de placenta, 1 com hemorragia no pós parto e 11 sem complicações. Apenas em 2 casos foi evidenciado sofrimento fetal. Ainda foi observado em um caso no hospital escola da PUC-SP gestante com DvW que teve seu parto cesário. Recebeu como profilaxia fator VIII no momento do parto e 10 dias de pós-parto. A paciente não sofreu complicações hemorrágicas. Já o feto nasceu prematuro, com Capurro de 34s e 4d e passou um dia sob cuidados intensivos. **Conclusão:** Apesar da pouca literatura existente relacionada a DvW e gestação de mulheres brasileiras, foi constatado que na maioria dos casos o tipo de parto escolhido foi cesário, mesmo que haja um grande sangramento nesse tipo de procedimento. Em relação ao recém-nascido, alguns casos apresentaram sofrimento, mas nenhum teve seu desenvolvimento comprometido. A partir dos artigos analisados, pode-se inferir que apesar da DvW ser uma coagulopatia com conhecidas complicações hemorrágicas no pós-parto, é correto afirmar que se for feita a devida profilaxia e eficiente acompanhamento com hematologista, possivelmente, não haverá intercorrências maternas.

198

Importância da correta avaliação do tipo e gravidade da hemofilia e da pesquisa de inibidor

Carneiro JD^{1,2}, D'amico EA¹, Rocha TR¹, Giuliani RR³

¹Centro de Hemofilia-HCFMUSP

²Instituto da Criança-HCFMUSP

³Hemonúcleo de Santos

Introdução: O diagnóstico preciso do tipo e gravidade da Hemofilia, assim como da presença de inibidor causam grande impacto no tratamento, na qualidade de vida e na morbimortalidade destes pacientes. Os testes laboratoriais consistem na quantificação dos níveis dos fatores de coagulação VIII, IX, da atividade do cofator de ristocetina (FVW:RCo) e do inibidor pelo método Bethesda. Para a realização destes testes são necessários infraestrutura e técnicos com experiência em hemostasia, condições nem sempre disponíveis nos centros que tratam pacientes com hemofilia. **Objetivo:** Estimar os índices de qualidade correspondentes à sensibilidade, especificidade e acurácia dos testes diagnósticos comparando-se dois centros de tratamento de hemofílicos. **Métodos:** As dosagens dos níveis dos fatores de coagulação VIII, IX, da atividade do FVW:RCo e do inibidor pelo método Bethesda foram realizadas de acordo com as diretrizes da Federação Mundial de Hemofilia - WFH. Para avaliação de concordância entre o Centro A (padrão ouro) e o Centro B foi estimado o coeficiente de concordância de Kappa. Para as estimativas da sensibilidade, especificidade e acurácia utilizou-se um intervalo de 95% de confiança (IC). A análise estatística usou o programa Statistica v.8.0. **Resultados:** Foram avaliados 72 pacientes com média de idade de 20,5 anos (2 a 79 anos). Em relação ao diagnóstico de Hemofilia A (HA), a sensibilidade do Centro B foi 98,3% (IC 95,3% - 100%), a especificidade 100% e o coeficiente de concordância de Kappa 0,88 (IC 0,65 - 1,00). Em relação à classificação do grau de HA a acurácia do Centro B foi de 72,6% (IC 61,5% - 83,7%). Em 21,0% dos casos o Centro B subestimou a gravidade e em 6,4% superestimou. Em relação à Hemofilia B (HB), a sensibilidade foi 100%, a especificidade 96,6% (IC 89,9% - 100%) e o coeficiente de concordância de Kappa 0,84 (IC 0,50 - 1,00). Em relação à classificação do grau de HB apenas três casos foram avaliados e a acurácia foi de 66,6%. Dois casos de Doença de Von Willebrand foram identificados pelo Centro A e não avaliados pelo Centro B. Na avaliação de inibidor a sensibilidade foi 33,3%, a especificidade 81,8%, o coeficiente de concordância de Kappa 0,12 (IC 0,0 - 0,38) e a acurácia (probabilidade de acerto) 76% (IC 64,2% - 87,8%). **Discussão:** O presente estudo mostrou alta concordância entre os centros para os diagnósticos de Hemofilia A ou B, no entanto, a acurácia na classificação da gravidade foi baixa, principalmente para a Hemofilia A. Adicionalmente, este estudo demonstrou a dificuldade no diagnóstico preciso de inibidor demonstrado pela fraca concordância entre os dois centros. Possíveis explicações para as diferenças são: dificuldades na avaliação concomitante de todos os testes, na repetição para confirmação diagnóstica e na dosagem de inibidor. As principais dificuldades decorrem não só da infraestrutura dos centros, mas também de condições diretamente relacionadas ao paciente (distância do centro, aderência às consultas e ao tratamento). **Conclusão:** As avaliações precisas do tipo e gravidade da Hemofilia e da pesquisa de inibidor são fundamentais para o tratamento, qualidade de vida e morbimortalidade dos pacientes hemofílicos. O envio de amostras para centros de referência poderá constituir uma estratégia complementar no diagnóstico das coagulopatias hereditárias.

199

Avaliação de dois reagentes comerciais usados para determinação do tempo de tromboplastina parcial ativada e dosagem de fatores VIII, IX e XI da coagulação

Martins EC¹, Silva CR¹, Oliveira PD¹, Braga JM¹, Leones AP¹, Pintão MC¹

¹Setor de Hemostasia, Grupo Fleury

Os reagentes usados para a realização do tempo de tromboplastina parcial ativada têm sensibilidade variável à deficiência dos fatores da coagulação (fatores VIII (FVIII), IX (FIX) e XI (FXI)), devido a diferenças relacionadas às características do ativador e à quantidade de fosfolípidios. O Instituto de Padronizações Clínicas e Laboratoriais (*Clinical and Laboratory Standards Institute*, CLSI) recomenda que o teste de TTPA seja capaz de identificar claramente as amostras 30% ou menos de atividade dos fatores da via intrínseca. Neste estudo, avaliamos os resultados do TTPA expresso em segundos (TTPAseg) e em relação ao controle normal (TTPAr) realizados com dois reagentes comercialmente disponíveis, que usam diferentes ativadores: STA-PTT® (sílica, diagnóstica Stago) e STA-Cephascreen® (ácido elárgico, diagnóstica Stago). A dosagem dos fatores VIII, IX e XI foi realizada nestas mesmas amostras com os respectivos reagentes. Os testes foram realizados no equipamento STA-R Evolution® (Diagnóstica Stago) de acordo com os protocolos recomendados pelo fabricante. A dosagem do FVIII, FIX e FXI foi realizada em dias separados com uma única respectiva curva de calibração. O TTPA foi determinado em no mesmo dia da dosagem dos fatores. Amostras de plasma congelado foram diluídas de forma seriada em plasma deficiente em fator (VIII, IX ou XI) para criar plasmas com concentrações individuais variando de aproximadamente 10% a >100% de atividade. No total, foram avaliadas 17 amostras independentes para os fatores VIII e XI e 23 amostra para o fator IX. Os resultados foram avaliados pelo teste-t pareado para os valores com distribuição normal (dosagem de fatores) e pelo teste de Wilcoxon pareado para os valores sem distribuição normal (TTPAseg e TTPAr) e considerados significativamente diferentes quando $p < 0,05$ (GraphPad). A dosagem do fator VIII variou de 12 a 102 % e foi comparável entre os reagentes avaliados. O mesmo foi válido para a dosagem dos fatores IX, que variou de 4 a 106%, e XI, que variou de 13 a 129%. Este resultado era esperado uma vez que a dosagem de fatores da coagulação é feita através da construção de uma curva de calibração que corrige as diferenças de sensibilidade dos reagentes. A análise em conjunto das amostras ($n=57$) mostrou que o TTPAseg foi maior com STA-PTT® em comparação ao STA-Cephascreen® (média 77 seg (± 47) vs 60 (± 39), respectivamente, $p < 0,0001$). Mesmo quando o TTPA foi dividido pelo controle do dia (TTPAr), o resultado foi maior para o STA-PTT® em comparação ao STA-Cephascreen® (TTPAr médio 2,1 ($\pm 1,2$) vs 1,9 ($\pm 1,0$), respectivamente, $p = 0,007$). Esta variação foi maior para os resultados obtidos em amostras com dosagem de fator baixa (< 30%). Em todos os casos, entretanto, o resultado do TTPAseg e TTPAr foi capaz de discriminar as amostras com atividade de fator < 30%. Estes resultados sugerem que, apesar da variação de resultados, os dois reagentes testados obedecem às recomendações da CLSI em relação à identificação indivíduos com atividade de fator (VII, IX ou XI) menor que 30%.

200

Hemofilia adquirida associada a artrite reumatoide – relato de caso

Pires-Filho LI^{1,2}, Evangelista LS¹, Barbosa SM², Machado CM¹, Gomes A¹, Leopoldino AE¹, Cerqueira MA¹

¹HEMOPI

²HEMOCE

A Hemofilia Adquirida é uma condição rara causada pela produção espontânea de anticorpos contra o Fator VIII da coagulação. A incidência de casos descrita é de 1: 1.000.000 e é possível que o diagnóstico passe despercebido principalmente quando associado a doenças auto-imunes. O aparecimento de anticorpos pode surgir em idosos, mulheres no puerpério, neoplasias malignas ou doenças auto-imunes. Trata-se de um relato de caso de uma paciente de 36 anos, portadora de artrite reumatóide há 11 anos e refere quadro de poliartrite migratória que desenvolveu hemartrose volumosa no joelho direito documentada por TC. Em seguida, evoluiu com quadro de hematúria e equimoses espontâneas disseminadas no tronco e membros inferiores. Durante a investigação foi observado TTPA alargado com dosagem de fator VIII 0,3%, sendo confirmado o diagnóstico pela presença de inibidor do fator VIII. Durante os episódios hemorrágicos a paciente foi tratada com CCPA e iniciada terapia com Prednisona 1mg/Kg de peso. Em seguida foi instituída pulsoterapia de metilprednisolona e ciclofosfamida com remissão do quadro hemorrágico, controle dos sintomas álgicos e negatização do anticorpo contra o Fator VIII. Apesar de condição rara, a hemofilia adquirida deve ser sempre investigada em pacientes com doenças auto-imunes que desenvolvem manifestações hemorrágicas associadas ao alargamento do TTPA e contagem plaquetária normal.

201

Farmacocinética dos fatores da coagulação: uma ferramenta importante no tratamento da hemofilia grave através da profilaxia

Pires-Filho LI¹, Martins MA¹, Barbosa SM¹, Lopes IE¹, Silva HF¹, Ribeiro RA¹

¹HEMOCE

A hemofilia é uma doença hemorrágica, caracterizada pela deficiência dos fatores VIII (hemofilia A) e IX (hemofilia B) da coagulação, provocada por mutações dos genes que codificam o fator VIII ou IX localizados no braço longo do cromossomo X. A principal característica clínica da hemofilia grave é a hemorragia articular, cuja recorrência pode desencadear lesões articulares progressivas e irreversíveis, com possível evolução para a artropatia hemofílica. O tratamento da hemofilia grave sofreu uma grande revolução nas últimas décadas. A profilaxia, ou seja, a infusão precoce e regular dos fatores de coagulação deficientes tem sido considerada o tratamento de escolha para crianças, adolescentes e adultos jovens pelo impacto na prevenção das hemorragias articulares. O objetivo da profilaxia é manter o nível do fator circulante acima de 1UI/dl, o que geralmente é alcançado com a infusão de 20-40UI/Kg, três vezes por semana. No entanto, essa dose deve ser individualizada para cada indivíduo de acordo com a sua faixa etária, fenótipo individual de sangramento e farmacocinética do fator infundido. Objetiva-se com este estudo avaliar o perfil dos pacientes em tratamento com profilaxia secundária e a dose necessária para controlar hemorragias articulares e proporcionar impacto positivo na qualidade de vida. Trata-se de estudo descritivo realizado com pacientes em tratamento por profilaxia secundária de janeiro de 2012 a julho de 2013 no Hemocentro Coordenador de Fortaleza. Foram avaliados 60 pacientes, 89% eram portadores de hemofilia A e 11% hemofilia B. A idade variou

de 05 a 30 anos com mediana de 17. O peso variou de 17 a 70 Kg. As articulações-alvo mais acometidas foram joelhos (48%), cotovelos (28%), tornozelos (20%) e ombros (4%). As doses alcançadas para evitar o sangramento articular foram 15UI/kg (6%), 20 UI/kg (45%), 25 UI/Kg (36%) e 30UI/kg (12%). A frequência de infusão foi de três vezes por semana (80%) e quatro vezes por semana (20%) de acordo com a farmacocinética. A profilaxia tem como principal benefício a melhoria da qualidade de vida das pessoas com hemofilia. A dose individualizada através da farmacocinética e aumento gradual permite um melhor controle da hemorragia articular e consequentemente uma prevenção da artropatia hemofílica.

202

Estudo de polimorfismos no Intron 40 do gene FVW: eletroforese em gel de poliácridamida x eletroforese capilar

Carvalho SP¹, Laranjeira DS¹, Paes SS², Rocha LC³, Goncalves MS², Adorno EV¹

¹Universidade Federal da Bahia

²Fundação Oswaldo Cruz – Bahia

³Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia (HEMOBA)

O Fator de von Willebrand (FvW) é uma glicoproteína sintetizada pelas células endoteliais e plaquetas que participa dos processos de hemostasia. O FvW está localizado no braço curto do cromossomo 12 e apresenta regiões polimórficas, com três segmentos no *intron* 40, que apresenta número variável de repetições em *tandem* (VNTR1, VNTR2 e VNTR3). O estudo dessas regiões tem apresentado importância para a determinação de haplótipos que poderão contribuir nas análises de segregação e caracterização gênica do FvW, uma vez que alterações quantitativas ou qualitativas levam à doença de von Willebrand (DvW). A identificação dos alelos nas sequências de VNTR, geralmente, baseia-se no tamanho dos fragmentos obtidos por amplificação do segmento do DNA, através da reação da polimerase em cadeia (PCR), os quais podem ser determinados pelas técnicas moleculares de eletroforese como a eletroforese em gel de poliácridamida (PAGE) e a eletroforese capilar (EC). O objetivo do estudo foi realizar uma análise comparativa entre as técnicas PAGE e EC utilizadas para a caracterização do FvW em indivíduos da cidade de Salvador-BA. Foram analisadas 51 amostras de DNA extraídos de leucócitos de indivíduos saudáveis que frequentaram o Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia-UFBA, no período de janeiro a março de 2012, os quais assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. A análise estatística foi realizada no programa EpiInfo versão 6.04 para determinar as frequências alélicas e o índice *kappa*, para estimar o nível de concordância entre as duas técnicas. No VNTR1, os alelos mais frequentes foram o 6 (27,4%) e 5 (16,7%) pela PAGE; 5 (40,2%) e 4 (21,6%) pela EC; o índice *Kappa* demonstrou nenhuma concordância entre as técnicas para os alelos 5 ($k = -0,128$) e 6 ($k = -0,025$); e concordância relativa para o alelo 4 (0,258). Na análise do VNTR2, ambas as técnicas forneceram os alelos 4 (42,2% - PAGE; 35,8% - EC) e 3 (29,4% - PAGE; 40% - EC) como os mais frequentes; o *Kappa* demonstrou uma concordância relativa para os alelos 4 ($k = 0,370$) e 3 ($k = 0,377$) encontrados no estudo. No VNTR3, os alelos mais frequentes foram o 2 (27,4% - PAGE; 19,6% - EC), o 3 (29,4% - PAGE e EC); e o 4 (21,6% - PAGE; 24,5% - EC); para o alelo 2, o *kappa* demonstrou concordância relativa ($k = 0,352$); para o alelo 3 concordância moderada ($k = 0,433$); e para o alelo 4 concordância substancial ($k = 0,696$), conferindo a este último polimorfismo uma reprodutibilidade maior entre os resultados obtidos pelas técnicas de eletroforese utilizadas. Para as frequências de heterozigose, o índice *Kappa* demonstrou concordância substancial para os três polimorfismos, com índices iguais a 0,677 (VNTR1), 0,789 (VNTR2) e 0,644 (VNTR3). Apesar da complexidade na estrutura nucleotídica desses polimorfismos, os quais são diferenciados por apenas quatro pares de base, a PAGE demonstrou

frequências alélicas semelhantes às encontradas pela técnica de EC, a qual é considerada uma técnica padrão-ouro para análise de fragmentos. Entretanto, a detecção do alelo 4-VNTR1, o qual nunca fora descrito em outros estudos, foi demonstrado pela EC, como um dos mais frequentes, diferindo do encontrado pela PAGE. Dessa forma, o estudo sugere que a utilização da PAGE poderá fornecer resultados de baixa confiabilidade, principalmente para estudos de caracterização dos polimorfismos no *intron* 40 do FvW.

203

CIVD crônica descompensada em paciente com deficiência de proteína C homozigota e FVL hetreozigoto após trauma- relato de caso

Prezotti A^{1,2}, Amico EA³, Orletti MD¹, Nemer CC², Scatolino J², Stelzer D¹, Bitti C^{1,2}, Duarte JM^{1,2}, Marcondes SS¹

¹Hemocentro do Espírito Santo-HEMOES

²MedQuimheo Serviço de Onco –Hematologia

³Faculdade de Medicina da USP

J.A.R.M.F, masculino, 25 anos, diagnóstico de deficiência de proteína C em homozigose aos 2 anos de idade e Fator V Leiden (FVL) em heterozigose. Desde o diagnóstico, mantém quadro de CIVD crônica compensada em uso de anticoagulante, mantendo o RNI acima de 2,5, com uso de varfarina 15 mg/dia. Após trauma em panturrilha direita, evoluiu com hematoma extenso com 5,6 cm de diâmetro e edema de partes moles. Suspensa a varfarina por 2 dias, com introdução de enoxaparina 40 mg/dia, quando o RNI estava em 1,9. 24 h após essa conduta, mantinha o hematoma da perna direita e apresentou uma necrose cutânea na perna esquerda. O paciente foi internado, e aumentada a enoxaparina para 80mg 12/12 horas (82 quilos). Os exames coletados na internação, mostraram TP, TTPa e TT incoaguláveis e fibrinogênio de 65 mg/dL, e plaquetas de 115.000/mm³, demonstrando descompensação da CIVD e o paciente foi transferido para a UTI. Houve aumento do hematoma, queda da hemoglobina, sendo suspensa a enoxaparina e administradas 8 unidades de crioprecipitado, por duas vezes em 24 horas, para repor o fibrinogênio, com estabilização do hematoma. O paciente só melhorou do quadro de necrose cutânea quando foi repostado plasma fresco congelado (PFC) 2 unidades de 8/8 horas, associado ao liquemine 5000UI SC de 12/12 horas. Com a normalização do coagulograma e do fibrinogênio, reiniciamos a enoxaparina. Suspendemos o PFC após 3 dias e reiniciamos a varfarina 10mg por dia, associado à enoxaparina 80mg 12/12h, até INR atingir 2,5, por dois dias consecutivos. O paciente voltou a fazer necrose cutânea, e apresentou coagulograma incoagulável, e respondeu novamente à infusão do PFC, com resolução das necroses cutâneas. Retornado a administração de liquemine 5000 UI de 12/12 horas e mantido o PFC por mais 48 horas. Com a normalização do coagulograma foi suspenso o liquemine e aumentada a enoxaparina para 80mg 12/12h. O paciente fez trombose da veia dorsal do pênis e outros focos de trombose cutânea, sendo aumentada a enoxaparina 100mg 12/12 h. E o quadro só se resolveu com a administração de complexo protrombínico (Protromplex). A dosagem de Anti- fator Xa estava em 1,2 UI/ml (nível terapêutico 1,1 UI/ml), D-dímero acima de 10.000ng/ml FEU, fibrinogênio de 82mg/dl, TP atividade de 58% e TTPa-R1,55. Mantida a dose de enoxaparina de 12/12 horas (100mg) e reiniciado a varfarina 10 mg /dia. Atualmente, mantém coagulograma normal e fibrinogênio de 115mg/dl, e não está evoluindo com necroses cutâneas. A dose de varfarina foi aumentada para 15 mg/dia, que é dose habitual do paciente. Este caso foi descrito para mostrar como um paciente com fator V Leiden em heterozigose, deficiência grave de proteína C e CIVD crônica compensada pode evoluir com descompensação clínica e laboratorial em decorrência de trauma, com formação de hematoma extenso, que evolui com quadro simultâneo e antagônico de aumento do hematoma e necrose cutânea, o que dificultou bastante a condução clínica. O controle do quadro necrótico só foi alcançado com a reposição da proteína C através do

plasma fresco e do complexo protrombínico. O paciente é um candidato a fazer profilaxia com o concentrado de proteína C, para se obter controle da ativação constante da coagulação, que pode ser descompensada em situações de estresse, infecções e traumas, expondo-o a um risco de morte.

204

Produção de FVIII da coagulação sanguínea em linhagem celular humana Hek 293 após múltiplos ciclos de infecção

Carvalho DM^{1,2}, Melo FU^{1,2}, Souza LE^{1,2}, Júnior MC^{1,2}, Santos AR², Neto MS², Castro VP², Fontes AM¹, Covas DT²

¹Universidade de São Paulo

²Hemocentro de Ribeirão Preto

A hemofilia A é uma doença genética ligada ao cromossomo X que resulta na deficiência ou anormalidade da proteína do fator VIII da coagulação sanguínea. A terapia de reposição utilizando proteínas derivadas do plasma humano ou recombinantes produzidas em linhagens celulares de roedores é a única opção terapêutica disponível. Entretanto, o uso de linhagens celulares de roedores oferece desvantagens considerando a complexidade de modificações pós-traducionais desta proteína. Desta forma, o objetivo deste trabalho é gerar uma proteína biologicamente funcional que produza níveis de atividade semelhante ao plasma humano. Em colaboração com os pesquisadores do Instituto Venter, foi desenvolvida uma construção lentiviral portadora de duas sequências sintéticas: FVIII com o domínio B parcialmente deletado e o gene da Neomicina, que confere resistência à geneticina. A produção de partículas virais foi realizada através da transfecção em células 293FT e em seguida, utilizada para transduzir a linhagem celular humana Hek 293 utilizando cinco ciclos de transdução com MOI 5. O título viral foi determinado através da técnica de PCR em tempo real. Após término dos ciclos, as células foram submetidas à seleção com antibiótico geneticina durante 14 dias. As células foram expandidas e nomeadas população mista. Em cada ciclo, as células foram expandidas em cultura, selecionadas e analisadas *in vitro* através do ensaio cromogênico e os níveis de expressão do gene FVIII por PCR em tempo real. Os resultados obtidos demonstraram que a população mista Hek 3º ciclo 48 horas obteve atividade biológica de 2,78 UI, Hek 3º ciclo 72 horas de 1,57 UI, Hek 5º ciclo 48 horas de 1,08 UI e Hek 5º ciclo 72 horas de 2,45 UI. Os níveis relativos de FVIII foram de 2.176,16 nas linhagens que sofreram 3 ciclos de transdução e de 4.880,16 nas linhagens com cinco ciclos, o que foi equivalente à aproximadamente 18 e 41 vezes mais expressos comparadas com a virgem, respectivamente. Esses resultados demonstraram que foi possível gerar uma linhagem celular humana que produziu uma proteína biologicamente ativa e com níveis de produção semelhante ao plasma humano. As perspectivas deste trabalho é obter uma população homogênea em termos de expressão e posteriormente, tentar uma abordagem de escalonamento.

205

Caracterização fenotípica e molecular da doença de von Willebrand em indivíduos da população geral e com diagnóstico da doença na Bahia

Adorno EV¹, Laranjeira DS¹, Carvalho SP¹, Paz SS², Rocha LC³, Gonçalves MS²

¹Universidade Federal da Bahia

²Fundação Oswaldo Cruz

³Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia

A doença de Von Willebrand (DvW) é o distúrbio hemorrágico hereditário mais comum descrito na literatura, sendo caracterizada pela deficiência nos níveis ou função do fator de Von Willebrand (FvW).

O gene *FvW* está localizado no cromossomo 12 e possui um número variável de repetições em *tandem* do tipo ATCT (VNTR)*n* no *intron* 40. Os sintomas da doença variam de um indivíduo para outro, podendo ocorrer sangramentos leves, moderados ou intensos, dependendo do tipo da classificação da DvW. O presente estudo teve como objetivo caracterizar a DvW em um grupo de indivíduos da Bahia. Foi realizado um estudo de corte transversal, no qual os indivíduos foram entrevistados apenas uma vez, sendo neste momento coletadas todas as informações pertinentes às análises, bem como coletadas as amostras de sangue para determinação dos testes laboratoriais. Foram analisados 21 indivíduos com diagnóstico da doença e 69 indivíduos da população geral. As informações clínicas foram obtidas através de prontuários e/ou questionários epidemiológicos. A análise dos VNTRs do *intron* 40 foi realizada pela reação da polimerase em cadeia (PCR) e os fragmentos analisados por eletroforese capilar, no sequenciador ABI Prism 3100 *Genetic* (Applied Bio-Systems); os demais testes laboratoriais foram realizados em equipamentos automatizados, exceto o Ag:FvW que foi determinado por ELISA. A análise estatística foi desenvolvida no programa Epiinfo versão 6.0 e GraphPad Prism 5.0. Os resultados demonstraram diferenças estatisticamente significativas entre os indivíduos com DvW e do grupo controle para as concentrações do Ag:FvW (39,5% e 74,5%, respectivamente; $p < 0,001$, teste t de Student não pareado); as concentrações do FVIII (42,9% e 70,7%, respectivamente; $p < 0,001$, teste t de Student não pareado) e para a relação do TTPa (1,30 minutos e 1,0 minuto, respectivamente; $p < 0,001$, teste t de Student não pareado). O FvW:RCo nos indivíduos com DvW apresentou média de 24,8%; dos indivíduos com DvW 57,1% foram classificados como tipo 1 e 42,9% como tipo 2. As frequências de interações e transfusões entre os indivíduos com DvW foram maiores entre aqueles com níveis de FvW:RCo menores que 20% ($p < 0,01$, ANOVA). O estudo do VNTR1 demonstrou frequências mais elevadas para os alelos 5 (40,5%) e 4 (21,4%); o VNTR2 para os alelos 3 (40,5%) e 4 (30,9%) e o VNTR3 para o alelo 3 (35,7%) e 4 (30,9%). O alelo 3 do VNTR3 esteve associado com níveis mais elevados do Ag:FvW nos indivíduos com DvW ($p < 0,01$, teste ANOVA), sugerindo um quadro clínico mais leve; entretanto, o alelo 5 do VNTR1 e o alelo 4 do VNTR2 estiveram associados à ocorrência de hemorragia pós-trauma. Dessa forma, o presente trabalho demonstrou a importância da realização de mais estudos envolvendo os polimorfismos no *intron* 40 do gene *FvW*, associando-os a outros dados laboratoriais, de maneira a confirmar a influência dos alelos específicos sobre o perfil clínico e, futuramente, utilizá-los como marcador prognóstico na DvW.

206

Estudo do comportamento hemostático no parto e puerpério de gestantes com diferentes subtipos de doença de von Willebrand no Hemocentro de Belo Horizonte - Fundação Hemominas

Halabi NN^{1,2}, Araujo NM^{1,3}, Brener S¹, Velloso-Rodrigues C^{1,4}, Namen-Lopes MS¹

¹Serviço de Pesquisa - Fundação HEMOMINAS

²Centro Universitário de Belo Horizonte (UNI-BH)

³Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

⁴Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF-Governador Valadares)

A Doença de Von Willebrand (DVW), é a coagulopatia mais comum nas populações humanas (0,8 a 2%), e se deve a defeitos quantitativos (tipos 1 e 3) ou qualitativos (tipo 2) no fator de von Willebrand (FvW). A gestação é um conhecido fator modulador, com expressiva elevação do Fator VIII (FVIII); e do FvW (Atividade do cofator da ristocetina: FvW: RCo e antígeno :FvW:AG), no decorrer da gravidez, em pessoas normais ou com DVW tipo 1. Estudos sugerem que gestantes com DVW tipo 1 geralmente não necessitam de tratamento profilático para o parto. No tipo 2, e seus subtipos, apesar do aumento do Fator VIII e FvW: AG, não se evidencia aumento

da atividade funcional do FVW e a terapia de reposição com FVIII/FVW é necessária para partos cirúrgicos ou se há trauma perianal. Mulheres com tipo 3 necessitam de terapia para todos os tipos de parto. O presente estudo avaliou os dados referentes aos partos e puerpérios de gestantes portadoras de diferentes subtipos da doença de Von Willebrand, assistidas pela equipe hematológica em unidade ambulatorial distinta da unidade hospitalar onde se realiza o parto. Foram avaliados os prontuários de 116 mulheres com DVW, assistidas entre 1985 a 2012, no ambulatório da Fundação HEMOMINAS. Seis dessas mulheres, com dez gestações a termo, foram elegíveis para esse estudo e tiveram analisadas as variáveis: tipo da DVW, perfil dos testes hematológicos laboratoriais maternos (FVIII:C, FVW:AG; FVW:RCO), no último trimestre gestacional, reposição de FVIII/FVW ou DDAVP, tipo de parto, ocorrência de complicações hemorrágicas no parto e no puerpério; necessidade de transfusão ou histerectomia. Foram avaliadas seis mulheres portadoras da DVW com dez gestações a termo. Para quatro dessas mulheres (66,6%): duas apresentavam DVW 2A ou 2M, uma DVW 2B ou pseudoplaquetário, uma mulher tipo DVW 2N e duas mulheres apresentavam diagnóstico de DVW tipo 1. As seis mulheres analisadas relataram dificuldades hemostáticas no parto, e apenas uma não havia recebido terapêutica prévia por se encontrar com dosagens de FVIII e FVW aparentemente hemostáticos no terceiro trimestre. Essa paciente apresentava-se com dosagens de Fator VIII e FVW acima de 100UI/dL no terceiro trimestre. Para seu primeiro parto, vaginal com episiotomia, não houve uso profilático de FVIII/FVW ou DDAVP, e ocorreu extensa complicação hemorrágica no puerpério imediato com comprometimento hemodinâmico e necessidade do uso de 6 transfusões de concentrado de hemácias. No segundo parto cesário, a paciente recebeu FVIII/FVW, com hemostasia adequada. Em revisão diagnóstica foi classificada como 2N. As variantes qualitativas, incluindo os subtipos 2A, B, M e N e são responsáveis por cerca de 20-30% dos diagnósticos da DVW. O diagnóstico diferencial entre 2A e 2M; 2N ou portadoras de hemofilia A; e 2B ou pseudoplaquetário exigem exames diferenciados. Há carência de estudos prospectivos em gestantes comparando a evolução de tipo 1 e demais subtipos. Devido a grande variedade de resposta hemostática da DVW na gravidez, monitorização regular de FVIII:C, FVW:R:Co e FVW:Ag são essenciais no acompanhamento e deverão ser realizados na apresentação inicial da gestante, antes de procedimentos invasivos e no terceiro trimestre. A contagem de plaquetas deve ser monitorada em mulheres com DVW tipo 2B. Recursos:FAPEMIG/CNPq

207

Perfil epidemiológico de usuários de anticoagulante oral em hospital universitário do nordeste brasileiro

Sousa TT¹, Leite DR¹, Moura LA¹, Sousa TT¹, Leite MV¹, Leite AM¹, Júnior AL¹

¹Universidade Federal da Paraíba

Introdução: A terapia com anticoagulantes orais configura-se atualmente como uma prática benéfica em pacientes com risco de fenômenos tromboembólicos, cursando com a consolidação do estilo sedentário de vida e os maus hábitos alimentares, aumento da expectativa de vida e doenças crônico-degenerativas. O principal efeito adverso da anticoagulação é a hemorragia, havendo ainda erupções cutâneas, alergia, alopecia, dermatite, diarreia, náuseas, vômitos, leucopenia. Os anticoagulantes orais (ACO) são indicados para a prevenção e o tratamento do tromboembolismo venoso, prevenção e tratamento de tromboembolismo pulmonar, fibrilação atrial, infarto agudo do miocárdio, próteses valvares cardíacas, cardiomiopatia dilatada, acidente vascular encefálico, síndrome antifosfolípida. **Objetivo:** avaliar o perfil sócio-demográfico de pacientes que fazem uso de ACO, na cidade de João Pessoa (PB). **Métodos:** Tipo de estudo: observacional e descritivo transversal; população estudada: pacientes que recebem anticoagulação oral, maiores de 18 anos; local: ambulatórios de Cardiologia

e Cirurgia Vascular, Hematologia, Pneumologia e Reumatologia do Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW), na cidade de João Pessoa (PB); critérios de inclusão: pacientes que recebem anticoagulantes orais com mais de um mês de terapia, maiores de 18 anos, sem déficit cognitivo; coleta de dados: foram aplicados instrumentos para a descrição sócio-demográfica e clínica; instrumento para descrição sócio-demográfica e clínica: os dados coletados para a caracterização sócio-demográfica foram: idade, sexo, raça, religião, estado civil, profissão, escolaridade e renda familiar mensal, número de pessoas com que residiam e procedência; análise estatística: a população do estudo foi de 42 pacientes, número bastante representativo, já que a quantidade de pacientes que preenchiam os critérios de inclusão na Paraíba é escassa, foi utilizado para análise dos dados o pacote estatístico *SPSS Professional Statistics 15.0*, todos os testes estatísticos foram conduzidos com nível de 5% de significância. **Resultados e Discussão:** A maioria dos pacientes atendidos nos ambulatórios de Cardiologia e Cirurgia Vascular, Pneumologia e Reumatologia do HULW que utilizavam ACO há mais de um mês era mulher. A média de idade foi de 48 anos. A maioria dos pacientes entrevistados eram brancos, casados, católicos, procedentes da Grande João Pessoa. A renda mensal familiar média foi de R\$ 900. A maioria era alfabetizada, mas não houve predomínio significativo de nenhum nível de escolaridade. **Conclusão:** O seguinte estudo ratifica a literatura científica sobre o tema, de modo que se tenha mais conhecimento acerca do perfil sociodemográfico e clínico do paciente anticoagulado, bem como das implicações da medicação na qualidade de vida. Dessa forma, abre caminho para investigações futuras que venham a enriquecer e consolidar o tema.

208

Tratamento de imunotolerância em pacientes com hemofilia A - experiência do Hemoes

Prezotti A¹, Orletti MD¹, Collodetti MU¹, Valadão IC¹, Marcondes SS¹, Duarte JS², Barcelos MS¹

¹Hemocentro do espírito santo- Hemoes

²Hemocentro do espírito santo- Hemoes

A imunotolerância é o tratamento de escolha para pacientes com hemofilia A com inibidor, principalmente quando necessitam de agentes de bypass. Incluímos três crianças no programa de ITI do Ministério da Saúde: 1-M.S.T, 08 anos, com inibidor desde 2008, pico histórico 28UB. Em jan/2012, iniciou a ITI, com FVIII/FVW na dose de 50UI/Kg, 3x/semana. Apresentava título do inibidor de 9,1UB, e o pico durante a ITI foi de 88UB. O paciente apresentou boa resposta ao tratamento até nov/ 2012, quando o título estava em 1,4UB, e apresentou hematoma extenso em local de punção e o título subiu para 21,5 UB. Evoluiu com sangramento de repetição em cotovelo direito, articulação alva e necessidade de fazer radiossinoviotomia. A dose do fator teve que ser aumentada para 100UI/kg / dia, com queda progressiva do inibidor. O paciente está atualmente na 82ª semana de tratamento e as intercorrências hemorrágicas estão menos frequentes. Caso 2: S.F.L., 05 anos, inibidor desde 02 anos de idade (2009), pico histórico de 121UB, raça negra, iniciou o protocolo de ITI em fev/2012, na dose de 50UI/kg 3x/semana. O pico da ITI foi de 282 UB. Atualmente o paciente está na 78ª semana, título de 3,2UB, sem intercorrências hemorrágicas, mantendo a infusão de 50UI/kg 3x/semana. Caso 3: P.H.L.S, 05 anos, raça negra, histórico de inibidor na família, inibidor desde 3 anos de idade(2010) e com pico histórico de 740 em fev/ 2011, após a infusão de CCPA por hemartrose. Em jan/ 2012, trocado o CCPA por rFVIIa para o tratamento de intercorrências a fim de baixar o título que estava em 103UB. Em julho, após 06 meses, como o título ainda estava em 19,1UB, foi iniciado mesmo assim a ITI. Pico durante a ITI de 1922,7 UB. O paciente caiu o título para 818UB no segundo mês de tratamento, com queda progressiva até o sexto mês, quando atingiu 170UB e desde então se mantém oscilando entre 170-199UB. Apresenta, em

média, 01 episódio de sangramento/mês e como não estava tendo uma queda esperada no título do inibidor, aumentamos a dose a infusão para 100UI/kg 3x/semana. Atualmente na 57ª semana de do tratamento de ITI e esperamos que com esta dose possa negatizar o inibidor. **Conclusão:** Apresentamos 3 casos, sendo que dois tinham critérios de bom prognósticos. No primeiro caso, a evolução estava sendo muito favorável, até que o paciente fez um grande hematoma, que deve ter estimulado a resposta imunológica e com isto subiu o título do inibidor. Desta forma, o paciente voltou a sangrar, desenvolveu articulação alvo em cotovelo direito e o sangramento de repetição favoreceu para que o estímulo imunológico permanecesse e o título não caiu. Apenas com o aumento da dose da ITI para 100UI/kg, o título do inibidor voltou a cair. Isto reforça a importância de evitar traumas e sangramentos que com certeza vão interferir no desfecho da ITI, como aconteceu no nosso caso. No segundo caso, também de bom prognóstico, a ITI está transcorrendo sem intercorrências, com queda progressiva dos títulos do inibidor. No terceiro caso, o paciente apresentava critérios de pior prognóstico, como pico histórico acima de 200UB(740UB), pico durante a ITI de 1922, tinha histórico familiar de inibidor e também era de raça negra. Talvez para estes pacientes, devêssemos iniciar já com protocolo de altas doses, pelo menos com 100UI/kg e de preferência com infusões diárias, para termos mais chance de sucesso.

209

Avaliação da qualidade de vida usuários de anticoagulantes orais: um estudo populacional no nordeste do Brasil

Leite DR¹, Sousa TT¹, Moura LA¹, Sousa TT¹, Leite MV¹, Leite AM¹, Júnior AL¹

¹Universidade Federal da Paraíba

Introdução: A terapia com anticoagulantes orais (ACO) é uma prática benéfica em pacientes com risco de fenômenos tromboembólicos. O principal efeito adverso da anticoagulação é a hemorragia, havendo ainda erupções cutâneas, alergia, alopecia, dermatite, diarreia, náuseas, vômitos, leucopenia. O Medical Outcome Study 36-item Short Form (MOS SF-36) é um questionário de medidas genéricas de qualidade de vida mais utilizado, sendo o mais sensível à melhora clínica, entre os demais instrumentos testados, pois tem sua validade, aceitabilidade e confiabilidade comprovadas. Nos EUA foi desenvolvido e a validade um instrumento denominado "Duke Anticoagulation Satisfaction Scale – DASS" com o objetivo de mensurar a qualidade de vida e a satisfação com a assistência à terapia com ACO. No Brasil, um estudo teve a proposta de adaptar e validar esse instrumento para pacientes brasileiros em uso de ACO. **Objetivo:** Analisar estatisticamente os resultados do questionários SF-36 e DASS, já validado na literatura nacional, em pacientes que fazem uso contínuo de ACO. **Métodos:** Tipo de estudo: observacional e descritivo transversal; local: ambulatórios de Cardiologia e Cirurgia Vascular, Hematologia, Pneumologia e Reumatologia do Hospital Universitário Lauro Wanderley, na cidade de João Pessoa (PB); critérios de inclusão: pacientes que recebem anticoagulantes orais com mais de um mês de terapia, maiores de 18 anos, sem déficit cognitivo; coleta de dados: foram aplicados instrumentos para a descrição sócio-demográfica e clínica, a versão em português do DASS e o SF-36; os dados clínicos investigados foram: tipo de ACO, indicação do ACO, data do início da terapia, dose do ACO, coleta de sangue nos últimos três meses, valor do INR, presença de complicações, necessidade de internações devido a essas complicações, presença de comorbidades, tipo e quantidade de medicamentos usados, recebimento de informações sobre o ACO, motivo da interrupção do ACO; análise estatística: a população do estudo foi de 42 pacientes, foi utilizado o pacote estatístico *SPSS Professional Statistics 15.0*, todos os testes foram conduzidos com nível de 5% de significância. **Resultados e Discussão:** Com relação ao questionário SF-36, constataram-se maiores valores no domínio Aspectos Sociais

e menores valores nos domínios Vitalidade e Aspectos Físicos; já os estudos americanos tenderam a avaliar como melhor o domínio Saúde Mental, avaliando como pior o domínio Aspectos Físicos com média de 45,2 para os americanos. Cerca de 38,1% sujeitos apresentaram complicações; destas, 81,25% foram hemorrágicas e 15,5% apresentaram complicações do tipo trombóticas, sendo que essas complicações culminaram em internações hospitalares para 11,9% dos entrevistados. Do total dos participantes, 57,14% interromperam o ACO, sendo que desses, 50% o fizeram com orientação médica. **Conclusão:** Pesquisas relacionadas à qualidade de vida em usuários de ACO são escassas na literatura brasileira; dessa forma, a realização deste trabalho abre horizontes para a tomada de medidas que visem amenizar os efeitos adversos dos pacientes anticoagulados e a possibilidade do surgimento de novas pesquisas nesse campo. A presente pesquisa trouxe, além disso, uma contribuição para adaptação terapêutica desses pacientes, a partir do momento em que se utiliza uma ferramenta específica para trabalhar qualidade de vida.

210

Inibidor adquirido do fator VIII: diagnóstico diferencial raro diante de uma alteração laboratorial comum

Scanhola GQ¹, Barquinero LJ¹, Rassi AB¹, Okazaki E¹, Villaa PR¹, Amico EA¹, Rocha TR¹

¹Universidade de São Paulo

Introdução: Nos Pronto-Socorros frequentemente comparecem pacientes com sangramentos moderados a graves, não traumáticos, com alterações no coagulograma, constituindo um desafio para os clínicos. O desenvolvimento de autoanticorpos contra o fator VIII, na ausência de coagulopatia hereditária, constitui a Hemofilia A Adquirida ou Inibidor Adquirido do Fator (IAF) VIII, doença rara que afeta principalmente o idoso e se associa a várias condições clínicas, como doenças autoimunes, neoplasias, drogas e puerpério, embora em 50% dos pacientes não se determine uma causa. As características principais são os sangramentos espontâneos e recorrentes em tecidos moles, como músculos, pele e subcutâneo. E as alterações laboratoriais são o alargamento do Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPa), que não corrige após mistura com plasma normal a 50%, fator VIII em níveis baixos e presença de inibidor específico do Fator VIII. O tratamento baseia-se em interrupção do sangramento e erradicação do inibidor adquirido. **Relato de Caso:** Sexo masculino, 74 anos, admitido no Pronto Socorro do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP há 4 meses com equimoses difusas de grande extensão e sem relação com trauma. Não possuía antecedente pessoal ou familiar de hemorragia. Há 1 semana, vinha relatando aumento importante do volume do membro superior esquerdo (MSE). Exames: TTPa-relação de 2,45 sem correção com plasma normal a 50% e Fator IX: 0%. Inicialmente atendido pela Clínica Médica, com exames realizados pelo Laboratório Central, o caso então foi erroneamente interpretado como IAF IX. Optou-se pela passagem de acesso venoso central, pela dificuldade de acesso periférico, e mesmo com transfusão prévia de plasma fresco congelado, evoluiu com sangramento local escasso porém persistente. Apresentou também síndrome compartimental (SC) no MSE e hematúria franca. Iniciado acompanhamento pela Hematologia, foram repetidos os exames no Laboratório de Coagulação: Fator VIII de 4%, Fator IX de 80%, Fator XI de 51% e quantificação do inibidor do fator VIII de 333 Unidades Bethesda (UB), além de positividade do anticoagulante lúpico. Diagnosticou-se assim Inibidor Adquirido do Fator VIII. Tratado com complexo protrombínico parcialmente ativado (CPPa) na dose de 75 U/Kg/dose de 12/12h e com Azatioprina 150 mg/dia e Prednisona 1 mg/Kg/dia, evoluiu com cessação dos sangramentos, com queda do inibidor quantificado e melhora da SC. **Discussão:** O reconhecimento e início de tratamento rápido são mandatórios diante de paciente com Inibidor Adquirido do Fator VIII. Por tratar-se de coagulopatia rara, requer a experiência e o conhecimento de um

hematologista, com contribuições essenciais de laboratórios especializados. No entanto, é o clínico quem se depara primeiramente com esses pacientes, devendo-se evitar procedimentos invasivos devido à alta possibilidade de desencadear sangramentos potencialmente fatais, além de solicitar avaliação precoce do especialista. O tratamento inicial consiste em interromper a hemorragia utilizando agentes de bypass, como o CPPa ou o Fator VII ativado recombinante. A erradicação do inibidor deve ser iniciada precocemente com imunossuppressores, geralmente com corticosteroides e agentes citotóxicos. A busca exaustiva da condição clínica deflagradora e o tratamento desta são de importância fundamental.

HEMOSTASIA E PAREDE VASCULAR: TROMBOSE

211

Apresentação simultânea de duas mutações distintas para trombofilia hereditária – relato de caso

Avó HS¹, Gomes CL¹, Murakami CL¹, Souza LG¹, Ferreira TN¹, Pacca RL¹, Silva JB¹

¹Pontifícia Universidade Católica de Campinas

Introdução: A trombofilia representa um estado pró-trombótico, que pode ser hereditário ou adquirido. Nos casos hereditários, destacam-se as mutações do fator V de Leiden (FVL) e do gene da protrombina, que juntos representam 50 a 60% dos casos de tromboembolismo venoso (TEV). **Relato de Caso:** Mulher, parda, 48 anos, foi encaminhada em setembro de 2012 ao serviço de hematologia da Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas) para investigação de trombofilia. Seus antecedentes pessoais incluíam tabagismo, dislipidemia, cardiopatia isquêmica com oclusão de 70% de artéria coronária descendente anterior, necessitando de angioplastia havia um ano e quatro meses, e fenômeno de Reynaud nas mãos há 3 anos. Nos antecedentes obstétricos, a paciente teve seis gestações, sendo dois abortos seguidos de dois nascidos vivos e outros dois abortos. Nos antecedentes familiares, pai e dois irmãos falecidos de cardiopatia isquêmica. Na data da consulta, a paciente fazia uso das seguintes medicações: clopidogrel 75mg/dia, ácido acetil salicílico 100mg/dia, enalapril 5 mg/dia, atenolol 25 mg/dia e sinvastatina 20 mg/dia. Foi realizada coleta dos seguintes exames laboratoriais: dosagem de homocisteína: 6,10 (pegar a unidade de referência) – normal, antitrombina III: 122,5% (normal), proteína C: 124,3% (normal), proteína S: 64,9% (normal), fator V de Leiden: heterozigoto – mutado, fator anti-núcleo: não reagente, anticardiolipina e anticoagulante lúpico não reagentes, gene da protrombina: heterozigoto – mutado. Os resultados confirmaram o diagnóstico de trombofilia hereditária com mutação do fator V de Leiden e do gene da protrombina (G20210A) e desde então vem sendo tratada com anticoagulante oral em substituição a antiagregação plaquetária. **Discussão:** Os principais defeitos genéticos relacionados à trombofilia hereditária são mutação de FVL, encontrada em 10% a 60% dos casos de TEV, e G20210A (presente em 0,7% da população brasileira). A combinação de mutações desses genes relacionados à trombofilia, como apresentada pela paciente, aumenta o risco de trombose. Estudos indicam associação entre essas mutações e abortos recorrentes, como no caso descrito. Doenças vasculares oclusivas são causas comuns de fenômeno de Raynaud, que também pode ser causado ou agravado por tabagismo e medicamentos. Outros estudos sugerem que essas mutações podem aumentar o risco de eventos oclusivos coronarianos, entretanto, essa relação ainda não está esclarecida. **Conclusão:** Trombofilias hereditárias, associadas a fatores de risco ambientais, como gravidez, tabagismo e obesidade, podem aumentar o risco de desenvolvimento de fenômenos trombóticos. Neste sentido, uma investigação sistemática desses pacientes seria benéfica para prevenção de fenômenos trombóticos com tratamento adequado.

212

Trombofilia familiar: diagnóstico primário em três pacientes pediátricos

Resende WJ¹, Borges KO², Barra PE³, Imbeloni SV³

¹RESGATE

²HRBA

³UEPA

A trombofilia é definida como o conjunto de anormalidades na hemostase, genéticas e/ou adquiridas, que predispõe a um maior estado de hipercoagulabilidade e risco de trombose e tromboembolismo (LIMA e BORGES, 2012, p.5). Em sua essência, a trombose é uma patologia que envolve muitos fatores, e um mesmo indivíduo é passível de apresentar tanto fatores genéticos, quanto adquiridos, que atuam sinergicamente ou isoladamente para o desencadeamento de eventos trombóticos (GUIMARÃES et al., 2009, p.19). Além da síndrome pós-trombótica, também pode levar ao tromboembolismo pulmonar (TEP), que pode ser fatal ou causar hipertensão pulmonar crônica (MOTA et al., 2011, p.127). Genericamente, são delimitados dois tipos de fatores genéticos responsáveis pela trombose venosa: mutações em genes pertencentes a fatores anticoagulantes endógenos (antitrombina – AT, proteína S - PS e proteína C - PC), causando deficiência na inibição da coagulação, e mutações com exacerbação qualitativa/quantitativa dos agentes pró-coagulantes (fator V Leiden – FVL, mutação G20210A do gene da protrombina e aumento das concentrações plasmáticas da homocisteína) (LORENZI, 2011, p.658). A incidência anual de TEV em crianças varia entre 0,07 e 0,14 casos por 100.000 crianças, ou 5,3 por 10.000 internações hospitalares e 24 por 10.000 internações em UTI neonatal (MATIDA, 2010, p. 16). O tratamento de eventos trombóticos, independente da causa da doença tromboembólica, é baseado na utilização de medicamentos antitrombóticos que abrangem antiplaquetários, antifibrinolíticos, anticoagulantes, antagonistas de trombinas, inibidores de receptores IIb-IIIa e inativadores diretos do fator Xa. Este estudo relata o caso de três pacientes pediátricos – irmãos - com diagnóstico primário de trombofilia familiar, sendo que, uma das crianças sofreu trombose de veia femoral após trauma, evoluindo para tromboembolismo pulmonar, fato raro em crianças portadoras de trombofilia.

213

Perfil dos pacientes com trombofilias hereditárias do ambulatório de hematologia em hospital universitário

Silva JB¹, Bottura BF¹, Sales GM¹, Mendes PH¹, Pacca RL¹, Ferreira TN¹, Paiva VM¹

¹Pontifícia Universidade Católica de Campinas

Introdução: Doenças tromboembólicas (DTE) representam patologias em que há estado de hipercoagulabilidade. As DTE são classificadas em primárias e secundárias. Dentre as primárias, destacam-se Mutação do Fator V de Leiden (MFVL) e do Gene da Protrombina (MGP), hiperhomocisteinemia por deficiência enzimática e deficiência quantitativa e qualitativa de antitrombina, proteínas C e S. Dentre as secundárias, são mais prevalentes: síndrome do anticorpo antifosfolípide (SAAF), hiperhomocisteinemia adquirida, síndrome nefrótica, lúpus e neoplásicas. DTE estão relacionadas mais comumente a trombose venosa profunda (TVP) e tromboembolismo pulmonar (TEP). O tratamento para estes eventos trombóticos em pacientes com DTE não difere do usual, sendo utilizada anticoagulação oral com objetivo terapêutico razão normatizada internacional (RNI) entre 2 e 3. **Objetivo e Métodos:** Traçar perfil epidemiológico dos pacientes com diagnóstico de trombofilia no Hospital Maternidade Celso Pierro (HMCP) de Campinas, SP, e analisar a eficácia da terapêutica aplicada aos pacientes com trombofilia hereditária. Foram selecionados

os 31 pacientes com diagnóstico de trombofilias em acompanhamento no serviço de hematologia do HMCP no período de 01 de junho de 2012 a 31 de maio de 2013, e recolhidos os seguintes dados: idade, sexo, tipo de trombofilia e valores dos 5 últimos RNIs registrados.

Resultados: Foi observada uma predominância do sexo feminino (83,9%) e de pacientes com idade entre 41 e 50 anos (35,4%). A SAAF foi o tipo mais comum encontrada em 35% dos pacientes. Dentre as trombofilias hereditárias, a mais comum foi a MFVL com 19,35%, sendo todas as pacientes do sexo feminino e menores de 50 anos. Com a análise das médias dos últimos 5 RNIs registrados de cada paciente com trombofilia hereditária (MFVL e MGP), foram observados que dentre os 9 pacientes, 4 se encontravam dentro do intervalo esperado (25% destes representados pela MGP e 75% pelas MFVL), 4 constavam abaixo, com RNI inferior a 2 (44%) e por fim, 1 paciente se encontrava com o RNI acima de 3 (11,2%). **Discussão:** DTE são doenças multifatoriais, que raramente causam tromboembolismo por si só. A maioria das trombofilias causa eventos tromboembólicos em indivíduos maiores que 41 anos. SAAF teve maior prevalência na amostra, sendo a maioria pacientes do sexo feminino e acima de 41 anos, dado compatível com a literatura. Em relação às trombofilias hereditárias, foi observado na amostra uma prevalência da MFVL, dado compatível com a literatura, no entanto foi observado exclusividade feminina na amostra, dado que destoa da literatura, já que não haveria predileção por sexo levando em conta o caráter autossômico dominante. Em relação aos RNIs dos pacientes com trombofilias hereditárias, 44,4% se mantiveram entre 2 e 3, recomendado na literatura. Dos demais, 44,4% se mantiveram abaixo de 2, com maior risco trombótico, e 11,2% acima de 3, o que confere maior risco hemorrágico. **Conclusão:** DTE são doenças multifatoriais relacionadas a eventos trombóticos. Na amostra os dados eram correspondentes à literatura. Em relação ao RNI, 44,4% estavam na faixa recomendada, 44,4% possuíam risco trombótico e 11,2% apresentavam risco hemorrágico. Entretanto, devido a ainda pequena casuística do nosso serviço, devemos continuar estudando o tema e realizando futuros trabalhos para melhorar nossos resultados.

214

Caracterização do perfil antitrombótico e toxicológico in vitro e in silico de novos derivados pirazolo-piridina

Saito MS¹, Sathler PC², Loureno AL¹, Dias LR¹, Kang HC¹, Castro HC¹, Rodrigues CR², Mendes LC¹

¹Universidade Federal Fluminense

²Universidade Federal do Rio de Janeiro

Hemostasia pode ser definida como um processo fisiológico de manutenção do estado líquido e circulante do sangue, com a indução de um tampão hemostático em caso de lesão vascular. A perda da integridade deste sistema pode gerar diversos quadros patológicos tais como as hemorragias e as oclusões trombóticas. Os distúrbios trombóticos representam a causa mais frequente de morbidade e mortalidade em todo o mundo. Entre os quadros patológicos mais comuns destacam-se a aterosclerose e o tromboembolismo venoso. Nesse contexto, a agregação plaquetária é um dos principais eventos envolvidos no processo de formação do trombo vascular, no entanto, os agentes antiplaquetários disponíveis para o tratamento destes quadros têm eficácia insatisfatória, evidenciando a importância da identificação de novos compostos mais eficazes e menos tóxicos para o tratamento destes distúrbios. 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=61µM; quase 5 vezes melhor que Aspirina-IC₅₀=300µM). Diversos aspectos acerca do mecanismo de ação e toxicidade destes compostos ainda não foram delineados. Assim, este estudo tem como objetivo avaliar o perfil antitrombótico e toxicológico *in vitro* e *in silico* dos derivados pirazolo-piridina (3a, 3b, 3d, 3j e 3h) além de realizar o estudo da

relação estrutura-atividade desses compostos afim de descrever os parâmetros moleculares relevantes para um perfil de atividade. Para avaliação do perfil antitrombóticos dos derivados, realizamos testes de coagulação, através dos ensaios de tempo de protombina (PT) e tromboplastina parcial ativada (aPTT) bem como, testes de agregação plaquetária, utilizando como agonistas ADP, colágeno, ácido araquidônico (AA) e epinefrina. Em seguida foi avaliado o perfil toxicológico dos derivados através do teste de potencial hemolítico. Por fim realizamos um estudo da relação estrutura-atividade através da modelagem molecular com o programa Spartan 10[®]. Este trabalho foi realizado com sangue de doadores saudáveis, com o consentimento do Comitê de Ética em Pesquisa da UFF. Como resultados, observamos que os derivados testados não apresentaram influência significativa nas vias extrínseca e intrínseca da coagulação sanguínea, indicando uma ação direcionada à agregação plaquetária, em que os compostos 3a, 3b e 3h revelaram uma inibição significativa da agregação em plasma humano rico em plaquetas induzida por ácido araquidônico (95,5%, 93,6% e 92,2% respectivamente). Em relação toxicidade, nenhum dos compostos apresentou perfil hemolítico significativo (3a = 1%, 3b = 1% e 3h = 0% de hemólise), com valores menores que o observado no controle (ácido acetilsalicílico = 2%). Nos estudos de estrutura-atividade, observamos que o composto 3a apresentou o maior potencial de gerar ataques nucleofílicos, traduzindo o maior caráter ácido da série, assemelhando-o aos substratos naturais das enzimas pertencentes à via do AA. Tendo por base o presente estudo, é possível inferir que o composto 3a seria o mais interessante para o desenvolvimento de estudos futuros, uma vez que este dispõe da melhor atividade integrada ao perfil toxicológico, nos auxiliando no entendimento e no tratamento dos distúrbios trombóticos.

215

Red cell distribution width and blood monocytes are associated with an increased risk of venous thrombosis

Rezende SM¹, Lijfering W², Rosendaal F², Cannegieter S²

¹Universidade Federal de Minas Gerais

²Universidade de Leiden

Background: Recent studies have suggested that leukocytes and erythrocytes play a role in the process of coagulation and their presence is clearly observed in the anatomy of a venous clot. Furthermore, leucocytosis is a predictor of venous thrombosis during follow-up of patients with polycythemia vera and essential thrombocytemia. **Aim:** The aim of this study was to investigate whether peripheral leukocytes, erythrocytes and other hematological variables (hematocrit, hemoglobin and red cell indices) are associated with the risk of venous thrombosis. **Methods:** To study this, we used data from 2473 patients with venous thrombosis and 2935 controls from the MEGA study. The MEGA (Multiple Environmental and Genetic Assessment of risk factors for venous thrombosis) study is a population-based case-control study on risk factors for venous thrombosis. The variables assessed were: total leukocytes, granulocytes, lymphocytes, monocytes, hematocrit, hemoglobin, erythrocytes and red cell indices (mean corpuscular volume [MCV], mean hemoglobin volume [MCH], mean corpuscular hemoglobin volume [MCHC] and red cell distribution width [RDW]). Odds ratios and their 95% confidence intervals (95% CI) were calculated for erythrocytes and leukocytes counts, hematocrit, hemoglobin and red cell indices and adjusted for age, sex, malignancy, co-morbidities and CRP using logistic regression. Cut-off points of variables were established at the 1st, 5th, 95th, 97.5th and 99th percentiles in the control subjects. **Results:** We found a strong dose-response relation for higher RDW and monocytes with risk of venous thrombosis, with odds ratios of 3.1 (95% confidence interval [CI], 2.0-4.8) and 2.8 (95%CI, 1.3-5.8), respectively, after adjustment for age, sex, C-reactive protein, malignancy and co-morbidities. A low monocyte count (< 0.12x10⁹/L) was associated with a lower venous thrombosis risk after full adjustment

(odds ratios 0.6; 95%CI, 0.4-0.8). In our study, RDW was associated with an increased risk for venous thrombosis, even when RDW was still within the usual reference range (above 14.1%). This association was held after full adjustment (OR 3.1; 95% CI 2.0-4.8 for percentile above 99) and for all subgroup analyses. Further adjustments for anemia did not reduce the odds ratio. Recently, an elevated RDW was reported to be associated with an increased risk for all-cause mortality and cardiovascular disease. To our knowledge, this is the first study to report an association between venous thrombosis and higher RDW. **Conclusion:** High RDW and blood monocytes, two unexpensive and easily obtainable tests, are associated with increased risk of venous thrombosis. Future studies should evaluate the underlying mechanism and the use of these variables in prediction models for first and recurrent thrombosis.

216

The risk of venous thrombosis varies in different ethnic groups

Rezende SM¹, Lijfering W², Rosendaal F², Cannegieter S²

¹Universidade Federal de Minas Gerais

²Universidade de Leiden

Background: Ethnic differences in the incidence of venous thrombosis (VT) have been appreciated. However, most of the studies are based on administrative databases. Furthermore, mechanisms behind this differences have not been explored. **Aim:** The aim of this study was to investigate the risk of VT in different ethnical groups. **Methods:** The MEGA study is a population-based case-control study on risk factors for VT from the Netherlands. Inclusion criteria consisted of patients and controls of whom information was available on the country of birth. For the analysis related to immigration, patients were compared with random digit dialing (RDD) controls. First generation immigrants were classified as those who were born outside the Netherlands. Second generation immigrants were similarly defined as first generation immigrants, except that second immigrants were born in the Netherlands, while both parents were born in the same country except Netherlands. In total, 4300 patients and 2599 RDD controls were included. Blood samples were available. Odds ratios (ORs) with 95% confidence intervals (95% CIs) were calculated as estimates of the relative risk, and were adjusted for age, sex, body mass index, smoking, hormonal factors, alcohol use, physical activity and malignancy by unconditional logistic regression. **Results:** The risk of VT varied according to the region of birth. When compared with the Dutch, Eastern Europeans (EE) reached the highest and East/Southeast Asians (SEA) the lowest risk with OR of 2.35, (95% CI, 1.09-4.59) and 0.44 (95% CI, 0.29-0.68), respectively after full adjustment. Caribbeans showed an intermediate lower risk of 0.69 (95% CI, 0.36-1.30). There was no difference on the risk for VT between first and second generation immigrants, although the number of the latter was small. Subgroup analysis did not show major differences, except for EE, who had a higher risk for unprovoked event with an OR of 3.79 (95%CI, 1.44-9.97). After full adjustment, the mean difference between Dutch and SEA was more pronounced for factor VIII, which was higher in SEA immigrants. On the contrary, TAFI, PS and antithrombin were lower in SEA immigrants. In comparison with Dutch controls, SEA controls had lower prevalence of factor V Leiden (FVL) (6% and 1%, respectively) and the prothrombin G20210A mutation (2% and 1%, respectively) but higher blood group non-O (54% and 62%, respectively). The risk of VT for SEA immigrants adjusted for age and sex (OR, 0.41; 95% CI, 0.28-0.58) changed slightly when further adjusted for FVL (OR, 0.54; 95% CI, 0.36-0.82), factor VIII (OR, 0.49; 95% CI, 0.29-0.81), protein S (OR, 0.51; 95% CI, 0.32-0.83) or antithrombin (OR, 0.54; 95% CI, 0.33-0.87). On the contrary, the risk had a major change when the analysis was adjusted for TAFI, i.e., the risk of VT in SEA immigrants adjusted for age and sex changed from 0.41 (95% CI, 0.28-0.58) to 1.10 (95% CI, 0.64-1.91) when TAFI

was included. The addition of FVL and ABO group did not change the risk (OR, 1.17; 95% CI, 0.67-2.06). **Conclusion:** In conclusion, we found that the risk of VT varies in different populations and that SEA have a lower risk. We found lower levels of TAFI activity in SEA which likely mediates the decreased risk of VT in this population. This finding needs confirmation by future studies, which should also investigate the phenotype-genotype relationship of TAFI in Asians.

217

Trombose venosa profunda de veias pélvicas após cesariana: avaliação de fatores de risco e história natural

Magalhães GH¹, Ribeiro DD¹, Reis MG², Costa GA², Rezende SM²

¹Serviço de Hematologia - Hospital das Clínicas - Universidade Federal de Minas Gerais

²Departamento de Clínica Médica - Universidade Federal de Minas Gerais

O tromboembolismo venoso (TEV), constitui a principal causa de mortalidade materna nos países desenvolvidos. Nos países em desenvolvimento, é uma importante causa de morbidade e mortalidade materna. Apesar da trombose venosa pélvica (TVP) ser uma importante causa de TEV durante a gravidez, parto e puerpério, poucos estudos investigaram sua história natural, incidência e relevância clínica. Este foi um estudo de coorte, prospectivo, em mulheres com baixo e alto risco para trombose, após parto cesariana, submetidas a ressonância nuclear magnética (RNM) pélvica, no período pós-parto precoce. Elas foram acompanhadas por 90 dias pós-parto, com reavaliação clínica e radiológica, com nova RNM pélvica, quando necessário. Um total de 50 participantes foram elegíveis. A RNM foi realizada entre o primeiro e sétimo dias pós-parto, sendo identificadas tromboes definitivas em 4 (8%) das participantes do estudo. Nenhum dos trombos foi completamente obstrutivo. Todas as pacientes eram assintomáticas e não receberam anticoagulação. Nas mulheres sem TVP no pós-parto imediato não houve complicações em nenhum dos tempos do período de acompanhamento (30, 60 e 90 dias). As quatro mulheres com diagnóstico confirmado de TVP repetiram a RNM após 90 dias (116 - 126 dias) no estudo, que foram normais. Em conclusão, nós identificamos uma alta incidência de trombose venosa pélvica que, após reavaliação radiológica após 90 dias de acompanhamento, mostraram resolução espontânea.

218

Synthesis and structure-activity relationship of new pyrazolopyridine derivatives as novel antithrombotic agents

Loureno AL¹, Sathler PC¹, Castro HC², Souza LA², Milazzotto TL², Rodrigues CR³, Cabral LM⁴, Dias LR⁵

¹Programa de Pós-graduação em Patologia, HUAP, Departamento de Patologia, UFF, Niterói, RJ, Brazil.

²LABioMol, Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Celular e Molecular UFF, Niterói, RJ, Brazil.

³ModMolQSAR, Faculdade de Farmácia, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

⁴LABTIF, Faculdade de Farmácia, UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

⁵Faculdade de Farmácia, UFF, Niterói, RJ, Brazil.

Recently, antiplatelet therapy has been widely recognized as of potential medical application to reduce thrombotic diseases, such as arterial thrombosis and atherosclerosis. However, available drugs are known to increase the overall bleeding risk, and the recurrence of ischemic events in patients with acute coronary syndrome remains an important, and often an underappreciated risk of these therapies. Thus,

international efforts are still being made to develop new antiplatelet agents with low collateral effects. In this work we report the synthesis and biological activity of new series of *N*'-substituted-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-*p*-hydrazone designed as novel antiplatelet agents. Results were confronted to a structure-activity relationship (SAR) study in order to identify relevant features to the anti-thrombotic activity profile and toxicity. These compounds were synthesized in good yield and tested in platelet aggregation assays using ADP, collagen, arachidonic acid and epinephrine. Their anticoagulant and hemocompatibility profiles were investigated by different assays including prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT) and hemolysis tests which is based on hemoglobin released by damaged cells. We also performed a SAR studies using SPARTAN'10 program, *in silico* ADMET screening and the Lipinski "rule of five" using Osiris Property Explorer and Molinspiration programs. Interestingly, our data show that the pyrazolopyridine derivatives with a combination of a nonpolar group at R1 position with a polar group at R2 position (RRSS-06, RRSS-08 and RRSS-09) were active against arachidonic acid (AA) having no inhibitory effect against the other agonists as ADP, collagen and epinephrine and also had no significant influence in the extrinsic and intrinsic pathway of coagulation cascade. The cell toxicity assays demonstrate that most of the *N*'-substituted-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-*p*-hydrazone derivatives are not capable of generating significant erythrocyte lysis, including the most active compounds RRSS-06, RRSS-08 and RRSS-09. Overall, in this work we showed that this series of *N*'-substituted-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine compounds has a promising antiplatelet profile. It was also reported that the *N*'-substituted-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-*p*-hydrazone derivatives show a low profile for irritant, tumorigenic, mutagenic and reproductive effects generation risks, and the most active compounds (RRSS-06, RRSS-08 and RRSS-09) showed no activity in generating significant erythrocyte lysis which reinforces their promising lead profile as antiplatelet agents for further *in vivo* experimental investigations.

219

Estudo epidemiológico dos pacientes com eventos trombóticos atendidos no ambulatório de hematologia em um hospital público de Fortaleza

Brito CM¹, Ximenes AC¹, Rocha AG¹, Campelo CP¹, Aguiar LL¹, Neto GC^{1,2,3}, Ribeiro RA^{2,3}, Rodrigues MA^{2,3}, Segundo NS¹, Assunção RC¹

¹Universidade de Fortaleza

²Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE)

³Universidade Federal do Ceará

Introdução: Na trombose, há um desequilíbrio das forças procoagulantes e anticoagulantes prejudicando a circulação sanguínea. O desbalanço entre fatores formadores do coágulo: proteínas da coagulação, endotélio e fluxo sanguíneo (triade de Virchow) explicam os fenômenos de hipercoagulabilidade. As doenças tromboembólicas possuem grande relevância devido a apresentarem elevada morbidade e mortalidade. A aplicação dos conceitos e métodos epidemiológicos na avaliação dos eventos trombóticos é de capital importância, em relação a melhoria do conhecimento clínico relacionado à investigação diagnóstica e ao tratamento dos pacientes. **Objetivo:** Analisar as características epidemiológicas apresentadas pelos pacientes com eventos trombóticos em atendimentos no serviço de hematologia. **Métodos:** Foi realizado estudo retrospectivo e descritivo de análise de prontuários de 229 pacientes atendidos, entre 2010 a 2012, no serviço de hematologia do Hospital Universitário da Universidade Federal do Ceará. Foram coletados dados da anamnese, exame clínico e laboratorial. A análise estatística foi feita pelo método quantitativo, de frequências absoluta e relativa, pelo software Excel programa Windows 2007. **Resultados:** Foram analisados 229 pacientes, 171 (74,7%) do gênero feminino e 58 (25,3%) do masculino. As idades, ao diagnóstico, variaram de um ano e oito meses a 72 anos, com média de 36,9 anos. A maioria dos indivíduos apresentava faixa

etária entre 20 e 50 anos, totalizando 50,1% da amostra. Dos 229 prontuários, 210 (91,7%) pacientes tiveram trombose venosa profunda (TVP), 15 (6,6%) tiveram trombose arterial exclusivamente e quatro (1,7%) tiveram tromboembolismo pulmonar (TEP) exclusivamente. Dentre 225 pacientes que tiveram trombose venosa ou arterial, 161 (71,6%) apresentaram eventos trombóticos localizados nos membros inferiores e 14 (6,2%) localizados nos membros superiores, além de 55 (24,4%) que tiveram outras localizações, como veia jugular, veia cava superior e inferior, veia mesentérica, veia porta hepática, veia renal e AVC. Em relação às comorbidades, obtivemos os seguintes dados: 62 (27%) apresentavam hipertensão arterial; 19 (8,3%) diabetes; 13 (5,7%) lúpus eritematoso sistêmico (LES); 13 (5,7%) obesidade; 11 (4,8%) dislipidemia; 11 (4,8%) tireoideopatias e 106 pacientes (46,3%) com patologias diversas (doença renal, doença cardíaca, doenças de pele, etc). Em relação aos fatores associados: tabagismo e etilismo, gestação e o uso do anticoncepcional oral (ACO) foram os mais prevalentes, representado por 64 (27,9%); 41 (17,9%) e 39 (17%) pacientes, respectivamente. Seguido por 23 casos (10%) de cirurgia; 19 (8,3%) de abortos e 24 (10,5%) de outros (história familiar, uso de cateter e imobilização). **Conclusão:** Dos dados obtidos nesse grupo de pacientes observou-se uma maior incidência de eventos trombóticos em pacientes do sexo feminino com 74,7%, a faixa etária situou-se entre 20 e 50 anos e a grande maioria apresentou TVP com 91% dos casos. Este conhecimento das características epidemiológicas dos pacientes com eventos trombóticos possibilitará melhorias no atendimento clínico, no diagnóstico e no tratamento. Além disso, constrói a base de dados que orientará o desenvolvimento de futuras pesquisas na área de hemostasia em nosso meio.

220

Análise da prevalência de trombofilias em pacientes com trombose venosa profunda (TVP) em um serviço de hematologia de um hospital universitário do estado do Ceará

Aguiar LL¹, Segundo NS¹, Brito CM¹, Rocha AG¹, Campelo CP¹, Ximenes AC¹, Serra RM¹, Rodrigues MA^{2,3}, Ribeiro RA^{2,3}, Neto GC^{1,2,3}

¹Universidade de Fortaleza

²Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE)

³Universidade Federal do Ceará

Introdução: A trombofilia é uma condição pró-trombótica, podendo ser decorrente de uma alteração hereditária ou adquirida, que afeta um ou mais dos fatores da triade de Virchow. Estas condições se apresentam com alteração em fatores de coagulação, endotélio e fluxo sanguíneo. O controle genético da suscetibilidade ao tromboembolismo venoso (TEV) é multigênico, ou seja, diferentes mutações em genes distintos podem ocasionar a doença. A investigação da predisposição genética ao desenvolvimento de TEV é de grande relevância para determinar a causa dos eventos trombóticos e, dessa forma, proporcionar um acompanhamento médico mais adequado. **Objetivo:** Análise da prevalência das doenças genéticas pró-trombóticas (trombofilias primárias) em pacientes com tromboembolismo venoso (TEV) em um serviço de hematologia de um hospital universitário do estado do Ceará. **Métodos:** Foi realizado estudo retrospectivo, descritivo e quantitativo de análise de prontuários de 210 pacientes atendidos, entre 2010 a 2012, em um serviço de hematologia do Hospital Universitário da Universidade Federal do Ceará. Foram utilizados dados dos prontuários relativos à anamnese e exames físico e laboratorial. Para a análise estatística de dados, utilizou-se o programa Excel (pacote Office Windows 2007). **Resultados e Discussão:** Foram analisados 210 indivíduos com diagnóstico de TVP e/ou TEP. Destes 154 pacientes eram do sexo feminino (74,29%) e 56 pacientes eram do sexo masculino (25,71%). As idades, ao diagnóstico, variaram de um ano e oito meses a 72 anos, com mediana de 35 anos. Do total, 158 pacientes não possuíam diagnóstico de trombofilias ou ainda estavam

em investigação (75,24%), enquanto 52 indivíduos foram diagnosticados com trombofilia primária (24,76%). Neste grupo, 28 pacientes possuíam deficiência de Proteína S (54%); 11 com mutação do fator V de *Leiden* (22%); sete com deficiência da Proteína C (14%) e seis com deficiência de antitrombina (12%). Observou-se que nove pacientes possuíam mais de uma trombofilia associada (18%). Foram observadas também cinco pacientes com mutação do gene da protrombina (10%), dois com aumento da concentração sérica do fator VIII (4%) e um paciente com deficiência fator XII (2%). **Conclusão:** Os resultados encontrados apresentam discrepância com os dados observados na literatura médica, devido à observação de uma maior prevalência do déficit da proteína S (54%), seguido pela presença da mutação do fator V de *Leiden* (22%) no grupo estudado. Esse fato pode em parte ser explicado pelo grande número de pacientes com trombofilia sem o devido diagnóstico etiológico (75,24%), bem como, indica claramente a necessidade de melhoria na condição laboratorial para estudo destes pacientes, principalmente com a introdução de metodologia para estudo de natureza molecular. Deve-se ressaltar, no presente estudo, o diagnóstico das mais importantes trombofilias primárias relacionados a presença de eventos tromboembólicos (TVP/TEP) em nosso meio. Além disso, os dados obtidos no presente trabalho servirão como banco de dados para futuras pesquisas.

221

Efeito do ácido acetilsalicílico na ativação plaquetária em pacientes com diabetes mellitus tipo 2

Duarte RC¹, Gonçalves LH², Campos FM³, Filho OA³, Borges KB¹, Dusse LM¹, Gonçalves GS⁴, Bosco AA⁵, Carvalho MD¹

¹Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas / Faculdade de Farmácia/ UFMG

²Rede Sarah de Hospitais/ Belo Horizonte

³Centro de Pesquisas René Rachou / Fiocruz

⁴Centro Universitário Newton Paiva / Belo Horizonte

⁵Hospital Santa Casa Hospital / Belo Horizonte

Introdução: O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é uma doença metabólica associada a complicações cardiovasculares, com hiperativação de plaquetas e consequente aumento de micropartículas de plaquetas (MPP). Assim como as plaquetas, as MPP possuem atividade pró-coagulante e estão envolvidas no desenvolvimento da aterosclerose no DM2. O Ácido Acetilsalicílico (AAS) é um agente antiplaquetário utilizado na prevenção de eventos aterotrombóticos por bloquear a formação de tromboxano A2, via inibição da ciclooxigenase-1. O efeito do AAS pode ser determinado pelos níveis de 2,3-dinor-tromboxano B2(2,3-dinor-TXB2), entre outros. **Objetivo:** Avaliar o efeito do uso do AAS sobre a ativação plaquetária em pacientes com DM2, através da determinação dos níveis de 2,3-dinor-TXB2e MPP. **Métodos:** Os níveis plasmáticos de 2,3-dinor-TXB2 e MPP foram medidos em 81 pacientes com DM2 antes e aos quinze dias de uso diário de 100mg de AAS. A dosagem do 2,3-dinor-TXB2foi realizada por ensaio imunoenzimático e para o isolamento e quantificação das MPP foi utilizada a técnica de citometria de fluxo. Os dados foram analisados pelo teste Wilcoxon e $p < 0,005$ foi considerado significativo. **Resultados e Conclusão:** Foi observada uma diminuição significativa ($p < 0,001$) nos níveis de do 2,3-dinor-TXB2 aos 15 dias de uso do AAS. Entretanto, não foi encontrada diferença significativa ($p = 0,403$) entre a % de MPP antes e durante o uso desse medicamento. Este fato talvez possa ser atribuído aos elevados níveis de MPP em diabéticos e, além disso, é importante ressaltar que diferente do 2,3-dinor-TXB2(marcador da ativação plaquetária), as MPP além de serem originadas de plaquetas ativadas também podem ser formadas a partir do envelhecimento e apoptose das mesmas. No estudo realizado por Bulut et al. (2011) foi observado uma diminuição significativa ($p < 0,005$) do número de MPP após o tratamento de pacientes com doença arterial coronariana com 100 mg de AAS durante 8 semanas. Uma possível justificativa para a diferença entre estes resultados e aqueles

obtidos nesse estudo seria o tempo de uso do AAS (8 semanas X 15 dias). É importante considerar também que a resposta ao AAS sofre influência de fatores epidemiológicos, clínicos e genéticos. Isso fortalece a necessidade de se realizar novos estudos tendo em vista a ampla prescrição de antiagregantes pela Clínica Médica.

222

Lipoproteína (A) e acidente vascular cerebral em paciente jovem

Goncalves NN¹, Franco PO¹, Goncalves L¹, Pereira LP^{1,2}, Souza KJ^{1,2}, Bressa RC^{1,2}, Bressa JA^{1,2}

¹Hospital Regional de Presidente Prudente

²Universidade do Oeste Paulista

Introdução: Acidente Vascular Cerebral (AVC) apresenta alta prevalência e impacto severo em indivíduos afetados. A idade é fator de risco, porém, AVC em jovens compreende 10% dos casos. Embora cardioembolismo e dissecação arterial sejam os principais fatores etiológicos do AVC em jovens, uma abordagem diagnóstica sistemática deve ser aplicada, devido ao grande número de causas neste grupo e sua natureza multifatorial. Considerada causa incomum de AVC em jovens, há duas décadas, a aterosclerose vem ganhando projeção. Lipoproteínas plasmáticas provaram ser indicadores confiáveis de risco de doença vascular e em estudos recentes, a lipoproteína (a) (Lp (a)) vem ganhando importância, devido suas propriedades aterogênicas e trombogênicas. **Relato de Caso:** Masculino, 35 anos, pardo, portador de hipertensão arterial sistêmica e histórico de AVC aos 15 anos, que resultou em hemiparesia e ptose palpebral à esquerda. Sem relato de diabetes, tabagismo ou doença cerebrovascular na família. Fazia uso de Atenolol 40mg/dia e AAS 100mg/dia. Em investigação das causas do evento isquêmico precoce, foi submetido a Arteriografia, com encontro de suboclusão da artéria carótida comum e oclusão da artéria carótida interna direitas. Seguiu-se investigação de trombofilias e vasculites. O nível plasmático de Lp (a) foi de 119 mg/dl(normal< 30mg/dl) e homocisteína 17,57 $\mu\text{mol/L}$ (normal entre 5,46 e 16,20 $\mu\text{mol/L}$). Proteína C, Proteína S, Anticorpo anticardiolipina e antitrombina III estavam na faixa da normalidade. Fator antinuclear, Anticoagulante lúpico, fator V Leiden e Mutação no gene da Protrombina apresentaram-se negativos. Colesterol total 219mg/dl(normal<200), LDL-colesterol 157mg/dl (normal entre 100-129), HDL-colesterol 25mg/dl(normal>60) e Triglicerídios 184mg/dl (normal<200). **Discussão:** Doença aterosclerótica é fator importante no AVC isquêmico. Nos jovens, exibe frequência menor, porém o controle inadequado dos fatores de risco vascular pode estar levando à elevação no número de infartos cerebrais associados à aterosclerose nessa faixa etária. No caso reportado, o valor da Lp (a) esta aumentada cerca de três vezes em relação a referência, as demais lipoproteínas discretamente elevadas. Lp (a) é uma partícula semelhante a LDL, contém uma molécula de uma apolipoproteína B100 e apolipoproteína (a) (apo (a)). Uma característica importante da Lp (a) é a homologia entre a apo (a) e o plasminogênio. Por causa da homologia, a Lp (a) pode ter propriedades que contribuem para a patogênese da doença aterotrombotica. A ligação da Lp (a) com fibrinogênio e fibrina resulta na inibição da ligação do plasminogênio a estes substratos. Além disso, a Lp (a) compete com o plasminogênio por seus receptores nas células endoteliais, levando a diminuição da formação de plasmina, atrasando assim a lise de coágulos e favorecendo a trombose. Devido a esses mecanismos, seu aumento tem demonstrado ser um fator de risco independente para muitas formas de doenças vasculares. Essas características da lipoproteína (a) justificam o encontro de doença arterial carotídea no paciente relatado, bem como o evento isquêmico precoce. **Conclusão:** Infartos cerebrais de causa indeterminada ainda são parcela significativa nos AVC em adultos jovens, o que torna sua investigação um desafio diagnóstico. No entanto, aterosclerose prematura, em especial aumento de Lp(a), tem emergido como fator de risco em pacientes jovens com AVC.

Infarto agudo do miocárdio como manifestação inicial da síndrome do anticorpo antifosfolípide

Gomes BA¹, Duarte CM¹, Dantas EA¹, Júnior AL¹, Peixoto RL¹, Costa VR¹, Ribeiro ML¹, Pita DF², Albuquerque LM¹, Botelho LF¹

¹Universidade Federal da Paraíba

²Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba

Introdução: A Síndrome do Anticorpo Antifosfolípide (SAAF) é uma síndrome auto-imune, na qual o organismo passa a produzir anticorpos antifosfolípidos. Apresenta-se clinicamente através de eventos trombóticos como obstrução arterio-venosa, infarto agudo do miocárdio (IAM) e abortos de repetição. A SAAF pode ser primária quando ocorre isoladamente, ou secundária quando há a presença de outra síndrome auto-imune, a exemplo do Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES). Para compor seu diagnóstico, leva-se em consideração principalmente o histórico e fatores de risco para trombofilia e a presença de alguns anticorpos antifosfolípidos (anticardiolipina, anticoagulante lúpico e anticorpo anti-beta2 glicoproteína 1). A trombofilia pode, ainda, ser de caráter congênito, quando há polimorfismo no gene da enzima Metileno Tetraidrofolato Redutase (MTHFR), ou adquirida, na ausência desses polimorfismos. A síndrome não possui cura, e seu tratamento consiste basicamente no afastamento dos fatores de risco para a formação de trombos (como o fumo, a obesidade, sedentarismo e dislipidemia), associado ao uso contínuo de anticoagulantes orais com constante monitorização da coagulabilidade através de exames de sangue. **Relato de Caso:** Z.F.M.M., sexo feminino, 34 anos, branca, natural e procedente de João Pessoa. Sem antecedentes prévios de trombose venosa profunda/acidente vascular encefálico isquêmico. Apresentou, em setembro de 2011, histórico de trombofilia congênita confirmada por detecção de homozigoto mutante do MTHFR A1248C, e pesquisa negativa para Anticoagulante Lúpico, Anticardiolipina e Anticorpo anti-beta-2-glicoproteína-1. Em janeiro de 2013 desenvolveu quadro de IAM. Em investigação, exibiu positividade para Anticorpo Lúpico e cateterismo sem evidências de lesões ateroscleróticas em artérias coronarianas. A impressão diagnóstica foi de SAAF, e a conduta teve início com medicação e orientações profiláticas para eventos trombóticos, repetição da dosagem do Anticorpo Lúpico e triagem para LES. **Discussão:** Manifestações cardíacas na SAAF têm sido descritas na literatura. Quando ocorrem, apresentam-se mais comumente como eventos ateroscleróticos associados à trombose coronariana e alterações valvulares. Assim, torna-se compreensível que um Evento Cardíaco Maior (ECM), como o Infarto Agudo do Miocárdio (IAM) esteja presente no histórico destes pacientes. Entretanto, o que se observa no caso relatado é uma idade fora dos padrões de risco para um ECM, além da ausência de manifestações ateroscleróticas visíveis ao cateterismo, apesar de haver uma trombofilia de caráter genético. Suscita-se, portanto, o fato de o IAM relatado não ter um fator desencadeante aparente. Diante do exposto, é possível, de toda forma, consagrar uma raridade à ideia de a doença ter se manifestado primariamente através de um IAM até então sem causa. **Conclusão:** Logo, conclui-se que há certa relevância na consideração de investigar a SAAF em casos nos quais o IAM se apresenta sem explicação, especialmente quando em pacientes jovens.

Resistência adquirida à proteína C ativada em idosos com e sem comprometimento cognitivo

Carvalho MD¹, Goncalves GS^{1,2}, Rios DR³, Faria MC¹, Moraes EN⁴, Gomes LC¹, Dusse LM¹, Thomassen MC⁵, Hackeng T⁵

¹Department of Clinical and Toxicological Analysis-Faculty of Pharmacy-UFMG

²Centro Universitário Newton Paiva

³Universidade Federal de São João Del Rei

⁴Hospital das Clínicas-Faculdade de Medicina da UFMG

⁵Department of Biochemistry, Cardiovascular Research Institute Maastricht – Maastricht University – The Netherlands

À medida que o processo de envelhecimento da população aumenta, a prevalência de doenças neurodegenerativas aumenta também, especialmente a Doença de Alzheimer (DA), a qual se caracteriza por um declínio cognitivo progressivo e demência. Em paralelo ao envelhecimento, a literatura relata a presença de lesão microvascular e um consequente estado protrombótico, como um dos fatores importantes no agravamento do processo neurodegenerativo. O teste de geração de trombina tem sido largamente utilizado 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 trombóticos devido a fatores adquiridos ou genéticos que afetam a via da proteína C. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o sistema hemostático de indivíduos idosos com e sem comprometimento cognitivo, com foco na via da proteína C ativada, por meio do uso do teste de geração de trombina (TGT), empregando-se o método de CAT (*Calibrated Automated Thrombograph*). A partir dos resultados obtidos descritos como ETP (*Endogenous Thrombin Potential*) calculou-se o índice nAPCsr (*Normalized Activated Protein C Sensitivity Ratio*) para avaliar o nível de Resistência adquirida à Proteína C ativada em idosos com comprometimento cognitivo leve (CCL; n=55) e com provável Doença de Alzheimer (DA; n=65), comparado aqueles sem comprometimento cognitivo (controles, n=30). TGT foi realizado na presença e na ausência de Proteína C ativada (APC). O índice nAPCsr foi calculado para cada amostra de plasma dividindo a razão de ETPs obtida na presença e na ausência de APC (ETP + APC/ETP – APC) pela mesma razão calculada a partir de uma amostra de “pool” de plasma de controles (idosos sem comprometimento cognitivo). Este índice varia entre 0 e 10 e aumenta de acordo com o nível de resistência da amostra. Casos de Resistência à Proteína C ativada, devido à presença de FV Leiden, foram confirmados ou descartados por meio de técnica coagulométrica (Prothrombinase-based assay). Após análise dos dados de ETP fornecidos pelo TGT com posterior cálculo do nAPCsr, foi possível observar uma resistência adquirida à ação da Proteína C ativada bem mais evidente nos idosos com CCL e com DA, em relação ao grupo controle. Considerando como resistentes aqueles indivíduos com nAPCsr > 2, de 55 idosos com MCI, 25 (45,4%) se mostraram resistentes à Proteína C ativada, enquanto de 65 com DA, 19 (29,2%) se mostraram resistentes. Para o grupo controle, dos 30 idosos sem comprometimento cognitivo, apenas 3 (10%) apresentaram nAPCsr > 2. A pesquisa de FV Leiden não explicou os valores aumentados deste índice, já que apenas dois casos foram detectados, um no grupo controle e outro no grupo com MCI. Os dados permitem concluir que idosos com comprometimento cognitivo, comparados aos controles, apresentam um nítido quadro de resistência adquirida à Proteína C ativada o que lhes confere um estado de hipercoagulabilidade, condição que pode estar contribuindo para o declínio cognitivo e demência. Suporte: CNPq, CAPES e FAPEMIG.

225

Avaliação do papel do polimorfismo T-287C do gene do inibidor da via do fator tecidual (TFPI) no risco de tromboembolismo venoso através de estudo de caso-controle

Ribeiro PD¹, Orikaza CM¹, Gouvea CP¹, Vaez R¹, Cruz RG¹, Pinheiro PN¹, Matos MF¹, Guerra-Shinohara EM², Lourenco DM¹, Morelli VM¹

¹Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Departamento de Oncologia Clínica e Experimental, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

²Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo (USP)

Introdução: O tromboembolismo venoso (TEV) é uma condição comum na população geral. Tendo em vista sua natureza multifatorial, tem-se investigado o papel do inibidor da via do fator tecidual (*tissue factor pathway inhibitor* - *TFPI*) como fator de risco. O *TFPI* regula a geração de trombina e sua redução associa-se ao aumento do risco de TEV em estudos de caso-controle. A região promotora de seu gene possui um polimorfismo de nucleotídeo único (T/C) na posição -287, o qual está envolvido na regulação da expressão do *TFPI*. Em indivíduos saudáveis, a presença do alelo C associou-se à elevação do *TFPI*, o que poderia conferir potencial efeito protetor no risco trombótico. **Objetivo:** Visto que a literatura é escassa acerca da associação entre TEV e o polimorfismo T-287C do gene do *TFPI*, o nosso objetivo é avaliar o efeito deste polimorfismo no risco trombótico através de estudo de caso-controle. **Métodos:** Foram incluídos pacientes de ambos os sexos, com idade entre 18-60 anos, admitidos no ambulatório da Disciplina de Hematologia da UNIFESP entre 01/2000 e 07/2011, com evento único de trombose venosa profunda de membros inferiores e/ou de embolia pulmonar objetivamente confirmado. Os pacientes não apresentavam antecedente de doença cardiovascular, câncer, doença inflamatória intestinal, síndrome nefrótica, colagenose, insuficiência hepática e renal dialítica e síndrome antifosfolípide. Os controles foram recrutados entre amigos e cônjuges de pacientes, não apresentavam história pessoal de trombose e nem parentesco biológico com os pacientes, preenchendo o restante dos critérios de exclusão iguais aos do grupo de pacientes. Pacientes e controles foram emparelhados consoante sexo e idade. O polimorfismo T-287C foi investigado através de reação em cadeia da polimerase em tempo real e o seu efeito no risco trombótico foi avaliado através do cálculo de *odds ratios* (OR) e de intervalo de confiança (IC) de 95%. **Resultados:** Foram incluídos 110 pacientes (84 mulheres, 76%) com idade média de 40,9 ± 11,1 anos e 140 controles (108 mulheres, 77%) com idade média de 38,3 ± 10,8 anos. A distribuição genotípica estava de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg em ambos os grupos ($p > 0,05$). A frequência do alelo C foi maior nos controles (0,20) em comparação aos pacientes (0,16), $p = 0,408$. Entre os pacientes havia 79 com genótipo TT (71,8%), 26 com genótipo TC (23,6%) e 5 com genótipo CC (4,6%) e entre os controles havia 91 com genótipo TT (65%), 43 com genótipo TC (30,7%) e 6 com genótipo CC (4,3%). Os genótipos TC + CC (*versus* TT) associaram-se à redução do risco de TEV ajustado para sexo e idade (OR 0,73; IC 95% 0,42-1,26), sem, entretanto, atingir significância estatística. O fator V Leiden ou a mutação G20210A do gene da protrombina estavam presentes em 16 pacientes (14,5%) e 7 controles (5%), $p = 0,009$. Não houve mudança relevante do risco após ajuste para estes fatores (OR 0,69; IC 95% 0,39-1,21). **Conclusão:** Embora não tenha se demonstrado associação significativa entre o polimorfismo T-287C do gene do *TFPI* e TEV, o nosso resultado sugere proteção do alelo C em relação ao TEV. Inclusão de mais indivíduos neste estudo e realização de outros estudos com maior tamanho amostral poderiam confirmar o efeito protetor do alelo C do polimorfismo T-287C no risco de TEV.

226

Avaliação descritiva dos casos de tromboembolismo venoso atendidos na região de Campinas, Brasil. Experiência de um centro único especializado no tratamento de trombose

Barnabé A¹, Orsi FL¹, Júnior JL¹, Colella MP¹, Paula EV¹, Bizzachi JM¹

¹Centro de Hematologia e Hemoterapia da Universidade Estadual de Campinas

Introdução: O Tromboembolismo Venoso (TEV) é um problema de saúde pública, estima-se que a incidência anual no Brasil seja de 0,6 a 1 caso por 1000 indivíduos. Porém há poucos dados epidemiológicos desta doença fornecidos por pesquisas brasileiras. Desta forma, o objetivo deste estudo foi destacar os aspectos demográficos e clínicos dos casos de TEV na região de Campinas/Brasil, separando os casos espontâneos dos provocados, com o intuito de contribuir para a caracterização da doença no nosso meio. **Métodos:** Para tal, realizamos um estudo descritivo que incluiu todos os pacientes com trombose venosa profunda dos membros inferiores ou embolia pulmonar atendidos no ambulatório de hemostasia do Hemocentro de Campinas de janeiro de 2000 a janeiro de 2012. Os dados clínicos e laboratoriais desses pacientes foram coletados retrospectivamente, através da análise do prontuário médico. As diferenças entre os casos de TEV foram calculadas pelo teste exato de Fisher. **Resultados:** Foram avaliados 284 pacientes, 85 pacientes (29,9%) apresentaram TEV espontâneo e 199 (70,1%) TEV provocado. Havia mais mulheres no grupo de TEV provocado do que no de TEV espontâneo (81,4% vs. 52,4% $P=0,03$), sendo que o principal fator desencadeante do TEV foi o uso de estrógenos conjugados (42,2% dos casos). A frequência de trombofilia hereditária foi maior nos casos de TEV espontâneo em comparação com o TEV provocado (34,1% vs. 16,5%, $P=0,001$), assim como a frequência de SAAF (14,1% vs. 4,8%, $P<0,0001$). Dentre os 62 pacientes com trombofilia hereditária, 23 (37%) apresentavam a mutação do FVLeiden, 18 (29%) a mutação 20210Ada protrombina, 13 (20,9%) tinham deficiência da proteína S, 6 (9,6%) deficiência da proteína C e 2 (3,2%) apresentavam deficiência de antitrombina. A incidência de recidiva foi maior entre os pacientes com TEV espontâneo, 17%, contra 7% de recidivas nos casos provocados ($P=0,04$). Em 44,4% dos casos de TEV provocado a recidiva foi provocada pelo mesmo fator desencadeante da primeira trombose, notadamente o uso de estrógenos conjugados. Os casos de recidiva após o TEV espontâneo foram em sua maioria também espontâneos (80%). **Conclusão:** O TEV apresenta-se clinicamente como duas doenças distintas: TEV espontâneo e TEV provocado. No nosso meio, o TEV espontâneo é uma doença relativamente menos frequente que o provocado. As associações com trombofilias hereditárias e SAAF são significativamente maiores no TEV espontâneo, bem como o risco de recidiva. A maior taxa de recidiva sugere que os casos de TEV espontâneo possam ter pior prognóstico e possivelmente se beneficiariam com o acompanhamento médico mais específico no sentido de evitar a recidiva. Notadamente, grande parte dos casos de recidiva após TEV provocado poderia ter sido evitada, uma vez que foi provocada por fator desencadeante conhecido, o que sugere também que esses pacientes possivelmente se beneficiariam com uma melhor orientação médica sobre sua doença. Destaca-se ainda, no TEV provocado, a forte associação com o uso de anticoncepcionais orais, e consequentemente com o sexo feminino, o que sugere que possivelmente haja necessidade de melhores medidas de prevenção do TEV particularmente nesta população.

227

Utilização da contagem automatizada de esquizócitos no monitoramento da fase aguda em pacientes com púrpura trombocitopênica trombótica

Tomé DA¹, Orsi FA¹, Andreghetto BD¹, Gilberti MF¹, Sonati MF¹, Colella MP¹, Annichino-Bizzacchi JM¹, Paula EV¹

¹Universidade Estadual de Campinas

Introdução: A Púrpura trombocitopênica trombótica (PTT) é uma condição grave em que grandes variações na contagem de plaquetas e na hemoglobina ocorrem em curtos intervalos de tempo, com implicações prognósticas significativas. Entretanto, o monitoramento hematológico destas variações resume-se à contagem de plaquetas e de reticulócitos e dosagem de hemoglobina. Novos analisadores hematológicos oferecem uma série de parâmetros hematimétricos pouco utilizados na prática clínica tanto pela falta de padronização de valores de referência quanto pela falta de conhecimento sobre os mesmos. Entre estes parâmetros, destaca-se a contagem automatizada de esquizócitos (FRC). **Objetivo:** Explorar a utilidade clínica da contagem de FRC e outros parâmetros oferecidos pelo hemograma na fase aguda da PTT. **Métodos:** A proporção de hemácias fragmentadas (FRC), a fração de plaquetas imaturas (IPF), e a contagem de reticulócitos imaturos (IRF) foram analisados diariamente durante a fase aguda em dois pacientes com PTT, confirmada por critérios clínicos e pela dosagem de ADAMTS13, em um hospital universitário. A avaliação foi realizada de forma concomitante à realização diária de plasmaféreses. **Resultados e Conclusão:** Durante a análise, a contagem automatizada de esquizócitos apresentou comportamento inverso à contagem plaquetária, atingindo valores normais após a remissão da doença. O IRF apresentou o mesmo comportamento que a FRC, ao passo que o IPF aumentou progressivamente durante o tratamento. Embora preliminares, estes dados mostram que tanto a contagem de automatizada de esquizócitos quanto outros parâmetros avançados do hemograma podem oferecer informações clinicamente relevantes, mesmo na vigência de plasmaféreses diárias. Estudos com maior número de pacientes são necessários para que se estabeleça o papel real destas avaliações no monitoramento da PTT.

228

Performance do coagulômetro portátil de uso domiciliar para a aferição do RNI em pacientes utilizando anticoagulante oral.

Machado T¹, Orsi FL¹, Santos MP¹, Machado L², Montalvão S¹, Colella MP¹, Annichino-Bizzacchi JM¹

¹Centro de Hematologia e Hemoterapia da Universidade Estadual de Campinas

²Universidade Estadual de Campinas

Introdução: Os coagulômetros portáteis de uso domiciliar podem facilitar o tratamento da anticoagulação oral porque proporcionam ao paciente a possibilidade de realizar controles mais frequentes do RNI sem a necessidade de se deslocarem até um laboratório. No ambulatório de anticoagulação do Hemocentro da UNICAMP há 25 pacientes, com antecedente de tromboembolismo venoso, que fazem uso do coagulômetro portátil para o controle domiciliar do RNI. O objetivo deste estudo foi avaliar a performance dos coagulômetros portáteis CoaguChek XS (CoaguChek XS; Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) dos pacientes, comparando os resultados de RNI gerados por estes aparelhos com os resultados gerados pelo método laboratorial de referência (coagulômetro automatizado) do Laboratório de Hemostasia do Hemocentro da UNICAMP. **Métodos:** Foram obtidos resultados duplicados de RNI, pelo CoaguChek XS do paciente e pelo coagulômetro automatizado do laboratório, em

41 consultas, durante 4 meses. Os resultados foram comparados pelos testes de regressão linear, Bland-Altman e pelo coeficiente de kappa ponderado. Foram avaliados 25 CoaguChek XS individuais distintos. **Resultados:** A média do RNI obtida pelos CoaguChek XS foi $2,51 \pm 0,79$ e a média obtida pelo coagulômetro automatizado foi $2,56 \pm 0,81$. O RNI estava supratêrapiico em 12,2% das medições em ambas as metodologias. A correlação dos resultados foi boa. Em relação ao coagulômetro automatizado, o CoaguChek XS individual apresentou tendência discreta a subestimar os valores de RNI, em média em 0,05 unidades. O coeficiente de correlação entre os dois métodos foi alto ($r=0,96 \pm 0,06$; $P<0,0001$). Foram avaliados também os resultados conforme os intervalos de RNI, uma vez que esta informação é importante para o manejo clínico do paciente. Os CoaguChek XS individuais, em conjunto, e o coagulômetro automatizado identificaram respectivamente 10 e 13 pacientes com RNI $< 2,0$, 24 e 20 pacientes com RNI entre 2,0 - 3,0, 6 e 8 pacientes com RNI entre 3,1 - 5,0. Apenas o CoaguChek XS identificou um paciente na faixa entre 5,1-8,0. Tendo em vista esses intervalos de RNI, o coeficiente de concordância entre os dois métodos foi bom (coeficiente de kappa=0,69). **Conclusão:** A correlação entre os resultados de RNI gerados pelo CoaguChek XS e pelo coagulômetro automatizado laboratorial foi boa nos três métodos estatísticos empregados para a comparação. Desta forma, nossos resultados demonstraram que o CoaguChek XS individual, manipulado por pacientes, gera resultados de RNI confiáveis e comparáveis aos gerados pelo laboratório de referência, apresentando assim boa reprodutibilidade. Desta forma, podemos concluir que a aferição domiciliar do RNI pelo CoaguChek XS é adequada para o manejo dos pacientes em anticoagulação oral.

229

Estudo da prevalência de doenças tromboembólicas em pacientes gestantes atendidas em um hospital público de Fortaleza

Brito CM¹, Soares EB¹, Ponte AC¹, Santos JM¹, Menezes LM¹, Peixoto SG¹, Neto JJ¹, Rodrigues MA^{2,3}, Ribeiro RA^{2,3}, Neto GC^{1,2,3}

¹Universidade de Fortaleza

²Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE)

³Universidade Federal do Ceará

Introdução: As doenças tromboembólicas são importantes causas de morbidade e de mortalidade obstétrica. Considera-se o risco de trombose na gravidez maior durante o terceiro trimestre de gestação e, principalmente, durante as seis primeiras semanas do pós-parto. A gravidez chega a ser considerada como um "estado trombogênico", já que as variações ocorridas estão relacionadas com os fatores procoagulantes, que aumentam sua concentração até a vigésima semana de gravidez, quando se estabilizam. Os parâmetros da hemostasia com as maiores variações durante a gestação são a concentração da protrombina, a atividade da proteína S e os inibidores da atividade do plasminogênio. Todos esses fatores induzem a existência de um estado de hipercoagulabilidade. Determinar a influência da gestação como fator de risco para a ocorrência de trombose é de difícil avaliação, tendo em vista a grande variabilidade no que concerne a magnitude do processo e suas manifestações clínicas. No entanto, é importante a investigação epidemiológica para melhorar o conhecimento clínico, a investigação diagnóstica e o tratamento das pacientes. **Objetivo:** Analisar a relação existente entre a ocorrência de eventos trombóticos e o período gestacional entre mulheres em atendimento no serviço de hematologia. **Métodos:** Foi realizado estudo retrospectivo e descritivo de análise de prontuários de 171 pacientes atendidas, entre 2010 a 2012, no serviço de hematologia do Hospital Universitário da Universidade Federal do Ceará. Foram coletados dados da anamnese, exame clínico e laboratorial. A análise estatística foi feita pelo método quantitativo, de frequências absoluta e relativa, pelo software Excel programa Windows 2007. **Resultados:** Foram analisadas 171 pacientes com doenças tromboembólicas. Do

total da amostra de pacientes do sexo feminino, 39 (22,8%) eram gestantes. Em relação a amostra feminina, a trombose venosa profunda (TVP) foi a mais prevalente com 162 dos casos (94,7%), das quais 39 pacientes (24%) estavam no período gestacional. Em seguida, há casos de 13 pacientes que também apresentaram tromboembolismo pulmonar (TEP) além de TVP, das quais cinco (38,5%) eram gestantes. No entanto, das 10 pacientes que possuíam exclusivamente trombose arterial, nenhuma estava gestante. Em relação ao grupo de estudo, 48 pacientes (28,1%) apresentavam trombofilias, como deficiência de proteínas anticoagulantes naturais ou diminuição de alguns fatores de coagulação. Dessa amostra de pacientes, uma quantidade considerável de 12 (25%) eram gestantes em comparação com as 42 pacientes com SAAF, das quais apenas cinco (11,9%) eram gestantes, representando uma amostra menor.

Conclusão: O presente trabalho demonstrou a alta prevalência do evento de trombose relacionada à gestação, com 24% dos casos estudados. Além disso, a pesquisa de trombofilias nas pacientes gestantes com TVP evidenciou-se positiva em 28% dos indivíduos. Este dado corrobora as evidências da literatura e demonstra a real necessidade de investigação laboratorial, sobretudo, nas mulheres mais jovens, com evento tromboembólico prévio e com antecedentes pessoais ou familiares de fenômenos trombóticos e/ou trombofilia. Há ainda necessidade de estudos direcionados, para melhor indicação de prevenção, controle e tratamento de gestantes com riscos elevados para eventos trombóticos.

230

Avaliação da ocorrência de trombose e a menstruação

Freitas LG¹, Martins MA², Ribeiro DD³, Oliveira JA³, Carvalho MG¹, Dusse LM¹

¹Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Minas Gerais

²Departamento de Produtos Farmacêuticos – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Minas Gerais

³Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais

Introdução: A trombose é uma doença complexa resultante de fatores genéticos e adquiridos. A menstruação constitui um desafio hemostático, considerando que numerosos capilares são rompidos simultaneamente com o desprendimento endometrial. A hipótese que norteou este estudo admite um estado de hipercoagulabilidade fisiológico durante a menstruação, visando estancar o sangramento. Uma redução do número de plaquetas circulantes, neste período, foi previamente demonstrada, sugerindo um consumo plaquetário. O objetivo deste estudo é avaliar a simultaneidade da ocorrência de trombose e menstruação. **Métodos:** Este estudo transversal descritivo inclui mulheres que tiveram trombose venosa (TV) na fase reprodutiva, atendidas em um serviço de saúde de Belo Horizonte/MG. Os dados estão sendo coletados por meio de entrevistas telefônicas e avaliação do prontuário médico, que incluem: ocorrência da TV durante a menstruação, sítio da TV, espontaneidade, uso de anticoncepcional hormonal (AH), presença de fatores de risco, histórico familiar, pesquisa de trombofilia, recorrência da TV; informações sobre o ciclo menstrual à época da TV (duração e regularidade do ciclo; duração, intensidade e intercorrências do sangramento); além da idade, índice de massa corporal (IMC), tabagismo, consumo de álcool, atividade física e doenças intercorrentes. **Resultados:** Até o momento, foram entrevistadas 32 mulheres que apresentaram TV (59,4% tromboembolismo pulmonar, 37,5% no seio venoso cerebral e 3,1% no membro inferior esquerdo). A TV foi considerada espontânea em quatro casos e em 28 foi associada a, pelo menos, um fator desencadeante, principalmente o uso de AH (92,9%). A ocorrência de TV durante a menstruação foi relatada por 9,4% das participantes. Para 78,1%, essa associação não foi obtida e 12,5% não se lembravam. Em 18,8% dos casos, havia histórico de TV em parente de 1º grau. A TV foi recorrente em duas (6,5%) participantes. Os exames para trombofilia revelaram

heterozigose para o gene da enzima MTHFR (15,6%), protrombina ou fator V Leiden (ambos 3,1%) e homozigose da MTHFR (9,4%); 53,1% não apresentaram alterações e para 15,6% não havia dados. A duração média do ciclo menstrual foi de 28 a 30 dias (75%), <28 dias (12,5%), >30 dias (9,4%) e uma participante (3,1%) não soube informar. O ciclo menstrual foi classificado como regular por 27 (84,4%) mulheres. A duração do sangramento variou de três a 10 dias, sendo cinco (37,5%) o mais frequente. A intensidade do fluxo menstrual foi classificada como fraca (28,1%), moderada (46,9%) ou intensa (25%). A principal intercorrência relatada nesse período foi cólica (56,3%), seguida de cefaleia (40,7%); 25% não apresentaram desconforto. Algumas relataram mais de uma intercorrência. A mediana de idade das participantes foi 28 anos e IMC médio de 24,8±4,7m²/Kg. Dessas, 93,8% não eram fumantes, 53,1% consumiam álcool e 50% praticavam atividade física regular. Apenas 3,1% apresentaram alguma doença intercorrente. **Conclusão:** Os resultados preliminares deste estudo ainda são insuficientes para avaliar a simultaneidade entre ocorrência de TV e a menstruação. No entanto, essa associação não pode ser descartada considerando o pequeno número de mulheres avaliadas até o momento, bem como o viés de memória, uma vez que se baseia em informação retrospectiva. O uso de AH mostra-se como um fator trombogênico importante.

231

Reclassificação de resultados na investigação laboratorial do anticorpo anticoagulante lúpico quando a análise é submetida aos critérios de avaliação recomendados pelo ISTH

Montalvão S¹, Rosenberis JL¹, Casagrande R¹, Pereira MS¹, Annichino-Bizzacchi JM¹

¹Universidade Estadual de Campinas UNICAMP

A síndrome do anticorpo antifosfolípido (SAAF) é considerada uma importante causa de manifestações trombóticas e de perda fetal. O diagnóstico é dependente do reconhecimento de um conjunto de manifestações clínicas com a confirmação da presença destes anticorpos dentre diferentes metodologias laboratoriais, como a determinação do anticoagulante lúpico (AL). Em 2009 a *International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH)* publicou uma atualização do critério diagnóstico para a determinação do AL com o objetivo de padronização da fase analítica e interpretação do teste. O objetivo deste estudo foi avaliar a implicação e valor diagnóstico das recomendações do ISTH na rotina prática laboratorial. Os pacientes atendidos no ambulatório de hemostasia do Hemocentro da Unicamp sob a investigação de SAAF, entre Janeiro a Julho de 2013 tiveram as suas amostras reavaliadas de acordo com critérios do ISTH: (1) Avaliação de dois testes de princípios diferentes TTPA + DRVVT (HEMOSILTM e SIMENS) que demonstre a dependência de fosfolípido em três estágios: triagem, estudo da mistura e teste confirmatório para ambos, (2) Determinação VR de acordo com P99, (3) Determinação do teste confirmatório com avaliação através da % de correção. Neste contexto, esta avaliação foi comparada com outros critérios pré-determinados pelo laboratório. O teste intergado, sílica clotting Time-SCT (HEMOSILTM), e o teste *in house* de plaqueta lavada (PNP) como confirmatório do TTPA, também foram avaliados. Para análise estatística, a sensibilidade e especificidade dos métodos foram avaliadas através da curva ROC. 240 amostras foram analisadas, 120 pacientes sob investigação de SAAF e 120 indivíduos saudáveis. Na reavaliação dos resultados 9/120 pacientes apresentaram discordâncias na interpretação final, em sua maioria os resultados pré-determinados foram falsos negativos. A média encontrada para TTPA foi 31.1(DP±6.6) e 34.0(DP±3.6) e para DRVVT *screening* 40.7(DP±7.6) e 40.2 (DP±2.8) para pacientes e controles respectivamente. Duas diferentes análises foram adicionadas nesta avaliação: (1) Avaliação da sensibilidade de duas cefalinas (HEMOSILTM e STAGO), com a utilização do PNP como fase

confirmatória e (2) A avaliação do SCT, ambos ainda não recomendados pelo ISTH por falta de padronização. Na primeira, embora um alto coeficiente de correlação encontrado, três pacientes foram reclassificados como positivos para a presença de AL. Na segunda, o SCT apresentou um alto índice de positividade quando comparado com TTPA + PNP, 21 pacientes foram positivos apenas para SCT. Estes pacientes foram analisados quanto à persistência de positividade em duas amostras com intervalo de duas semanas, concordância com resultados de anticardiolipina, e classificação da condição clínica. Nossos dados demonstram que seguir as recomendações do ISTH aumenta a sensibilidade e especificidade do teste, e que embora não recomendado pelo ISTH devido à falta de padronização do método, o PNP é uma importante etapa para a confirmação do teste. Os testes integrados tem tido uma crescente aceitação nos laboratórios devido à facilidade de automação, no entanto as diferenças encontradas quando comparados ao TTPA+PNP devem ser avaliadas de acordo com a concordância clínica.

232

The role of high von Willebrand factor and low adamts-13 levels in the risk of venous thromboembolism - a case-control study

Gouvea CP¹, Matsuda SS¹, Vaez R¹, Pinheiro PN¹, Noguti MA¹, Lourenco DM¹, Morelli VM¹

¹Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Departamento de Oncologia Clínica e Experimental, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

Background: Venous thromboembolism (VTE) is a common multi-causal disease in the population. von Willebrand factor (VWF) has been associated with VTE in prospective cohort and shown to be critical for deep vein thrombosis (DVT) in mouse models. Large VWF multimers are cleaved by ADAMTS-13 into less active species. Due to the relation of VWF with ADAMTS-13 and with factor VIII (FVIII), it would be interesting to study their effect on VTE risk. Thus far, a single study has shown increased VWF and ADAMTS-13 in VTE. **Aim:** To investigate the effect of VWF, ADAMTS-13 and FVIII on VTE risk. **Methods:** We included consecutive patients admitted to our anticoagulation clinic with a first objectively confirmed event of DVT of the lower limbs and/or pulmonary embolism between January 2007-July 2011. We excluded patients with VTE at unusual sites, < 18 or > 70 years and with overt cancer, arterial thrombosis, liver or renal failure and inflammatory disease. Blood was collected at least 1 month after stopping anticoagulation and ≥ 6 months after the event. Pregnant or postpartum women at collection were excluded. Controls were recruited from friends or partners of patients, had no VTE history and were matched to patients by gender and age. The exclusion criteria for controls were the same as for patients. ADAMTS-13 and VWF antigens were measured by commercial ELISA. High levels of VWF (>150%) and FVIII (>150%) were dichotomized at the 88th and 94th percentiles, respectively, and low ADAMTS-13 levels (≤0.64 µg/ml) at the 10th percentile of the controls. Odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) were adjusted for gender and age. **Results:** Among the 358 admitted patients, 282 were not enrolled due to the exclusion criteria (n=249) and loss of follow-up or refusal (n=33). We included 76 patients (70% women) with a median age of 43 years and 96 controls (69% women) with a median age of 42 years. In controls, ADAMTS-13 levels correlated negatively with VWF (rs=-0.213, p=0.037) and FVIII (rs=-0.251, p=0.014). VTE was associated with high levels of VWF (OR 2.80, 95%CI 1.20-6.54) and FVIII (OR 3.02, 95%CI 1.08-8.43). Low ADAMTS-13 levels were detected in 12 patients and 9 controls (OR 1.76, 95%CI 0.70-4.46). When we dichotomized the population according to the 88th percentile of VWF of the controls, median ADAMTS-13 was lower in the group with VWF >p88 compared to the group with VWF ≤p88: in controls (0.80µg/ml vs . 0.98µg/ml, p=0.051) and notably in patients (0.75µg/ml vs . 0.95µg/

ml, p=0.001). The combination of high VWF and low ADAMTS-13 increased VTE risk when compared to the reference category (VWF ≤p88 and ADAMTS-13 >p10), with an OR of 4.14 (95%CI 1.03-16.71), that did not substantially change with adjustment for acute phase proteins and ABO group but was attenuated when further adjusted for high FVIII (OR 3.41, 95%CI 0.80-14.70). No correlation was seen between the time since VTE event and VWF, FVIII and ADAMTS-13 levels. **Conclusion:** To the best of our knowledge this is the first study that shows that having both high VWF and low ADAMTS-13 could increase VTE risk. An unbalance between these proteins might have a role in VTE pathophysiology. Results should be interpreted with caution due to the wide 95%CI and the attenuation of VTE risk when adjusted for FVIII. Studies with larger sample size are needed.

233

Anticoagulação como preparo para ablação em paciente com DvW tipo 1

Prezotti AL¹, Marcondes SS¹, Duarte JM¹, Barcelos M¹, Orletti MD¹, Stelzer D¹, Montezi L¹, Belisario V¹

¹Hemocentro do Espírito santo -Hemoes

G.E. P. sexo feminino, DN: 24/06/1983, com antecedentes de cirurgia de Comunicação Inter Atrial (CIA), aos 9 meses de idade. Procurou o HEMOES por apresentar quadro de hipermenorragia, gengivorragia, sangramento aumentado em parto e extrações dentárias em 2003, quando foi feito o diagnóstico de DvW tipo I (FvW 9,8%; FVIII 6%; TTPA: R 1,49). A hipermenorragia não foi controlada com Ac. Tranexâmico, na dose de 15mg/Kg/dose (1g 8/8h), e nem com contraceptivos orais. Como era responsiva ao DDAVP, optamos por fazer DDAVP subcutâneo (SC) na dose de 15 mcg no 1º dia da menstruação, com bom controle do fluxo. Em março de 2013 apresentou taquicardia importante e síncope. Foi confirmado o diagnóstico de flutter de alta resposta com indicação de ablação e anticoagulação. Mesmo com risco de sangramento, optamos por fazer a anticoagulação com warfarina. Iniciamos DDAVP SC 15mcg, 2x/semana como objetivo de elevar o Fator VIII para níveis acima de 40%, a fim de prevenir hemorragias. Em 19/04/13, iniciamos a anticoagulação com warfarina na dose de 2,5 mg/dia, com controle de RNI 2x/semana, com ajustes de doses para atingir o nível terapêutico do RNI de 2-3, e este foi alcançado na segunda semana de anticoagulação. Em 07/05/13, como os níveis do fator VIII ficaram entre 23,2% -29,9% optamos pelo aumento da infusão do DDAVP SC 15mcg para 3 x/semana, contudo não houve o aumento esperado nível do fator VIII, que ficou em 26,3%. A paciente então menstruou no mês de maio e ficou 15 dias com hipermenorragia, motivo pelo qual trocamos o DDAVP por Fator VIII rico em fator de Von Willebrand, na dose de 20 UI/kg para ser feito 2x/semana. O nível do fator VIII após a troca de tratamento foi de 42,6% e o RNI manteve-se entre 2-3. No dia 02/07, a paciente já estava há 2 meses devidamente anticoagulada e foi submetida à ablação com sucesso (RNI: 2,63; FVIII: 67%). Neste dia foi feito heparina EV, na dose de ataque de 2500 UI e depois 1000 UI. A paciente retirou o introdutor 6 horas após o procedimento, sem intercorrências. Foi reiniciado a warfarina após 24 horas. Na indução anestésica foi feita a reposição do Fator VIII/FvW na dose de 50 UI/kg. Após 24 horas do procedimento, os exames indicaram: RNI: 2,52 e FVIII:123,6%, não sendo administrado Fator VIII/FvW neste dia. Após 48 horas, o Fator VIII foi de 109%, não sendo necessária a sua reposição. No terceiro dia pós operatório foram feitas 20UI/kg do Fator VIII/FvW antes da liberação da paciente e foi mantido o esquema inicial de Fator VIII/FvW- 20UI/kg 2 x/semana, já que a paciente deveria permanecer anticoagulada por 1 a 2 meses. As dosagens controle do fator VIII e RNI foram feitas semanalmente, até a suspensão da anticoagulação. A paciente suspenderá a anticoagulação em 10/08/13, após a realização do holter se não apresentar arritmia. (O ECG se mantém em ritmo sinusal desde a ablação). O objetivo deste trabalho é mostrar que pode-se anticoagular um paciente com Doença de von

Willebrand sem complicações hemorrágicas maiores, desde que o fator VIII esteja em torno de 30% e que o monitoramento seja criterioso, com ajustes de dose sempre que necessário, para que o RNI não fique acima do nível terapêutico e aumente o risco hemorrágico.

234

Análise da prevalência dos fatores associados à trombose em pacientes do serviço de hematologia de um hospital universitário do estado do Ceará

Campelo CP¹, Ximenes AC¹, Rocha AG¹, Brito CM¹, Aguiar LL¹, Segundo NS¹, Rocha HD¹, Rodrigues MA^{2,3}, Ribeiro RA^{2,3}, Neto GC^{1,2,3}

¹Universidade de Fortaleza

²Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará

³Universidade Federal do Ceará

Introdução: Fatores genéticos e ambientais, adquiridos, são responsáveis pelo desenvolvimento de tromboembolismo. Fatores de risco ambiental contribuem para o desenvolvimento e a propagação do trombo venoso por aumentar a coagulabilidade, o dano endotelial e/ou estase venosa. Há fatores adquiridos clássicos para TEV, que incluem idade avançada, imobilização prolongada, cirurgias, fraturas, uso de contraceptivos orais, gestação, puerpério, neoplasias e a síndrome do anticorpo antifosfolípide (SAAF). **Objetivo:** Análise da prevalência dos fatores ambientais pró-trombóticos nos pacientes com tromboembolismo venoso (TEV) em um serviço de hematologia de um hospital universitário do estado do Ceará. **Métodos:** Foi realizado estudo retrospectivo, descritivo e quantitativo de análise de prontuários de 210 pacientes atendidos, entre 2010 a 2012, em um serviço de hematologia do Hospital Universitário da Universidade Federal do Ceará. Foram utilizados dados dos prontuários relativos à anamnese e exames físico e laboratorial. Para a análise estatística de dados, utilizou-se o programa Excel (pacote Office Windows 2007). **Resultados e Discussão:** Foram analisados 210 indivíduos com diagnóstico de TVP e/ou TEP, destes 157 (74,7%) pacientes apresentavam trombofilias secundárias, associadas a algum fator ambiental: 26,7% gestação/puerpério, 19,7% anticoncepcionais hormonais, 15,9% tabagismo, 14,6% etilismo, 12,1% cirurgias, 3,8% outros (cateter central, trauma, etc.) e 1,27% obesidade. Dos prontuários analisados vimos que 71 % dos pacientes apresentavam pelo menos um fator associado, sendo 49% com 1 fator, 18,4% com 2 fatores e 3,1 % com 3 ou mais fatores. As trombofilias secundárias foram mais prevalentes no sexo feminino com 133 pacientes, 84,8 %, em detrimento do sexo masculino com apenas 15,2%. Dentre os fatores associados a estas trombofilias nos homens, encontramos em ordem decrescente de prevalência: etilismo (41,6 %), tabagismo (37,5%), outros (12,5%) e cirurgias prévias (8,3%). Entre as mulheres os principais fatores que contribuíram para a trombose foram gestação/puerpério(31,6%), anticoncepcionais hormonais(23,3 %), cirurgias prévias(12,7%), tabagismo (12,3 %), etilismo (9,7%), outros (2,2%) e obesidade(1,5%). **Conclusão:** Os resultados deste estudo mostraram um maior número de pacientes do sexo feminino apresentando eventos trombóticos, concordando com a literatura, que nos mostra uma maior suscetibilidade das mulheres, justificada por alguns autores pelos fatores de risco aumentados, como o uso de contraceptivos orais e alterações nas proteínas do sistema anticoagulante em gestantes. Nos homens os principais fatores observados foram o etilismo e o tabagismo, estes resultados corroboram achados da literatura que mostram que o uso do tabaco está associado à ocorrência de trombose devido à presença de produtos encontrados no cigarro, como a nicotina, que induzem o estado pró-trombótico. Em relação ao uso do álcool ainda há divergência na literatura, pois alguns estudos mostram efeito protetor do álcool quando usado em doses moderadas, enquanto outros associam o uso a eventos trombóticos. Com base nos dados obtidos podemos estimular a prevenção de novos eventos trombóticos por meio do combate aos fatores de risco modificáveis.

235

Trombofilia – dados estatísticos de clínica na Grande São Paulo

Vasconcelos LY¹, Schnabl S¹, Russo R², Bassitt RP², Borducchi DM^{1,2}

¹Faculdade de Medicina do Abc

²Central Clinic

Introdução: A trombofilia é uma entidade que engloba a fisiologia hemostática, com alteração nos mecanismos da coagulação, predispondo os indivíduos acometidos a eventos tromboembólicos. Tais eventos, quando recorrentes, são denominados de trombofilia, que pode ser caracterizada como hereditária ou adquirida. **Objetivo:** Avaliar dados epidemiológicos, antecedentes familiares e ocorrência de evento tromboembólico em pacientes assistidos em serviço hematológico privado na região do Grande ABC. **Métodos:** Foram revisados 113 prontuários através do programa estatístico STATA 12.0, observando-se sexo, data de nascimento, ocorrência de trombose, local e idade do primeiro evento, antecedente familiar de tromboembolismo e comorbidades associadas à trombose. **Resultados:** No levantamento realizado, houve predominância do sexo feminino correspondendo a 81% dos pacientes. A idade média de ocorrência do primeiro episódio foi de 35,6 anos e 44 pacientes (38,9%) apresentavam fatores de risco para trombose. Dentre tais pacientes, 17 (15%) foram avaliados por possuir histórico familiar ou fatores de risco, mas não apresentavam passado trombótico. Outros 63 (55,7%) indivíduos tiveram trombose venosa, 14 (12,4%) evento arterial, 10 (0,9%) evoluíram com aborto, 8 (0,7%) tromboflebite e 1 sofreu acidente vascular cerebral. Com relação às patologias, 70 pacientes tinham positividade para anticorpo anticardiolipina, 18 casos de mutação do fator V de Leiden, 9 casos de deficiência de proteína S, 8 pacientes com deficiência de antitrombina III, 7 indivíduos com mutação da metilenetetrahidrofolato redutase, 6 pessoas com mutação do gene da protrombina G20210A, além de 5 casos de resistência a Proteína C ativada, 5 pacientes com anticoagulante lúpico positivo e dois com deficiência de proteína C. **Conclusão:** Os dados obtidos indicam que a principal causa de trombofilia é a secundária e, dentre as trombofilias hereditárias, a mais comum é a presença do Fator V de Leiden, em concordância com a literatura. Também, pode-se inferir sobre a importância dos fatores de risco mostrando-se tratar de um evento de causa multifatorial.

236

Polymorphism in thrombin-activable fibrinolysis inhibitor and plasminogen activator inhibitor type 1 in women with primary recurrent pregnancy loss

Bertinato JF¹, Morelli VM², Wataru GG¹, Filho AG³, Carvalho MH³, Zugaib M³, Shinohara EM¹

¹Department of Clinical and Toxicological Analyses – FCF, Universidade de São Paulo – USP, SP

²Hematology and Hemotherapy Service, Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, SP

³Departament of Obstetrics and Gynecology, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FM-USP, SP

Background: Recurrent pregnancy loss (RPL) is defined as three or more consecutive spontaneous abortions prior to the 20th week. RPL is a multifactorial condition that could be influenced by several factors, including haemostasis disorders. Indeed, pregnancy is characterised by a hypercoagulable state in which levels of some coagulation factors and fibrinolytic inhibitors are increased, whereas levels of the natural anticoagulant free protein S are decreased. Therefore, an unbalance in the fibrinolytic system might be involved in the pathophysiology of

RPL. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) and thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) are two fundamental inhibitors of fibrinolysis, whose levels could be influenced by genetic polymorphisms. **Aim:** To investigate the frequencies of polymorphisms in PAI-1 (*SERPINE1* 4G/5G) and TAFI (*CPB2* c.505G>A) in women with primary RPL and in healthy women. **Methods:** We included 116 unrelated non-pregnant women with three or more consecutive losses prior to 20th week of pregnancy without carrying a fetus to viability (primary RPL), who were evaluated in the Prenatal Care Unit at the Hospital of the University of São Paulo (PC-HUSP). The control group was comprised of 263 unrelated healthy fertile women who were users of Public Health Service or employees of the University of São Paulo, who had at least two term deliveries and no known pregnancy losses as well as known medical history of thrombosis, diabetes, hypertension, cancer and autoimmune disorders. Both cases and controls were from the general urban population of São Paulo City. The genotypes for *CPB2* c.505G>A polymorphism were performed by Real Time PCR, and genotypes for *SERPINE1* 4G/5G polymorphism were performed by RFLP-PCR. The effect of these polymorphism on RPL risk was assessed by calculating Odds ratios (OR) and their 95% confidence intervals (CI) by logistic regression. **Results and Conclusion:** The genotype distribution of both polymorphisms was in Hardy-Weinberg equilibrium in cases and controls ($p>0.05$). The genotype and allele frequencies for *SERPINE1* 4G/5G and *CPB2* c.505G>A polymorphisms were similar in both groups ($p>0.050$). For *SERPINE1* 4G/5G polymorphism, 70 cases (60.4%) and 152 controls (57.8%) were carriers of the 4G allele, yielding an OR of RPL of 1.11 (95% CI: 0.71 - 1.74, $p=0.642$) (genotype 5G5G vs. 4G5G + 4G4G). For *CPB2* c.505G>A polymorphism, 64 cases (55.2%) and 153 controls (58.2%) were carriers of the A allele, yielding an OR of RPL of 0.88 (95% CI: 0.57 - 1.37, $p=0.586$) (genotype GG vs. GA + AA). Furthermore, similar frequencies of minor allele were found in groups when the number of losses was considered in RPL group (women with four or more RPL vs. women with three, $p>0.05$) and when the period of pregnancy loss was considered (women with early losses vs. women with late losses, $p>0.05$). Our data suggest that polymorphism in *SERPINE1* and *CPB2* are not associated with a risk of having RPL. Financial Support: FAPESP (Proc 2007/57605-0), CAPES.

237

Trombose venosa cerebral e hipertireoidismo: relato de caso e revisão de literatura

Nogueira DS¹, Bairral BQ¹, Pinheiro PN¹, Vaez R¹, Gouvea CP¹, Lourenco DM¹, Morelli VM¹

¹Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Departamento de Oncologia Clínica e Experimental, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

Introdução: Trombose venosa cerebral (TVC) é uma doença rara com algumas diferenças em relação à trombose venosa localizada em outros sítios, incluindo maior frequência em mulheres jovens usuárias de contraceptivo oral (CO). A busca de novos fatores de risco associados à TVC é de fundamental importância para melhor compreensão de sua fisiopatologia. Dados da literatura têm apontado para uma eventual associação entre hipertireoidismo e TVC. Os autores têm como objetivo relatar caso de TVC associado à doença de Graves na UNIFESP. **Relato de Caso:** Mulher, 19 anos, admitida no Hospital São Paulo/UNIFESP com quadro de parestesia em membro superior direito (MSD), febre (38°C) e edema em região cervical posterior há 4 dias da admissão, evoluindo com déficit de força muscular e de sensibilidade progressivos, afasia e perda de sensibilidade em hemiface direita. Antecedentes pessoais: previamente hígida referindo, entretanto, tremores finos de extremidades há cerca de 1 ano antes da admissão. Nuligesta, nunca usou CO. Ao exame físico encontrava-se levemente hipertensa (PA = 157 x 80mmHg), taquicárdica (135 bpm), com ritmo cardíaco irregular, força muscular diminuída

em ambas as extremidades e em MSD, reflexos grau III à direita com desvio da comissura labial para direita e Hoffman à direita. Notava-se tireoide aumentada com bócio visível. Laboratório: T4L= 5,8ng/dL (referência: 0,58-1,64), TSH= 0,060mUI/mL (referência: 0,34 - 5,6) e anticorpos anti-tireoglobulina: 104 UI/mL (referência <40). Ultrassom (US) de tireoide: aumento difuso e heterogêneo. Tomografia e angiorressonância de crânio mostraram trombose em seio sagital superior e seios transversos e sigmoides esquerdos, oclusão de ramos da artéria cerebral média esquerda e ramos frontais da artéria cerebral média direita. Punção lombar com análise do líquido normal. Ecocardiograma e US de carótidas normais, Eletrocardiogramas sequenciais revelaram ritmo cardíaco sinusal. Frente aos diagnósticos de TVC e acidente vascular cerebral (AVC), além de doença de Graves em crise tireotóxica, iniciou-se tratamento com heparina de baixo peso molecular, tapazol, prednisona, iodoterapia e beta bloqueador. A paciente progrediu com hipertensão intracraniana grave com necessidade de craniotomia descompressiva após 12 dias da admissão. Após 85 dias da admissão, recebeu alta em uso de warfarina e mantendo afasia de expressão. Na investigação de trombofilia, apresentava fator V Leiden e mutação G20210A do gene da protrombina negativos. **Discussão:** O relato trata de paciente jovem, não usuária de CO, com histórias pessoal e familiar negativas para trombose venosa e cuja única comorbidade identificada foi o hipertireoidismo. Embora a avaliação cardiovascular tenha sido normal, não é possível descartar origem cardioembólica para o AVC, em função do achado de ritmo cardíaco irregular à admissão. Com relação à associação entre TVC e tireotoxicose, dados da literatura apontam para um desequilíbrio da homeostasia durante a crise tireotóxica, caracterizado pela exacerbação da coagulação e hipofibrinólise, com elevação dos níveis de fatores VIII e IX, fibrinogênio, fator de von Willebrand e do inibidor do plasminogênio tipo-1. Considerando o conjunto de ações sobre a homeostasia, o hipertireoidismo poderia comportar-se como potencial fator de risco para a trombose venosa, incluindo a cerebral.

238

Deficiência adquirida de proteína S em um paciente com necrose cutânea e galmopatia monoclonal

Prezotti A¹, Colela M², Orletti M¹, Duarte JM¹, Paula E², Marcondes SS¹, Barcelos MS¹, Barcelos MS¹

¹Hemocentro do Espírito Santo-HEMOES

²Unicamp

Paciente MRSO, 41 anos, pardo, previamente hígido, portador de traço falciforme. Em Jan/2010 apresentou trombose venosa profunda (TVP) em membro inferior esquerdo (MIE), tendo realizado tratamento por 8 meses com warfarina, sem intercorrências. Em Jul/2011 apresentou novo quadro de TVP em membro inferior direito (MID), confirmado por US Doppler de MID mostrando TVP de veia gastrocnêmica e poplítea após viagem de carro e reiniciou com a warfarina e 4 dias depois apresentou necrose cutânea, e a biópsia da lesão que mostrou necrose cutânea induzida pela warfarina. Suspensa essa medicação e iniciado tratamento com enoxaparina 1mg/Kg de 12/12h (peso do paciente 80Kg). Encaminhado para investigação no HEMOES em janeiro de 2012. Apresentava dosagem de Proteína C 81%, Proteína S 15% (70 a 123%); Doppler na ocasião de MID sem evidência de TVP ou refluxo. Optado por reduzir dose da enoxaparina para 1mg/kg/dia em 28/02/12. Apresentou quadro de orquite, que melhorou espontaneamente, apenas com uso de analgesia. Em Jun/12 mantinha a enoxaparina 1mg/kg/dia e as lesões necróticas em pele, ainda em fase de cicatrização. Em Jul/12 voltou a apresentar novas áreas de necrose cutânea, não associadas ao uso da warfarina. Solicitada nova biópsia de pele, porém não foi realizada. Aumentada a dose de enoxaparina para 1mg/Kg de 12/12h, solicitado avaliação reumatológica e exame para descartar síndrome antifosfolípide. Mesmo em uso de enoxaparina 1mg/Kg de 12/12h (80mg 2x/dia), o paciente apresentava novas lesões de pele e foi aumentada a dose de enoxaparina para 100mg +

80mg/dia, desta vez alcançando controle do quadro, sem surgimento de novas lesões. Exames realizados em Out/12 mostraram pico monoclonal na fração gama (3,8g/dL) da eletroforese de proteínas séricas (EFPs). Dosagem de IgA e IgM normais, IgG 3766mg/dL (VR: 700-1600), FAN e fator reumatoide negativos e perfil de SAAf negativo. O paciente começou a apresentar anemia e foi feito mielograma e imunofenotipagem que não evidenciaram aumento de plasmócitos. Realizados exames para diagnóstico de mieloma múltiplo e apenas a imunofixação sérica revelou presença de proteína monoclonal, IGG lamda e cadeia leve isolada. O paciente tinha VHS de 105mm, complementos normais e P-ANCA e C-ANCA negativos. No dia do mielograma, devida à suspensão da enoxaparina por 24 horas M apresentou necrose extensa da pele, que reverteu parcialmente com a injeção de enoxaparina. Realizado o teste de coombs direto que foi positivo, explicando a anemia do paciente (Hb 9,6g/dl). Pesquisado doença linfoproliferativa e as tomografias não evidenciaram linfonodomegalias. Realizada dosagens de proteína S dos pais do paciente, que vieram sem alterações. Frente a esses achados foram feitas hipóteses de deficiência adquirida de proteína S + anemia + gamopatia a esclarecer. Em Jun/13, o paciente evoluiu com normalização da hemoglobina, sendo iniciada a retirada do corticóide e a redução da dose da enoxaparina. Vem evoluindo bem, sem queixas novas, com todas as lesões cutâneas cicatrizadas e sem anemia. O objetivo deste caso é descrever a deficiência de Proteína S adquirida, associada à gamopatia monoclonal, de significado indeterminado como prováveis etiologias para o quadro de necrose cutânea de difícil controle. Além disso, o paciente tem uma doença autoimune, que pode ser a responsável pela deficiência da Proteína S

HEMATOPOESE E CÉLULAS TRONCO

239

Investigação das representações sociais de pacientes, seus familiares e de líderes de associações de pacientes acerca das pesquisas clínicas com células-tronco no Brasil

Sena LB¹, Sá NM¹

¹Universidade de Brasília

Introdução: O campo das ciências biomédicas tem sido marcado por constantes inovações, como o uso de células-tronco (CT), as quais tem transformado a maneira como o ser humano enxerga a vida, tanto do ponto de vista social, como em relação aos valores morais. As CT são capazes de se diferenciarem em células adultas de tecidos-específicos, podendo regenerar tecidos lesados, sendo vistas como potenciais ferramentas terapêuticas em doenças que até o momento não possuem tratamento e/ou cura. Por esse motivo, há massiva divulgação do potencial terapêutico das CT nas diversas modalidades midiáticas, que na maioria das vezes associam o uso de CT com a ideia de "esperança". Nesse contexto, faz-se importante verificar as representações sociais a respeito do uso de CT em pesquisas entre os pacientes, familiares e líderes de associação de pacientes, uma vez que, esse grupo, em tese, tem interesse direto nos resultados obtidos nesses estudos. **Métodos:** Foi realizado estudo qualitativo, com entrevistas com pacientes, familiares e líderes de entidades de portadores de patologias residentes no Distrito Federal no período de janeiro a maio de 2013. A amostragem se deu por conveniência. As entrevistas semipadronizadas foram realizadas por meio de aplicação de roteiro de entrevista aberto e com questões confrontativas. A participação no estudo deu-se de forma voluntária e por meio de aplicação de termo de consentimento livre e esclarecido aos entrevistados. **Resultados e Discussão:** Foi possível perceber que nem sempre os pacientes, familiares e líderes de associação de pacientes possuem um conhecimento biológico mais aprofundado do que

sejam as células-tronco. Apesar da grande expectativa de alívio dos sintomas e cura de doenças que foi gerada pelas pesquisas com células-tronco, evidenciou-se também a preocupação dos pacientes com a real eficácia dos estudos e sucesso terapêutico comprovado. Observou-se que em relação às questões éticas e religiosas envolvidas no uso das células-tronco não haver, por parte dos entrevistados, problemas que os impedissem de fazer uso dessa terapia. Outro ponto importante que foi levantado neste estudo é a necessidade que os entrevistados têm em ver as suas opiniões levadas em consideração, quando se trata do uso de células-tronco em pesquisas e tratamentos de enfermidades. A opinião desse grupo de pessoas nem sempre é levada em consideração, ficando evidente apenas a opinião de grupos religiosos, políticos e de cientistas/profissionais de saúde, quando na verdade, um dos grupos mais interessados no sucesso das pesquisas são, de fato, aqueles que convivem diariamente com doenças até então incuráveis. **Conclusão:** A análise da representação social acerca do uso de células-tronco é um assunto que deve ser abordado a partir do ponto de vista de múltiplos grupos sociais, como o de pacientes, cientistas, políticos e religiosos. Existe a necessidade de maiores discussões a respeito das questões éticas envolvidas no uso dessas células que levem em consideração o ponto de vista de todos esses grupos, para que se cheguem às conclusões mais concretas do ponto de vista ético.

240

Derivation of mouse embryonic stem cells by inhibition of glycogen synthase kinase-3 and selective combined RHO kinase inhibitor

Galuppo AG¹, Corrêa GG¹, Chagastelles PC¹, Oliveira RL^{1,2}, Calderaro PC¹, Franke P^{2,3,4}

¹Stem Cell Laboratory, Fundamental Health Science Institute, Federal University of Rio Grande do Sul; Porto Alegre, RS, Brazil

²Post Graduate Program in Physiology, Federal University of Rio Grande do Sul; Porto Alegre, RS, Brazil

³Hematology and Stem Cell Laboratory, Faculty of Pharmacy, Federal University of Rio Grande do Sul; Porto Alegre, RS, Brazil

⁴Stem Cell Research Institute; Porto Alegre, RS, Brazil

Mouse embryonic stem cell (mESC) lines are established from the inner cell mass of preimplantation blastocysts. The efficiency of mESC derivation is affected by the genetic variation in mice. Some strains, such as C57BL/6, are amenable to mESC derivation, whereas others, such as BALB/c, are refractory. Developing an efficient method to establish mESCs from strains of various genetic backgrounds is important for derivation of ESCs in different mammalian species, including human. The association of inhibitors of different signaling pathways is a great strategy to improve the success rate of the mESC derivation. The aim of this study has been to evaluate the impact of the combination of 6-bromoindirubin-3-oxime (BIO), a glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) inhibitor and Y-27632, a Rho kinase inhibitor, in the success rate of the mESC derivation process. For embryo production, four to eight week old C57BL/6 and Balb/C female mice were super ovulated by injection of eCG (10 IU) and 46 to 48 hours later, hCG (10 IU) (intraperitoneally). Following the hCG injection, the females were caged 2:1 with fertile males overnight. The embryo collection was performed at 4.5 dpc and cultured in DMEM high glucose supplemented with 10% fetal calf serum, 50 IU/mL penicillin and 50 µg/mL streptomycin, recombinant murine leukemia inhibitory factor (LIF - 1,000 IU/ml), 1 mM sodium pyruvate, 2 mM L-glutamine, 0.1 mM β-mercaptoethanol and 0.1 mM non-essential amino acids. The BIO (5 µM) supplementation was performed after embryo adhesion to the plate until the fourth passage. The Y-27632 (10 µM) supplementation was performed 3 h before each passage and added to the culture medium, immediately after each passage. The embryos were kept at 37°C in a humidified atmosphere of 5% CO₂. The following tests were used for mESC characterization: alkaline phosphatase activity, chromosome counting,

Oct-4 and Sox-2 immunostaining, embryoid body formation assay followed by nestin and Sox-17 immunostaining. The approach used in this study enabled the derivation of one mESC line derived from one C57Bl/6 embryo. For the C57Bl/6 group (n=30 embryos cultured), 33.34% (n=10) were able to attach onto the plate after 48h and all embryos were submitted to the first and second passages. From the ten cultured embryos, one cell line was derived (10%). For the Balb/C group (n=33 embryos cultured), 21.21% (n=7) attached onto the plate after 48h culture and 3 (42.86%) embryos were submitted to the first passage. It was not possible to derive a cell line from the Balb/C mice embryos. The mESC line obtained presented 2n of 40 chromosomes for 72.5% (29/40 cells 2n=40 counted). The mESC line was positive for alkaline phosphatase activity, Oct-4 and Sox-2. After the embryoid body formation assay, the cells tested positive for nestin (ectoderm) and Sox-17 (endoderm) markers. The development of an efficient method to establish mESCs from different mice strains would be of value for derivation of ES cells in various inbred mouse strains. However, using the inhibition of two different pathways during the ESC derivation process is potentially applicable in various mammalian species, including humans. Financial Support: CNPq, CAPES, FAPERGS and Stem Cell Research Institute.

241

Comparação dos resultados dos hemogramas emitidos pelo aparelho automatizado com a microscopia

Arruda AB¹, Goncalves RP¹, Souza IP¹, Castro MF¹, Viana NA¹, Praciano JB¹, Silva JS¹, Silva KL¹, Maldonado KK¹, Leorne LN¹

¹Universidade Federal do Ceará

O hemograma constitui um dos exames laboratoriais mais solicitados na clínica, devido à grande quantidade de informações que fornece, pela facilidade e custo relativamente baixos de sua realização. Hoje, o hemograma é realizado por meio de aparelhos automatizados. Apesar de a tecnologia eletrônica propiciar resultados confiáveis e análises de alta qualidade, tais aparelhos não são capazes de identificar algumas alterações hematológicas, que podem ser clinicamente significativas ou biologicamente relevantes, sendo necessária a análise por microscopia óptica. O presente trabalho teve por objetivo realizar uma comparação entre os laudos feitos através da microscopia óptica e pela automação realizada através do analisador automático CellDyn 3700 AbbottTM. Foram utilizadas 120 lâminas de distensão sanguínea de indivíduos saudáveis, com leucemia e com infecções viróticas e bacterianas, pertencentes ao laminário do Laboratório de Hematologia da Universidade Federal do Ceará. Foi realizada a contagem diferencial (relativa e absoluta) e avaliada a morfologia das hemácias, leucócitos e plaquetas de todas essas lâminas através da microscopia, utilizando o microscópio óptico Olympus[®]CX31. De posse dos resultados obtidos pela microscopia e dos laudos emitidos pelo equipamento, foi realizada a análise entre os resultados de ambas as técnicas. Os dados foram avaliados por meio dos programas SPSS versão 19 e RGui 3.0.0 e o teste estatístico de Wilcoxon. Os resultados mostraram que os neutrófilos, segmentados, eosinófilos e linfócitos obtiveram resultados semelhantes tanto na contagem diferencial relativa quanto absoluta entre ambas as técnicas. Os bastões apresentaram contagem superior significativa na microscopia, enquanto que os basófilos foram significativamente superiores na automação e os monócitos se mostraram equivalentes entre as duas técnicas em relação à contagem relativa. No tocante à contagem absoluta, monócitos e bastões mostraram contagens superiores na microscopia enquanto que os basófilos apresentaram contagem superior na automação. Em relação à morfologia das hemácias, leucócitos e plaquetas, a microscopia mostrou-se superior à automação por detectar alterações que foram imperceptíveis ao equipamento automatizado ou que se mostraram numericamente inferiores neste último. Apesar da proximidade dos resultados das duas técnicas em relação à contagem diferencial, a avaliação por microscopia ainda

é indispensável, especialmente na detecção de anormalidades morfológicas que podem ser subestimadas pelos analisadores automáticos, a fim de se garantir a qualidade dos resultados. Concluímos que todas as lâminas devem ser analisadas pela microscopia óptica independente do resultado fornecido pelo equipamento hematológico.

242

Determinação de padrões cito-hematológicos da medula óssea do primata *Cebus apella* ssp de uso em modelos experimentais

Avelino ME¹, Feio DC¹, Imbeloni AA², Muniz JA², Britojunior LC¹

¹Laboratório de Patologia Geral – Imunopatologia e Citologia/ Universidade Federal do Pará

²Centro Nacional de Primatas/ Instituto Evandro Chagas/Ministério da Saúde

Introdução: O uso de modelos experimentais com macacos prego (*Cebus apella*), embora pouco frequentes, oferece subsídios indispensáveis para o entendimento da fisiopatologia de diversas doenças de interesse humano como a tuberculose, doença de Chagas, distúrbios nutricionais, doenças neurodegenerativas e neoplasias. **Objetivo:** Caracterizar quanti e qualitativamente as células da medula óssea do *Cebus apella*, como forma de estabelecer limites de aceitação para estudos hematológicos. **Métodos:** Foram estudados 03 animais, *Cebus apella*, adultos, saudáveis, com peso entre 2,5 e 4,5 Kg, provenientes do Centro Nacional de Primatas/IEC/MS. Todos capturados em puçá para contenção física e química (protocolo anestesico do CENP), registro do código de identificação, peso e sexo; e punção aspirativa de 1mL da medula óssea da tíbia esquerda de cada animal. Confecção dos esfregaços e coloração pelo método de May-Grunwald[®]. Com contagem diferencial e específica de 500 células/lâmina pelo método duplo-cego. **Resultados:** Não foram observadas diferenças estatísticas na análise quantitativa entre as séries granulocítica, eritrocítica e megacariocítica de humanos e *Cebus apella*. O mesmo acontecendo com a análise qualitativa das células hematológicas da medula óssea. **Conclusão:** O uso frequente de *Cebus apella* em estudos experimentais no Brasil com drogas de efeito carcinogênico ou citotóxico reforçam a necessidade de estudos sobre as características da medula óssea destes animais, assim, os resultados deste estudo servem de apoio para embasar futuras pesquisas nestas áreas.

243

Differential effects of nitrostyrene derivatives on myelopoiesis

Calgarotto AK¹, Bartels M², Martens A¹, Maso V¹, Ramos AL¹, Silva SL¹, Mb B², Saad ST¹, Queiroz ML¹

¹Universidade Estadual de Campinas

²University of Utrecht

Background: Bone marrow failure syndromes and MDS represent a heterogeneous group of diseases, characterized by ineffective myelopoiesis, the risk of clonal evolution and a generally poor response to chemotherapy-based treatment regimen. Nitrostyrene derivatives have been studied as protein phosphatase (PP2A) inhibitors in various tumor models. Pharmacological studies have identified nitrostyrene as the structural core underlying a pro-apoptotic effect in tumor cells, yet their effects on normal cells, including those of the hematopoietic system, are largely unknown. In this study, utilizing cord blood-derived myeloid progenitor cells and a murine model; we investigated the effects of treatment with two nitrostyrene derivatives (NTS1 and NTS2) on myeloid development. **Methods:** In this study, we utilized an ex-vivo myeloid differentiation system. CD34+

cells were isolated from human umbilical cord blood and plated to differentiate towards neutrophils in 17 days upon addition of cytokines cocktail. The nitrostyrene compounds NTS1 and NTS2 (0.5-5.0 μ M) were added to the fresh medium every 3 days. Myeloid progenitor cells were analyzed by flow cytometry at days 3, 7 and 10. Western blot analysis and histochemical staining of hematopoietic cells was performed at day 7 and 17 respectively. To further evaluate the effects of NTS1 and NTS2 on differentiation and lineage choice, we performed CFU-assays with specific cytokine combinations. In the mouse model, BALB/c mice were treated intraperitoneally with 150mg/kg 5-FU at day 0. Mice were treated intraperitoneally with 1mg/kg of NTS1 or NTS2 once a week until day 21 after 5-FU treatment. After 2, 5, 9, 15 and 21 days, mice were sacrificed and bone marrow mononuclear cells were isolated. **Results and Conclusion:** We demonstrate that NTS1 and NTS2 stimulate the expansion and differentiation of myeloid progenitors *in vitro* and dramatically improve myeloid reconstitution after chemotherapy-induced bone marrow depletion *in vivo*. These effects were accompanied by increased C/EBP α expression and reduced C/EBP α phosphorylation, which can at least in part be explained by inhibition of p38MAPK activity. Together, our data suggest that nitrostyrenes improve myelopoiesis and represent potential new treatment strategies for patients suffering from bone marrow failure syndromes and hypocellular MDS.

244

Ação de compostos derivados de nitroestireno sob a resposta linfóide esplênica de animais portadores de tumor ascítico de Ehrlich

Calgarotto AK¹, Maso V¹, Rocha MC¹, Vecina JF¹, Ramos AL¹, Silva SL¹, Saad ST¹, Queiroz ML¹

¹Universidade Estadual de Campinas

Introdução: Um alvo atraente para a pesquisa quimioterápica é o desenvolvimento de novas substâncias dotadas de alta seletividade as células neoplásicas em associação a uma maior atividade e espectro de ação. Uma estratégia é a síntese de substâncias de baixa toxicidade e com potencial farmacológico para modificar a resposta das células imunocompetentes. Derivados do nitroestireno têm sido testados como agentes antitumorais apresentando atividade pró-apoptótica, citotóxica, inibidora do metabolismo e também têm sido descritos como inibidores potentes e seletivos da telomerase. **Objetivo:** No presente estudo avaliamos os efeitos do tratamento terapêutico com os compostos 1-nitro-2-((E)-2-nitrovinil)benzeno e 1-nitro-3-((E)-2-nitrovinil)benzeno, denominados aqui, respectivamente como NTS1 e NTS2, sobre a resposta linfopoética de animais normais e portadores de tumor ascítico de Ehrlich (TAE). **Métodos:** Diferentes doses de NTS1 e NTS2 foram administradas por via intraperitoneal semanalmente durante 3 semanas após a inoculação do tumor (1×10^3 células/animal). Foram utilizadas as doses de 0,1; 0,5; 1; 5 e 10 mg/Kg/dia dos dois compostos para os experimentos de sobrevida e de 0,1mg/Kg/dia de NTS1 e 1mg/Kg/dia de NTS2 para os demais experimentos. Os animais foram sacrificados no 16º dia após inoculação do TAE (n=6/grupo) para análise por citometria de fluxo e no 2º, 9º e 16º para os demais experimentos. Linfócitos esplênicos foram utilizados nos ensaios de proliferação, produção de citocinas e citometria de fluxo. Células NK esplênicas foram utilizadas no ensaio de citotoxicidade. **Resultados e Discussão:** O tratamento com as doses de 0,1; 0,5 e 1mg/Kg/dia de ambos os compostos prolongaram a sobrevida de animais portadores de TAE, sendo as doses mais efetivas de NTS1 e NTS2 respectivamente, 0,1 mg/Kg/dia e 1 mg/Kg/dia. O tratamento de animais portadores de TAE com o NTS1 aumentou a capacidade citotóxica de células NK, a proliferação de linfócitos esplênicos e aumentou o número de células CD4+. Além de impedir o efeito supressor induzido pelo desenvolvimento tumoral mantendo os níveis de IFN-gama e IL-10 constantes e semelhantes aos encontrados em animais controle, e aumentando os níveis de IL-2. Já o tratamento

com NTS2, não apresentou ação significativa na atividade citotóxica de células NK, na resposta proliferativa de linfócitos e nas porcentagens de células CD4+. Também não foi capaz de impedir a supressão de IFN-gama causada pela progressão tumoral e provocou diminuição dos níveis de IL-2. Por outro lado, manteve a produção de IL-10 semelhante aos níveis do controle. **Conclusão:** Neste trabalho demonstramos que o NTS1 apresenta atividades antitumorais importantes, demonstradas especialmente pela ativação linfóide e de células NK, e consequente reversão do fenótipo Th2, induzido pelo desenvolvimento tumoral, para Th1. Portanto, apesar do mecanismo de ação do NTS1 não estar completamente esclarecido, nossos resultados sugerem a possibilidade de utilização desse composto em terapias mais específicas para o tratamento de distúrbios hematológicos e da medula óssea. Já o NTS2 apesar de prolongar a sobrevida dos animais portadores de tumor, não apresenta efeito antitumoral significativo relacionado às células linfocíticas ou NK.

245

Activated adipose-derived mesenchymal stem cells prolong but do not prevent rejection when cotransplanted with allogeneic islet in mice

Oliveira RL^{1,2}, Calderaro P², Corrêa GG², Sesterheim P³, Galuppo A², Pranke P^{1,4,5}, Chagastelles P²

¹Post Graduate Program in Physiology, Federal University of Rio Grande do Sul; Porto Alegre, RS, Brazil

²Stem Cell Laboratory, Fundamental Health Science Institute, Federal University of Rio Grande do Sul; Porto Alegre, RS, Brazil

³Fundação Estadual Produção e Pesquisa em Saúde; Porto Alegre, RS, Brazil

⁴Hematology and Stem Cell Laboratory, Faculty of Pharmacy, Federal University of Rio Grande do Sul; Porto Alegre, RS, Brazil

⁵Stem Cell Research Institute; Porto Alegre, RS, Brazil

Mesenchymal stem cells (MSCs) are multipotent cells able to differentiate into cells from mesenchyme and present a role in tissue homeostasis and control of immune response. MSCs are known to interact with other immune cells preventing an exacerbated immune response. Therefore, these cells have been employed in many clinical trials to treat autoimmune diseases and prevent tissues or organs rejection. MSCs play their role mainly by the secretion of soluble factors and cell-to-cell interaction which are strictly regulated by the environment. The main goal of this study is to evaluate the role of activated adipose-derived MSCs when cotransplanted with allogeneic islets in the renal subcapsular space of diabetic mice. Adipose-derived mesenchymal stem cells were isolated from C57Bl/6-GFP transgenic mice by collagenase digestion as previously described. Cells were characterized by adipogenic and osteogenic differentiation assays and immunophenotyping was performed by flow cytometry. Male C57Bl/6 mice were rendered diabetic by the injection of 280 mg/kg of streptozotocin and after 4 days diabetic mice were transplanted with 300 BALB/c islets alone or 300 islets + 2×10^5 activated MSCs under the kidney capsule. MSCs were activated by 20 ng/ml IFN- γ and 30 ng/ml TNF- α for 20h before cotransplantation with allogeneic islets. The activation state of the cells was confirmed by qPCR for Il6, iNos, Cox2, Mmp2, Ido and CD274. Blood glucose was measured daily and transplant rejection was confirmed when levels were above 280 mg/dl for two consecutive measurements. The results show that the cells were able to differentiate in adipocytes and osteoblasts *in vitro* and were positive for CD44 and CD90.2 and negative for CD11b, CD31 and CD45 while the expression of Sca-1 was partial. The activation protocol increased the expression of iNOS ($p < 0.0001$), CD274 ($p < 0.033$) and Ido ($p < 0.011$) compared to non-activated cells. The expression of Il-6, Cox2 and Mmp2 also increased but it was not statistically significant. All mice enrolled in this study rejected the transplants in less than three weeks. The median for rejection post transplant in islet alone group (n=6) was 13.5 days and increased to 19.5 days in islet+MSCs

group (n=8) ($p < 0.0021$, Log-Rank Test). Histological and immunofluorescence analysis of graft-bearing kidneys are being performed to confirm rejection. Co-transplantation of activated adipose-derived MSCs with allogenic islets could prolong graft survival but were not able to prevent rejection in diabetic mice. Financial Support: CNPq, CAPES, FAPERGS and Stem Cell Research Institute.

246

Estudo da expressão e função de ARHGAP21 na hematopoese normal e mielodisplásica

Mendonça GR¹, Silveira KS¹, Vassallo J¹, Saad ST¹

¹Universidade Estadual de Campinas

Introdução: ARHGAP21 é uma Rho-GAP recentemente descrita que regula a atividade das Rho-GTP-ases RhoA e Cdc42. Estudos realizados demonstraram que essa proteína apresenta funções em diferentes processos celulares, como migração, adesão e proliferação. Resultados recentes indicam que a ARHGAP21 participa da progressão e metástase tumorais, e uma possível influência dessa proteína na diferenciação hematopoética é também discutida (especialmente na megacariocitopoese). As síndromes mielodisplásicas (SMDs) são distúrbios clonais da medula óssea (MO) em que há hematopoese ineficaz; cursam com citopenias e podem ainda sofrer transformação leucêmica. Hipotetiza-se que a ARHGAP21 possa influir na progressão das mielodisplasias e na má-diferenciação hematopoética observada nessas doenças. **Objetivo:** Este estudo buscou avaliar a expressão de ARHGAP21 ao longo da diferenciação de eritrócitos, megacariócitos e granulócitos. Também objetivou analisar, na MO de pacientes com SMDs, a expressão de ARHGAP21 em células mieloides. **Métodos:** Para análise da expressão de ARHGAP21 na hematopoese, foram utilizadas linhagens de células KU812, K562/Hel e NB4, respectivamente, para as diferenciações eritrocítica, megacariocítica e granulocítica. A expressão gênica de ARHGAP21 foi avaliada via q-PCR durante todos os dias da diferenciação (D0, D1, D2, D3 e D4). A expressão proteica foi avaliada via *western blotting* no primeiro (D0) e último (D4) dias da diferenciação. Para análise das mielodisplasias, biópsias de medula óssea foram utilizadas para avaliar a expressão proteica da ARHGAP21, via imuno-histoquímica (IHQ). Foram utilizadas 25 amostras de tecido, contendo controles e SMDs, e o estudo foi cego. **Resultados:** O q-PCR demonstrou um aumento significativo na expressão de ARHGAP21 nas diferenciações eritrocítica, granulocítica e megacariocítica. O *western blotting* evidenciou que a ARHGAP21 está significativamente aumentada em megacariócitos maduros. As biópsias de MO consistiram em 3 controles, 21 SMDs de baixo risco (LR-MDS) e 1 SMD de alto risco (HR-MDS). Os estudos de IHQ mostraram que a ARHGAP21 é expressa em toda a linhagem mielóide na MO. Controles apresentaram as maiores intensidades de marcação em granulócitos (membrana, citoplasma e núcleo) e megacariócitos (citoplasma e núcleo). Quanto maior o grau das SMDs, menos a proteína se fez presente, em média, na membrana de granulócitos maduros, e menor a intensidade de marcação dos núcleos de megacariócitos. Os casos de anemia refratária com sideroblastos em anel (ARSA), um subtipo de LR-MDS, destacaram-se por possuírem reatividade de membrana e núcleo de granulócitos, respectivamente, abaixo e acima da média de todas as SMDs. Não houve diferenças em quaisquer marcações citoplasmáticas. **Conclusão:** Podemos concluir que a ARHGAP21 pode contribuir para a hematopoese normal, principalmente em granulócitos e megacariócitos, nos quais a modificação desta proteína pode participar da progressão de SMDs. No caso específico da ARSA, cogita-se uma possível contribuição especial da ARHGAP21 em sua patogenia. Fazem-se necessários estudos futuros aprofundados a fim de melhor investigar esse papel.

247

Atividade de compostos derivados de nitroestireno em macrófagos de animais portadores de tumor ascítico de Ehrlich

Ramos AL¹, Calgarotto AK¹, Rocha MC¹, Vecina J¹, Maso V¹, Saad ST¹

¹Universidade Estadual de Campinas

A quimioterapia é limitada devido a imunossupressão que causa, além de outros efeitos colaterais. A modulação do sistema imune são ferramentas úteis no restabelecimento dos mecanismos de defesa naturais do paciente contra as neoplasias. Compostos derivados do nitroestireno têm sido testados como agentes antitumorais apresentando atividade pró-apoptótica, citotóxica, inibidora do metabolismo e inibidores da telomerase. Neste estudo avaliamos os efeitos do tratamento terapêutico com os compostos 1-nitro-2-((E)-2-nitrovinil)benzeno (NTS1) e 1-nitro-3-((E)-2-nitrovinil)benzeno (NTS2) sobre a resposta mielopoética de animais portadores de tumor ascítico de Ehrlich (TAE). Diferentes doses dos compostos foram administradas por via intraperitoneal semanalmente por 3 semanas após a inoculação do tumor (1×10^3 células/animal). Foram utilizadas as doses de 0,1; 0,5; 1; 5 e 10 mg/Kg/dia dos dois compostos para os experimentos de Unidade formadora de colônia para granulócitos e macrófagos (CFU-GM); e de 0,1 mg/Kg/dia de NTS1 e 1 mg/Kg/dia de NTS2 para os demais experimentos. Os animais foram sacrificados no 16º dia após inoculação do TAE (n=6/grupo) para ensaio de CFU-GM e análise de citometria de fluxo e no 2º, 9º e 16º para os demais experimentos. Estudos que visam encontrar alternativas para as terapias antitumorais clássicas, sugerem a ação antitumoral de compostos através da ativação direta de receptores específicos de macrófagos. O tratamento com ambos os compostos testados restauraram a mielossupressão induzida pela evolução do tumor, o que é demonstrado pelo aumento de CFU-GM na medula óssea. O tratamento com NTS2 aumentou o número de macrófagos Mac3 em animais portadores do TAE, já com NTS1 não teve efeito. A presença do tumor diminui os níveis de TNF- α e IL-1 enquanto paralelamente aumenta os níveis de IL-10. O tratamento com NTS1 não foi capaz de estabilizar os níveis TNF- α e IL-1, em contrapartida, animais portadores do TAE e tratados com NTS2 tiveram a produção tanto de TNF- α quanto IL-1. Em relação a IL-10, ambos compostos revertem o aumento desta citocina causado pela progressão do TAE. A liberação de intermediários de nitrogênio pelos macrófagos é um exemplo da citotoxicidade direta destas células. Em animais portadores de TAE, a liberação de nitrito (NO $_2^-$) na cavidade peritoneal ocorre pela simples presença do tumor. O tratamento destes animais com NTS2 produziu ativação adicional na atividade macrofágica, elevando ainda mais a produção de nitrito. Por outro lado, este padrão não foi observado com o tratamento com NTS1. Aqui demonstramos que o NTS2 apresenta ação antitumoral, não só pelo aumento no número de células Mac3+ na cavidade peritoneal, mas também pela ativação macrofágica tanto da citotoxicidade direta através da liberação de nitrito quando ação indireta pela produção de TNF- α e IL-1 e regulação negativa de IL-10. Além disso, observamos que este derivado do nitroestireno restaura a mielossupressão induzida pela evolução do tumor. Portanto, apesar do mecanismo de ação do NTS2 não estar completamente esclarecido, nossos resultados sugerem a possibilidade de utilização desse composto em terapias para o tratamento de distúrbios hematológicos e da medula óssea. Já o NTS1 apesar de restaurar a mielossupressão induzida pelo desenvolvimento do TAE, não apresenta efeito antitumoral relacionado à ativação macrofágica.

248

Alterações citogenéticas induzidas por agrotóxicos na medula óssea

Pires-Filho LI¹, Ribeiro-Jr HL¹, Oliveira RT¹, Costa MB¹, Sousa JC¹, Magalhães SM¹, Pinheiro RF¹

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, Departamento de Medicina Clínica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará - UFC, Fortaleza, CE

Os pesticidas são produtos químicos de uso disseminado no controle das pragas nas lavouras agrícolas. Estes produtos são classificados em herbicidas, inseticidas e fungicidas e podem acumular-se no meio ambiente. Um grande número de estudos epidemiológicos em trabalhadores rurais sugeriu um aumento do risco de câncer no grupo exposto a pesticidas. O objetivo deste estudo é avaliar a presença de anormalidades cromossômicas em células da medula óssea e a ocorrência de alterações do gene *TP53* por FISH em trabalhadores rurais expostos a pesticidas. Para o nosso conhecimento, este é o primeiro estudo a avaliar estas alterações utilizando células-tronco hematopoéticas coletadas por aspirado da medula óssea. Foram avaliados 43 trabalhadores rurais do sexo masculino e detectadas anormalidades cromossômicas através de citogenética por Banda G em 11 (25%). A maioria destas anormalias era relacionada com aneuploidias (6/11). Aneuploidias podem ocorrer devido a um cromossomo extra ou ausente. De extrema importância, encontramos quatro casos com anormalidades estruturais relacionadas aos cromossomos 4, 5, 7 e 11, como deleções do braço longo dos cromossomos 5, 7 e 11. Detectamos deleção do gene *TP53* por Hibridização por Fluorescência in situ (FISH) em 4/31 e de amplificação em 3/31 casos. As outras alterações por FISH foram relacionadas à aneuploidia (6/31). Entre as anormalidades numéricas, encontramos tetrassomia em 3 casos, trissomia em dois casos e monossomia em um caso. Nosso trabalho é o primeiro a apresentar anomalias citogenéticas em células da medula óssea de trabalhadores rurais expostos a agrotóxicos. Nosso estudo destaca a importância da prevenção primária, pois apenas 23% dos trabalhadores rurais relataram medidas de proteção. Todas essas anormalidades citogenéticas aqui detectadas são descritas como responsáveis por aumentar o risco de desenvolvimento de neoplasias. Como o uso de agrotóxicos está disseminado em nossa agricultura, os trabalhadores rurais devem evitar o uso inadequado devido ao risco de desenvolver neoplasias.

249

Quantificação de células progenitoras CD34 por citometria de fluxo. Uma prática cada vez mais frequente no laboratório clínico

Bento LC¹, Correia RP¹, Apelle AC¹, Alexandre AM¹, Vaz AC¹, Nozawa ST¹, Kanayama RH¹, Schimidell D¹, Mendes CE¹, Bacal NS^{1,2}

¹Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, Brasil

²Centro de Hematologia de São Paulo, Brasil

As células tronco hematopoéticas são caracterizadas por serem pluripotentes e terem a capacidade de se diferenciar em qualquer célula da linhagem sanguínea. Em condições fisiológicas, estas células constituem no máximo, 3,0% do total de células da medula óssea. A quantificação de células progenitoras CD34 por citometria de fluxo (CF) é uma prática cada vez mais frequente nos laboratórios clínicos, que em conjunto com a análise da viabilidade celular, são imprescindíveis para o sucesso dos transplantes, e para o correto armazenamento destas células em bancos de sangue/tecidos. O objetivo deste trabalho é relatar a experiência adquirida no setor de CF do Laboratório Clínico do Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), Brasil,

na quantificação de células progenitoras CD34, e difundir o conhecimento em relação à padronização e controles de qualidade (CQ) com intuito de gerar melhorias contínuas no processo. Nos últimos sete anos, o setor de CF do HIAE, realizou a quantificação de células progenitoras CD34 em um total de 7.891 amostras, representando 19,5 % do total de exames realizados neste período. Estratificando este número nos diferentes tipos de materiais analisados, observamos que a grande maioria, 68,8%, corresponde a amostras de sangue de cordão umbilical, 17,3% de sangue periférico, 11,2% de produto de aférese, e 2,7% de medula óssea. Nosso serviço realiza a quantificação de células progenitoras CD34 seguindo o recomendado pelo protocolo ISHAGE (International Society Hemotherapy and Graft Engineering) plataforma dupla. A contagem de leucócitos é realizada utilizando contador hematológico automatizado Sysmex XE-2001 (Roche), e aproximadamente um milhão de células são marcadas com anticorpos monoclonais IgG1-PE, 7-aminoactinomicina D (7aad), CD34-PE e CD45-FITC (Immunotech). Vale ressaltar que a utilização do 7aad é importante para monitorar a viabilidade celular e garantir sucesso nos processos de armazenamento e futuros transplantes. A hemólise é feita com solução de cloreto de amônia, e a aquisição dos dados é realizada nos equipamentos EPICS XL-MCL e Cytomics FC500 (Beckman Coulter). Através do protocolo ISHAGE e estratégia de *gates* sequenciais, conseguimos obter um percentual de células CD34 em relação ao total de células CD45 da amostra. É importante que os centros de diagnóstico e pesquisa, utilizem CQ internos e externos para a validação e monitoramento contínuo do processo, uma vez que esta técnica envolve a aquisição de eventos raros por CF. Neste contexto, além da validação diária de reagentes e equipamentos, nosso serviço utiliza CQ diários de células CD34 em níveis baixo e alto fornecidos pela ControlLab. Além de CQ externos a nível nacional, como o ControlLab desde 2010, e internacionais como o UKNEQAS (United Kingdom National External Quality Assessment) e CAP (College of American Pathologists) desde 1997 e 2004. Visto a importância da quantificação de células progenitoras CD34 por CF, o laboratório clínico do HIAE executa esse procedimento há 16 anos. Neste período, priorizamos a utilização de técnicas e protocolos avançados, bem como a participação nos principais sistemas de qualidade nacionais e internacionais, para garantir a confiabilidade nos resultados e o monitoramento contínuo do processo, que diretamente auxiliam a conduta médica e favorecem um melhor prognóstico ao paciente.

250

Avaliação de recaídas pós transplante autólogo de medula óssea realizados entre fevereiro 2002 a julho 2013 no Hospital Clínicas de Porto Alegre (HCPA) - RS

Spindler BM¹, Contin LC¹, Sarturi B¹, Breunig R¹, Daudt L¹, Weber C¹, Bittencourt R¹

¹HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: O transplante autólogo de células tronco hematopoéticas (TACTH) constitui um recurso de resgate medular para pacientes que receberam quimioterapia ou radioterapia em altas doses para diferentes patologias. É opção terapêutica com evidência incontestável em muitos casos de Mieloma Múltiplo (MM), Linfoma de Hodgkin (LH) e Não Hodgkin (LNH), com claro benefício em sobrevivências livres de doença e global, porém a possibilidade de recidiva constitui a maior causa de falha do TACTH. **Objetivo:** Analisar o tempo de resposta sustentada até as recaídas pós TACTH em pacientes transplantados no HCPA conforme as diferentes indicações. Verificar o perfil epidemiológico, as terapias de condicionamento, quantidade de células CD34 infundidas e os eventos finais (mortalidade). **Métodos:** Estudo observacional retrospectivo, baseado na revisão dos prontuários dos pacientes submetidos ao TACTH no período de fevereiro/2002 a julho/2013. Elaborado um banco de dados e realizada análise estatística através do software SPSS.

Resultados: Realizados 322 TACTH autólogos, com 148 (46%) pacientes do sexo masculino, 174 (54%) do sexo feminino. A mediana de idade foi 51 anos (12 - 68 anos). Todas as coletas de células tronco hematopoiéticas foram de sangue periférico. A frequência de patologias tratadas foi de 57,5% MM, 18,9% LNH, 16,1% LH, 5,7% de Leucemia Mielóide Aguda (LMA) e 1,9% outras patologias. Os condicionamentos mais utilizados foram o Melfalan 200 (49,4% do total) e o BEAM (34,5%). A mediana de células CD34 infundidas foi $5,1 \times 10^6/\text{Kg}$ ($1,8 - 19,0 \times 10^6/\text{kg}$). A "pega" da medula ocorreu em média dentro de 13,83 dias com a mediana de 13,0 (8 - 40 dias). A taxa de recidiva foi 32,9%, sendo 34,7% precoce (antes de 1 ano pós TCTH) e 65,3% tardia (após o primeiro ano). A sobrevida livre de doença perfez a mediana de 20 meses. Relacionando a sobrevida com a patologia de base, foi constatado: mediana de 27 meses para MM, 11,5 meses para LNH, 10 meses para LH, 8,5 meses para LMA. Houve perda de seguimento em 10 pacientes (3,1%). A mortalidade geral foi 31,7%, sendo 22% por progressão da doença e 3,4% relacionado ao próprio procedimento. **Conclusão:** Os resultados observados são congruentes com as evidências publicadas.

251

Deteção do HTLV-1 em células mesenquimais estromais isoladas de indivíduos HTLV-1+

Rodrigues ES^{1,2}, Favarin MD¹, Macedo MD^{1,2}, Otaguiri KK^{1,2}, Orellana MD^{1,3}, Takayanagui OM⁴, Palma PV¹, Santis GC¹, Covas DT^{1,3}, Kashima S^{1,2}

¹Centro Regional de Hemoterapia de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, Brasil

²Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto, Brasil

³Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto, Brasil

⁴Departamento de Medicina Tropical, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto, Brasil

A medula óssea (MO) constitui um microambiente altamente especializado e protegido que proporciona um nicho para a manutenção e diferenciação das células-tronco hematopoiéticas (HSC). Durante as infecções virais, o funcionamento deste microambiente está sujeito a alterações, uma vez que células infectadas podem ser capazes de infiltrar a MO e promover uma infecção latente. Entretanto, pouco é conhecido sobre a biologia de infecções virais na MO e os tipos de células residentes da MO envolvidos na infecção. **Objetivo:** Este trabalho investiga a infecção pelo vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV-1) em células da MO provenientes de indivíduos HTLV-1+. **Métodos:** Foram estudados três grupos: três portadores assintomáticos do HTLV-1 (HAC), três indivíduos sintomáticos com paraparesia espástica tropical/mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM/TSP) e três indivíduos controles não infectados. As amostras de células mononucleares da MO foram isoladas e caracterizadas por citometria de fluxo (CD34; CD45; CD14; CD19; CD3; CD8; CD4; CD73 e CD105). A partir destas células, foram isoladas células T CD4⁺ (separadas por *beads* magnéticas e purificadas por *sorting*) e células mesenquimais (obtidas por aderência ao plástico). Em ambas as populações avaliamos a presença do HTLV-1 por PCR e análise confocal da proteína viral p19 (gag). **Resultados:** Foi observado um infiltrado de linfócitos T CD4⁺ na MO de indivíduos HTLV-1+ quando comparado com o grupo de indivíduos não infectados ($p \leq 0,02$), e a análise do DNA proviral revelou a presença do provírus integrado nestas células T CD4⁺. O número de unidades formadoras de colônia fibroblástica (CFU-F) foi menor em indivíduos infectados pelo HTLV-1 (CFU-F/5 X 10^5 células em HAM/TSP ($2,1 \pm 1,6$), HAC ($7,5 \pm 2,1$) quando comparado com o grupo indivíduos não infectados ($10,4 \pm 1,1$). As características imunofenotípicas como a expressão dos marcadores de superfície CD105, CD73, e CD90, a ausência dos marcadores hematopoiéticos

CD45, CD34, e CD14 e o potencial de diferenciação *in vitro* em adipócitos e osteócitos foi similar nas mesenquimais obtidas de indivíduos HTLV-1+ e indivíduos não infectados. Foi demonstrado, pela primeira vez, a presença do DNA proviral do HTLV-1 nas MSC de pacientes HTLV-1+ e o nível da carga proviral variou de 2,5 a 25,7 cópias/ 10^5 células. Além disso, as MSC HTLV-1+ apresentaram a expressão da proteína p19(gag). **Conclusão:** Os resultados sugerem que as MSC são potenciais reservatórios para o HTLV-1 que podem estar contribuindo para infecção e persistência viral no hospedeiro. O conhecimento da biologia da infecção viral por HTLV-1 na MO é essencial para entender a fisiopatogênese das doenças relacionadas ao HTLV-1. Suporte Financeiro: FUNDHERP, CTC/FAPESP, INCTC, e CNPq.

252

A estimulação do TLR9 potencializa e previne a perda da imunossupressão em células tronco mesenquimais

Sangiorgi B¹, Leão V¹, Schiavinato JL¹, Panepucci RA^{1,2}, Orellana MD²

¹Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP, Departamento de Genética

²Centro de Terapia Celular - CTC, Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto

Apesar de ter sido demonstrada a capacidade das células tronco mesenquimais (CTM) em suprimir a proliferação de linfócitos ativadas *in vitro*, os estudos clínicos acerca do potencial terapêutico destas células, em suprimir a Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro (GVHD), têm apresentado resultados variáveis até o momento. Tendo em vista a frequente presença de infecções associadas em pacientes com GVHD, além da existência de indícios de que diferentes receptores tipo Toll (TLR) podem estimular propriedades opostas nas CTM, este trabalho teve como objetivo investigar a modulação da atividade imunossupressora das CTM por diferentes ligantes de TLR. Para tanto, CTM (n=3) foram pré-tratadas com LPS ou o Oligonucleotídeo CpG: DSP30 (de maneira a ativar os receptores TLR4 e TLR9, respectivamente), de modo isolado ou simultâneo, por 24h. Em seguida, linfócitos T CD3+ marcados com o corante fluorescente CFSE e ativados por *beads* ligados a anticorpos (CD2, CD3, CD28), foram cocultivados sobre as mesmas. Após 5 dias, a proliferação dos linfócitos foi avaliada por citometria de fluxo, de forma a quantificar a capacidade imunossupressora das CTM nas diferentes condições. Esta análise revelou a inibição em 30% ($p < 0,05$) da capacidade supressora das CTM pelo LPS, o aumento em 32% ($p < 0,05$) desta capacidade pelo estímulo do DSP30 e o resgate da imunossupressão mediante o tratamento conjunto de ambos ligantes. De forma a identificar os potenciais mecanismos envolvidos nesta modulação, CTM (n=3) submetidas aos mesmos tratamentos, foram avaliadas quanto à proliferação, através de ensaios de incorporação de EdU (5-etil-2-desoxiuridina) e por contagem de células marcadas com o corante Deep red (n=3), no equipamento de High Content Screening (HCS; n=12). Adicionalmente, tendo em vista o fato de que a ativação dos receptores TLR4 e TLR9 podem levar à ativação diferencial das vias de NF- κ B canônica (mediada pelo fator de transcrição RelA) e não-canônica (mediada por RelB), respectivamente, as diferentes condições de tratamento foram avaliadas quanto à capacidade de induzir a ligação de RelA e RelB ao promotor do gene VCAM-1, utilizando a técnica de imunoprecipitação da cromatina (ChIP). Ainda, análises de imunofluorescência por HCS, foram utilizadas para quantificar a expressão destes fatores de transcrição, nas CTM submetidas a diferentes tratamentos. Como resultados dos ensaios de proliferação, observamos que o estímulo do TLR9 levou a um aumento significativo ($p < 0,05$) da incorporação de EdU, e também na quantidade de células através da contagem direta por HCS. Ainda, através do ensaio de ChIP, o ligante de TLR4 levou à ligação exclusiva de RelA no promotor de VCAM, de modo três vezes maior em comparação a células não tratadas, enquanto o co-tratamento com o ligante de TLR9 induziu a ligação de RelB ao promotor, o que foi corroborado

pela maior marcação de RelB nestas células, indicado pelas análises de HCS. Em suma, nossos resultados revelam que as CTM tem sua capacidade imunossupressora prejudicada pelo ligante de TLR4 (LPS), o que possivelmente se deve a este ligante induzir a sinalização pela via canônica NFkB, enquanto que o aprimoramento da imunossupressão, através do estímulo pelo TLR9, pode estar associado ao aumento na proliferação e ativação da via não canônica de células estimuladas também com o TLR4.

LEUCEMIAS AGUDAS

253

Leucemia mieloide aguda M3 e condroma metacrônico: relato de caso

Borges KO¹, Oliveira MM², Carvalho JC², Santos AD¹

¹HRBA

²UEPA

A LMA é uma doença clonal do tecido hematopoético que se caracteriza pela proliferação anormal de células progenitoras da linhagem mieloide, ocasionando produção insuficiente de células sanguíneas maduras normais. É mais comum adultos velhos, no sexo masculino do que no feminino, representa cerca de 15%-20% das leucemias agudas da infância e 80% das dos adultos. Na Leucemia Aguda o envolvimento ósseo é comum em lactentes e crianças. No entanto, encontrar condroma em LMA é uma situação rara. Condroma é um tumor benigno caracterizado pela formação de cartilagem hialina maduro. Tumor sincrônico é definido como o 2o. tumor primário diagnosticado até 6 meses do primeiro tumor primário, sendo que após 6 meses é definido como tumor metacrônico. Relata-se um caso de um paciente do sexo feminino, 19 anos, estudante, proveniente de Santarém (PA), deu entrada no serviço de oncologia do Hospital Regional do Baixo Amazonas com quadro de febre alta, mal estar geral e apatia. Ao exame físico apresentou-se pálida, com abdome distendido, doloroso difusamente sem sinais de irritação peritoneal. Mucosite leve. O hemograma de admissão demonstrou uma pancitopenia (Hematócrito: 11.5%; Hemoglobina: 4,2 mg/dl; Leucócitos: 700/mm³; Plaquetas: 83.000/mm³) com 22% de blastos no sangue periférico. Realizou-se análise morfológica e imunofenotípica da medula óssea, que confirmaram Leucemia Mielóide Aguda (LMA) tipo promielocítica, iniciando-se protocolo específico com ATRA + quimioterapia. Paciente evoluiu com turvação visual e alteração de campmetria, sem evidências hemorrágicas na TC de crânio; ao exame oftalmológico apresentou reflexo consensual preservado em ambos os olhos, acuidade visual sem alterações, presença de hemorragia pré-retiniana na região macular de ambos os olhos e infarto da camada fibrosa retiniana. Após 04 meses, iniciou-se quimioterapia de manutenção com 6 MP-90mg/m²/dia e Metotrexato 15 mg/m²/semana, contínuo e ATRA 45mg/m²/dia VO, 15 dias a cada 3 meses por 2 anos. Um ano após o diagnóstico de LMA, ainda na fase de manutenção quimioterápica, a paciente comparece ao ambulatório queixando-se de dor e edema em terço distal do MID, a TC da perna direita evidenciou lesão insuflativa acometendo a medula óssea da tíbia na sua região diafisária média distal, medindo 5,5cm no seu maior eixo aumento longitudinal com recorte endosteal. Para esclarecimento diagnóstico, foi realizada exérese cirúrgica com biópsia, concluindo ser Condroma; a imunohistoquímica revelou Neoplasia Condroide de baixo grau, e expressão para proteína S-100 nas células neoplásicas. Na ocasião realizada PMO que mostrava remissão morfológica e imunofenotípica. Manteve-se em tratamento pra a LMA-M3 e um ano após, na iminência de término da fase de manutenção, a paciente apresentou evidências de recidiva hematológica, com infiltração de 52% de blastos. Feito quimioterapia de resgate com ATO (0.15MG KG DIA), com remissão em 10 dias. Evolui com melhora do quadro clínico e aguarda transplante de medula óssea.

254

Apoptosis induction activity of green tea polyphenols in human tumor xenograft model

Calgarotto AK¹, Maso V¹, Ramos AL¹, Jr GC¹, Nowill AE¹, Filho PL¹, Vasallo J¹, Queiroz ML¹, Saad ST¹

¹Universidade Estadual de Campinas

Green tea (GT) is chemically characterized by the presence of large amounts of polyphenolic compounds. The beneficial effects of green tea are well known, including the ability to inhibit the different stages of cancer development. Acute myeloid leukemia (AML) is an aggressive hematologic malignancy. The development and progression of the leukemic disease involve deregulation in the apoptotic response. Accordingly, the goal of this work was to identify the GT effects using leukemia cells in xenografted mice. HL-60 cells were inoculated subcutaneously in NOD.CB17-Prkdc^{scid}/J lineage mice and GT (100 mg/kg) was administered daily by gavage. After 21 days, the mice were sacrificed and the tumors were removed for western blotting and immunohistochemistry analyzes. GT treatment, reduced 42% of tumor volume compared to control. The main proteins related to the apoptosis process were analyzed and we found decrease in Bcl2 expression, increase in Bax and any modulation of Bcl-xL. The Bcl-2 family proteins are the central regulator of cytochrome c release and caspase activation. We found pronounced increase in the cytochrome c expression, active caspase 3 staining and in phosphorylation of ERK1/2 and JNK in GT mice treatment. The GT treatment in xenotransplant model reduces the tumor development, with pronounced activation of apoptotic process.

255

Prognostic impact of MLL5 transcript levels on outcome of patients with acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid and anthracycline-based chemotherapy: an international consortium on acute promyelocytic leukemia study

Lucena-Araujo AR¹, Jacomo RH¹, Melo RA², Bittencourt R³, Pasquini R⁴, Pagnano K⁵, Fagundes EM⁶, Chauffaille ML⁷, Chiattonne CS⁸, Rego EM¹

¹Medical School of Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, Brazil

²Fundação HEMOPE, Recife, Brazil

³Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

⁴Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil

⁵University of Campinas, Campinas, Brazil

⁶Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

⁷Federal University of São Paulo, São Paulo, Brazil

⁸Santa Casa Medical School, São Paulo, Brazil

Background: The *MLL5* gene encodes a histone methyltransferase implicated in positive control of several genes related to hematopoiesis. Its close relationship with retinoic acid-induced granulopoiesis suggests that the deregulated expression of *MLL5* might lead acute promyelocytic leukemia (APL) blasts to become less susceptible to differentiation-inducing ATRA effects. Here, we retrospectively determined the *MLL5* expression in samples from APL patients enrolled in the International Consortium on APL (IC-APL) trial and analyzed its relationship with clinical and laboratory features, hematologic recovery, relapse, and survival. **DESIGN and Methods:** One hundred and twenty-one APL patients (age, 15-73y) from seven different Brazilian institutions and treated according to the IC-APL protocol were included. The treatment schedule was identical to that adopted in the PETHEMA/HOVON LPA2005 trial, except for the replacement of idarubicin by daunorubicin. ATRA treatment was initiated immediately in all cases in which the diagnosis of APL was suspected based on morphology.

As normal controls, total bone marrow (BM, n=8) and peripheral blood (PB, n=101) cells from healthy donors (age, 18-60y) were collected and mononuclear cells were isolated by density gradient centrifugation. Gene expression profile was analyzed by real-time quantitative PCR. The median value of *MLL5/ABL* expression was adopted as cut-off to dichotomize APL patients in "low" and "high" *MLL5* expression. **Results:** *MLL5* expression was not different between APL and healthy donors samples ($P=0.19$). There was no relevant difference between APL patients with low (n=62) and high (n=59) *MLL5* expression with respect to clinical/laboratory features. Overall, 102 (84%) achieved complete remission (CR). Patients with low *MLL5* expression had significantly lower CR rate than patients with high *MLL5* expression (74% vs 95%; $P=0.002$). Twelve patients (10%) experienced early mortality (i.e., death during induction therapy); *MLL5* transcript levels had no impact on early mortality ($P=0.155$). With a follow-up of 33 months (range, 1-72 months), patients with low *MLL5* expression had significantly lower 2-year OS rate (74%) than patients with high *MLL5* expression (93%) ($P=0.005$). Similarly, patients with low *MLL5* expression had significantly lower 2-year DFS rate (86%) compared with those with high *MLL5* expression (97%) ($P=0.037$). Up to January 2013, a total of six relapses (5%) were recorded. The 2-year cumulative incidence of relapse (CIR) was 4% (95%CI: 2-9%). The 2-year CIR among patients with low and high *MLL5* expression was 14% (95%CI: 5-27%) and 2% (95%CI: 0.1-11%), respectively ($P=0.04$). Among patients who remain alive after induction therapy (107 patients), low *MLL5* expression was predictive of lower CR rate ($P=0.042$) and 2-year OS rate ($P=0.009$), but had no impact on DFS ($P=0.106$). **Conclusion:** Our results show that *MLL5* transcript levels may predict lower remission rate, short survival and higher risk of relapse in APL patients treated with ATRA and anthracycline-based chemotherapy. This is the first report describing the *MLL5* transcript levels as a prognostic factor in APL; nevertheless, our results should be confirmed in an independent cohort.

256

Avaliação da estabilidade dos LAIPs na pesquisa de DRM em leucemia linfoblástica aguda B

Finazzo C¹, Barroso RS¹, Lopes AC¹, Konecni CA¹, Carvalho MA¹, Beirigo ML¹, Barbosa MC¹, Piratelo AS¹, Andrea ML², Sales MM¹

¹Seção de Citometria de Fluxo da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP/ LIM 03

²Hospital Infantil Darcy Vargas

Introdução: As leucemias linfoblásticas agudas B (LLA-B) originam-se de células progenitoras B e são as neoplasias malignas mais frequentes na infância. Apesar dos avanços alcançados, a sobrevida em crianças apresentando recaída permanece entre 46-56%. A pesquisa de Doença Residual Mínima (DRM) mostrou-se útil em prever recidiva de doença permitindo ajustes à terapia e consequente obtenção de melhores resultados clínicos. A Citometria de Fluxo (CMF) consolidou-se na pesquisa de blastos residuais durante a quimioterapia sendo a identificação dos imunofenótipos associados à leucemia (LAIPs) no diagnóstico uma condição imprescindível para a aplicação dessa metodologia. Embora na DRM ocorram predominantemente os mesmos LAIPs do diagnóstico, mudanças de imunofenótipos ao longo do tratamento podem ocorrer dificultando a caracterização dos blastos residuais, sob risco de levar a resultados falso negativos. **Objetivo:** Avaliar os padrões de LAIPs no diagnóstico das LLA-B comparando-os com os obtidos em amostras de DRM positivas. **Métodos:** Foram avaliadas retrospectivamente 43 amostras de LLA-B no período de jan/09-jun/13, em crianças entre 1 e 18 anos. O estudo imunofenotípico foi realizado em medula óssea e analisado no citômetro de fluxo BD FACSCalibur software BD CellQuest. Ao diagnóstico utilizou-se painéis de até 4 fluorocromos, totalizando a pesquisa de 23 antígenos em média. O painel de anticorpos empregado na pesquisa de DRM foi direcionado aos seguintes padrões de anormalidade: assincronismo

de maturação, perda de expressão antigênica; parada de maturação e infidelidade antigênica. Foram coletados no mínimo 100.000 eventos por tubo e o *cutoff* de positividade foi de $\geq 0,01\%$ de blastos residuais, positivos em *cluster*. **Resultados:** Dos 43 pacientes, 97,7% apresentaram ≥ 1 LAIP ao diagnóstico e destes, 28% (n=12) não apresentaram DRM por volta do D15 até 24 meses de seguimento e 25% (n=11) apresentaram aumento de precursores B caracterizados no seguimento como hematogônias. Em 47% (n=20) houve DRM positiva durante o seguimento, destes 85% (n=17) apresentaram pelo menos 1 LAIP observado ao diagnóstico e 15% (n=3) demonstraram LAIPs diferentes. Ao diagnóstico, a ausência do CD45 foi o LAIP mais prevalente (CD19+/CD45- = 25,4%), seguido por dois padrões de assincronismo de maturação (CD34+/CD20+ = 20,6% e CD34+/IgM+ = 14,3%). Na pesquisa de DRM, os mesmos LAIPs foram os mais prevalentes sendo CD34+/CD20+ = 25,6%; CD34+/IgM+ = 18,6% e CD19+/CD45- = 16,3%. **Discussão e Conclusão:** A frequência de LAIPs encontrada em nossos dados está de acordo com a literatura. O LAIP mais frequente foi relacionado à intensidade de fluorescência do CD45 na população CD19 positiva. Krampera et al (2006) relataram frequência similar, contudo Irving et al (2009) publicaram ocorrência superior a 75% deste LAIP. Em nossos casos este LAIP também foi um dos mais estáveis, assim como a expressão concomitante de CD34/IgM e CD34/CD20. Embora a casuística seja pequena, observamos que em 15% dos casos houve mudança do LAIP durante o monitoramento quimioterápico sendo necessária a ampliação da casuística para avaliação de impacto no diagnóstico.

257

Leucemia linfoma de células T no adulto (LLTA) e a oncogênese pelo HTLV-1: uma revisão de literatura

Borges KO¹, Silva LS², Silva LE², Junior PR²

¹HRBA

²UEPA

O HTLV-I é um retrovírus complexo, do gênero Deltaretrovírus e da subfamília Orthoretrovirinae. Tem participação importante no processo fisiopatológico da leucemia/linfoma de células T do adulto (LLTA). O HTLV ocorre em todo o mundo, mas sua distribuição varia de acordo com a região geográfica. O HTLV-1 é endêmico no Japão, Caribe, África, América do Sul e ilhas da Melanésia. A prevalência da infecção anti-HTLV-I/II no Brasil varia 0,08-1,8%, dependendo da região e amostragem. Um curso clínico agressivo acompanhada por infiltração de pele, fígado, baço, nódulos linfáticos, o TGI, pulmão e osso; hipercalcemia, e a presença de células leucêmicas com núcleos multilobulados (células de flores). A diversidade das manifestações clínicas da ATL determinou a subdivisão da doença em quatro formas clínicas – aguda, crônica, linfomatosa e indolente. A patogênese da ATL não foi totalmente ainda esclarecida. O principal alvo celular do HTLV-I é o linfócito T CD4+. Após a infecção, o RNA viral se converte em DNA proviral que se integra no genoma da célula hospedeira possibilitando a expressão das proteínas virais. O vírus se expande no organismo através de um processo conhecido como sinapse virológica onde o DNA proviral e outros componentes virais transferem-se em forma de complexos de uma célula infectada a célula não infectada sem a produção e liberação de partículas virais. Em 5% dos portadores do HTLV-I, a estimulação contínua e prolongada induz ao acúmulo de alterações genéticas e/ou epigenéticas em uma célula infectada, que se transforma neoplasticamente e adquire maior capacidade proliferativa, estabelecendo-se como um clone maioritário, levando à LLTA. De acordo com a literatura médica, o diagnóstico da LTA é raro entre neoplasias linfoproliferativas crônicas. Ela afeta os indivíduos entre 40 e 60 anos de idade. Lesões cutâneas, adenopatias, ulcerações oculares e linfocitose no sangue periférico são algumas das características mais frequentes de LLTA e outras doenças linfoproliferativas crônicas. O tratamento da LTA é geralmente dependente do subtipo LTA. Os doentes com formas agressivas (aguda e linfoma) têm um

prognóstico muito deficiente devido à quimiorresistência intrínseca, uma grande carga tumoral, hipercalcemia, e / ou complicações infecciosas frequentes devido a deficiência imunológica profunda. Pacientes com LLTA crônicas e latentes têm melhor prognóstico, mas a sobrevivência a longo prazo é pobre quando estes os pacientes são tratados com uma política de espera vigilante ou com a quimioterapia. . Recentemente, uma meta-análise de todo o mundo revelou que a combinação de zidovudina e IFN- α é altamente eficaz nos subtipos LTA de leucemias e deve ser considerada como terapia de primeira linha padrão nessa configuração. Esta combinação mudou a história natural da doença através da realização de forma significativa melhora da sobrevida a longo prazo em pacientes com LTA latente e crônica, bem como um subconjunto de pacientes com LTA aguda.

258

Manifestação neurológica em paciente com leucemia linfoblástica aguda T – relato de caso

Sales GM¹, Romão MM¹, Barbosa GS¹, Teixeira DFSA¹, Carbinatto RB¹, Camerin GR¹, Silva JBCB¹

¹Pontifícia Universidade Católica de Campinas

Introdução: A leucemia linfoblástica aguda (LLA) consiste em uma afecção primária da medula óssea em que ocorre crescimento e proliferação de linfócitos imaturos, T ou B, na medula óssea bem como acúmulo destas células em outros tecidos. As manifestações clínicas iniciais são inespecíficas, no entanto, sintomas neurossensoriais como paralisia facial podem aparecer em até 50% dos indivíduos. São originados na queda da imunidade causada pelo tratamento quimioterápico da neoplasia e reativação de microorganismo latente ou mesmo pela proliferação de células leucêmicas com compressão ou infiltração de vasos sanguíneos e nervos cranianos. **Objetivo:** Correlacionar caso clínico ocorrido no Hospital e Maternidade Celso Pierro (HMCP) com a literatura médica, analisando as similaridades e as divergências entre estes. **Métodos:** Foram utilizados dados colhidos do prontuário eletrônico do paciente. **Relato de Caso:** Paciente do sexo masculino, 36 anos, com história de dor em ambos os MMII, em pontada de forte intensidade que melhorava após uso de analgésicos, há 2 meses após uma descarga elétrica. Deu entrada no Pronto Socorro do HMCP devido à permanência da dor. Ao exame físico apresentou linfonodos palpáveis nas cadeias cervical anterior e posterior bilateralmente e baço percutível não palpável. Com a realização de exames complementares foi constatado quadro de anemia (Hb 8,8 g/dl), leucocitose (35 mil/mm³ às custas de 59% de blastos) e plaquetopenia (32 mil/mm³). Com hipótese diagnóstica de leucemia aguda, foi internado com acompanhamento da Hematologia. Na evolução, foi confirmada LLA-T e não apresentou hipertemia e sangramentos. No 5º dia de internação foi iniciada quimioterapia sistêmica e intratecal profilática. Recebeu o tratamento sem intercorrências graves até que no 48º dia após o diagnóstico, já com hemograma normal, livre de blastos, retornou ao serviço hospitalar apresentando paralisia em hemiface direita (House-Brackmann IV), paralisia do nervo VI e diplopia. Foram realizadas ressonância e angio-ressonância magnética do crânio que demonstraram resultados dentro dos padrões da normalidade. Como foram descartadas formações expansivas, o paciente recebeu orientações gerais quanto a sinais de alarme, seguiu em observação clínica e foi medicado com aciclovir 400 mg 5x/dia. **Discussão:** A LLA-T corresponde a aproximadamente 25% dos casos de LLA em adultos. Durante o tratamento quimioterápico, o paciente apresentou paralisia facial periférica à direita estando já em remissão. Devido à imunossupressão induzida pela quimioterapia, esse quadro foi considerado consequência de uma reativação do Herpes Simplex Virus-1. Porém, o acometimento meníngeo pela infiltração leucêmica que pode culminar com paralisia facial periférica não havia sido descartado através da punção do líquor, mesmo que a remissão da medula óssea fosse uma situação oportuna para a recidiva da leucemia no SNC. Essa última possibilidade foi considerada

menos provável devido à quimioterapia intratecal profilática, já efetuada. **Conclusão:** O trabalho quando comparado à literatura, encontra correspondência quanto às características clínicas e laboratoriais da doença. Entretanto, possui evolução inesperada, uma vez que já havia remissão da medula óssea. Isso revela a importância do acompanhamento rigoroso dos pacientes com LLA em tratamento imunossupressor, devido ao risco aumentado para infecções.

259

A influência da sazonalidade na incidência da leucemia promielocítica no Brasil

Barroso KS¹, Lorand-Metze I¹, Pagnano KB¹, Rego EM², Melo R³, Bittencourt R⁴, Pasquini R⁵, Fagundes EM⁶, Jacomo RH⁷, Metze K⁸

¹Hemocentro-Universidade Estadual de Campinas

²Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto

³Universidade Federal de Pernambuco

⁴Hospital de Clínicas de Porto Alegre

⁵Universidade Federal do Paraná

⁶Universidade Federal de Minas Gerais

⁷Universidade de Brasília

⁸Faculdade de ciências Médicas-Unicamp

Além de fatores conhecidos, como a presença de oncogenes, o macroambiente (poluentes, infecções) ou microambiente orgânico (desregulação do sistema imunológico) que podem ser o fator desencadeante do processo de leucemogênese. Não há descrição da influência do clima na incidência da Leucemia Promielocítica Aguda (APL), que possui características clínico-laboratoriais próprias e é definida pela presença do rearranjo PML-RARA. O objetivo deste trabalho foi investigar o impacto da sazonalidade na incidência da Leucemia Promielocítica no Brasil, e quais as suas características. Pacientes e métodos: foram analisados os dados clínicos e laboratoriais e procedência dos casos participantes do International Consortium on Acute Promyelocytic Leukemia (IC-APL), um grupo multicêntrico para tratamento de APL, com diagnóstico e tratamento padronizados. Foram incluídos todos os pacientes com diagnóstico de APL dos centros brasileiros participantes entre 2006 e 2011. Foram excluídos os casos sem dados demográficos. Os pacientes foram divididos em macrorregiões climáticas (Nordeste, Sul e Sudeste). Nordeste: 49 casos de Pernambuco, Sudeste: 16 casos de Minas Gerais, 88 casos de São Paulo; Sul: 27 casos do Rio Grande do Sul e 19 casos do Paraná. Os dados meteorológicos foram extraídos do Banco de Dados Meteorológicos de Ensino e Pesquisa (BDMEP) do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), e agrupados por trimestre. Foram estudados a temperatura média máxima, temperatura média mínima e o índice pluviométrico. A relação entre o número de casos e os dados meteorológicos foi analisada pelo teste de Spearman. **Resultados:** Foram incluídos 149 pacientes com APL. No Sul foram 46 pacientes, sendo 50% do sexo feminino e 50% masculino; média de idade: 37 anos, 16 casos ocorreram no primeiro trimestre (janeiro-março), 12 no segundo trimestre (abril-junho), 8 casos no terceiro trimestre (julho-setembro) e 10 no quarto trimestre (outubro-dezembro). No Nordeste tivemos 49 casos, sendo 25 do sexo feminino e 24 do sexo masculino, média de idade 34 anos com 11 casos no primeiro e segundo trimestres, 12 casos no terceiro trimestre e 15 casos no quarto trimestre. No Sudeste: 54 casos com 29 casos do sexo feminino e 25 casos do sexo masculino, média de idade de 25 anos, com 12 casos no primeiro e segundo trimestres, 11 casos no terceiro trimestre e 19 casos no quarto trimestre. No Sul não houve correlação estatisticamente significativa entre o clima e número de casos de APL registrados. No Nordeste houve correlação negativa entre o número de casos de APL e índice pluviométrico ($r=-0,57$; $p=0,004$) e uma tendência com a temperatura máxima ($r=0,34$; $p=0,07$). No Sudeste houve correlação positiva entre o índice pluviométrico ($r=0,42$; $p=0,02$) mas não com a temperatura. No Nordeste, a menor quantidade de chuvas está associada a temperaturas mais altas

($r=-0,49$; $p<0,0002$), enquanto que no Sudeste a maior quantidade de chuvas está associada a temperaturas mais quentes. **Conclusão:** Sabe-se que a quantidade de chuvas pode afetar a distribuição (diluição) dos poluentes no ar e nas reservas hídricas. Não se conhece a etiologia da APL, mas a sazonalidade encontrada pode ser devida à dispersão de poluentes no meio ambiente.

260

Frequência da translocação BCR-ABL t(9; 22) em pacientes portadores de leucemia linfoblástica aguda no Brasil

Silva PG¹, Campos CB¹, Melo CP¹, Dutra AP², Neto AE³, Pianovski MA⁴, Carboni EK⁵, Lares LB⁶, Oliveira LR⁷, Assumpção JG¹

¹Biocod/Hermes Pardini

²Hospital Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte

³Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora

⁴Hospital Erasto Gaertner

⁵Hospital Pequeno Príncipe

⁶Hospital São João de Deus

⁷Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Introdução: A translocação t(9;22)(q34;q11), também conhecida como cromossomo Philadelphia (Ph), é comum em adultos com Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) e pouco frequente nos casos pediátricos. O cromossomo Ph resulta da translocação recíproca entre os cromossomos 9 e 22 envolvendo a porção 3do gene ABL e a porção 5do gene BCR, formando o oncogene quimérico BCR-ABL. O gene BCR-ABL é traduzido em proteínas de tamanhos variados dependendo da localização dos pontos de quebra dos genes envolvidos. A forma mais comum da proteína em LLA é a p190 (m-bcr), podendo ocorrer também a variante maior, p210 (M-bcr). No Brasil existem vários relatos da frequência da t(9;22) em Leucemia Mieloide Crônica (LMC), sendo raros os estudos em LLA. A detecção da t(9;22) em LLA é de extrema importância devido ao prognóstico reservado dos pacientes e à adoção recente de um protocolo terapêutico direcionado para os portadores dessa alteração cromossômica. **Objetivo:** Verificar a frequência da translocação t(9;22), isoformas p190 e p210, em pacientes adultos e pediátricos diagnosticados com LLA. **Métodos:** Foram analisadas amostras de medula óssea obtidas ao diagnóstico de 139 pacientes com LLA. Os pacientes foram atendidos em seis instituições localizadas nos estados de Minas Gerais e Curitiba no período de fevereiro de 2011 a junho de 2013. O RNA foi extraído pelo sistema "PAXgene Bone Marrow RNA" (QIAGEN), foi realizada a síntese de cDNA com o sistema "Improm-II Reverse Transcription" (Promega), seguida de Nested-RT-PCR com primers específicos para as isoformas p190 e p210 da t(9;22). Os produtos de amplificação foram submetidos à eletroforese em gel de poliácridamida 6%. Em paralelo foi realizado o cariótipo de medula óssea por banda G. **Resultados:** Entre os 139 pacientes analisados, 67 (48%) eram do sexo masculino e 72 (52%) do sexo feminino, 113 (81,3%) eram de linhagem B e 26 (18,7%) de linhagem T. Onze pacientes (8% do total) mostraram-se positivos para o transcrito BCR-ABL, sendo todos portadores de LLA de linhagem B. Considerando somente as LLA-B, a frequência da t(9;22) foi de 10,7%. A t(9;22) apresentou frequência em pacientes pediátricos e adolescentes de 3,4%, e de 37,5% nos adultos com LLA de linhagem B. Em 3 pacientes, todos adultos, foi encontrada a isoforma p210 e em 8 pacientes (adultos e menores de 18 anos) foi detectada a isoforma p190. Nenhum paciente apresentou-se positivo para os dois transcritos. Destaca-se a não concordância em dois casos que foram positivos para a t(9;22) no RT-PCR e negativos na análise citogenética. **Conclusão:** A frequência da t(9;22) em LLA no presente trabalho está compatível com aquela descrita na literatura que é de 3% a 5% dos casos pediátricos e 30% dos casos adultos. A isoforma mais frequente foi a p190, conforme esperado para LLA, sendo que a p210 só foi detectada em pacientes adultos. A análise molecular mostrou-se mais sensível que a análise citogenética.

261

Frequência da t(9;11) (MLL-AF9) em pacientes portadores de leucemia mieloide aguda

Campos CB¹, Melo CP¹, Fenelon AJS², Atalla A³, Albonei M⁴, Carboni EK⁵, Lares LB⁶, Moraes-Souza H⁷, Octacílio-Silva S⁸, Assumpção JG¹

¹Biocod/Hermes Pardini

²Hospital Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte

³Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora

⁴Hospital Erasto Gaertner

⁵Hospital Pequeno Príncipe

⁶Hospital São João de Deus

⁷Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro

⁸Departamento de Morfologia/UFS

Introdução: Vários estudos têm confirmado a importância prognóstica das alterações do cariótipo em adultos e crianças com leucemia mieloide aguda (LMA). As aberrações cromossômicas mais frequentes em LMA são t(8;21)(q22;q22), inv(16)(p13q22), t(15;17)(q22;q11,21) e t(11q23). Dentre as translocações envolvendo o gene MLL (11q23) a mais frequente é a t(9;11). A translocação t(9;11)(p22;q23) é o resultado da fusão dos genes MLL no cromossomo 11q23 e AF9 no cromossomo 9p22. A nível molecular, a t(9;11)(p22;q23) possui diferentes tipos de fusão, resultando em várias quebras dentro das regiões dos genes MLL e AF9. Todos os tipos de fusão causam expressões aberrantes do RNA mensageiro (mRNA) localizados nas posições 5do gene MLL e 3do gene AF9. Suas variantes são descritas na literatura como associadas a um bom prognóstico, ao contrário das demais translocações envolvendo o gene MLL. Atualmente existem poucos trabalhos na população Brasileira relacionados à t(9;11). **Objetivo:** Avaliar a frequência da translocação t(9;11) envolvendo os genes MLL 6S/AF9AS3 em Leucemia Mielóide Aguda em pacientes de diversas regiões brasileiras. **Métodos:** Após a assinatura do TCLE, foram coletadas amostras de medula óssea (obtidas ao diagnóstico) de 138 pacientes com LMA. Sete centros de tratamento de leucemia brasileiros participaram da pesquisa. Foi feita extração de RNA, síntese de cDNA e RT-PCR com primers específicos para a t(9;11). Em paralelo foi realizado o cariótipo de medula óssea. **Resultados:** Dos 138 pacientes, 79 (57,2%) foram do sexo masculino e 59 (42,8%) do sexo feminino. A idade variou de quatro meses a 84 anos, média de 42 anos. Cinco foram positivos (3,6%) para a translocação t(9;11): três crianças ou adolescentes (8,5%) e dois adultos (1,9%), sendo o resultado das técnicas de Biologia Molecular e Citogenética concordantes. Dentre os cinco casos positivos, quatro tiveram classificação FAB M5 e um ficou indefinido M4/M5. **Conclusão:** O presente estudo avaliou o maior número de casos de pacientes brasileiros descrito até o momento e incluiu tanto pacientes pediátricos quanto adultos. A frequência encontrada em pacientes pediátricos foi um pouco superior àquela descrita anteriormente no Brasil (1,9%); e não existem estudos publicados sobre adultos. No entanto, a frequência aqui descrita está de acordo com aquela relatada em estudos internacionais que é de 6 a 12% para pacientes pediátricos e 2% para pacientes adultos. A mais alta frequência de t(9;11) em LMA-M5 também está de acordo com o relatado em outros trabalhos.

262

Frequência de alterações cromossômicas com importância prognóstica em pacientes brasileiros portadores de leucemias agudas

Muniz LG¹, Assumpção JG¹, Neto JCA², Nicolato AM³, Pianovski MA⁴, Carboni EK⁵, Lares LB⁶, Resende GD⁷, Octacílio-Silva S⁸, Duarte SM¹

¹Laboratório BIOCOD/Hermes Pardini

²Hospital Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte

³Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora

⁴Hospital Erasto Gaertner

⁵Hospital Pequeno Príncipe

⁶Hospital São João de Deus

⁷Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro

⁸Departamento de Morfologia/UFS

Introdução: As leucemias constituem um conjunto de neoplasias caracterizadas pela proliferação anormal das células hematopoiéticas da medula óssea e podem ser classificadas como agudas quando há estabelecimento e agravamento rápido da doença. Conforme a linhagem celular de origem, elas podem ser linfóides (LLA) ou mielóides (LMA), e apresentam frequentemente alterações cromossômicas associadas. A detecção destas alterações tem importância fundamental na confirmação do diagnóstico e definição do prognóstico dos pacientes. Dessa forma, a análise do cariótipo de medula é essencial para a estratificação e definição da terapêutica nas Leucemias Agudas. No que diz respeito a pacientes brasileiros, há poucos dados publicados sobre a frequência dos achados citogenéticos. **Objetivo:** Avaliar a frequência das principais alterações cromossômicas com importância prognóstica em pacientes com Leucemia Aguda. **Métodos:** Foi coletada a medula óssea dos pacientes, realizada a contagem de blastos e semeadura em cultura com dois protocolos, um com tempo de incubação de 24 horas e outro com 3 horas. Foram utilizados os meios de cultivo RPMI 1640 e *Marrowmax* (GIBCO). Para interrupção da divisão celular em estágio metafásico foi utilizada Colcemide (GIBCO) e posteriormente realizado o choque hipotônico. As lâminas foram coradas com Giemsa e a análise cromossômica, otimizada pelo sistema *Applied Spectral Imaging*, foi realizada ao microscópio óptico em 20 a 30 células. A descrição do resultado foi realizada com a referência do ICNS. **Resultados:** Foram coletadas amostras de 280 pacientes com suspeita de Leucemia Aguda atendidos em sete Centros do país de 01/02/2011 a 01/07/2013; desses, 246 tiveram diagnóstico de Leucemia Aguda confirmado, sendo que 134 apresentavam LMA e 136 LLA. A idade variou de 4 meses a 84 anos. Dentre os casos de LMA, foi possível realizar a análise citogenética em 130 pacientes, sendo os principais achados: cariótipo normal (25,4%), hiperploídia 47-50 cromossomos (15,4%), hiperdiploídia acima de 50 cromossomos (3,1%) e hipodiploídia (13%). As alterações cromossômicas relevantes foram: t(15;17) (17,7%), trissomia do 8 (16,2%), cariótipo complexo (14,6%), monossomia 7 ou del7 (10%), t(8;21) (9,2%), trissomia 21 (6,9%), monossomia do 5 ou del5 (6,2%), t(9;11) (3,9%), inv(3) ou t(3;3) (2,3%) e inv16 (2,3%). Para as LLAs, foi possível realizar o cariótipo em 116 pacientes. Quanto à ploidia os achados foram: cariótipo normal (22,4%), hiperploídia 47-50 cromossomos (9,5%), hiperdiploídia acima de 50 cromossomos (19%) e hipodiploídia (6,9%). Quanto às anomalias cromossômicas relevantes, os achados foram: trissomia do X (22,4%), trissomia do 21 (22,4%), trissomia do 4 (15,6%), trissomia do 10 (13,8%), trissomia do 17 (10,3%), t(1;19) (10,3%), t(9;22) (5,2%) e t(4;11) (3,5%). **Discussão:** Para as LMAs, encontramos 40 pacientes (30,8%) com alterações cromossômicas associadas a prognóstico favorável [t(15;17), t(8;21), inv16] e 22 (16,9%) com prognóstico adverso [inv3 ou t(3;3); monossomia 5 ou del 5; monossomia 7 ou del 7; cariótipos complexos]. Para as LLAs encontramos 18,1% dos pacientes com alterações cromossômicas associadas a prognóstico favorável (hiperdiploídia acima de 50 cromossomos,

trissomia do 4, trissomia do 10, trissomia do 17) e 13,8% com prognóstico adverso [hipodiploídia, t(4;11), t(9;22)]. Suporte Financeiro: FINEP, FAPEMIG, CNPq.

263

Leucemia linfóide aguda da linhagem B - relato de caso com ênfase em diagnóstico e monitoramento por imunofenotipagem

Moura PH¹, Quixabeira VB², Costa AC²

¹Universidade Paulista

²Instituto Goiano de Oncologia e Hematologia

Um dos tipos de câncer mais comum na infância é a Leucemia Linfóide Aguda (LLA). Ela corresponde a cerca de um terço de todas as neoplasias malignas infantis e atinge principalmente, crianças brancas e do sexo masculino, sendo que a incidência maior ocorre entre os dois e cinco anos de idade. O diagnóstico que antes era baseado na morfologia e citoquímica, hoje é amparado nos estudos imunofenotípicos por citometria de fluxo e na biologia molecular, pois além de proporcionar uma análise e classificação mais criteriosa dos diferentes tipos da doença, permite a definição da terapia mais adequada e até mesmo definir um possível prognóstico. A Leucemia Linfóide Aguda não possui causa definida, mas acredita-se que ela é resultante de uma série de fatores tanto ligados ao indivíduo como as alterações genéticas que envolvem as translocações cromossômicas, quanto fatores externos como a exposição a agentes tóxicos. O tratamento da LLA é longo, podendo durar por até três anos. Atualmente, ele consiste na adoção de protocolos nacionais e internacionais que dividem os pacientes em grupos de risco de acordo com as características laboratoriais evidenciadas nos exames clínicos e que podem significar possíveis quadros recidivos. Todavia, o objetivo principal é alcançar a remissão completa, restabelecendo a atividade medular normal. A leucemia é a neoplasia maligna mais comum em crianças. Apesar da chance de cura ter aumentado nos últimos anos, ainda é alto o número de crianças e adolescentes vítimas da doença. A falta de informação aliada ao elevado número de pessoas sem acesso ao tratamento adequado contribui para o agravamento da situação. Neste sentido, observa-se a relevância da apresentação do tema, visto que muitos casos poderiam ser diagnosticados em estágios iniciais, contribuindo diretamente para uma melhor resposta à terapêutica e consequentemente, a uma possível cura. Para melhor elucidar a importância do diagnóstico e monitoramento do tratamento será apresentado um relato de caso de uma paciente diagnosticada com leucemia linfóide aguda aos dois anos de idade, apresentando como manifestações iniciais pancitopenia e dor óssea. Ao longo do trabalho serão apresentados os resultados dos exames solicitados para estabelecer o diagnóstico definitivo, bem como daqueles realizados durante o tratamento que possibilitaram acompanhar a evolução do quadro clínico até a confirmação da ausência de doença residual mínima, permitindo avaliar se a resposta ao protocolo de tratamento adotado foi satisfatória e, ainda, concluir quais as medidas que estão diretamente relacionadas ao sucesso do processo terapêutico e sobrevida do paciente.

264

Leucemia mieloide aguda megacarioblástica (LMA-M7): relato de caso

Amorim IG¹, Mendona AE¹, Torres GV¹, Mendes NP¹, Medeiros AL¹, Diniz KD¹, Bispo MM¹, Freire XA¹, Moraes RO¹, Sousa EC¹

¹Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Introdução: A incidência mundial de leucemias era estimada em 351 mil novos casos e 257 mil óbitos em 2008. No Brasil, o número de

casos novos de leucemias estimados para 2012 era de 4.570 entre homens e de 3.940 para as mulheres. A Leucemia Mielóide Aguda (LMA), caracteriza-se pela proliferação anormal de células progenitoras da linhagem mielóide (mieloblastos) ocasionando produção insuficiente de células sanguíneas maduras e a substituição do tecido normal. A ativação de protooncogenes e as mutações nos genes supressores que regulam o ciclo celular parecem estar relacionadas à patogênese das leucemias. Esses levam à perda dos mecanismos normais controladores da divisão celular, diferenciação-maturação e/ou da morte celular programada (apoptose). A Leucemia Megacariocítica ou Megacarioblástica Aguda (LMA-M7) é definida pela presença de mais de 30% de megacarioblastos entre as células nucleadas na medula óssea⁵. É um subtipo raro que acomete menos de 5% de todos os casos de LMA⁷. **Objetivo:** Relatar a evolução clínica de um paciente com LMA-M7. **Métodos:** Trata-se de um estudo descritivo, tipo relato de caso clínico, com paciente adulto internado em uma enfermaria, campo de estágio da Residência Multiprofissional Integrada em Saúde do Hospital Universitário Onofre Lopes em Natal, Rio Grande do Norte. Os dados foram coletados em março e abril de 2013, por meio da anamnese, exame físico e análise do prontuário. **Resultados:** A.F.T, gênero masculino, 48 anos, trabalhador do ramo da agropecuária, admitido no hospital universitário em março de 2013 para seguimento e investigação diagnóstica. Nos cinco meses anteriores à internação vinha apresentando quadro de adinamia e hiporexia associado a episódios frequentes de febre e calafrios recorrentes. Previamente ficou hospitalizado em um hospital regional, onde os exames admissionais indicaram pancitopenia grave, e também foi investigado o histórico de dor retal e dificuldade para evacuar. Pelo quadro clínico-laboratorial, foi realizado um mielograma devido a principal hipótese diagnóstica ser LMA. A imunofenotipagem indicou a presença de células precursoras de megacariócitos (LMA-M7). Foi iniciado quimioterapia com mitoxantrona D3 e citarabina D7. A dificuldade evacuatória, o sangramento e a dor retal possuíam relação com trombo hemorroidário, abscesso retal e criptite que apontaram a necessidade de fistulotomia, fistulostomia e drenagem do abscesso realizadas na internação atual. No entanto, o paciente evoluiu com piora clínica, necessitando de politransfusões. Em abril de 2013 apresentou insuficiência respiratória aguda, sendo cogitada a hipótese de Injúria Pulmonar Aguda Associada à Transfusão (TRALI), parada cardiorrespiratória inicialmente em Atividade Elétrica sem Pulso (AESP), seguida de assistolia. **Conclusão:** Cerca de metade dos casos de pacientes com diagnóstico de LMA-M7 apresentam remissão completa com a quimioterapia convencional, entretanto poucos sobrevivem mais que três anos. Tal fato é condizente com o desfecho deste caso clínico que foi o óbito. A análise do tempo decorrido entre os sintomas iniciais e o diagnóstico de LMA-M7, bem como a adoção de tratamento adequado foi superior a cinco meses, denotando pouca resolutividade do sistema de atenção à saúde pública.

265

MIR-125B coopera com BCR-ABL e atua no mecanismo de resistência à terapia na LLA-Ph+ infantil

Vasquez ML^{1,2}, Zanesi N³, Volinia S³, Zalcberg I¹, Garzon R³, Cazzaniga G², Croce CM³, Biondi A²

¹Laboratório de Biologia Molecular- CEMO/INCa

²Centro Ricerca M. Tettamanti, Università Milano-Bicocca, Monza, Itália

³Department of Molecular Virology, Immunology and Medical Genetics, James Comprehensive Cancer Center, Ohio State University, OH, USA.

Apesar de a taxa de cura para leucemia linfoblástica aguda (LLA) já alcançar mais de 80% graças à evolução dos protocolos terapêuticos nas duas últimas décadas, crianças que carregam o cromossomo *Filadelfia* (PH+) ainda apresentam altos índices de recaída. Diferentes estudos com largas séries de pacientes demonstraram que o rápido

alcançe da remissão após a indução com corticoides é relacionado à maior sobrevida livre de eventos. O monitoramento da doença residual mínima (DRM) ao final da indução também é relacionado à resposta terapêutica, indicando que a resposta clínica primária é preditiva da sobrevida global. A LLA-Ph+ é uma doença heterogênea do ponto de vista clínico, mesmo com todos os pacientes carregando *BCR-ABL* e a maioria apresentando deleções em *IKAROS*. Eles respondem de forma diferente à terapia, sugerindo a presença de mecanismos adicionais envolvidos na leucemogênese. Com o objetivo de encontrar anomalias genéticas secundárias responsáveis pela resistência à quimio e pela heterogeneidade da LLA-Ph+ na infância, foi analisado o perfil de expressão de micro-RNAs (miRNAs) em dois grupos de pacientes discriminados pela resposta inicial à terapia. Foram estudadas amostras de 78 crianças diagnosticadas consecutivamente na Itália entre 2000 e 2010. A expressão de miRNAs totais foi analisada utilizando o sistema de array da Applied Biosystems (AB), comparando dois grupos de pacientes diferenciados pela resposta à prednisona e pela DRM. A análise revelou a existência de um perfil característico de expressão de miRNAs no grupo de pacientes de alto risco, posteriormente confirmado usando kits de RQ-PCR para miRNAs específicos, também da AB. Especialmente o miR-125b encontrava-se 10 vezes super expresso em comparação aos pacientes do grupo de baixo risco de recaída ($p = .006$). Para investigar o papel do miR-125b na LLA-Ph+ foram usadas linhagens celulares positivas para *BCR-ABL* (3 LLAs e 1 LMC em crise blástica) gerando um modelo de leucemia em camundongos NUDE, e em seguida foi induzida a desregulação da expressão do miRNA através da injeção direta de miR-125b sintético (premiR). Tumores que receberam o premiR-125b ($n=14$) cresceram significativamente mais que os controles negativos scrambled ($n=10$) e PBS ($n=4$) ($p = .04$). Após duas semanas, os tumores com premiR-125b encontravam-se seis vezes maiores que os controles e o peso médio dos tumores com scrambled e com premiR-125b foi de 0.63 g and 1.56 g, respectivamente ($p = .01$). Foi feito um ensaio para avaliar se o miR-125b protege o tumor do tratamento com dexametasona e os tumores scrambled tratados com o fármaco reduziram 70% de seu tamanho após 10 dias, enquanto aqueles que receberam premiR-125b reduziram apenas 30% ($p = .05$). Estes resultados sugerem que o miR-125b atua como um oncogene na LLA-Ph+ e sua superexpressão acelera o papel de *BCR-ABL*, aumentando a resistência à terapia e a agressividade da leucemia. Novos estudos serão necessários para entender porque a expressão deste miRNA está desregulada em alguns pacientes e qual o mecanismo de cooperação com *BCR-ABL* para gerar leucemia. No futuro novas terapias usando miRNAs como alvo devem emergir como potenciais estratégias conjuntas à terapia convencional e aos inibidores de tirosina-quinase para melhorar a resposta e aumentar a sobrevida dos pacientes com LLA-Ph+.

266

Leucemia de células T precursoras iniciais (LLA-ETP): um subtipo de LLA-T diagnosticado em quatro casos na Fundação HEMOAM

Ferreira YA¹, Silveira EO¹, Godoy JA², Portugal LD¹, Lemos RA¹, Salina TD¹, Machado LF¹, Pimentel JP¹, Alves EB^{1,3}

¹Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas - FHMOAM, Manaus, AM

²Fundação Centro de Controle de Oncologia do Estado do Amazonas - FCECON, Manaus, AM

³Fundação Universidade do Amazonas - UFAM, Manaus, AM

Introdução: A leucemia linfoblástica aguda T (LLA-T) é uma doença maligna clonal de células T imaturas que acomete de 5 a 15% das LLAs nas crianças e 25% nos adultos. Em 2009, foi descrito um subtipo de LLA-T em crianças denominado de leucemia de células T precursoras iniciais, com um perfil de expressão gênica semelhante às células T precursoras (early T-cell precursors - ETP), uma subpopulação de

timócitos com potencial de diferenciação multilinhagem, tanto para células da linhagem T, quanto mielóides, mas não para B. LLA-ETP apresenta imunofenótipo específico, caracterizado pela ausência de expressão de CD1a e CD8, ausência ou fraca expressão de CD5 (<75%) e expressão de pelo menos 25% de um ou mais antígenos mielóides e/ou de células precursoras: CD13, CD33, CD11b, CD65 e/ou CD117, CD34 e HLADR, respectivamente. Compreende cerca de 12% das LLA-T da infância e 8% dos adultos. Pacientes com LLA-ETP apresentam prognóstico desfavorável com pobre resposta a quimioterapia e alto risco de recaída. O objetivo deste estudo foi determinar a frequência de LLA-ETP em nosso serviço e descrever as principais características clínicas e imunofenotípicas encontradas. **Métodos:** Foi realizado um estudo retrospectivo e prospectivo de 36 (12%) casos de LLA-T de um total de 293 casos de LLA diagnosticados na Fundação Hemoam entre Janeiro de 2009 a Julho de 2013. A imunofenotipagem foi realizada em citômetro de fluxo FACSCalibur da Becton Dickinson, painel com três cores em amostras de medula óssea e sangue periférico. Em 16 casos, utilizamos painel de anticorpos monoclonais direcionado à investigação de LLA-ETP, proposto pelo Grupo Brasileiro de Citometria de Fluxo – GBCFLUX. A análise foi realizada pelos softwares BD Paint-A-Gate e FlowJo. **Resultados:** Dos 16 casos estudados, 4 (25%) apresentaram características imunofenotípicas de LLA-ETP, sendo 3 adultos e 1 criança, 3 do sexo feminino e 1 masculino. Somente a criança apresentou hiperleucocitose e infiltração de mediatino. Não foi observada infiltração do SNC. Cariótipo (+8) foi realizado somente em 1 paciente. CD1a, CD5 e CD8 foram negativos nos 4 casos, CD34 foi expresso em todos, CD117 em 3/3 e HLADR em 1/2; CD13 e CD33 em 3/4 e 2/4 casos, respectivamente, CD11b e CD123 em 2/2 cada. cCD3 e TdT foram expressos em 4/4 e em 2/2 casos, respectivamente. Todos foram negativos para MPO. Quanto à evolução dos pacientes, a criança não respondeu a corticoterapia e foi a óbito na indução; um dos adultos apresentou 60% de blastos no D15 e outro se encontra em remissão medula M1 após 2 ciclos de quimioterapia. **Discussão:** Apesar da pequena casuística de LLA T - 36 (12%), achado comum em nosso serviço e do número de LLA-ETP encontrado (6 - 25%) corresponda ao referido por alguns estudos, acreditamos que este número possa estar subestimado entre nossos pacientes, pela ausência de sistematização no diagnóstico desta leucemia até bem pouco tempo, principalmente nos 20 primeiros casos de LLA-T avaliados. Devido a LLA-ETP apresentar um curso clínico desfavorável com quimioterapia convencional, especialmente nas crianças, concluímos ser de suma importância seu rápido e adequado reconhecimento, que possibilite instituir de forma precoce abordagens terapêuticas alternativas, objetivando melhorar o prognóstico e a sobrevida dos pacientes.

267

Leucoencefalopatia posterior reversível (PRES) relacionada a citarabina em baixa dose: relato de caso

Riani LR¹, Bello RD¹, Lima MA¹, Gonzaga Y¹

¹Instituto Nacional de Câncer

Introdução: A citarabina (araC) é um quimioterápico utilizado principalmente no tratamento da leucemia mielóide aguda (LMA). Sua utilização está associada a toxicidade neurológica, predominantemente cerebelar. Esse efeito é mais visto em pacientes idosos e com a utilização de doses altas da medicação (>1g/m²). Aqui relatamos o caso de um paciente jovem que apresentou toxicidade neurológica (PRES) reversível ao araC em doses convencionais. **Relato de Caso:** Masculino, 19 anos, diagnóstico de LMA com t(3;3). Iniciou tratamento de indução com esquema 7+3 (araC 100mg/m²/dia-7 dias+idarrubicina 12mg/m²/dia-3 dias). Evoluiu com neutropenia febril não complicada e necessidade transfusional. No 21º dia de indução, apresentou quadro de disartria isolada. Realizada ressonância nuclear magnética de crânio que evidenciou áreas subcorticais, com sinal hiperintenso em T2 e FLAIR, sem restrição à difusão ou realce pelo contraste, em região

parietal bilateral, de aspecto inespecífico, além de múltiplos focos esparsos, com as mesmas características, na substância branca dos centros semiovais. Realizada punção lombar diagnóstica e iniciado aciclovir empírico, porém o PCR para herpes, CMV e vírus JC foi negativo e o antiviral foi suspenso. O paciente evoluiu com melhora progressiva do quadro neurológico, apresentando resolução completa em 2 dias, sem tratamento específico. Diagnosticada PRES relacionada ao araC. Evoluiu com remissão hematológica pós indução, com persistência de doença residual mínima e programação de transplante alogênico (aloTMO) em 1ª remissão. Optou-se por seguir tratamento quimioterápico sem a utilização do araC, com mitoxantrona e etoposide, enquanto aguarda realização do alo TMO. **Discussão:** O araC é um quimioterápico análogo da pirimidina efetivo no tratamento da LMA. Em combinação com antraciclina, induz remissão em 75% dos pacientes abaixo de 60 anos. A neurotoxicidade pelo araC ocorre poucos dias após a administração da droga em altas doses e caracteriza-se principalmente por sinais de disfunção cerebelar. Não existe tratamento específico além da suspensão da droga e sua não reutilização. O mecanismo da neurotoxicidade parece estar relacionado ao aumento do estresse oxidativo e lesão ao DNA, levando a apoptose neuronal, além de edema vasogênico. Diversos fatores de risco estão relacionados à neurotoxicidade pelo araC, como a dose cumulativa, idade e disfunção renal. Os achados radiológicos mais frequentes na PRES são lesões com sinal hiperintenso em T2 e FLAIR, sem restrição à difusão ou realce pelo contraste predominantemente em regiões posteriores. Relatamos o caso de um paciente sem fatores de risco (jovem, função renal normal) que apresentou quadro clínico e radiológico compatíveis com neurotoxicidade ao araC em dose convencional. **Conclusão:** A neurotoxicidade é uma complicação relacionada ao tratamento com doses elevadas de araC, principalmente em pacientes idosos e com disfunção renal. Entretanto, a administração de doses convencionais também pode levar à disfunção neurológica, mesmo em pacientes sem fatores de risco aparentes e deve ser considerado no diagnóstico diferencial de pacientes que desenvolvem alteração neurológica durante tratamento com araC.

268

Recaída molecular em pacientes com leucemia promielocítica aguda fora de terapia: relato de casos

Azevedo IF¹, Souto FR¹, Melo FC¹, Neves WB¹, Lima AS², Rego EM², Melo RA^{1,3}

¹Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – HEMOPE

²Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - FMRP/USP

³Universidade de Pernambuco - UPE

Introdução: O protocolo IC-APL 2006 (Consórcio Internacional sobre Leucemia Promielocítica Aguda) mostrou diminuição da mortalidade precoce e aumento da sobrevida global. No entanto, a disponibilidade de métodos moleculares de alta sensibilidade e especificidade gerou novos desafios. Neste trabalho relatamos dois casos de recaída molecular, em pacientes com LPA fora de terapia, atendidos na Fundação Hemope. **Relato de caso 1:** L.C.M., 46 anos, masculino encaminhado em 2007 com suspeita de dengue. O hemograma mostrou Hb = 9.9g/dL, L = 19.000/mm³, Pl = 30.000/mm³ e 77% de promielócitos. O mielograma apresentou 83% de promielócitos (LMA-M3v), o imunofenótipo CD13+ / CD33+ e o cariótipo t(15;17) (q22;q21). A pesquisa do *PML-RARA* na medula óssea (RT-PCR) foi positiva para o *bcr1*. O paciente foi classificado como Alto Risco e tratado pelo IC-APL 2006. A remissão hematológica ocorreu com 32 dias e sem ocorrência de Síndrome de Diferenciação - SD. O *PML-RARA* ficou negativo desde o final da consolidação. O término da quimioterapia foi com 2,8 anos e após 16 meses fora de terapia, assintomático e mielograma normal, uma amostra da medula óssea foi confirmada positiva para o *PML-RARA*. Após orientação e consentimento o paciente foi tratado com Ácido *all-trans*retinoico - ATRA,

Idarrubicina - IDA e Trióxido de Arsênio - ATO. Após a consolidação o rearranjo *PML-RARA* negativou. O paciente não possuía doador compatível e realizou Transplante Autólogo - TCTHa. No entanto, com três meses apresentou recaída hematológica e após cinco dias do reinício do ATRA foi a óbito. **Relato de caso 2:** R.M.S., 36 anos, masculino, encaminhado em 2009 por gengivorragia há 8 dias. O hemograma mostrou Hb = 11.9g/dL, L = 1.000/mm³, Pl = 46.000/mm³ e 77% de promielócitos. O mielograma 90% de promielócitos e o imunofenótipo foram compatíveis com LMA-M3. O *PML-RARA* foi positivo para o *bcr3*. O paciente foi considerado como Baixo Risco e tratado pelo IC-APL 2006. A remissão ocorreu com 26 dias, sem SD e o *PML-RARA* foi negativo ao final da consolidação. Com 14 meses fora de terapia, assintomático e mielograma normal, o *PML-RARA* foi positivo na segunda amplificação (*nested*). Uma nova coleta confirmou a recaída em primeira amplificação (*first*). O paciente possui irmão doador HLA compatível e encontra-se estável após reindução com ATRA e IDA, com programação para ATO e TMO. **Discussão:** O primeiro paciente era de alto risco para recaída e o segundo de baixo risco, exceto, pela presença do *bcr3*. A confirmação da recaída molecular requer positividade em duas amostras consecutivas. No segundo paciente, a positividade na amplificação (em *first*) sugere aumento do número de transcritos e consequente atividade crescente da doença. O tratamento teve boa adesão e sem maiores intercorrências. As opções para a recaída molecular incluem ATRA, ATO, antracíclicos e o TMO autólogo ou alogênico. Este último tem sido sugerido quando não se obtém a remissão molecular. A opção por Idarrubicina deveu-se ao uso anterior da Daunorubicina. O acompanhamento molecular foi importante para caracterizar a recaída e antecipar decisões terapêuticas. A recaída molecular isolada gera desafios quanto à conduta a tomar e de aceitação/adesão do paciente ao tratamento. O diagnóstico e acompanhamento molecular de pacientes com LPA representa um dos exemplos mais relevantes do impacto da genética molecular na hematologia clínica.

269

Isocromossomo 7q em leucemias agudas

Bezerra ED¹, Mariano LC¹, Carvalho PD¹, Cabral TS¹, Leal AM², Kumeda CA², Ferreira PB², Mascarenhas AR², Cristofani L³, Velloso ED^{1,2}

¹Serviço de Hematologia do HCFMUSP

²Laboratório de Citogenética do HCFMUSP

³Instituto da Criança do HCFMUSP

Introdução: As alterações citogenéticas são importantes para a compreensão biológica das neoplasias hematológicas, participando no diagnóstico, prognóstico e escolha terapêutica. O isocromossomo 7q é uma alteração estrutural (duplicação do braço longo e perda do braço curto do cromossomo 7) encontrada em várias doenças onco-hematológicas. É particularmente recorrente nos linfoma de células T hepato-esplênico gama delta. **Objetivo:** Relatar 5 casos de leucemias agudas com isocromossomo 7q diagnosticadas por cariótipo e confirmadas em estudo por FISH. **Caso 1:** Paciente do sexo masculino, 4 anos, com LLAB comum. Cariótipo: 52,XXY,+4,+6,i(7)(q10),+10,+14,+21[10]/46,XY[10], evoluindo em 1ª remissão completa na 64ª semana da manutenção. **Caso 2:** Paciente do sexo masculino, 8 anos, com LLA-T em 3ª recidiva. Cariótipo: XY,i(7)(q10),+8,+20[11]/48,idem,t(5;14)(q35;q11.2)[8]/46,XY[1]. Submetido a TCTH alogênico não-aparecido. Óbito por complicações relacionadas ao tratamento. **Caso 3:** Paciente do sexo masculino, diagnóstico de LLA-B aos 3 anos e recidiva após 7 anos. Cariótipo: 60,XXY,+4,+4,+5,i(7)(q10),+6,+8,+9,+13,+18,+21,+21,+3mar[4]/46,XY[16]. Atingiu 2ª remissão completa com doença residual mínima positiva. **Caso 4:** Paciente do sexo feminino, 47 anos, diagnóstico de LMC em fase crônica há 14 anos. Fez uso de inibidores de tirosina quinase, apresentando falha de resposta e evolução clonal após 6 anos. Cariótipo: 46,XX,t(9;22)(q34;q11)[17]/46,XX, i(7)(q10), t(9;22)(q34;q11)[1]/47,XX,+8,t(9;22)

(q34;q11)[1]/47,XX,(7)(q10),+8,t(9;22)(q34;q11)[1]. Após 8 anos dessa alteração citogenética adicional a doença evoluiu para crise blástica mieloide e o cariótipo mostrou a presença de cromossoma Ph, trissomia 8 e i(7q). Óbito por complicações da doença após recusa a novo tratamento quimioterápico e TCTH. **Caso 5:** Paciente do sexo feminino, 31 anos, com neoplasia mieloproliferativa crônica BCR-ABL negativa e com ausência de mutação JAK2-V617F, evoluiu após um ano com LLA-T. Cariótipo: 46,XX,i(7)(q10)[20]. A paciente evoluiu rapidamente para óbito por complicações da doença de base sem ser submetida à quimioterapia. **Discussão:** Isocromossomos são anormalidades citogenéticas estruturais que resultam em desbalanço gênico, sendo encontrados em diversas neoplasias, sendo os mais comuns os i(17q), i(8q), i(1q), i(12p), i(6p), i(7q), i(9q), i(5p), e (21q). Particularmente, o i(7q) é anormalidade recorrente no linfoma hepato-esplênico gama delta, onde deve representar papel central na sua patogênese. O i(7q) tem sido descrito como anormalidade frequente, porém não isolada nas LLA. Quatro dos cinco casos aqui descritos foram observados em cariótipos com outras anormalidades, em portadores de LLA-B ao diagnóstico (1), LLA-B em recidiva (1), LLA-T em recidiva (1) e LMC em crise blástica mieloide (1). Em um paciente com evolução para LLA-T de NMP, o i(7q) foi detectado como anormalidade isolada cariotípica. **Conclusão:** O isocromossomo 7q é encontrado com maior frequência nas neoplasias linfoides agudas, como anormalidade citogenética secundária.

270

Frequência da mutação FLT3-DIT e associação com características clínicas e laboratoriais em pacientes com leucemia promielocítica aguda no Brasil

Campos CB¹, Melo CP¹, Muniz LG¹, Silva PG¹, Dutra AP², Neto JC², Fenelon AJ², Atalla A³, Carboni EK⁴, Assumpção JG¹

¹Laboratório BIOCOD/Hermes Pardini

²Hospital Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte

³Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora

⁴Hospital Pequeno Príncipe

Introdução: A leucemia Promielocítica Aguda (LPA), ou Leucemia Mieloide Aguda M3, é caracterizada pela presença do gene de fusão *PML-RARA* que resulta da translocação t(15;17)(q22;q12). A duplicação interna em *tandem* no gene *FLT3* (FLT3/DIT) ocorre com frequência em pacientes com LPA e está associada com mau prognóstico. A presença desta mutação pode estar associada a alta contagem de leucócitos ao diagnóstico, febre, hemorragia, coagulopatia, isoforma Bcr3 da t(15;17) e co-expressão dos antígenos de superfície CD2 e CD34. No Brasil, não há dados publicados caracterizando especificamente os pacientes portadores de LPA e mutação FLT3/DIT. **Objetivo:** Determinar a frequência da mutação FLT3-DIT em pacientes com LPA e verificar a associação com características clínicas e laboratoriais. **Métodos:** Foram avaliados 33 pacientes com LPA atendidos entre fevereiro de 2011 e junho de 2013 em Centros de Minas Gerais, Paraná e Sergipe. O RNA foi extraído de medula óssea e foi realizada síntese de cDNA, seguida de Nested-RT-PCR com primers específicos para as isoformas L e S da t(15;17). O DNA foi extraído por Fenol-Clorofórmio, a mutação FLT3-DIT foi detectada através de PCR seguido de eletroforese em gel de poliacrilamida. As variáveis clínicas e laboratoriais contínuas observadas ao diagnóstico (idade, contagem de leucócitos, níveis de hemoglobina e plaquetas) foram estudadas utilizando-se teste-T e as variáveis categóricas (sexo, isoforma da translocação, expressão de antígenos CD2, CD34 e CD56) utilizando-se teste exato de Fisher. **Resultados:** A idade dos pacientes variou de 1 a 79 anos (mediana de 20,6). Dos 33 pacientes, 30 (90,9%) foram positivos para a t(15;17), sendo que 6 (18,2%) foram positivos também para FLT3/DIT. Os sintomas clínicos mais comuns dos pacientes FLT3/IDT+ foram: esquimoses ou petéquias (5 em 6), hemorragia (gengivorragia, sangramento em ferida pós-operatória, metrorragia) (4 em 6) e febre (4 em 6). Não houve diferença significativa

entre os pacientes FLT3/DIT+ e FLT3/DIT- no que diz respeito a sexo, idade, leucócitos, plaquetas e expressão de CD56. O nível de Hemoglobina (Hb) foi mais elevado no grupo FLT3/DIT+ (média 9,8g/dl) quando comparado ao grupo negativo (média 7,6g/dl) ($p=0,011$). A expressão de CD2 e de CD34 foi significativamente mais frequente nos pacientes FLT3/DIT+ ($p=0,027$ e $p=0,001$, respectivamente). A co-expressão de CD2 e CD34 só foi observada nos pacientes FLT3/DIT+ ($p=0,027$). Quanto à análise molecular, a isoforma S (bcr3) da t(15;17) foi mais frequente nos pacientes com FLT3/DIT+ (83%) que nos pacientes FLT3/DIT negativos (29%) ($p=0,026$). **Discussão:** A frequência da mutação FLT3/DIT neste trabalho foi inferior àquela relatada em outro grupo brasileiro (32%) nos casos de LPA, porém está próxima àquela relatada na literatura internacional (22%). Houve uma associação positiva entre a presença da mutação FLT3/DIT e expressão de CD2, expressão de CD34, ocorrência da isoforma S (bcr3) e altos níveis de Hb. Em pacientes brasileiros com LMA já foi relatada a associação entre nível elevado de Hb e mutação FLT3/DIT, sendo o presente estudo o primeiro a mostrar esta associação em LPA. Diferentemente de alguns trabalhos publicados, não foi verificada associação entre a mutação FLT3/DIT e contagem elevada de leucócitos ao diagnóstico. Suporte Financeiro: FINEP, FAPEMIG, CNPq.

271

Assessment of NVP-BKM120, a PI3K inhibitor, in T-all and burkitt lymphoma cell lines

Pereira JK¹, Lopes MR¹, Traina F^{1,2}, Machado-Neto JA¹, Costa FF¹, Saad ST¹, Favaro P^{1,3}

¹Hematology and Hemotherapy Center-University of Campinas/ Hemocentro-Unicamp, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Campinas, São Paulo, Brazil

²Department of Internal Medicine, University of São Paulo at Ribeirão Preto Medical School, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil

³Department of Biological Sciences, Federal University of São Paulo, Diadema, São Paulo, Brazil

Background: The constitutively active PI3K/Akt/mTOR signaling is well described in T-ALL and PI3K activity has recently been identified as cooperating to the development of Burkitt lymphoma, as a proliferative/survival pathway. Thus, the role of PI3K/Akt/mTOR in cell growth and survival, two important features of leukemogenesis, has rendered it a potential pharmacological target in different types of hematological malignancies. **Aim:** Herein, we have studied the therapeutic potential of a highly selective pan-class I PI3K inhibitor, NVP-BKM120, a 2,6-dimorpholino pyrimidine derivative developed by Novartis, on both T-ALL and Burkitt lymphoma cell lines. **Methods:** The T-ALL cell lines Jurkat and Molt-4 and the Burkitt lymphoma cell lines Namalwa and Daudi were obtained from ATCC. NVP-BKM120 was prepared as a 10mM stock solution in DMSO and different concentrations were used: 0µM, 1µM, 2µM, 5µM, 10µM and 50µM. Cell viability was measured using the MTT assay, Clonogenicity by colony formation assay, Apoptosis by Annexin-V/PI staining and by caspase cleavage, and protein expression and activation by Western blot. For detection and quantification of acidic vesicular organelles (AVOs), we performed the vital staining with acridine orange and analyzed by flow cytometry. The comparisons were performed by Mann-Whitney or *t* test. *P* value <0.05 was considered statistically significant. **Results:** Regarding the rates of survival, all cell lines tested displayed an IC50 for NVP-BKM120 around 10µM. NVP-BKM120 at 1µM was already able to interfere with the long-term proliferative potential of the cell lines, observed by a significant decrease of colony formation. After 6 hours of NVP-BKM120 treatment, increased apoptosis determined using Annexin-V/PI, together with cleavage of procaspase-8, procaspase-9 and procaspase-3, were also observed in all cell lines analyzed. Western blot analysis showed a dose-dependent decrease in Ser473 p-Akt, followed by a decrease of the antiapoptotic BCL2 and increase of proapoptotic BAX protein expressions, as well as

P70S6K phosphorylation in all cell lines tested. Total Akt, P70S6K and 4EBP1 levels were unaffected by the drug. We observed that 2µM of NVP-BKM120 increased the strength of the bright red fluorescence signal (that identify the development of AVOs) in Molt-4 (from 0.3% to 12.8%), Daudi (from 1.7% to 9.3%) and in Namalwa cells (from 1.2% to 30.8%). **Conclusion:** NVP-BKM120 treatment resulted in apoptosis of T-ALL and Burkitt lymphoma cell lines, with cleavage of procaspase-8 and procaspase-9, suggesting that both the intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis are activated upon the drug treatment. Differently from mTOR inhibitors, in which treatment can result in signaling feedback loops between mTORC1, PI3K and Akt, NVP-BKM120 treatment resulted in dephosphorylation of P70S6K, 4EBP1 mTORC1 downstream target, as well as Ser473 Akt and BAD. Finally, we observed a slight decrease of BCL2 levels together with increased AVOs suggesting activation of autophagy, and supporting the evidence of inhibition of mTOR signaling, the major negative regulator of autophagy in human cells. In conclusion, our findings suggest that NVP-BKM120 compound represent a promising candidate for therapy of T-ALL and Burkitt lymphoma patients with aberrant activation of PI3K/Akt/mTOR pathway.

272

Quercetin induces cell cycle arrest in human tumor xenograft model

Maso V¹, Calgarotto AK¹, Ramos AL¹, Jr GC¹, Nowill AE¹, Filho PL¹, Vasallo J¹, Saad ST¹

¹Universidade Estadual de Campinas

Quercetin is ubiquitously found in plants and plant food sources, several beneficial health effects have been associated with the dietary uptake of this polyphenolic compound. A variety of studies indicate a possible use of quercetin for cancer treatment through its interaction with multiple cancer-related pathways. The underlying mechanisms of myelodysplastic syndromes involve signal proteins and transcription factors which gives the cell a growth advantage over its normal counterpart. Accordingly, the goal of this work was to identify the quercetin effects using P39 cells in xenografted mice. The myeloid cell line P39, derived from a patient with MDS-chronic myelomonocytic leukemia, was inoculated subcutaneously in NOD.CB17-Prkdc^{scid}/J lineage mice and quercetin (120mg/Kg) was administered once every four days by intraperitoneal. After 21 days, the mice were sacrificed and the tumors were removed for western blotting and immunohistochemistry analyzes. Quercetin treatment reduced 31.6% of tumor volume compared to control. Quercetin induces cell cycle arrest in G1 phase, with reduction of cyclin D and E expression and phosphorylation of Rb. The p21 staining was increased compared to control. We did not observe any significant difference in cyclin A, Cdk2, 4 and 6. The quercetin treatment in xenotransplant model reduces the tumor development, with pronounced induction of cell cycle arrest.

273

Leucemia mieloide aguda em paciente com positividade para FLT3 DIT e D835: relato de caso

Burnatt G¹, Ferreira AS¹, Rudolf-Oliveira RC¹, Cardoso CC¹, Del-Moral JA¹, Santos-Silva MC¹

¹Universidade Federal de Santa Catarina

Introdução: Leucemia mieloide aguda (LMA) é uma doença induzida por uma variedade de anormalidades genéticas com dano na diferenciação celular normal, proliferação e apoptose. Por constituírem um grupo heterogêneo de doenças, as LMAs diferem quanto ao prognóstico e resposta ao tratamento. Vários fatores, como idade, leucocritria ao diagnóstico e alterações citogenéticas, estão relacionados

ao prognóstico. Dentre eles, as anormalidades citogenéticas são consideradas o parâmetro individual de prognóstico mais importante e a sua identificação permite a estratificação prognóstica. Como regra geral, a presença do *FLT3-DIT* em adultos com LMA apresenta pouco ou nenhum impacto na capacidade do paciente de atingir remissão completa, está amplamente associada à alta leucocitose ao diagnóstico, aumento do risco de recidiva e diminuição da sobrevida livre de doença e da sobrevida global. Já o significado prognóstico da *FLT3-D835* ainda é controverso, mas, aparentemente, essa mutação piora a sobrevida livre de doença e a sobrevida global do paciente. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi relatar um caso de LMA com presença simultânea das mutações no gene *FLT3*. **Relato de Caso:** Paciente de 74 anos, gênero masculino, foi admitido no HU-UFSC com indicação de leucose aguda e dor abdominal. O hemograma apresentou leucometria de $27.370/\text{mm}^3$, hemoglobina de $13,40 \text{ g/dL}$, hematócrito de $40,70\%$; contagem de plaquetas $33.000/\text{mm}^3$ e 64% de blastos. O mielograma mostrou a série eritroide normocelular, série granulocítica hiperclular com presença de 54% de blastos com bastonetes de Auer, linfopenia discreta ($8,0\%$) e monocitose ($5,6\%$). Na análise imunofenotípica da amostra de sangue periférico foi observada a presença de $49,1\%$ de blastos (CD45+ fraco, CD34-/+ , CD117+) de origem mieloide (HLA-DR+ , CD13+ , CD33+/++ , MPO-/+) com expressão aberrante de CD19 e CD25 em 43% e 40% das células, respectivamente. Com a compilação desses resultados concluiu-se o diagnóstico de LMA sem maturação. A análise molecular de alterações citogenéticas mostrou positividade para as mutações DIT e D835 no *FLT3*, e a análise da LDH mostrou valor de 435 U/L . O paciente iniciou tratamento para LMA, conforme protocolo estabelecido pelo serviço de hematologia, que prevê um ciclo de indução com citarabina $100 \text{ mg/m}^2/\text{dia}$ em infusão venosa contínua por sete dias associado a daunorrubicina $60 \text{ mg/m}^2/\text{dia}$ por três dias. No entanto, o paciente não apresentou resposta ao tratamento e evoluiu para óbito três meses após o diagnóstico. **Discussão e Conclusão:** No caso relatado, pode-se observar que a análise dos fatores prognósticos indicava que o paciente apresentava prognóstico desfavorável: idade avançada, LDH aumentado, expressão aberrante de marcadores fenotípicos CD25 e CD19 e expressão para as mutações DIT e D835, o que pode justificar o insucesso terapêutico e óbito. A análise da mutação no gene *FLT3* é importante como critério de diagnóstico e avaliação de prognóstico em LMAs, pois a presença destas mutações está associada à maior taxa de recaídas e menor sobrevida, conferindo um prognóstico desfavorável. Entretanto, os dados relacionados à presença das duas alterações no gene *FLT3* não estão bem esclarecidos e a baixa incidência dificulta a correta estratificação prognóstica e decisão terapêutica. Sendo assim, mais estudos devem ser realizados para que decisões eficazes e seguras sejam tomadas.

274

Leucemia linfoblástica aguda B madura (tipo Burkitt) em paciente HIV+: relato de caso

Bergier LL¹, Magalhães MC¹, Almeida AJ¹, Lavinias RS¹, Fernandes AR¹, Ferry FR¹, Oliveira CA¹

¹Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Introdução: O linfoma de Burkitt é uma doença rara no adulto imunocompetente e pode se apresentar ainda mais raramente como uma leucemia aguda, com infiltração difusa da medula óssea e células tumorais no sangue periférico (SP) (LLA-L3). É a neoplasia humana mais rapidamente progressiva e a mais comumente associada à infecção pelo HIV, sendo doença definidora de AIDS. **Relato de Caso:** Feminina, 64 anos, HIV+ com diagnóstico recente, em uso de TARV. Compareceu à UPA com prostração, mialgia, febre, náuseas, vômitos e dispnéia de evolução há três semanas e com piora nos três últimos dias. Ao exame físico observadas petéquias e equimoses difusas, palidez e taquicardia. Exames laboratoriais: Lt $39.000/\text{mL}$, linfócitos 77% , plaquetas 30.000 mm^3 e Ht $32,3\%$. Iniciada antibioticoterapia

para pneumonia. No segundo dia de internação apresentava Lt $91.300/\text{mL}$, com blastos no sangue periférico. No quinto dia evoluiu com Lt $121.200/\text{mL}$, piora da plaquetopenia, anemia e função renal. Transferida para o Hospital Universitário Gaffrée e Guinle (HUGG) quando paciente se encontrava hipocorada, com presença de equimoses disseminadas. Os exames demonstraram Lt $39.100/\text{mL}$, 57% de blastos e piora da anemia, plaquetopenia, função renal e pancreática, sendo suspensas antibioticoterapia e TARV. Hematoscopia de sangue periférico mostrou 100% de blastos PAS e Sudan Black B negativos. Imunofenotipagem nos linfócitos de SP evidenciou 65% de células blásticas de linhagem linfóide B com expressão fenotípica positiva de CD10, CD20, CylgM, SIgM, clonalidade para cadeia leve kappa, expressão fraca e parcial de CD13 e CD33, compatíveis com LLA B madura tipo Burkitt. Recebeu tratamento para hipercalemia, hiperuricemia, transfusões de concentrados de hemácias e plaquetas e iniciou terapia com dexametasona 40 mg/dia . Evoluiu com rebaixamento do nível de consciência, aumento de equimoses e anasarca. No segundo dia de internação no HUGG, apresentava Lt $12.600/\text{mL}$, linfócitos 90% e piora da função renal e pancreática. No sexto dia de internação apresentava Lt $634/\text{mL}$, piora da plaquetopenia e anemia, sem melhora dos outros parâmetros. Paciente foi a óbito ao final de doze dias de evolução desde a internação na UPA. A biópsia e a imunofenotipagem de medula óssea, realizada no período de grave pancitopenia, mostraram aplasia de medula óssea. O imprint de medula óssea evidenciou necrólise, raros elementos celulares, presença de células atípicas em ninhos, de difícil identificação e espessas nos esfregaços. O cariótipo medular não mostrou evidência de doença clonal, exceto por um pequeno número de metáfases com deleção do cromossomo 7. **Conclusão:** Apresentamos um caso de LLA B madura tipo Burkitt apresentando evolução rapidamente progressiva até o óbito, conferindo prognóstico desfavorável.

275

Leucemia promielocítica aguda: mortes precoces em hospital terciário de Porto Alegre - RS

Breunig RC¹, Sarturi BF¹, Spindler BM¹, Contin LC¹, Weber CS¹, Bittencourt RI¹, Daudt LE¹

¹Hospital De Clínicas de Porto Alegre

Introdução: A leucemia promielocítica aguda (LPA) é um subtipo de leucemia mieloide aguda caracterizada pela morfologia, coagulopatia com risco de vida, e uma translocação balanceada t(15,17). A introdução do agente de diferenciação ácido transretinóico (ATRA), tornou a doença com alta possibilidade de cura. Apesar desta melhoria dramática, a morte precoce, principalmente devido à hemorragia, antes e durante a terapia de indução continua sendo a principal causa de fracasso do tratamento desta doença. **Objetivo:** O estudo visa identificar todas as mortes precoces nos pacientes com LPA e avaliar sua taxa, suas causas e o perfil desses pacientes. **Métodos:** Foi realizada uma revisão de prontuários dos pacientes com diagnóstico confirmado através de teste molecular (PCR +), que iniciaram terapia entre janeiro de 2007 e julho de 2013 no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Morte precoce foi definida como morte durante os primeiros 30 dias do diagnóstico. **Resultados:** Neste período foram diagnosticados 41 pacientes, com a média de idade $37,2$ anos (16 e 77 anos), com a maioria $53,7\%$ (22) do sexo feminino. Entre os 41 pacientes 6 ($14,6\%$) eram baixo risco, 13 ($31,7\%$) risco intermediário e 22 ($53,7\%$) alto risco. Todos receberam tratamento conforme o protocolo do Consórcio Internacional de Leucemia (IC-APL) – Grupo de Cooperação do Brasil. Em 1 caso houve violação do protocolo, associando daunorrubicina e citarabina ao ATRA na indução. Foram registradas 4 mortes precoces: 2 óbitos por acidente vascular encefálico (AVE) hemorrágico; 1 por sepse e 1 por trombose em seio cavernoso. Todos os pacientes estavam na indução e eram de alto risco. A taxa de morte precoce foi de $9,8\%$. A taxa de mortalidade geral foi de $12,2\%$, além das mortes precoces, houve mais um óbito por recaída também em um paciente de alto risco.

Conclusão: A taxa de morte precoce nos pacientes com LPA no nosso serviço é compatível com a literatura vigente. Todos os óbitos foram em pacientes estratificados como alto risco, reforçando a necessidade de pronta identificação, estratificação e urgência de iniciar a terapia nesse subgrupo. Confirmamos que a morte precoce permanece um forte desafio no manejo dos pacientes com LPA.

276

Eosinophil chimerism in the differential diagnosis between DEK-CAN+ acute myeloid leukemia relapse and chronic graft versus host disease

Souza CL¹, Bub CB¹, Velloso ER¹, Silveira PA¹, Fernandes JF¹, Odone V¹, Bacal NS¹, Hamerschlag N¹, Campregher PV¹

¹Hospital Israelita Albert Einstein

We report the case of a 16-year old male patient that presented with generalized cutaneous pruritus and fever associated with peripheral blood eosinophilia (absolute count: 7.830/mm³) on August of 2010. We ruled out the most common causes of secondary eosinophilia, and submitted the patient to a bone marrow aspiration that showed erythroid hyperplasia (58,8%), with dyserythropoiesis, eosinophilia (16,4%), dysgranulopoiesis, and 9,6% of blast cells, compatible with the diagnosis of AML-M6 according to the FAB classification. Cytogenetic study showed the presence of t(6;9) (p23;q34), FISH was negative for inv (16) and molecular studies showed FLT3 to be wild type. PDGFRb rearrangement was negative. The patient was treated with 2 cycles of cytarabine based chemotherapy, achieving hematological remission, but with persistent peripheral eosinophilia (absolute count: 920/mm³). The patient received a HLA matched related PBSCT in first remission. Four months after transplant, he presented with worsening of the peripheral blood eosinophilia (absolute count: 10.655/mm³). Bone marrow aspirate revealed blast count < 5% with 50,8% of eosinophils, and decreasing donor chimerism. Cytogenetic study revealed persistence of t(6;9) (p23;q24) associated to other abnormalities, revealing a complex karyotype. He was then submitted to a therapeutic trial with imatinib without response. Afterwards he received cytarabine plus azacytidine followed by DLI. The patient recovered counts with 100% donor chimerism and developed signs of cGVHD affecting eyes, skin and liver. Bone marrow evaluation revealed complete morphological and cytogenetic remission with normal eosinophil counts and 100% donor chimerism. He was then treated with prednisone and tacrolimus with good control of GVHD. Eleven months later, during tacrolimus taper, the patients developed eosinophilia again. Bone marrow evaluation revealed morphologic and cytogenetic complete remission with 100% donor chimerism. Since eosinophilia had been a marker of AML activity in this patient, it became crucial to define whether this represented an impending relapse. We then performed eosinophil enrichment of peripheral blood eosinophils with Easysep (CD66b) beads, reaching a final sample with 80% of eosinophils (CD45high/CD16negative/CD13positive), and performed chimerism analysis in this sample. The results were compatible with 100% eosinophil donor chimerism, what ruled out the possibility of recipient neoplastic eosinophils. Two weeks later the patient developed worsening of cGVHD symptoms with sustained eosinophilia. Upon adequate treatment, the eosinophilia resolved and we interpreted it to be secondary to cGVHD activity. Afterwards we designed a PCR reaction specific for DEK-CAN rearrangement and tested retrospectively all bone marrow samples RNA we had stored. While the test was positive in all previous episodes of eosinophilia, the last sample was negative, in agreement with the eosinophil chimerism finding. The patient is now in complete molecular remission 24 months after DLI with good cGVHD control. In conclusion, we have described a case of AML with DEK-CAN rearrangement with eosinophilia. Additionally we have demonstrated how the study of eosinophil chimerism can be essential in the differential diagnosis between "neoplastic" and reactional eosinophilia.

277

Análise de sobrevida e mortalidade em pacientes com leucemia mieloide aguda (LMA) não M3 entre os anos de 2007 e 2012 no Hospital de Clínicas de Porto Slegre (HCPA)

Sarturi BF¹, Spindler BM¹, Contin LC¹, Breunig RC¹, Weber CS¹, Daudt LE¹, Bittencourt RI¹

¹Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Nas últimas décadas, houve uma melhora substancial nas taxas de mortalidade na Leucemia Promielocítica Aguda (LMA M3). Entretanto, as LMA não-M3, apesar de todos os avanços na terapia de suporte e no esquema quimioterápico, seguem com altas taxas de mortalidade em todo o mundo. Objetivo: analisar as taxas de sobrevida e de mortalidade entre os pacientes diagnosticados no HCPA entre o período de 2007 a 2012 e comparar as taxas de sobrevida e mortalidade de acordo com o subtipo da Fab. **Métodos:** Estudo retrospectivo observacional por meio de revisão de prontuários de pacientes diagnosticados com LMA no período de janeiro de 2007 a julho de 2012. **Resultados:** Dos 63 pacientes analisados, a média de idade foi de 45,87 anos (DP: ±14,173), 41 (65,1%) pacientes eram do sexo feminino. Houve 46 óbitos (73%). Os subtipos da Fab mais prevalentes foram o M1, com 27% (n=17) e o M5, com 15,9% (n=10). A média sobrevida em meses dos grupo de pacientes com M0 a M2 (n=37) foi de 16,59 (DP: ±17,42); do grupo de pacientes com M4 a M5 (n=19) foi de 16,84 (DP: ±17,66) e do grupo de M6 a M7 (n=6) foi de 27 (DP: ± 21,50). A média de sobrevida em meses de todos os pacientes foi de 17,67 (DP: ±17,84). Não houve diferença significativa da média de sobrevida em meses entre os grupos (Anova: p=0,410). A sobrevida em 76 meses foi de 22%. No grupo de M0 a M2 (n=37), houve 27 óbitos (73%); no grupo de M4 a M5 (n=19), houve 16 óbitos (84,2%) e no grupo de M6 a M7 (n=6) houve 3 óbitos (50%). Não houve diferença significativa entre os grupos (qui-quadrado: p=0,239). **Conclusão:** A sobrevida dos pacientes com LMA não-M3 que estiveram internados no HCPA nesse período é um pouco menor que a encontrada na literatura.

278

Esquistossomose em paciente com LLA: um relato de caso

Vassalli LC¹, Oltramari MR¹, Arantes AQ¹, Leal CT¹, Bellintani LM¹, Ramos AF¹, Candolo AA¹, Ferreira LR¹, Simões BP¹, Chahud F¹

¹Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Introdução: A esquistossomose é uma doença tropical causada por platelmintos trematódeos do gênero *Schistosoma*. De acordo com a organização mundial de saúde, cerca de 200 milhões de pessoas em 74 países do mundo estão infectadas. O tratamento já foi bem estabelecido e a principal droga utilizada é o praziquantel. Contudo, não encontramos na literatura relatos de caso da doença em pacientes neutropênicos e nem como a doença se comporta nessas situações. **Relato de Caso:** CS, 39 anos, masculino, natural de Palmares (PE), previamente hígido, admitido com quadro iniciado há 1 mês de dor abdominal em hipocôndrios, bilateralmente, sensação de plenitude e saciedade precoce, astenia, febre e diarreia, além de equimoses e petéquias espontâneas. Há cerca de 15 dias apresentava enterorragia moderada e perda ponderal de 8 Kg. Os exames laboratoriais mostraram hemoglobina de 7,8 g/dl, hematócrito de 23%, 2500 leucócitos/ μ l e 6.000 plaquetas. Mielograma com 90% de blastos, recebendo diagnóstico de Leucemia Linfóide Aguda B (LLA) com t(9;22) BCR/ABL positivo. Iniciado tratamento com protocolo GMALL. Após cinco dias, evoluiu com piora importante da dor abdominal, acompanhada de

distensão, taquipneia e hipotensão. Realizado ultrassom para abdome agudo (FAST) com presença de grande quantidade de líquido livre em cavidade abdominal. Foi, então, levado ao centro cirúrgico para laparotomia exploradora, com achado de ruptura esplênica, feita a esplenectomia. O exame histopatológico do baço não sugeriu nenhuma doença específica. Cerca de um mês após a cirurgia, evoluiu com neutropenia febril e quadro clínico de dor abdominal associada a diarreia sanguinolenta, com hipótese diagnóstica inicial de colite neutropênica, sendo iniciada antibioticoterapia. Como não havia melhora do quadro, introduzida terapia antifúngica empírica. Após uma semana e persistência dos sintomas, realizada colonoscopia com biópsia, que evidenciou presença de ocasionais microabscessos eosinofílicos e estruturas fortemente sugestivas de ovos de *Schistosoma mansoni*. Realizou ainda parasitológico de fezes que encontrou ovos do mesmo parasita. Iniciada terapia com praziquantel. Após cinco dias apresentou melhora importante do quadro clínico e da neutropenia, dando continuidade a quimioterapia. Depois de 10 dias houve nova neutropenia febril, com dor abdominal e diarreia sanguinolenta. Reiniciada antibioticoterapia, porém, novamente com manutenção do quadro clínico, mesmo após melhora da neutropenia. Dessa forma, foi indicada novamente terapia com praziquantel, com resolução da dor abdominal e da diarreia após 3 dias. O paciente foi submetido a transplante alogênico de medula óssea, sendo realizado o praziquantel antes do condicionamento. Não houve outras intercorrências relacionadas ao parasita nesse paciente. Atualmente, o paciente se encontra no D+65 do TMO, em remissão da leucemia. **Conclusão:** Apesar de ser uma doença bem conhecida, não encontramos relatos de esquistossomose em pacientes com leucemia, nem sobre a melhor forma de tratamento para esses pacientes. A terapia instituída neste caso foi baseada na evolução clínica do paciente e discussão do caso entre as equipes de Hematologia e Infectologia do hospital.

279

Sarcoma granulocítico em pele e pancitopenia como manifestações iniciais de lma: relato de caso

Fernandez IR¹, Beltrão AC¹, Teixeira SH¹

¹Hospital Ophir Loyola

O sarcoma granulocítico (SG), cloroma ou tumor mielóide extramedular, é uma massa tumoral de células mielóides imaturas que aparece em locais extramedulares, principalmente tecido ósseo, pele e gânglios. A massa tumoral pode preceder ou ocorrer após diagnóstico de leucemia mielóide aguda (LMA), leucemia mielóide crônica, assim como outras doenças mieloproliferativas ou mielodisplásicas. Pode ainda ocorrer na recaída de LMA previamente tratada, acometendo mais frequentemente, as estruturas ósseas, gânglios linfáticos e pele. Os mieloblastos no SG expressam antígenos associados a células mielóides, como CD13, CD33, CD117 e MPO. Os monoblastos dos sarcomas monoblasticos apresentam antígenos de superfície, CD14, CD116, CD115 e usualmente reagem com anticorpos para lisozima, CD68 pela imunohistoquímica. Relatamos um caso de SG com infiltrações cutânea e pancitopenia como manifestações clínicas iniciais, diagnóstico confirmado por achados citológicos e imunofenotípicos da medula óssea e imunohistoquímica de lesão de pele. Paciente A.S.C., 66 anos, masculino, agricultor, procedente do interior do estado do Pará, admitido no Serviço de Hematologia do Hospital Ophir Loyola, em abril de 2013, com relato de aparecimento de lesão ulcerada em membro inferior direito há seis meses com piora progressiva e reação de Montenegro positiva além de pancitopenia motivo pelo qual internou no setor. Referia internamento prévio em outros hospitais onde já havia sido feita biópsia da lesão ainda sem resultado. Ao exame físico, apresentava bom estado geral, hipocrato (2+/4+), hidratado, afebril, eupneico, normotenso, anictérico. Ausculta cardíaca e pulmonar dentro da normalidade. Exame abdominal sem visceromegalias e indolor à palpação. Sem linfadenomegalias em cadeias periféricas e membro inferior direito apresentava

lesão ulcerada e infiltrante sangrante e já com infecção secundária com maior diâmetro de 8,0 cm. Apresentava ainda lesões cutâneas em placas, eritemato-descamativas, pruriginosas em tórax. O resultado do primeiro mielograma foi sugestivo de leucemia linfóide crônica entretanto a imunohistoquímica sugeriu LMA e a biópsia da lesão ulcerada em pele sugeria infiltrado linfóide e imunohistoquímica revelou sarcoma granulocítico. A avaliação radiológica não mostrou envolvimento ósseo. Exames laboratoriais: Hb: 7,0g/dL, Ht: 21%, hemácias normocíticas e normocrômicas; leucócitos: 1.200x10⁹/L, sem blastos; e plaquetas: 40x10⁹/L. Sorologias para sífilis, HIV 1 e 2, HTLV 1 e 2, hepatite B e C negativas. Imunohistoquímica da lesão ulcerada em pele: CD20, CD34, CD2 e CD68 negativos e CD45RB e MPO positivos, concluindo que a positividade para MPO indica a origem mielóide das células neoplásicas, confirmando o diagnóstico de leucemia mielóide aguda/sarcoma granulocítico. Foi iniciado protocolo para LMA: ara-c x daunorrubicina 7x3, além de antibioticoterapia para infecção secundária da lesão a qual apresentou regressão, entretanto o paciente evoluiu a óbito por complicações hemorrágicas. No caso descrito, evidenciamos um diagnóstico difícil pois o paciente já havia iniciado tratamento para Leishmaniose e não apresentava blastos em sangue periférico, além de discretas alterações em exame físico. O envolvimento cutâneo em LMA é manifestação comum, entretanto SG sem manifestações leucêmicas é uma condição rara. O diagnóstico pode ser difícil sem imunohistoquímica.

280

Sarcoma granulocítico de ovário em paciente com leucemia mielóide aguda em remissão hematológica há dois anos

Fassina KZ¹, Capra ME¹, Pithan CF¹, Catelli DH¹, Moreno FL¹, Vilela LP¹, Schuh H¹, Fenili AC¹, Vidor S¹

¹Serviço de Hematologia do Hospital Nossa Senhora da Conceição, Porto Alegre, RS

Relata-se o caso de paciente feminina, 29 anos, que em janeiro de 2011 teve diagnóstico de Síndrome mielodisplásica risco intermedário-1 (três citopenias, 10% blastos, cariótipo com monossomia do X). Em abril de 2011 evoluiu para 20% de blastos, manteve cariótipo semelhante ao anterior, sendo diagnosticada leucemia mielóide Aguda M2. Após indução com citarabina e daunorrubicina (7+3) e três ciclos de altas doses de citarabina, apresentava-se em remissão, com cariótipo normal. Foi então encaminhada para TMO alogênico, porém não possui doador aparentado. Em abril de 2013 veio à consulta com dor pélvica e metrorragia. Tomografia computadorizada abdominal realizada em maio de 2013 evidenciou tumoração anexial bilateral, uma com 17,0 x 12,0 x 15,0 cm à direita e 14,5 x 10,0 x 13,0 cm à esquerda. Em maio de 2013 também apresentava hemograma normal, menos de 5% de blastos na medula óssea e cariótipo normal (46XX). Em 08 de julho de 2013 foi submetida à anexectomia bilateral + omentectomia parcial. O estudo imuno-histoquímico foi positivo para CD34, CD117, e mieloperoxidase, e negativo para DC8, citoqueratina, inibina e PLAP, finalizando o diagnóstico de sarcoma granulocítico. O sarcoma granulocítico (SG) é um tumor sólido extramedular, constituído por células precursoras de granulócitos. É geralmente associado à leucemia mielóide aguda ou raramente a outras desordens mieloproliferativas. O tumor geralmente ocorre precedendo uma leucemia mielóide aguda, durante o seu curso ou após a remissão ter sido alcançada. O prognóstico é pobre e tem como principais modalidades terapêuticas a quimioterapia e a radioterapia. Esta paciente está há dois anos em remissão hematológica e será tratada com quimioterapia. Está também inscrita em programa de transplante de medula óssea não aparentado, ainda sem doador compatível.

281

Recaída de leucemia linfóide aguda anormal pós-transplante de medula óssea: relato de caso

Carvalho NB¹, Amorim KD¹, Ribeiro ML¹, Lira AR¹, Queiroz MY¹, Monteiro PJ¹, Gomes BA¹, Duarte CM¹, Dantas EA¹, Botelho LF¹

¹Universidade Federal da Paraíba

Introdução: A leucemia linfóide aguda (LLA) é uma doença maligna do sistema hematopoiético, caracterizada pela proliferação descontrolada dos linfoblastos, encontrados na medula óssea, timo e nos gânglios linfáticos. A incidência nos adultos é de 20%, apresentando um prognóstico reservado, sendo o imunofenótipo tipo B, alterações cromossômicas e a presença do cromossomo Ph positivo os principais fatores de risco. De acordo com os aspectos imunofenotípicos dos linfoblastos, a LLA é classificada em de linhagem T ou B. O quadro clínico se caracteriza por anemia, hemorragia, infecções, dor óssea, acometimento do SNC, adenomegalia. O diagnóstico é feito pelo mielograma, associado à imunofenotipagem e estudo genético. O tratamento se baseia na poliquimioterapia, e em casos selecionados, no transplante de células tronco hematopoiéticas. Alguns estudos demonstram que pacientes transplantados com irmão HLA 100% compatível na primeira remissão têm um chance de 40% a 60% de tempo de sobrevida livre da doença. **Relato de Caso:** CMMC, 31 anos, sexo feminino, inicia acompanhamento ambulatorial após um transplante de medula óssea alogênico. A doença de base era uma leucemia linfóide aguda de células pré-B, sendo o transplante realizado em primeira remissão com um doador aparentado 100% compatível. A doadora tem tipo sanguíneo A+ e receptora O+. Foram usadas células tronco periféricas após condicionamento com Ciclofosfamida e Etoposídeo. O acompanhamento no serviço teve início aproximadamente seis meses após o transplante e a paciente se encontrava em remissão. Após aproximadamente dois anos e três meses do transplante a paciente passa a apresentar dor nos pés sem melhora com analgésicos comuns. Ao ser encaminhada para um ortopedista foi realizada uma ressonância magnética onde foram visualizadas lesões de aspecto permeativo, com limites imprecisos dispersos na medula óssea. Foi realizado um mielograma no esterno que demonstrou uma medula normal. Paciente foi investigada quanto possibilidade de recidiva e apresentou mielograma, hemograma, DHL e imunofenotipagem de medula óssea sem alterações. Com o tempo as dores tornaram-se refratárias ao tratamento com anti-inflamatório e devido ao agravamento do quadro resolve-se realizar uma biópsia de medula óssea do tornozelo. Na biópsia foi encontrada uma medula óssea hiperplásica infiltrada com células imaturas. O painel imuno-histoquímico foi compatível com linfoma linfoblástico de células B/leucemia linfóide aguda. A tipagem da paciente mantinha padrão do doador. Repetido mielograma em outro sítio que era normal. Realizada punção líquórica e resultado sem alterações. Paciente reencaminhada para centro de TMO afim de realizar DLI. **Discussão e Conclusão:** A taxa de sobrevida global de pacientes com LLA em 5 anos é de 30%-40% para os pacientes com menos de 60 anos. Na literatura há uma discussão do benefício que o paciente adulto pode ter com o transplante de medula óssea. Há estudos que demonstram o benefício do mesmo em pacientes não-grave e que possuem doador aparentado, ou seja, a paciente em questão se encaixa no grupo onde é recomendado realizar o transplante. A recidiva da doença costuma ocorrer na medula óssea de forma generalizada sendo reconhecida no mielograma. No caso em questão a recaída ocorreu apenas na medula óssea do pé dificultando o diagnóstico.

282

Leucemia mieloide aguda como manifestação secundária a linfoma do manto politratado - relato de caso

Saraiva SS¹, Barreto WG¹, Giacon PP¹, Russo R¹

¹Hospital Santa Marcelina - São Paulo(SP)

Introdução: A neoplasia mielóide secundária(NMS)é complicação tardia descrita de cursos quimio/radioterápicos.A incidência entre os pacientes tratados com agentes citotóxicos varia de acordo com o protocolo utilizado e a doença em alvo. Apresentamos um caso de um paciente masculino de 57 anos,com tratamento quimioterápico prévio para Linfoma do Manto (LCM),evoluindo com NMS. **Relato de Caso:** MCL,57 anos,coronariopata, esteve em 1ªavaliação pela Hematologia do Hospital Santa Marcelina (HSM) em jan/11,com quadro de astenia, perda ponderal de 10kg e aumento do volume abdominal havia 4 meses.Tomografias computadorizadas(TCs) de pescoço, tórax e abdome compatíveis com linfonodomegalias generalizadas, associadas a esplenomegalia.Imunohistoquímica de biópsia de linfonodo com marcadores CD3 +, CD20+, CD10+, CD23+, CD5+,ciclina D1+, CD7+,Bcl2 oncoproteína + e ki-67+.Biópsia de MO com celularidade de 98% com infiltração por LNH:DHL:221mg/dl,confirmando diagnóstico de LMC IIIB MIPi Intermediário. Após 5ºciclo de HyperCvad, em jul/11,TCs com esplenomegalia e desaparecimento de demais linfonodos.Em jun/12,mantendo esplenomegalia sintomática,seguiu protocolo PROMACE(4ciclos)e encaminhado ao pré-TMO,sem doador compatível.Término de 4ºciclo em set/12,persistindo com esplenomegalia de grande monta e sintomas B.Reavaliação em dez/12:imunofenotipagem do sangue periférico com 14%blastos;mielograma hiperplásico com 9%blastos e moderada displasia das 3 séries; cariótipo(kt)46,XY, del (4)(q21), del (10) (q22), -11, del (12) (p13), add(13) (q34), del (13) (q14), del (18) (q21), +mar1, +mar2[cp19]46,XY[1];BCR-ABL negativo,JAK-2 com mutação heterozigótica e biópsia de MO hiperplásica com agregados de blastos de padrão mielóide.Internado,optou-se,devido comorbidades e altas doses prévias de antracíclicos,pelo protocolo VP+ARAC.Seguiu com citarabina subcutâneo e hidroxiuréia como esquema paliativo ambulatorialmente,em acordo com paciente e familiares.Evoluiu com sepse e choque séptico refratário, com óbito em 14/04/2013. **Conclusão:** O paciente descrito apresentava inicialmente LCM,evoluindo para NMS,relacionando-se diretamente ao politratamento previamente empregado.Sabe-se que,em 20-30% dos casos,a 1ªmanifestação deste tipo de entidade é a forma aguda da doença,não precedida por mielodisplasia.A maioria dos casos está relacionada com translocações que envolvem 11q23 ou 21q22. Em 90% das células nas NMS há anormalidades no kt,destacando perda parcial ou total dos cromossomos 5 e/ou 7,em geral associadas com 1 ou mais anormalidades cromossômicas adicionais(del (13q), del (20q), del (11q), del (3p), -17, -18, -21, +8).Usualmente relacionadas com um período latente longo,precedido por uma fase mielodisplásica e terapia alquilante/radioterápica.O prognóstico das NMS é reservado,mas tem-se como fatores agravantes as alterações do kt,comorbidades e a agressividade da doença inicial requerente da terapia alquilante.Estima-se sobrevida de 5 anos em menos de 10% dos casos.Eventos envolvendo anormalidades do cromossomo 5 e/ou 7 e kt complexo têm particularmente pior prognóstico,com sobrevida média menor que 1 ano.Convergente à literatura,o caso apresentado é exemplo de prognóstico ruim,envolvendo politerapia prévia, gravidade de doença inicial e alteração citogenética complexa.

Tetraploid karyotype in minimally differentiated leukemia: a rare entity

Nogueira DS¹, Pelloso LA¹, Melo MK¹, Rohr SS¹, Yamamoto M¹, Chauffaille ML¹

¹Disciplina de Hematologia e Hemoterapia UNIFESP/EPM

Background: Tetraploid karyotype in Acute Myeloid Leukemia (AML) is a rare event with an estimate of 1% or less of AML. It is a rare chromosome number aberration in AML. Less than 70 tetraploid or near-tetraploid AML cases have been reported till now. It appears that tetraploidy represents a later karyotypic change evolved from the initial chromosome changes occurring at diploid stage. **Case Report:** 35-year-old male patient referred pallor, fatigue and inappetence for over one year with worsening of complaints and pain in lower limbs for one month. Physical examination revealed pallor and neck lymph nodes measuring 1cm. Laboratory revealed anemia, leukocytosis and thrombocytopenia. Peripheral blood smear presented 69% large blast cells with increased nuclear cytoplasmic ratio, lacy chromatin, irregular nuclear membrane without Auer rods. Bone marrow aspiration was hypercellular with 84% type 1 myeloid blast cells (lacy chromatin, basophilic cytoplasm, no Auer rods). Immunophenotyping from bone marrow revealed 82% blast cells positive for CD45, Myeloperoxidase, CD34, HLA-DR, CD38, CD117, CD33, CD36, CD71, CD4 and were negative for CD11, CD11c, CD15, CD65, CD64, Glycophorin A, CD35, CD41, IREM-2, cIgM, CD19, CD20, CD10, CD7, CD5 and CD56. G-banding karyotype revealed tetraploid cells 92,XXYY[20]. Under World Health Organization classification patient was categorized into Acute Myeloid Leukemia Not Otherwise Categorized subtype Acute myeloblastic leukemia without maturation. The patient received induction chemotherapy with daunorubicin and cytarabine; admission ECOG 0 and Karnofsky 100%. During induction he developed diarrhea, abdominal pain, nausea and vomiting then received broad spectrum antibiotic. Sixteen days after induction abdominal pain evolved to abdominal distension. Computed Tomography (CT) scan 18 days after induction revealed spontaneous hematoma in fourth portion of duodenum semiobstruction and post-pyloric syndrome. Two days later he developed massive enterorrhagia and abnormalities in coagulation tests. After 32 days of induction there was incomplete hematologic recovery; bone marrow aspiration revealed 4% blast cells with clinical worsening despite complete remission. A new abdomen CT scan showed liver abscess, kidney infarction in left renal upper pole and hematoma in fourth portion of duodenum. Second abdomen scan documented small bowel perforation with fecaloid content in retroperitoneum. Antifungal coverage was initiated. Two days later he developed massive enterorrhagia, hematemesis and underwent open laparotomy exploratory surgery which revealed perforation of fourth segment of duodenum, retroperitoneum necrosis and diffuse bleeding. Patient died 48 days after induction due to multi organ failure. **Discussion:** It is reported that tetraploid or near-tetraploidy accounts for 1% of AML, although other hematological malignancies such as lymphoblastic leukemia, myelodysplastic syndromes, Hodgkin's lymphoma and other non-hematological neoplasms were documented. Morphologically, tetraploidy is usually associated with large, bizarre blast and one may speculate this is due to increased acid nucleic content. Clinically tetraploid has been also associated with low complete remission rate and short survival. Patient was still in incomplete hematological recovery when life-threatening conditions appeared leading to a dismal outcome despite medical and surgical management.

Mortalidade por leucemias na Paraíba e no Brasil de 2000 a 2011

Neves FF¹, Lira AR¹, Ferreira CF¹, Albuquerque LM¹, Júnior AL¹, Carvalho NB¹, Cavalcanti NS¹, Amorim KD¹, Cabral GT¹, Botelho LF¹

¹Universidade Federal da Paraíba

As leucemias constituem um grupo heterogêneo de neoplasias malignas que afetam a produção de glóbulos brancos. São classificadas de acordo com a linhagem acometida (linfóide ou mieloide) e com a forma de progressão da doença (aguda ou crônica), possuindo diversos subtipos a depender do tipo de célula que irá proliferar. A etiologia da maioria das leucemias ainda não foi elucidada, mas há evidências da associação com a exposição a radiações ionizantes, agentes alquilantes utilizados na quimioterapia e exposição ocupacional ao benzeno. No Brasil, a leucemia ocupa a nona posição entre os cânceres, com uma estimativa de 8510 novos casos em 2012, atingindo, em 2010, 5935 mortes (cerca de 54% no sexo masculino). A imunossupressão resultante da doença e/ou induzida pela quimioterapia é uma das principais complicações, tornando as infecções oportunistas causas importantes na morbimortalidade da doença, ao lado da síndrome de lise tumoral e da hiperviscosidade sanguínea. Este trabalho teve por finalidade analisar o padrão de mortalidade por leucemia mieloide (LM) e linfóide (LL) na Paraíba, comparando-o com as taxas nacionais, no período de 2000 a 2011. Foi realizada uma análise epidemiológica descritiva da mortalidade por leucemias na Paraíba e no Brasil, utilizando-se os dados do Sistema de Informação sobre Mortalidade, disponibilizado pelo DATASUS, no período supracitado. Na estatística descritiva, utilizaram-se médias e porcentagens. Para os cálculos e gráficos, utilizou-se o programa Programa Microsoft Excel. Na Paraíba, a taxa de mortalidade por LM apresenta predominância em relação à LL, mantendo esse padrão ao longo dos anos. A diferença chega a ser de 48,15% em 2002. Essa tendência também é observada no Brasil, porém em menores proporções. A sobrevida dos pacientes, desde o advento da quimioterapia oncológica, tem aumentado de forma significativa, especialmente nas leucemias linfóides, o que pode explicar essa diferença. Comparando os anos 2000 e 2011 em números absolutos, verifica-se um aumento da mortalidade tanto por LM como por LL, fato que também se observa no país. Esse aumento na Paraíba pode estar relacionado ao reduzido número de centros médicos especializados no Estado e ao preenchimento mais fidedigno do atestado de óbito, fatos implicados em outro trabalho. Como a leucemia é uma doença frequente nos países industrializados, o crescimento da industrialização no Estado também pode explicar esse aumento. As médias de mortalidade ao ano, tanto na leucemia linfóide como na mieloide, se aproximam muito na Paraíba e no Brasil, com menos de um ponto percentual de diferença entre as taxas. Com isso, concluímos que o padrão de mortalidade por leucemias na Paraíba segue o padrão nacional. É evidente o aumento da sobrevida dos pacientes portadores de leucemia nos últimos anos, fato atribuído à melhoria no diagnóstico precoce e no tratamento, com o advento e a disponibilização de novas drogas. Entretanto, vale ressaltar a disparidade existente entre países desenvolvidos e em desenvolvimento, já que o tratamento é complexo e demanda altos custos. Apesar de todos os avanços, ainda se observam altas taxas de mortalidade, sendo de fundamental importância a garantia de acesso a uma assistência especializada, visando reduzir as causas implicadas na elevada morbimortalidade da doença.

285

Sobrevida global em dois anos de pacientes com leucose aguda estratificada por grupo de leucemia em hospital terciário do estado do Ceará

Silva HF¹, Barbosa ST¹, Oliveira DS¹, Correia JW², Correia JW², Moreira MR²

¹Universidade Estadual do Ceará

²Hospital Geral Cesar Cals de Oliveira

Introdução: As leucemias agudas são um grupo heterogêneo de neoplasias classificadas em dois grandes grupos, a leucemia mieloide aguda (LMA) e a linfoblástica aguda (LLA). Apesar do avanço técnico-científico das últimas duas décadas ainda são um grupo de neoplasias com altas taxas de mortalidade, morbidade e de falhas terapêuticas, sejam elas causadas pela agressividade da neoplasia *per se*, como no grupo das LLAs de cariótipo complexo, ou por falhas operacionais no transcurso do tratamento, como ocorre com o grupo da leucemia promielocítica (LPM) quando da dificuldade do início da terapia com o ácido all-transretinóico. A evolução da terapêutica conseguiu estabelecer grandes índices de indução de remissão, especialmente no que diz respeito ao grupo das mieloides, bem como estabelecimento de melhores protocolos de manutenção de manejo pós-recidiva como no grupo das linfoblásticas. As diferenças dos dois grandes grupos de leucoses agudas repercutem de forma drástica na sobrevida livre de doença e na morbimortalidade oriunda do tratamento. Nesse contexto, a avaliação diferencial da sobrevida das duas grandes entidades se faz necessária para se entender as diferenças inerentes ao comportamento geral de tais neoplasias. **Métodos:** Estudo transversal de sobrevida geral em dois anos (Sv2) estratificada por grupo de leucose realizado com dados de pacientes internados no período de 14 de maio de 2009 a 19 de maio de 2013 da Unidade de Hematologia do Hospital Geral César Cals de Oliveira (HGCCO). **Resultados:** As leucoses agudas são um grupo de neoplasias em progressivo entendimento fisiopatológico, passando sua classificação por mudanças nas últimas décadas com o advento da citogenética e estudos moleculares. Nesse contexto, neoplasias até então fatais, como a LPM, melhoraram muito o prognóstico e a terapêutica bem como o seu entendimento. Apesar da evolução, as leucemias agudas ainda permanecem doenças de grande impacto e gravidade, especialmente no grupo das LMAs, as quais possuem evolução mais progressiva e agressiva. No período estudado, 50 pacientes entraram na análise do estudo, com 54% do sexo masculino e 46% feminino. No decorrer dos dois anos de análise de sobrevida, encontrou-se Sv2 para LMA de 24% e para LLA de 57% (*p-value* = 3,39%). **Conclusão:** Os resultados encontrados na presente análise se correlacionam com os resultados internacionais, os quais demonstram ainda uma evolução mais desfavorável do grupo geral das LMAs em comparação com as LLAs em curtos períodos de sobrevida global. É importante ressaltar que o grupo de leucemias mieloides é muito amplo e heterogêneo, fato que deve ser considerado na avaliação da sobrevida apresentada

286

Estabelecimento de modelos de xenotransplante intramedular das linhagens da LMA OCI-AML3 e THP-1 em camundongos NSG

Benício MT¹, Silva CL¹, Garcia AB¹, Falcão RP¹, Chaud F¹, Rego E¹

¹Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo

Modelos murinos constituem importantes ferramentas para melhor compreensão da biologia das leucemias humanas, além de possibilitarem a avaliação de novas estratégias terapêuticas. O objetivo do presente trabalho foi estabelecer modelos de xenotransplante das

linhagens celulares OCI-AML3 e THP-1, derivadas de pacientes com leucemia mieloide aguda (LMA), em camundongos NSG. Os transplantes foram realizados sem irradiação prévia e a avaliação da enxertia foi realizada por punção aspirativa da tíbia onde as células foram injetadas ou da contralateral, e no sangue periférico. Cinco animais com idade média de 8 semanas foram transplantados com células da linhagem OCI-AML3: 4 receberam injeções intramedulares (tíbia direita) de 2×10^6 células e 1 recebeu injeção subcutânea (S.C.) de 1×10^7 células no membro posterior direito (Quentmeier et al., 2005). Seis semanas após o transplante, a imunofenotipagem da medula óssea dos animais que receberam células pela via intramedular mostrou infiltração de células humanas, assim como a análise histopatológica da bexiga, pâncreas, fígado, rins, vértebras, e estruturas ósseas e musculares próximas ao local da injeção. Por volta do décimo dia após o transplante, o animal que recebeu células OCI-AML3 em injeção subcutânea já apresentava tumor palpável, caracterizado pela análise histopatológica como sarcoma granulocítico. Em relação à linhagem THP-1, 7 animais com idade média de 8 semanas foram transplantados: 3 animais receberam 3×10^6 células via plexo retro-orbital (RO); e 4 animais receberam 1×10^6 células via intramedular (tíbia direita). Dezoito dias após o transplante, os animais que receberam injeções R.O. apresentaram tumores no local da injeção e foram sacrificados. A análise por citometria de fluxo do sangue periférico destes animais não detectou a presença de células humanas CD45⁺. A análise histopatológica revelou que os tumores se tratavam de sarcomas granulocíticos. Os animais que receberam injeções intramedulares foram avaliados 6 semanas após o transplante, quando se constatou que as medulas estavam infiltradas por células humanas, tanto na tíbia onde foi feito o transplante quanto na respectiva contralateral. Nove semanas após o transplante, os animais foram sacrificados devido à detecção de tumores palpáveis no local da injeção. Observou-se também o desenvolvimento de tumores na região abdominal (rins). A análise por citometria de fluxo da medula óssea detectou células humanas em menor percentual do que na avaliação anterior, sugerindo que retornaram à circulação e foram direcionadas a outros tecidos – principalmente onde os tumores sólidos foram detectados. A imunofenotipagem das células isoladas da medula óssea dos animais transplantados com ambas as linhagens revelou que as células humanas apresentavam o mesmo perfil observado antes do transplante, demonstrando que não houve modulação pelo microambiente medular murino da expressão das proteínas de analisadas (CD34, CD38 e CD123), nem emergência de clones não observados anteriormente. Estes resultados demonstram que o estabelecimento do modelo de xenotransplante proposto foi bem-sucedido, consistindo portanto em uma importante ferramenta para o estudo das leucemias caracterizadas pelas principais alterações genéticas encontradas nas linhagens transplantadas: NPM1c⁺ na linhagem OCI-AML3 e t(9;11) na linhagem THP-1.

287

Sobrevida global em dois anos de pacientes com leucose aguda estratificada por sexo em hospital terciário do estado do Ceará

Silva HF¹, Barbosa ST², Oliveira DS¹, Correia JW², Moreira MR², Farias SD²

¹Universidade Estadual do Ceará

²Hospital Geral Cesar Cals de Oliveira

Introdução: O sexo é um importante fator quando se considera a distribuição das doenças, seja pela importância que os fatores hormonais adquirem na gênese de determinada patologia, como ocorre com os cânceres dependentes dos hormônios femininos, ou por contingentes sociais os quais o sexo condiciona, como a maior prevalência de câncer de terço superior de esôfago mais comum em homens, os quais, historicamente, ingerem mais bebidas etílicas que as mulheres. Quando se trata da distribuição da frequência de leucemias agudas,

o sexo também é um importante preponderante, tanto pela maior frequência de leucoses agudas no grupo masculino como pela menor adesão desse grupo de pacientes ao tratamento. **Métodos:** Estudo transversal de sobrevida geral em dois anos (Sv2) estratificada por sexo realizado com dados de pacientes internados no período de 14 de maio de 2009 a 19 de maio de 2013 da Unidade de Hematologia do Hospital Geral César Cals de Oliveira (HGCCO). Total de pacientes: 50 (54% homens, 46% mulheres). **Resultados:** As leucoses agudas são um grupo de doenças de grande impacto nos sistemas de saúde. A Organização Mundial de Saúde (OMS) pontua tal grupo de patologias como o oitavo tipo de câncer mais frequente no adulto, com altas taxas de mortalidade e morbidade, a despeito dos avanços dos últimos anos. No grupo de pacientes estudados, o qual possuía 54% do total composto por homens e 46% por mulheres, a Sv2 estratificada por sexo para o grupo masculino foi de 37,5% e para o grupo feminino foi de 31,5% ($p\text{-value}=46\%$). **Conclusão:** Os resultados não permitem se concluir que haja no grupo estudado diferença significativa de Sv2 estratificada por sexo. Tal fato pode ser explicada pela maior presença de mulheres com diagnóstico de LMA, a qual, no grupo estudado, foi preditor independente de mortalidade.

288

Fatores preditores de desfecho fatal em pacientes com leucose aguda tratada em hospital terciário do Ceará

Silva HF¹, Barbosa ST², Oliveira DS¹, Correia JW², Moreira MR², Farias SD², Barbosa OA²

¹Universidade Estadual do Ceará

²Hospital Geral Cesar Cals de Oliveira

Introdução: O tratamento das leucoses agudas é baseado em fármacos que diminuam o potencial mitótico das células neoplásicas, retirando delas a vantagem proliferativa que esta detém sobre as outras células da medula óssea (MO). Nesse contexto, é de vital importância estratificar os pacientes que receberam o tratamento em grupos de maior risco para desfecho fatal. Classicamente, existem vários modelos e protocolos com estratificação por idade, leucemia, presença ou não de síndrome mielodisplásica precursora. No presente estudo, avaliou-se a importância de fatores como grupo etário, sexo e tipo de leucose aguda como preditor em grupo de pacientes tratado em hospital terciário. **Métodos:** Estudo transversal que busca relacionar grupo de idade (abaixo e acima da mediana de 35 anos), sexo e tipo de leucose aguda (LLA ou LMA) em grupo de 50 pacientes internados no período de 14 de maio de 2009 a 19 de maio de 2013 da Unidade de Hematologia do Hospital Geral César Cals de Oliveira (HGCCO) como preditores de desfecho fatal. **Resultados:** Do total de 50 pacientes, 27 (54%) são do sexo masculino, 23 (46%) do feminino; mediana de 35 anos (14-83 anos); 14 (28%) LLAs e 36 (72%) de LMAs. O fato de o paciente ter LLA foi fator protetor de desfecho fatal em comparação com o paciente com LMA (OR=0,25, IC 95%=0,06-0,9); o grupo etário e o sexo não se relacionaram com melhor prognóstico nos pacientes estudados. **Conclusão:** Os resultados foram compatíveis com o da literatura internacional no que diz respeito a menores taxas de desfecho fatal no grupo de pacientes com LLA, tanto pela abordagem terapêutica avançada como a possibilidade de esquemas de resgate e transplante de MO com maiores taxas de pega. Vale salientar que o grupo de LMAs teve maior peso amostral o que também é um fator que deve ser considerado na interpretação.

289

Distribuição percentual de alterações cariotípicas em pacientes tratados com LMA no hospital terciário do estado do Ceará

Silva HF¹, Barbosa ST², Oliveira DS¹, Correia JW², Barbosa OA², Moreira MR², Farias SD²

¹Universidade Estadual do Ceará

²Hospital Geral Cesar Cals de Oliveira

Introdução: A leucemia mieloide aguda (LMA) foi de certo o grupo de leucemias que mais sofreu alterações na sua classificação desde o início das tentativas para classificar tais neoplasias. A separação dos grupos com alterações cromossômicas comuns trouxe grande impacto no manejo de tais leucoses, facilitando o entendimento de que tal grupo, especialmente a leucemia promielocítica (LPM), são um grupo diferenciado do grande bloco das leucemias mieloides. A LPM é uma neoplasia com frequência estimada em 8-10% das LMAs, mas estudos vem indicando há algum tempo a maior prevalência deste tipo de leucose no Brasil, chegando a perfazer cerca de 20% das LMAs. **Métodos:** Estudo transversal com 22 pacientes diagnosticados com LMA no Hospital Geral Cesar Cals de Oliveira (HGCCO) no período de 14 de maio de 2009 a 19 de maio de 2013. Resultados: do total de 22 pacientes estudados, 36% possuíam uma translocação balanceada do 15:17, 23% tinham cariótipo normal e 41% possuíam cariótipo com aneuploidia (45, 47, 48 cromossomos). **Conclusão:** A frequência de LPM no Brasil é discordante da frequência em países desenvolvidos onde as grandes séries de estudo são realizadas. Aqui elas perfazem cerca de 20% das LMAs enquanto nos países desenvolvidos esta frequência não ultrapassa os 10%. Tal fato também foi encontrado em nossa série, revelando a importância de que o sistema de saúde público brasileiro esteja capaz de adequar suas políticas à nossa realidade, facilitando o manejo de tal leucose aguda com fármacos capazes de diminuir ou até mesmo silenciar a atividade da proteína alterada oriunda da translocação balanceada do 15:17.

290

Distribuição percentual de alterações cariotípicas em pacientes tratados com LLA no Hospital Terciário do Estado do Ceará

Silva HF¹, Barbosa ST², Oliveira DS¹, Correia JW², Barbosa OA², Moreira MR², Farias SD²

¹Universidade Estadual do Ceará

²Hospital Geral Cesar Cals de Oliveira

Introdução: O aprimoramento de nosso conhecimento a respeito das alterações genéticas relacionados à leucemia linfóide aguda (LLA) foi de vital importância para a melhor estratificação de grupos de pacientes mais ou menos respondedores, com melhor ou pior prognósticos, candidatos ao transplante alogênico em primeira remissão ou não. Assim, não se pode nos dias hodiernos mais conduzir uma LLA sem termos em mãos o estudo cariotípico, bem como, muitas vezes, o estudo molecular. Nesse contexto, este estudo avaliou os grandes grupos de alterações cariotípicas mais comuns nos pacientes estudados. **Métodos:** Estudo transversal realizado na Unidade de Hematologia do Hospital Geral César Cals de Oliveira (HGCCO) no período de 14 de maio de 2009 a 19 de maio de 2013 com o total de nove pacientes portadores de LLA com colheita de cariótipos. **Resultados:** Considera-se aneuploidia a presença de acréscimos ou decréscimos não haplotípicos no material genético estudado, como 45, 47, 48 cromossomos. A presença de translocação balanceada 9:22, conhecida como cromossomo *Philadelphia* (Ph+) é encontrada costumeiramente em 20-30% das LLA de células B do adulto, tendo sido classicamente relacionada a prognóstico desfavorável e menor

resposta à terapêutica. A ausência de anormalidades cromossômicas detectadas pela técnica da Banda G (coração de bandas cromossômicas com o corante Giemsa) é encontrada em até 10-15% das LLA de células B do adulto e em até 50% das de células T. Na presente casuística, a presença do Ph+ foi de 33%, aneuploidia de 22% e normalidade cromossômica de 45%. **Conclusão:** Apesar do número pequeno de pacientes avaliados, pode-se notar a presença de valores próximos entre a frequência de Ph+ no HGCCO e os dados internacionais. É importante ressaltar a importância do estudo citogenético no manejo de todos os tipos de leucose aguda. Infelizmente, muitos dos pacientes que foram tratados no HGCCO não tiveram o diagnóstico realizado nessa instituição, o que dificultou o estudo inicial do cariótipo de tais pacientes.

291

Leucemia promielocítica aguda em paciente previamente tratado para linfoma não Hodgkin difuso de grandes células

Beltrão MC¹, Ferraz RG¹, Pinho IP¹, Melo MC¹, Neves FF¹, Barbosa RF¹, Diniz JM¹, Peixoto RL¹, Pimenta MB², Pimenta FC¹

¹Universidade Federal da Paraíba

²Faculdade de Medicina Nova Esperança

A leucemia promielocítica aguda (LPA) é um subtipo distinto de Leucemia mielóide aguda (LMA), caracterizada por infiltração da medula óssea por promielócitos anormais e pela presença da translocação T (15, 17) levando a formação do gene de fusão PML/ RARα. Atualmente, o ácido transretinoico (ATRA) combinado com a quimioterapia tornou-se o tratamento clássico da LPA devido alta taxa de resposta clínica. Relatamos o caso de paciente, sexo masculino, 45 anos, natural de Campina Grande (PB) e procedente de Juazeiro do Norte (CE) que em 2006 recebeu diagnóstico de Linfoma Não Hodgkin Difuso de Grande Célula, recebeu tratamento com esquema RCHOP e obteve remissão completa, estando assintomático desde setembro 2006. Em julho de 2013 retornou ao serviço com quadro de cefaléia difusa, evoluindo com equimose, gengivorragia e febre. Exames complementares revelaram pancitopenia, e mielograma realizado na ocasião evidenciou MO infiltrada por promielócitos leucêmicos. A imunofenotipagem confirmou achado do mielograma e o paciente encontra-se em tratamento com boa evolução clínica. **Conclusão:** O presente relato evidencia um paciente com história de neoplasia prévia tendo recebido diagnóstico anterior de LNH que recebeu tratamento quimioterápico, obteve resposta completa e que desenvolveu nova neoplasia, LMA-M3. O prognóstico da leucemia é considerado bom, sendo a terapia com ATRA indicada e responsável pela boa resposta ao tratamento com remissão completa em 80-95% dos casos. Esta terapia está sendo utilizada com sucesso neste paciente. A melhora no diagnóstico e terapêutico do câncer tem contribuído para aumento da sobrevida, permitindo melhor prognóstico e qualidade de vida aos pacientes.

292

LMA com t(9;22),+ der(9),+der(22) e RqPCR negativo

Serehi DC¹, Almeida AC¹, Oliveira RC¹, Catelani AL¹, Pereira DS¹, Sacramento PR¹, Sandes AF¹, Zanichelli MA¹, Chauffaille ML¹

¹Fleury Medicina e Saúde

As LMAs são um grupo de doenças neoplásicas clonais amplamente diversas e geneticamente heterogêneas, caracterizadas por mutações somáticas nas células progenitoras hematopoéticas que alteram os mecanismos de autorrenovação, proliferação e diferenciação normais. O cromossomo Ph, proveniente da translocação entre os braços longos dos cromossomos 9 e 22, codifica uma proteína com atividade tirosinoquinase (*BCR/ABL1*) que leva ao desenvolvimento

de processos leucêmicos. Foram relatados diversos pontos de quebra do gene *BCR/ABL1*, sendo mais recorrentes as fusões que resultam em proteínas de 190 e 210 kD que, por sua vez, determinam diferentes graus de agressividade da doença. O Ph é encontrado em cerca de 95% dos casos de LMC, mais comumente expressando a *p210* e entre 10-20% dos adultos e 2-5% das crianças com LLA apresentando a *p190* e uma doença mais agressiva. No entanto, a presença do Ph nas LMAs é rara, observada em apenas 1% dos casos. O objetivo deste trabalho é relatar um caso de LMA com a presença do cromossomo Ph e a evolução clonal. Ao diagnóstico foram realizadas análises de sangue periférico (hemograma), mielograma e imunofenotipagem por citometria de fluxo (IMF) de células da medula óssea (MO). As análises de cariótipo de MO foram realizadas em lâminas preparadas de culturas de curta duração desse material. Nas reações de FISH foi usada a sonda de dupla-fusão para a pesquisa do rearranjo *BCR/ABL1* (Cytocell®). Também foram feitas RqPCRs para a detecção do rearranjo *BCR/ABL1* e, posteriormente, o sequenciamento do gene envolvido. O paciente do sexo masculino, 59 anos, apresentou no hemograma 85980 leuc/mm³ - 95% de blastos, mielograma com 83,6% de blastos, IMF com expressão dos antígenos CD13/ CD33/ CD117/ CD34/ HLA-DR e CD45 e cariótipo de MO 46,XY,t(9;22)(q34.1;q11.2)[20], sendo classificado como LMA com mínima maturação. Recebeu tratamento de indução associada a mesilato de imatinibe e entrou em remissão completa. Após um ano recaiu e o novo cariótipo demonstrou evolução clonal, com a presença de uma translocação dupla atípica entre os cromossomos 9 e 22, resultando em um clone de 48 cromossomos com uma cópia do derivado do cromossomo 9 e uma cópia do derivado do cromossomo 22: 46,XY,t(9;22)(q34.1;q11.2)[2]/48,XY,t(9;22)(q34.1;q11.2),+der(9)t(9;22)(q34.1;q11.2),+der(22)t(9;22)(q34.1;q11.2)[11]/46,XY[7]. Esta alteração foi confirmada por FISH porém os testes de RqPCR para a *p190* e *p210* foram indetectáveis tanto no diagnóstico quanto na recaída. Diante dessa discrepância, foi realizado o sequenciamento direto da região e detectada a presença da mutação que codifica uma proteína de 185 kD (*e1a3*). A descrição deste caso adiciona dados sobre a elucidação de uma alteração rara, com poucas descrições na literatura, o que pode auxiliar na conduta diagnóstica e terapêutica em casos futuros. Além disso, ressalta a necessidade do uso de diversas metodologias como o cariótipo, FISH, RqPCR e sequenciamento para a melhor definição da lesão. De fato, versões variantes de alterações conhecidas como a aqui descrita podem não ser detectadas por uma metodologia única ou não demonstrar as alterações que caracterizam a evolução clonal. Este trabalho confirma a heterogeneidade citogenética e molecular da doença e leva a reflexão da necessidade de tratamento personalizado para lesões moleculares individualizadas identificadas por diferentes técnicas.

293

Diagnóstico concomitante de leucemia linfóide crônica e leucemia linfóide aguda: expansão independente de dois clones

Bortolheiro TC¹, Fortier SC¹, Amorim C², Cavalcante AM², Chiatton C¹

¹Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa São Paulo

²Hemocentro da Santa Casa de São Paulo

Diagnóstico simultâneo de leucemia linfóide crônica (LLC) e outra neoplasia é raramente relatado na literatura, sendo menos incomum outra neoplasia surgir como consequência de tratamento quimioterápico previo. Encontramos na literatura relatos esporádicos de surgimento simultâneo de LLC e neoplasias mielóides ou mieloma múltiplo mas não de LLC e Leucemia linfóide aguda (LLA). Relatamos um caso de diagnóstico morfológico e imunofenotípico concomitante de LLC e leucemia linfóide aguda, em paciente de 86 anos, sem doenças prévias. O hemograma mostrava Hb 8,0 g/dL, leucócitos 24.000 e plaquetas 97.000. A análise morfológica mostrou 30% de blastos pequenos, com núcleo com cromatina frouxa e nucléolos inconspícuos e 62%

de linfócito pequenos com cromatina densa. A população imatura era negativa para CD45 e positivo para CD19, CD10, CD22, CD79a, HLADr, CD34, TdT, caracterizando LLA B Comum. O clone maduro era positivo para CD45, com coexpressão CD19 e CD5, CD20 e CD22 fracos, CD200, IgD, caracterizando LLC B CD5 positivo. Nossa paciente foi submetida a terapia paliativa devido a idade avançada.

294

Análise de mutações nos genes *NPM1* e *IDH1* e sua associação com características clínicas e biológicas em pacientes com leucemia mieloide aguda

Cruz NG¹, Assumpção JG¹, Souza DP¹, Glória AB¹, Fagundes EM¹, Rezende SM¹, Xavier SG¹

¹Universidade Federal de Minas Gerais

A estratificação de risco dos pacientes com Leucemia Mielóide Aguda (LMA) é baseada em fatores prognósticos e determina a seleção do tratamento mais apropriado para a doença. Nos pacientes com cariótipo normal, a subestratificação de risco é um desafio. Neste grupo, mutações que envolvem os genes *NPM1* e *IDH1* têm sido analisadas quanto ao valor prognóstico. O objetivo do presente estudo foi estudar as mutações *NPM1*-A e *IDH1* (R132) em pacientes com LMA e relacioná-las com características clínicas e biológicas. Foi feita uma análise retrospectiva dos pacientes adultos com LMA diagnosticados no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFMG entre Janeiro de 2010 e Março de 2013. As variáveis clínicas e biológicas analisadas ao diagnóstico foram: idade; sexo; número de leucócitos e blastos no sangue periférico; se LMA primária ou secundária; cariótipo; presença da duplicação interna em tandem do gene *FLT3* (DIT-*FLT3*) e presença do marcador CD34. As amostras de DNA foram extraídas a partir de aspirados de medula óssea coletados ao diagnóstico. A presença das mutações *NPM1*-A e *IDH1* (R132) foi verificada através de sequenciamento direto (método de Sanger). A análise estatística foi realizada com o programa IBM SPSS Statistics 20. No período do estudo, 79 adultos tiveram diagnóstico de LMA. Destes, 21 tinham Leucemia Promielocítica Aguda e foram excluídos; e 50 com material disponível para testes moleculares foram objeto deste estudo. Os pacientes apresentaram mediana de idade de 51 anos (18-84 anos); 32 (64,0%) eram do sexo feminino e 18 (36,0%) do sexo masculino. Em 42 casos (84,0%) a LMA foi classificada como primária, em 6 (12,0%) como secundária e, em 2 (4,0%), não foi possível definir. A mediana do número de leucócitos foi de 13.920/mm³ (490-335.600.000/mm³) e de blastos foi de 5.377/mm³ (0-137.439/mm³). O marcador CD34 foi positivo em 28/47 (59,6%) pacientes. Dois pacientes (4%) apresentaram cariótipo favorável, 29 (58%) apresentaram cariótipo intermediário, 9 (18%) cariótipo desfavorável e em 10 não foi possível fazer essa análise. A DIT-*FLT3* foi detectada em 6/48 (12,5%) pacientes. As mutações *NPM1*-A e *IDH1* (R132) foram detectadas em 9/44 (20,4%) e 2/41 (4,9%) pacientes, respectivamente. No grupo com cariótipo normal, essas mutações foram observadas em 6/17 (35,3%) e 2/15 (13,3%) pacientes, respectivamente. Não houve associação entre as mutações *NPM1*-A e *IDH1* (R132) com idade, sexo, se LMA primária ou secundária e cariótipo normal. Houve associação entre a mutação *NPM1*-A e maior número de leucócitos ($p=0,005$), maior número de blastos ($p=0,02$) e negatividade para o marcador CD34 ($p<0,001$). Essas associações não foram observadas para a mutação *IDH1* (R132). Não houve associação entre as mutações *NPM1*-A e *IDH1* (R132) e a DIT-*FLT3*, inclusive no grupo com cariótipo normal. E não houve associação entre as mutações *NPM1*-A e *IDH1* (R132). Os resultados preliminares sugerem associação da mutação *NPM1*-A com maior número de leucócitos e de blastos ao diagnóstico e com o marcador CD34 negativo, achados similares aos da literatura. Algumas associações entre as mutações *NPM1*-A e *IDH1* (R132) e características biológicas não foram observadas, o que poderia ser explicado pelo pequeno tamanho da amostra.

295

Leucemia mieloide aguda não promielocítica apresentando-se com episódios trombóticos graves

Macedo EM¹, Mattos VR¹, Vargas JC¹, Oliveira EA¹, Assis RA¹, Lima MM¹, Rodrigues M¹, Santos FN¹, Santos FP¹, Hamerschlag N¹

¹Hospital Israelita Albert Einstein

Introdução: Leucemia Mielóide Aguda (LMA) é uma neoplasia hematológica agressiva cujos sintomas geralmente estão relacionados a complicações decorrentes da pancitopenia. Manifestações tromboembólicas geralmente são relatadas na Leucemia Promielocítica Aguda. Relatamos dois casos onde o diagnóstico de Leucemia Mielóide Aguda não promielocítica foi realizado após diagnóstico de eventos trombóticos. **Relato de caso 1:** Paciente, masculino, 56 anos, admitido com queixa de dor abdominal intensa com 2 dias de evolução, associado a náuseas, vômitos e sudorese profusa. Realizado tomografia de abdome que evidenciou trombose do sistema venoso portomesentérico (iniciando-se desde os ramos mesentéricos até a junção espleno-mesentérica) e espleno-megalia, compatível com trombose de veia mesentérica. Devido a extensão e gravidade do processo trombótico iniciou-se heparinização plena com heparina não fracionada em infusão contínua. O hemograma de admissão evidenciava pancitopenia e presença de outras células: 5% (células com alta relação N/C, cromatina frouxa e nucléolo evidente, alguns contendo grânulos citoplasmáticos). Mielograma evidenciou medula óssea hiperplásica, presença de 62,4% de blastos mielóides compatível com FAB M2. Imunofenotipagem da medula óssea: CD13, CD33, CD34, CD38, CD117, CD11b, HLA-DR e CD15. Citogenética normal. Pesquisa molecular: FLT3 negativo, NPM1 negativo. Encontra-se atualmente em tratamento para LMA, pós indução, onde foi realizado protocolo 3+7 (Citarabina + Idarubicina) e permanece em heparinização plena objetivando alvo de TTPaR entre 1,5-2 e transfusões com objetivo de manter plaquetas acima de 30 mil/mm³. **Relato de caso 2:** Paciente feminina, 61 anos, admitida com queixa de lipotímia e parestesia em hemitórax direito. Ao exame físico apresentava espasticidade em hemitórax direito e hemianopsia homônima direita. Realizado tomografia de crânio compatível com Acidente Vascular Encefálico em região da artéria cerebral posterior esquerda e aneurisma na artéria carótida interna esquerda. O hemograma na admissão evidenciava Leucócitos: 32.000 Blastos: 82% Plaq: 350.000. Mielograma evidenciava medula óssea com 89% blastos mielóides compatível com LMA FAB M1. Imunofenotipagem da medula óssea: CD 13/CD15/CD33/CD34/CD117/D11c e HLA-DR. Citogenética normal. Pesquisa molecular: NPM1 negativo, FLT3 negativo. Paciente iniciou tratamento com (Daunorubicina 90mg/m² D1 ao D3 e Citarabina 200mg/m² do D1 ao D7), evoluiu em remissão, realizou consolidação com Citarabina 3g/m². Encontra-se em remissão completa e aguarda realização de transplante de medula óssea alogênico aparentado. Ambos os pacientes desenvolveram quadro de refratariedade plaquetária devido a formação de anticorpos Anti-HLA e Anti-HPA provavelmente decorrente da exposição a múltiplos doadores pela alta necessidade transfusional. **Discussão:** Apesar de não ser descrito com frequência episódios de trombose em leucemia não promielocítica, principalmente quando associada a plaquetopenia, vivenciamos recentemente a dificuldade de manejo de pacientes com eventos trombóticos com necessidade imediata de início de tratamento quimioterápico. A literatura não é clara para descrever a conduta em relação ao melhor regime de anticoagulação em episódios trombóticos graves nesta população, bem como não há orientação em relação à contagem plaquetária segura que devemos manter durante o tratamento quimioterápico da LMA.

296

Acute myeloid leukemia, M4 subtype: a case report of a patient with a complex karyotype and poor prognosisNunes AL¹, Paes CA¹, Linhares ND¹, Souza RR¹, Glória ABF¹, Paula FD¹¹Universidade Federal de Minas Gerais

Acute Myeloid Leukemia (AML) is a heterogeneous group of leukemias that result from clonal transformation of hematopoietic precursors with recurrent genetic abnormalities of prognostic significance. The acute myelomonocytic leukemia, M4 subtype of FAB classification, is characterized by proliferation of both granulocytic and monocytic components with blasts $\geq 30\%$ of bone marrow non-erythroid cells. Either inv(16)(p13q22) or t(16;16) (p13.1;q22) are found in 5 to 8% of all cases of AML. The commonest secondary chromosomal abnormalities are trisomy 8, 21, and del(7q). We report a 21-year-old man with meningomyelocele, neurogenic bladder, chronic renal failure and recurrent urinary tract infection. The patient was diagnosed with AML, FAB M4 subtype, classified on the basis of morphology, immunophenotype, cytogenetic abnormality and molecular genetic abnormality. Karyotype analysis revealed 47,XY,dup(7)(q31q32),+8,del(9)(q22),inv(16)(p13q22) and RT-PCR for the fusion gene *CBF β -MYH11* was positive. Therapy was based on the Cancer and Leukemia Group B. After induction therapy, in complete morphological remission, the karyotype was normal and the fusion gene *CBF β -MYH11* was not detected. Further karyotype analysis, after three months, revealed two cells with the same chromosomal abnormalities of the initial clone in a total twenty metaphases analyzed. Additionally, the morphological analysis detected the presence of 4.3% myeloblasts while the fusion gene *CBF β -MYH11* was absent. Eight months after the patient's diagnosis, chromosomal analysis showed the same alterations of the initial clone in nineteen cells in a total of twenty metaphases; the fusion gene *CBF β -MYH11* was detected and immunophenotyping revealed relapsed AML. At relapse, the patient was treated with the IDA-FLAG regimen, did not achieve remission and died from septicemia with septic shock. Inv(16) represents a good prognosis in AML and +8 and del(9q) an intermediate prognosis. However, as present in our patient, more complex karyotype composed of three changes is of unfavorable prognosis. To our knowledge, this is the first AML case reported with dup(7)(q31q32) and we believe that this chromosomal abnormality may be linked to a poorer prognosis.

297

Clinical evaluation and prognostic significance of EGF and EGFR expression on acute promyelocytic leukemia at diagnosis and complete remissionPaiva HH¹, Lucena-Araujo AR¹, Lima AS¹, Melo RA², Bittencourt R³, Pasquini R⁴, Pagnano K⁵, Fagundes EM⁶, Chauffaille ML⁷, Chiattoni CS⁸, Rego EM¹¹Universidade de São Paulo²Fundação HEMOPE³Universidade Federal do Rio Grande do Sul⁴Universidade Federal do Paraná⁵Unicamp⁶Universidade Federal de Minas Gerais⁷Universidade Federal de São Paulo⁸Faculdade de Medicina da Santa Casa de São Paulo

Background: EGFR signaling pathways are important in the mechanisms of cell survival and proliferation of epithelial neoplasias. Although recent studies describe EGFR inhibitors have *off-target* effects in acute myeloid leukemia (AML) blasts, EGFR signal in hematopoietic

system remains elusive. This study investigated prognostic value for *EGF* and *EGFR* expression patients with acute promyelocytic leukemia (APL). **Methods:** 150 patients with newly diagnosed APL from the International Consortium on Acute Promyelocytic Leukemia (IC-APL) were assigned for this study. Gene expression for *EGF* and *EGFR* were performed for 121 (80%) patients at diagnosis and 77 (51%) at complete molecular remission (CR), by RQ-PCR. Gene expression profiles at diagnosis and at complete remission were analyzed in comparison to clinical and laboratory features of patients. **Results:** Both genes, *EGF* and *EGFR*, were found down-regulated at APL diagnosis, in unpaired comparison to samples at remission ($p=0.0119$ and $p=0.0133$, respectively). Gene expression follow up over the 12 first clinical samples (from diagnosis) demonstrated *EGF* and *EGFR* are up-regulated at molecular remission points, in comparison to diagnostic or relapse points, in which the oncogene *PML-RAR α* was positively quantified. Patients with lower *EGF* expression had higher white blood cell (WBC) counts and therefore are classified in higher risk of relapse category in comparison to the other patients with higher *EGF* expression group (WBC: $15.7 \times 10^9/L$ vs. $2.9 \times 10^9/L$, $p=0.001$ and high-risk: 60% vs. 26.7%, $p=0.004$, respectively). Patients with lower *EGF* expression also presented unfavorable overall survival in comparison to patients with higher gene expression. **Conclusion:** Throughout gene expression analyses and clinical evaluation of patients with APL at diagnosis and at complete remission, our findings suggest a possible prognostic significance of *EGF* and *EGFR* expression in acute promyelocytic leukemia.

298

Reação adversa cutânea secundária ao sorafenib em paciente com LMA FLT3-ITD positivoMattos VR¹, Costa EM¹, Vargas JC¹, Nascimento CM¹, Oliveira EA¹, Assis RA¹, Bezerra AM¹, Lima MM¹, Rodrigues M¹, Hamerschlag N¹¹Hospital Israelita Albert Einstein

Introdução: Sorafenib é um potente inibidor de várias tirosinquinases, incluindo c-Kit, NRAS e FLT3, com atividade anti-angiogênica e pró-apoptótica. Pode ocasionar manifestações adversas cutâneas em 8-66% dos casos, as quais variam em apresentação e severidade. Relatamos um caso de reação cutânea adversa relacionada ao sorafenib em paciente com leucemia mielóide aguda (LMA) FLT3-ITD recidivada pós-TCTH alogênico aparentado. **Relato de Caso:** Paciente masculino, 49 anos, diagnosticado com Leucemia Mielomonocítica Aguda em novembro de 2012. Citogenética normal, NPM1 e FLT3-ITD positivos. Realizou indução com esquema quimioterápico 3+7 (citarabina 200mg/m² D1-7 e daunorubicina 90 mg/m² D1-3), permanecendo com doença residual mínima (DRM) de 0,053% (marcação de CD7/CD45/CD34/CD33). Foi submetido a consolidação com citarabina em altas doses (um ciclo em dezembro/2012 com 1,5 mg/m² no D1, D3 e D5), mantendo DRM após o tratamento (0,13%). A imunofenotipagem de medula óssea após 20 dias demonstrou ausência de DRM. Foi submetido a transplante alogênico aparentado de células tronco hematopoieticas (doador: irmão) em janeiro/2013 (fonte: medula óssea), recebendo como condicionamento bussulfano e fludarabina, apresentando enxertia neutrofílica do 16º dia pós-infusão. Seguiu em acompanhamento ambulatorial após alta, e no 53º dia pós-TCTH foi avaliado com quadro de queda do estado geral, apresentando hemograma com blastos em sangue periférico. Na época apresentava quimerismo de 25% e evolução clonal com citogenética evidenciando t(1;21). Submetido a terapia de resgate com Fludarabina 15mg/m² 12/12h D1-5 + Citarabina 500mg/m² 12/12h D1-5, infusão de linfócitos do doador e introdução de sorafenib 800mg/dia. Quinze dias após a introdução do sorafenib, evoluiu com lesão hiperemiada em região do tronco, máculo-papular, grau I, cuja biópsia evidenciou siringo-metaplasia escamosa compatível com efeito adverso cutâneo ao uso de inibidores de proteíno-quinase. Foi tratado com corticoides

tópicos, sem descontinuidade da medicação, evoluindo com melhora e resolução das lesões cutâneas no período de uma semana. **Discussão:** Marcadores moleculares como alterações no gene FLT3 se tornaram fatores de relevância prognóstica em pacientes com LMA e citogenética normal. Apesar da incidência de remissão com terapia primária ser semelhante à de pacientes FLT3 *wildtype*, pacientes com mutação FLT3-ITD apresentam índices de recaída particularmente altos, o que poderia indicar um potencial alvo a ser explorado no planejamento terapêutico. Devido à sua maior frequência e impacto negativo na qualidade de vida, manifestações dermatológicas provavelmente representam o principal problema no cuidado de pacientes tratados com sorafenib. O manejo dessa complicação deve ser multiprofissional e baseado na severidade das lesões, visando reduzir a dor, o risco de infecções e o desconforto do paciente, priorizando sempre a continuidade da medicação.

299

Importância da investigação multidisciplinar no diagnóstico de leucemia promielocítica aguda: relato de caso

Belline P¹, Rodrigues CA², Maekawa YH¹, Sandes AF¹, Chauffaille ML¹

¹Grupo Fleury

²Hospital Sírio-Libanês

Introdução: A leucemia promielocítica aguda (LPA) caracteriza-se pela proliferação de blastos que se assemelham a promielócitos. Os pacientes apresentam clinicamente coagulação intravascular disseminada com hiperfibrinólise. Nestes casos a detecção da presença da t(15;17)(q22;q21); *PML/RARA* é de extrema importância clínica, pois estes pacientes respondem à ação diferenciadora do ácido transretinóico (ATRA). A terapia com ATRA aumenta significativamente a sobrevida quando associada à quimioterapia com antracíclicos e citarabina. No entanto, raros casos com morfologia semelhante a LPA podem apresentar translocações variantes envolvendo o *RARA*, que geralmente não respondem ao tratamento convencional. **Objetivo:** Relato de um caso de uma paciente encaminhada aos serviços do grupo Fleury para investigação de leucemia mieloide aguda. **Métodos:** Paciente do sexo feminino com suspeita de leucemia mieloide aguda, 34 anos, foi submetida à biópsia de medula óssea para realização de imunofenotipagem, mielograma, cariótipo, FISH e PCR quantitativo. **Resultados:** A medula óssea apresentou-se hiperplásica, constituída por 85% de blastos de tamanho e formato nuclear variáveis, alguns bilobados, citoplasma basofílico e hipergranular. O perfil imunofenotípico demonstrou a presença de células de linhagem mieloide maduras que expressam os antígenos mieloides CD13, CD33 e mieloperoxidase intracitoplasmática, em associação ao antígeno CD45. Estes achados favorecem a hipótese de LPA. Porém o resultado do FISH (painel SMD/LMA) apresentou a pesquisa do rearranjo *PML/RARA* positiva porém com sinal atípico, ou seja, em vez de serem observados os dois sinais de fusão, foi observado apenas um. Este resultado foi confirmado pelo cariótipo que apresentou a translocação entre os cromossomos 15 e 17, porém não com a translocação tradicional, mas sim apresentada de forma diferente, em uma região mais próxima ao centrômero do cromossomo 17. A expressão do transcrito do rearranjo *PML/RARA* foi de 1,01759, confirmando o diagnóstico de LPA com *PML/RARA*. **Conclusão:** A análise citogenética e molecular tem sido um instrumento importante na identificação dos tipos de leucemia mieloide aguda, assim como no direcionamento da conduta terapêutica. No caso específico das LPAs a presença da t(15;17) é essencial para o início da terapia. A investigação realizada pelo método de FISH tem aumentado na prática clínica, por seu diagnóstico rápido e preciso. Diversos autores relatam que muitas vezes a detecção pela citogenética clássica da t(15;17) é prejudicada pela ausência ou até mesmo pela morfologia ruim dos cromossomos presentes em LPA (Mancini e col., 1995; Sucic e col., 2002). Por isso a combinação de

diversas técnicas (hematológica, citogenética e molecular) deve ser utilizada para um diagnóstico rápido e preciso. O relato deste caso demonstra a importância desta investigação completa e multidisciplinar para o diagnóstico de leucemias agudas.

300

Caracterização clínico-hematológica, citogenética e molecular de pacientes com LMS de novo diagnosticados na Fundação HEMOPE

Lima AS¹, Quintas AS¹, Bezerra MF¹, Silva JL¹, Neves MA², Araújo AS², Machado CG², Araújo AR³, Bezerra MA¹

¹Universidade Federal de Pernambuco

²Fundação HEMOPE

³Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

O uso da análise citogenética para estratificação de risco na leucemia mieloide aguda (LMA) tem sido recomendado por grupos colaborativos multicêntricos, por ser um fator prognóstico independente na LMA. Entretanto, há um grupo com cariótipo normal (LMA-CN) apresentando um prognóstico obscuro, devido à heterogeneidade das alterações moleculares subjacentes. Dentre as alterações moleculares identificadas no grupo LMA-CN, as mutações nos genes *FLT3* e *NPM1* são as mais estudadas, entretanto ainda não tinham sido analisadas em pacientes com LMA em Pernambuco. O objetivo do trabalho foi caracterizar pacientes adultos com LMA de novo diagnosticados na Fundação HEMOPE de acordo com achados clínico-laboratoriais e as mutações nos genes *FLT3* e *NPM1*. Foram incluídos 100 pacientes com LMA de novo (março de 2010 a outubro de 2012), excluindo-se os casos de LPA. A mediana de idade dos pacientes foi de 50,1 anos (18-87,8) e a prevalência em relação ao gênero foi de 46/54 (masculino/feminino). O subtipo FAB mais frequente foi o M2 (39%), seguido do M4 (26%), não sendo diagnosticado nenhum caso de M7. Para determinação do risco citogenético, os resultados da análise citogenética foram associados aos da análise dos rearranjos gênicos *RUNX1/RUNX1T1* e *CBFB/MYH11*. A análise citogenética foi realizada em apenas 43 pacientes, destes, 19 (44,2%) pacientes apresentaram cariótipo normal, 16 (37,2%) cariótipo alterado e oito (18,6%) tiveram resultado inconclusivo devido ao pequeno número ou ausência de metáfases. A análise molecular para os rearranjos *RUNX1/RUNX1T1* e *CBFB/MYH11* foi realizada em 56 pacientes, sendo detectado em 9 (16%) e 4 (7,1%) pacientes, respectivamente. Dos 42 pacientes que tiveram seu risco citogenético determinado, 35,7% dos pacientes eram do grupo de risco favorável, 50% do grupo de risco intermediário e 14,3% do grupo de risco adverso. As frequências das mutações *FLT3/ITD*, *FLT3/TKD* e *NPM1* foram de 22%, 2% e 24%, respectivamente. As mutações *FLT3/ITD* e no *NPM1* foram relacionadas com alta contagem de leucócitos ($p = 0,021$; $p = 0,012$) e mutações no *NPM1* foram mais frequentes em pacientes com mais de 60 anos ($p = 0,01$) e no grupo de cariótipo normal ($p = 0,008$). Na análise de sobrevida, a mediana de seguimento foi de 16,2 meses e foram incluídos, apenas, 52 pacientes. A sobrevida global (SG) e a sobrevida livre de doença (SLD) estimada em 4 anos foi de 25% e 7,6%, respectivamente. Houve uma elevada mortalidade precoce, em que, até o primeiro mês, 17,3% dos pacientes já haviam falecido. A taxa de remissão completa (RC) foi de 51,9% e a taxa de recaída (TR) de 70,4%. Não foi observada diferença na SG, SLD, RC e TR entre os grupos com e sem mutação *FLT3/ITD* ($p = 0,629$; $p = 0,767$; $p = 0,612$; $p = 0,633$) e no gene *NPM1* ($p = 0,370$; $p = 0,250$; $p = 0,892$; $p = 0,099$). As mutações *FLT3/ITD* e no *NPM1*, aparentemente, não apresentaram impacto prognóstico para os pacientes desse estudo. Entretanto, este trabalho apresenta algumas limitações como o baixo número de pacientes, o baixo tempo de seguimento e a deficiente caracterização citogenética. Os resultados mostraram uma realidade alarmante quanto a caracterização citogenética e o desfecho clínico dos pacientes com LMA tratados em Pernambuco, chamando a atenção para a necessidade de melhorias na assistência a esses pacientes e de iniciativas colaborativas multicêntricas na tentativa de reverter esse quadro.

301

Pesquisa de mutações relacionadas à resistência ao ATRA em pacientes com leucemia promielocítica aguda

Vianna DT¹, Monte-Mór BC¹, Coutinho DF¹, Bonecker S¹, Pombode-Oliveira MS², Zalcberg IR¹

¹Laboratório de Biologia Molecular, CEMO – INCA. Rio de Janeiro – RJ. Brasil.

²Programa de Hematologia e Oncologia Pediátricos, CPQ – INCA. Rio de Janeiro – RJ. Brasil.

Introdução: A Leucemia Promielocítica Aguda (LMA-M3) é um sub-tipo de Leucemia Mielóide Aguda (LMA) detectada em cerca de 5 a 15% da LMA da infância. A t(15;17)(q22;21) é a anormalidade cromossômica característica da LMA M3 – identificável em mais de 90% dos casos. A nível molecular, a translocação justapõe o gene que codifica o receptor do ácido retinóico α ($RAR\alpha$) ao gene PML (ProMyelocytic Leukemia). A descoberta da sensibilidade dos blastos com a t(15;17) ao ATRA, utilizado em associação ao esquema quimioterápico, revolucionou o tratamento de pacientes com LMA M3, melhorando significativamente a sobrevida desses doentes. Entretanto, já foram descritas mutações no domínio de ligação do ATRA (LBD) na proteína $PML-RAR\alpha$ ($PR\ \alpha/LBD+$) em pacientes adultos com recidiva da doença, podendo as mesmas estarem associadas à resistência secundária ao ATRA. Este mecanismo de resistência ao ATRA, além de ter sido descrito em poucos trabalhos da literatura médica, ainda não foi investigado em pacientes brasileiros, nem em pacientes pediátricos. Também não foi investigado em pacientes com quadro clínico grave inicialmente, como morte precoce ou ausência de remissão. **Objetivo:** Pesquisar as mutações $PR\ \alpha/LBD+$ ao diagnóstico em pacientes adultos e pediátricos com LMA M3 com morte precoce ou ausência de remissão e em pacientes com recidiva da doença. **Métodos:** Foram analisadas amostras de medula óssea (MO) ou sangue periférico enviadas para o Laboratório de Biologia Molecular do CEMO-INCA para confirmação do diagnóstico clínico e/ou recaída de LMA M3. A pesquisa de mutações no domínio de ligação do ATRA (LBP) do gene $RAR\alpha$ foi realizada através da amplificação do fragmento de interesse mediante uma reação de nested PCR. Os produtos desta reação foram purificados e preparados para sequenciamento direto. A pesquisa de mutações foi feita usando o software MutationSurveyor. Este estudo foi realizado segundo as diretrizes de Helsink. **Resultados:** Até o momento, foram analisadas 10 amostras de pacientes adultos e pediátricos com recidiva da doença tratados com quimioterapia intensiva e ATRA, não sendo identificadas as mutações $PR\ \alpha/LBD+$. Amostras de pacientes com evolução clínica grave ao diagnóstico estão em análise, assim como novas amostras referidas ao laboratório. **Conclusão:** Devemos expandir a corte de estudo para avaliar corretamente a incidência de mutações $PR\ \alpha/LBD+$ em pacientes LMA M3 brasileiros com recidiva da doença. Por outro lado, a presença destas mutações poderia estar relacionada não apenas à resistência secundária ao ATRA, mas também à resistência primária, sendo um mecanismo subjacente à morte precoce e/ou a ausência de remissão em alguns pacientes com diagnóstico de LMA M3.

LINFOMA DE HODGKIN

302

Perfil epidemiológico dos pacientes com linfoma de Hodgkin atendidos no Hospital Ophir Loyola no período de janeiro de 2006 a dezembro de 2010

Berg AV¹, Ramalho LM¹, Barros SN¹

¹Universidade do Estado do Pará

O Linfoma de Hodgkin (LH) contabiliza, aproximadamente, 30% de todos os linfomas, com dois a quatro casos novos por 100 mil habitantes/ano, tal doença tornou-se um dos melhores exemplos de neoplasia curável, quando abordada corretamente. Com esta pesquisa, objetivou-se traçar o perfil epidemiológico dos pacientes com o diagnóstico de Linfoma Hodgkin atendidos no HOL no período de Janeiro de 2006 a Dezembro de 2010. Trata-se de um estudo retrospectivo, observacional e transversal, com pesquisa em 106 prontuários de dados de identificação, sócio-demográficos e sobre a doença em cada indivíduo. Os resultados encontrados foram: sexo masculino, idade entre 10-30 anos, procedentes da Região Metropolitana de Belém, solteiro, não tem filhos, possuem Ensino Fundamental Incompleto, não possuem História Familiar de Linfoma, subtipo esclerose nodular, da raça parda, com linfonodomegalia como sintoma mais frequente, em estágio IIIB, com CD30 como marcador fenotípico mais frequente. Assim, o perfil epidemiológico dos pacientes com Linfoma de Hodgkin é o acima citado, não havendo influência do sexo ou da idade sob o subtipo histológico; em relação à doença, os pacientes se apresentavam com linfonodomegalia, febre e/ou perda de peso no momento do diagnóstico, tipo histológico de esclerose nodular, não variando com a idade, estadiamento IIIB e CD30 como marcador Imunofenotípico.

303

Linfoma de Hodgkin extranodal de palato: uma apresentação rara

Cantadori LO¹, Martins GF¹, Ikedo AS¹, Fadel AV¹, Adolfo B¹, Domingues MA¹, Castilho EC¹, Resende LS¹, Melo LN¹, Gaiolla RD¹

¹Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Introdução: O Linfoma de Hodgkin (LH) mais comumente se apresenta com linfonodomegalia cervical, supraclavicular e mediastinal, acompanhado por sintomas B em cerca de um terço dos pacientes. O acometimento extranodal é pouco frequente (10%). Medula óssea e fígado são os órgãos extranodais mais envolvidos e geralmente estão associados com a disseminação da doença. Embora mais raros, acometimento de testículo, pulmões, pele e trato gastrointestinal são também observados. O acometimento primário de cavidade oral é extremamente raro no LH, envolvendo mais frequentemente o Anel de Waldeyer. **Relato de Caso:** paciente feminina, 43 anos, com história de odinofagia há 6 meses, tratada inicialmente como amigdalite bacteriana, evoluindo com piora progressiva e surgimento de úlcera no palato. Sem sintomas B. Negava tabagismo e etilismo. Ausência de dados epidemiologicamente relevantes para doenças infecciosas. Ao exame físico, apresentava-se levemente descorada, com lesão ulcerada com 3cm de diâmetro no palato duro, fistulizada, estendendo-se ao fundo da fossa nasal D. Sem linfonodomegalias ou hepatoesplenomegalia. Exames laboratoriais revelaram Hb 9,1g/dL, Ht 30%, plaquetometria e diferencial de leucócitos normais, velocidade de hemossedimentação de 31mm/h, desidrogenase láctica de 449U/L, albumina 3,6g/dL, função renal e hepática normais. Tomografia Computadorizada (TC) de seios da face evidenciou assimetria de rinofaringe posterior à direita, com material de partes moles ocupando as cavidades nasais. Durante um período de 2 meses, a paciente foi submetida a 3 biópsias da

lesão no palato, com pesquisa de BAAR, fungos e Leishmanias negativas. Inicialmente observado infiltrado linfo-histiocitário predominante, porém no último material foram observadas células atípicas, sendo o estudo imunohistoquímico compatível com LH (CD30 positivo, CD45 negativo, CD15 negativo, CD20 positivo focal). O restante do estadiamento não mostrou outros locais de acometimento tumoral, sendo o estágio clínico final IAE (doença localizada contigualmente no palato duro e fossa nasal). A paciente foi submetida à quimioterapia com esquema ABVD (adriamicina, bleomicina, vinblastina e dacarbazina) por 4 ciclos, seguido de radioterapia de campo envolvido com dose total de 36Gy. Evoluiu com remissão completa. Manteve perfuração sequestral de palato duro, tratada com colocação de prótese pela otorrinolaringologia. Encontra-se atualmente há 1 ano e 9 meses fora de tratamento. **Discussão:** Os linfomas compõem o segundo tipo de neoplasia mais comum da cabeça e pescoço, sendo LH responsável por apenas 4% dos casos. Sabe-se que o LH acomete predominantemente os linfonodos, esporadicamente com envolvimento primário de outros tecidos, como o anel de Waldeyer, classificado então como extranodal. Porém, a proliferação neoplásica extranodal e extralinfática é extremamente infrequente, principalmente com acometimento de cavidade oral. Encontramos apenas quatro relatos de casos na literatura, sendo três com envolvimento primário de mandíbula e um com envolvimento de palato. Esse é, provavelmente, o segundo relato de acometimento primário de palato por LH, ressaltando-se a dificuldade diagnóstica, com necessidade de múltiplas biópsias da lesão e exclusão de outras causas mais frequentes de exulceração oral. Apesar de apresentação atípica, a doença apresentou boa resposta ao tratamento, padrão esperado para doença localizada de baixo risco.

304

Uso da medicação everolimus em pacientes portadores de linfoma de Hodgkin refratário: experiência de um centro brasileiro

Rocha TM¹, Fortier SC¹, Pinto MS¹, Chiattoni CS¹

¹Faculdade Ciências Médicas da Santa Casa Misericórdia de São Paulo

Introdução: Atualmente não há tratamento curativo para pacientes portadores de Linfoma de Hodgkin com recidiva pós transplante autólogo. Isto leva a necessidade de se testar novos esquemas e drogas neste perfil de paciente. O ambulatório da Santa Casa possui atualmente um estudo compassonado para o uso do agente everolimus, um agente antineoplásico que tem como alvo o mTOR (cujo sinal está aumentado neste subtipo de linfoma) nos pacientes com recidiva do linfoma de Hodgkin pós transplante autólogo ou com contraindicação para outra linha tratamento. **Objetivo:** Descrever a resultados e eventos adversos nos pacientes com Linfoma de Hodgkin refratário sem indicação ou proposta de outro esquema de tratamento. **Métodos:** Os pacientes são originários de ambulatório da Santa Casa de São Paulo ou referenciados de outros serviços. São aceitos pacientes com diagnóstico confirmado de Linfoma de Hodgkin, atualmente refratários, sem indicação de outra linha de tratamento. Em um período de 24 meses, foram incluídos 19 pacientes. Destes, 3 com diagnóstico de Linfoma do manto. Dos 16 restantes, 4 estão aguardando a medicação ser liberada pela comissão de ética. Dos 12 restantes, um faleceu antes da chegada da medicação e uma paciente utilizou apenas durante 15 dias o tratamento e o interrompeu por decisão do médico que a acompanhava (sem relação com evento adverso). Dez pacientes com Linfoma de Hodgkin utilizam ou utilizaram a medicação e são alvo de análise de dados. **Resultados:** Dez pacientes foram analisados. Com mediana de seguimento de 17,5 meses, 60% eram do sexo feminino. O número de tratamento prévio variou de três a sete com mediana de 4,8. Com relação a resposta, 30% dos pacientes apresentaram doença estável, 50% resposta parcial e 20% resposta completa. A manutenção da resposta teve uma mediana de 13 meses. Atualmente cinco pacientes progrediram, um que estava em

remissão completa. Um paciente se mantém em resposta completa há 25 meses. Os efeitos colaterais mais comumente apresentados pelos pacientes foram hipercolesterolemia e plaquetopenia grau 1 e 2. **Conclusão:** A droga everolimus tem eficácia na maioria dos pacientes portadores de linfoma de Hodgkin refratário, a maioria com duração de mais ou menos 12 meses e alguns raros pacientes com benefício real com longo período de remissão.

305

Associação entre linfoma de Hodgkin e esclerose múltipla: relato de caso

Endo VM¹, Castro AC¹, Silva AL¹, Fortier SC¹, Pinto MS¹, Rocha TM¹, Chiattoni CS¹

¹Faculdade Ciências Médicas da Santa Casa Misericórdia de São Paulo

Relato de Caso: Feminino, 27 anos, sem antecedentes patológicos conhecidos, iniciou em 2006 quadro de neurite óptica e paresia a nível de T8. Em 2007, evoluiu com ataxia, sendo realizada Ressonância Magnética de Crânio sugestiva de Esclerose Múltipla. Iniciado acompanhamento com a Neurologia e tratamento com Interferon beta -1b, seguido de uso de Glatirâmer. Na ocasião do diagnóstico, coletado líquido cuja análise foi normal, com PCR para EBV negativo. Em dezembro de 2010, a paciente iniciou quadro de prurido generalizado e perda ponderal de cerca de 10 kg. Em maio de 2011, notou abaulamento em região esternal, e Tomografia Computadorizada de Tórax mostrou massa em região de mediastino anterior medindo 11,3 x 10,1 x 6,5 cm, invadindo a parede torácica anterior, promovendo erosão no esterno. Biópsia da massa mediastinal evidenciou Linfoma de Hodgkin Clássico, CD15 positivo, CD30 positivo e EBV negativo. Além da massa mediastinal com invasão da parede torácica, paciente apresentava linfonodomegalias cervicais, sem envolvimento abdominal (estádio Ann Arbor IVB). Biópsia de medula óssea normal. Escore Prognóstico Internacional (IPS) igual a 3. Em agosto de 2011, foi iniciado tratamento com ABVD, porém após término do primeiro ciclo, foi optado por mudança do esquema quimioterápico para BEACOPP escalonado, tendo em vista ausência de resposta ao ABVD e considerando-se o benefício relatado pela literatura no uso de Ciclofosfamida para tratamento de pacientes com Esclerose Múltipla. Foram realizados 8 ciclos de BEACOPP escalonado (até janeiro de 2012) seguidos de radioterapia cervico-torácica com 36 Grays (20 sessões de abril a maio de 2012). Ao final do tratamento, solicitado PET-CT, realizado em agosto de 2012, que evidenciou resposta completa. Atualmente, paciente encontra-se estável e sem queixas, com melhora inclusive dos sintomas neurológicos, mantendo tratamento com Glatirâmer para Esclerose Múltipla. **Discussão:** Estudos existentes na literatura são controversos sobre a etiologia ou associação da Esclerose Múltipla e do Linfoma de Hodgkin. Esta associação é melhor descrita e conhecida com linfoma não-Hodgkin. O que estas patologias possuem em comum é a provável associação com o vírus EBV. Existe metanálise que demonstra que pessoas com soropositividade para EBV possuem dez vezes mais chance de desenvolver esclerose múltipla assim como pessoas que tiveram mononucleose manifesta possuem duas vezes mais chance de desenvolver a doença. Além desta possível causa comum, estudo revela a associação entre o diagnóstico de Linfoma de Hodgkin e esclerose múltipla em parentes de primeiro grau. Os mecanismos que explicam esta associação passam pelo vírus EBV e outros mecanismos ambientais e constitucionais. O detalhe mais interessante neste caso é a associação entre as duas doenças sem a presença do vírus EBV (LCR foi negativo para EBV e EBER na biópsia do linfoma de Hodgkin também foi negativa). Este relato revela que provavelmente outros fatores são implicados na etiologia comum das duas doenças.

306

Linfoma de Hodgkin com massa mediastinal infiltrando coração: relato de caso

Silva AL¹, Endo VM¹, Castro AC¹, Fortier SC¹, Pinto MS¹, Rocha TM¹, Chiattonne CS¹

¹Faculdade Ciências Médicas da Santa Casa Misericórdia de São Paulo

Relato de Caso: Masculino, 23 anos, com antecedente de asma brônquica, iniciou em Agosto de 2011 quadro de tosse seca, dor torácica, perda ponderal de 10 kg em 1 mês e febre. Investigação diagnóstica com Tomografia de tórax evidenciou massa em mediastino anterior de 11 x 5,9 cm, envolvendo parcialmente vasos supraaórticos (carótida comum e subclávia esquerda), artéria pulmonar esquerda e veia braquiocéfálica esquerda com redução do calibre. Notava-se ainda extensão da lesão para brônquio principal e segmentos proximais dos brônquios lobares homolaterais; posteriormente havia extensão até a aorta e esôfago, apresentando contato com os mesmos. Realizada biópsia da massa que identificou Linfoma de Hodgkin Clássico, CD30 positivo, CD15 positivo e EBV negativo. Além da massa mediastinal, paciente apresentava linfonodomegalias cervicais bilaterais, sem envolvimento abdominal (estádio Ann Arbor IIB Bulky mediastinal). Biópsia de medula óssea normal. Escore Prognóstico Internacional (IPS) igual a 1. Em setembro de 2011, foi iniciado tratamento com ABVD, com programação inicial para seis ciclos, porém, após terceiro ciclo apresentou resposta parcial (massa mediastinal 7 x 3,3 cm). Optou-se pela realização de oito ciclos de quimioterapia e radioterapia adjuvante. Realizados 8 ciclos do esquema já iniciado, até abril de 2012, seguidos de radioterapia cervico-torácica com 36 Gy (20 sessões até 02/08/2012). Em 05/09/2012, paciente procurou o Pronto-socorro por quadro de dispnéia, ortopnéia, tosse seca e edema de MMII. Iniciado tratamento para pneumonia, além de anticoagulação plena devido a hipótese diagnóstica de tromboembolismo pulmonar (D-dímero 5.000). Realizado ECOTT que evidenciou insuficiência cardíaca com aumento de VE e FE 33%. Feita a hipótese diagnóstica de miocardiite actínica e iniciado dobutamina. Em 09/09/2012 foi transferido para UTI, e como não apresentava melhora do quadro clínico, mantendo instabilidade hemodinâmica, realizou-se passagem de balão intra-aórtica sem melhora, sendo optado por passagem de biopump para assistência VE. Durante procedimento cirúrgico foi observado grande tumor mediastinal infiltrando veia inominada, aorta, átrio e ventrículos direitos sem plano de clivagem com VD e aorta. Paciente apresentou sangramento importante durante procedimento evoluindo a óbito dia 14/09/2012. **Discussão:** Envolvimento cardíaco é encontrado em 20 a 25% dos pacientes com linfoma. Na grande maioria das vezes, esta condição é assintomática. Derrame pericárdico, arritmias e insuficiência cardíaca são as manifestações clínicas mais comumente descritas no pequeno número de pacientes sintomáticos. O ecocardiograma é um exame sensível para o diagnóstico da serosite mas raramente consegue evidenciar infiltração miocárdica pela neoplasia. Este acometimento é detectado apenas no momento da autópsia de pacientes com doença refratária. **Conclusão:** Existem poucos relatos de caso na literatura com envolvimento cardíaco pelo Linfoma de Hodgkin levando a quadro de insuficiência cardíaca grave e sendo a causa de morte do paciente.

307

Características epidemiológicas, histopatológicas e quadro clínico dos pacientes com linfoma de Hodgkin do Ambulatório de Hematologia do Hospital Mário Covas

Vergnhanini GS¹, Miranda GA¹, Caunetto IM¹, Rodrigues ED¹, Mauad V¹, Brandão IV¹, Russo R¹, Jablonka F¹, Borducchi DM¹, Giglio AD¹

¹Disciplina de Hematologia e Oncologia da Faculdade de Medicina do ABC

Introdução: O Linfoma de Hodgkin (LH) é uma neoplasia maligna do sistema reticulo- endotelial. O diagnóstico da doença é realizado a partir de uma biópsia onde é pesquisada a presença da célula de Reed-Sternberg. Conforme a classificação da OMS o LH está dividido em forma clássica (esclerose nodular, celularidade mista, rico em linfócitos e depleção linfocitária) e não clássica (predominância linfocítica). **Objetivo:** Avaliar as características epidemiológicas, histopatológicas e quadro clínico dos pacientes com Linfoma de Hodgkin do Ambulatório de Hematologia do Hospital Mário Covas, localizado na cidade de Santo André. **Casuísticas e métodos:** Foram analisados 52 prontuários através do programa estatístico STATA 12.0, observando sexo, idade, origem, data e especificação do diagnóstico, sintomas, presença de Bulk, VHS, International Prognostic Score (IPS)², estágio clínico, tratamento quimioterápico e número de ciclos, radioterapia, respostas aos tratamentos e intercorrências. **Resultados:** No estudo realizado o tipo histológico Esclerose Nodular (LHEN) foi o mais comum entre os pacientes observados, representando 69% do total. O tipo rico em linfócitos (LHRL) foi o segundo mais frequente com 17% dos casos, seguido do celularidade mista (LHCM- 10%), predominância linfocítica (LHPLN- 2%), além disso, 2% não tinham subtipo especificado. Os sintomas B estavam ausentes em 52% dos pacientes, um número ligeiramente maior em relação aos sintomáticos, assim como a presença de Bulk Desiase, que mostrou percentagens semelhantes (52% ausente e 48% presente). Do total de pacientes, a maioria possuía IPS=1 (35%), seguido por 2 (27%), 3 (19%), 4 (11%) e 1 e 5, que representavam, 4% cada. A maior parte dos pacientes obteve sucesso no tratamento com resposta completa do mesmo, 86% dos casos. Pelo número reduzido de pacientes em algumas faixas de IPS, não foi possível traçar curvas de sobrevida global e sobrevida livre de doença estratificadas para amostra, sem que se perdesse a confiabilidade e representatividade dos resultados, no entanto, a curva da população total demonstrou SG(5anos) = 86% e SLD(5anos) = 61%. **Discussão:** A população abordada difere do habitualmente citada na literatura quanto à distribuição entre os subtipos, com o subtipo rico em linfócitos sendo, na amostra, mais comum que o de celularidade mista, relação inversa à encontrada classicamente². Quanto a sobrevida global observada, temos índices semelhantes aos demonstrados na literatura para IPS = 0³, mesmo que na amostra predominem scores mais altos, maiores análises serão necessárias para verificar os motivos e especificações por trás desses bons resultados.

308

Resultado de tomografia por emissão de pósitrons negativa com diagnóstico de doença de Hodgkin: relato de caso

Carvalho NB¹, Sousa GB¹, Amorim KD¹, Ribeiro ML¹, Gomes BA¹, Duarte CM¹, Dantas EA¹, Queiroz MY¹, Lemos ND¹, Botelho LF¹

¹Universidade Federal da Paraíba

Objetivo: Relatar o achado de PET-CT negativo no estadiamento inicial de paciente com Linfoma de Hodgkin. **Métodos:** Foi revisado o prontuário da paciente para descrever a evolução da doença e

documentação fotográfica do exame. **Resultados:** Paciente feminina, 28 anos, assintomática, após sofrer trauma torácico realizou Raios-X de tórax e foi detectado alargamento mediastinal. Realizou TC que sugeriu Timoma. Após ressecção de massa, o exame anatomopatológico indicou linfoma de grandes células. Foram solicitados imunohistoquímica e o PET-CT. A imunohistoquímica demonstrou CD45+, CD20+, CD3+, CD43+, CD30+, CD15+. O PET-CT deu negativo, exceto por leve captação de fluorodesoxiglicose (FDG) em área de esternotomia prévia. Mediante suspeita de erro do anatomopatológico, foi pedida a revisão em outro laboratório e a revisão diagnóstica Doença de Hodgkin com padrão esclerose nodular, com avaliação clínica que permite classificar o mesmo como estágio clínico IA (ECIA) de baixo risco (sem Bulky mediastinal, sem sintomas B - febre, sudorese noturna e perda ponderal maior que 10% do peso - e VHS < 50), por isso não foi indicada biópsia de medula óssea. A paciente foi tratada com 2 ciclos de Adriamicina+Bleomicina+Vinblastina+Dacarbazina (ABVD) seguida de radioterapia em sítio envolvido. Foi realizado outro PET-CT com resultado negativo para doença linfoproliferativa. A paciente encontra-se em remissão completa desde então. **Discussão:** O PET-CT é um exame atual de grande importância na avaliação dos pacientes portadores de Linfoma de Hodgkin. A grande avides do tumor pela glicose permite detectar doença ativa de forma precoce, em sítios não visualizados pelos métodos convencionais. O linfoma de Hodgkin é umas das neoplasias com maior captação da glicose marcada, tornando o PET-CT exame de alta sensibilidade e especificidade na avaliação desses pacientes. É bem descrito na literatura a existência de um número não desprezível de exames falso-positivos, o que orienta a confirmar com biópsia tecidual as áreas suspeitas no PET-CT. Entretanto, a alta especificidade do exame torna muito rara a existência de falsos negativos. No caso descrito, após realizada a ressecção da massa, obteve-se um PET-CT negativo no estadiamento. Tal fato gerou surpresa, visto que o Linfoma de Hodgkin é naturalmente uma doença de disseminação linfática, e, obviamente, espalhada. Entretanto, a captação discreta de padrão inflamatório, que ocorreu na área de esternotomia, torna improvável erros técnicos durante a elaboração do exame. A conclusão que se chega é que, possivelmente, a cirurgia ressecou completamente a lesão tumoral. A paciente recebeu o tratamento indicado para sua doença, de forma menos intensa, e hoje permanece sem evidência da doença. **Conclusão:** O linfoma tem grande avides por glicose e por isso o PET-CT é utilizado para detectar a doença de forma precoce. No caso em questão, o PET-CT após ressecção cirúrgica foi negativo, o que sugere que a doença foi extirpada e dessa forma acometia apenas o timo, fato raro para uma neoplasia espalhada.

309

Linfomas de Hodgkin e linfomas não Hodgkin: classificação e métodos diagnósticos

Barros LE¹, Farias NH¹, Padilha CK¹, Rodrigues LP¹

¹Universidade Católica de Brasília

Define-se linfoma como sendo uma neoplasia maligna que tem início no sistema linfático e órgãos linfóides primários ou secundários: medula óssea, linfonodos, baço e timo. São inicialmente divididos em Linfomas de Hodgkin (LH) e Linfomas Não – Hodgkin (LNH), e estes por suas vezes, serão classificados como indolentes ou agressivos. Segundo a última classificação dos tumores hematopoiéticos da OMS (Organização Mundial da Saúde), hoje é possível a classificação de 5 doenças como Linfomas de Hodgkin, sendo 4 dessas na forma clássica 1 não clássica (Celularidade Mista, Rico em Linfócitos, Esclerose Nodular, Depleção Linfocitária e Predominância Linfocítica Nodular), e aproximadamente 32 doenças classificadas como Linfomas Não – Hodgkin, divididos em linfomas de células B, T e NK (Linfoma MALT, Linfoma difuso de grandes células B, Linfoma de células T angioimunoblástico, Míose Fungoide, etc). Independente dos fatores etiológicos relacionados a estas enfermidades (EBV, HIV,

exposição a radiações ionizantes, etc), se faz necessário a obtenção de um diagnóstico definitivo, para que assim, o esquema terapêutico seja estabelecido, sendo viável então a determinação de um provável prognóstico para o paciente. Além das dosagens de enzimas bioquímicas e a realização de exames hematológicos, o diagnóstico final e a classificação da doença somente poderá ser determinada após a realização da biópsia e quando necessário, a submissão da peça histopatológica a imuno-histoquímica, geralmente estes processos diferenciam os LNH's ALK positivos e negativos e marcadores celulares. Clinicamente não é possível a distinção de ambas as doenças, tendo em vista que a sintomatologia apresentada pelos pacientes em geral são parecidas. Com frequência, os pacientes relatam uma tríade de sintomas, denominados sintomas B, sendo estes: perda ponderal de peso, febre e sudorese noturna. Além do mais, outros sintomas também podem ser relatados pelo paciente, como o prurido ou a dor no local da neoplasia após a ingestão de bebidas alcoólicas nos LH. Portanto independente da apresentação clínica, o paciente será encaminhado para biópsia e exames complementares que auxiliarão no processo de diagnóstico e estadiamento, e assim será realizada a primeira diferenciação entre as duas classes de linfomas, que será determinada basicamente pela presença das células de Reed-Stenberg, patognômicas dos LH. Feito o diagnóstico, o paciente será submetido ao tratamento, podendo ser composto da terapia combinada com radioterapia e quimioterapia, ou também o paciente poderá ser submetido ao Transplante de Medula Óssea (TMO), autólogo ou alogênico. Para determinação do prognóstico para o paciente, deve ser considerado sexo, idade, leucocitose após o tratamento, concentração de albumina sérica e marcadores tumorais após terapia e ainda assim, o indivíduo deverá realizar exames periódicos para avaliação de sobrevida livre da doença ou possíveis recidivas.

310

Linfoma de Hodgkin - análise dos resultados do tratamento com ABVD de 185 pacientes

Pitombeira MH¹, Costa CM¹, Quixadá AT¹, Sousa JH¹, Filho FD¹, Dantas EL¹, Landim SV¹, Mota RS¹, Ribeiro RA¹, Duarte FB¹

¹Serviço de Hematologia do Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará/SESA/HEMOCE

Introdução: O LH é uma doença potencialmente curável, que representa cerca de 11% de todos os linfomas malignos. Com os atuais protocolos de quimioterapia e radioterapia, as taxas de remissão atingem mais de 80%. O ABVD (doxorubicina, bleomicina, vinblastina e dacarbazina) é considerado o tratamento standard, com bom equilíbrio entre eficácia e toxicidade. Entretanto alguns estudos mostram que em torno de um terço dos pacientes que respondem ao primeiro tratamento, apresentam recidiva da doença. O presente trabalho analisa os resultados do tratamento em pacientes atendidos no Serviço de Hematologia do Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará. **Métodos:** 185/271 pacientes de LH foram diagnosticados e acompanhados de janeiro de 2000 a dezembro de 2012 e tratados com ABVD ou ABVD + radioterapia. O diagnóstico clínico foi confirmado por biópsia de gânglio ou de medula óssea, imunofenotipagem e estudos tomográficos. **Resultados:** Dos 185 pacientes 101 (54,6%) eram homens e 84 (45,4%) mulheres, com idade entre 18 e 76 anos, mediana 26 anos; segundo a CCEB aplicada a 129 pacientes, 64 (49,7%) pertenciam às classes D e E; 142 (77,2%) de cor parda; 112 (61,5%) solteiros; 52 diferentes profissões, sendo 54 (30,1%) estudantes, 37 (20,2%) do lar e 17 (9,3%) agricultores, procedentes de 54 municípios cearenses, sendo 97 (52,7%) de Fortaleza; 126 (68,2%) apresentavam sintomas B; quanto ao EC 84 (45,4%) eram I + II e 101 (54,6%) III + IV; quanto ao tipo histológico: CM – 39 (21,1%), DL – 4 (2,1%), EN – 128 (69,2%), PL – 11 (6,0%) e Não classificados – 3 (1,6%); 88 (47,6%) receberam em primeira linha ABVD (6 ou 8 ciclos) e 97 (52,4%) ABVD + radioterapia. A resposta obtida a esse primeiro tratamento foi: Remissão Completa

– 124 (67,0%), Remissão Parcial – 29 (15,7%), Não respondeu – 27 (14,6%) e Abandonou – 5 (2,7%); 05 (2,7%) pacientes eram HIV+, dos 03 com EC IV, apenas 01 não respondeu ao primeiro tratamento e todos estão em RC. Entre os pacientes que entraram em RC não houve diferença significativa quanto ao gênero, idade, EC ou tipo histológico; 20/124 (16,1%) pacientes apresentaram recidiva do linfoma, sendo 12 (60,0%) após 1 ano. Quanto à última notícia, obtida em dezembro de 2012, mostra pacientes em RC – 132 (71,4%), óbitos – 23 (12,4%), perdidos no seguimento – 12 (6,5%) e em tratamento – 18 (9,7%). Foi observado significância estatística ($p < 0,005$) em relação aos óbitos e perdidos no seguimento nos maiores de 35 anos. **Conclusão:** A taxa de RC obtida com o ABVD isolado ou associado à radioterapia foi menor do que a referida na literatura; um terço dos pacientes recebeu novos esquemas terapêuticos, e a recidiva do linfoma ocorreu, em menos de um ano em RC, em 40%.

311

Linfoma de Hodgkin e linfoma não Hodgkin, ocorrência em um mesmo paciente: relato de caso

Pimenta MB¹, Guedes BA², Peixoto RL¹, Pontes TA¹, Fernandes MI¹, Filho RC², Diniz JM¹, Rodrigues GS², Filgueiras PL¹, Fernandes MA¹

¹Universidade Federal da Paraíba

²Faculdade de Medicina Nova Esperança

O linfoma não-Hodgkin (LNH) representa um grupo heterogêneo de doenças, resultantes da alteração genética e expansão clonal durante a linfopoiese, podendo acometer desde células linfóides imaturas até linfócitos B ou T maduros. Quanto ao linfoma de Hodgkin, caracteriza-se, do ponto de vista anátomo-patológico, pela presença das células de Reed-Sternberg, constituindo aproximadamente 30% de todos os linfomas. Relatamos o caso de uma paciente, 28 anos, gênero feminino, com diagnóstico de linfoma não-Hodgkin de células de médio e grande porte imunofenótipo B, foi tratada em 2006 com quimioterapia (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona), obtendo remissão completa da doença. Seis anos após o diagnóstico do Linfoma não-Hodgkin, a paciente apresentou linfonodo palpável em cadeia cervical anterior direita, cujo estudo anátomo-patológico evidenciou tratar-se de Linfoma de Hodgkin de predominância linfocítica nodular. Realizou quatro ciclos de quimioterapia com doxorubicina, bleomicina, vimblastina e dacarbazina, tratamento adjuvante com 19 sessões de radioterapia local. O último PET-SCAN realizado em maio de 2013 não evidenciou áreas com aumento patológico do metabolismo F-FDG.

312

Avaliação da proteína C reativa como fator prognóstico nos pacientes com linfoma de Hodgkin

Silva AL¹, Fortier SC¹, Pinto MS¹, Rocha TM¹, Chiattoni CS¹

¹Faculdade Ciências Médicas da Santa Casa Misericórdia de São Paulo

Introdução: A proteína C-reativa (PCR) é uma proteína de fase aguda, produzida pelo fígado. O seu aumento é um marcador de inflamação inespecífico. Em 1978, PCR foi descrito como marcador bioquímico para linfoma de Hodgkin e posteriormente foi demonstrado que seus valores correspondiam ao estágio da doença. A observação de vários pacientes com PCR elevado, que não responderam ao tratamento ou recaíram, nos fez pesquisá-lo como um possível marcador prognóstico e de recaída. **Objetivo:** Demonstrar o valor prognóstico do PCR nos pacientes com Linfoma de Hodgkin em amostra de pacientes acompanhadas na Santa Casa de São Paulo. **Métodos:** Estudo retrospectivo com revisão de prontuário de 38 pacientes com Linfoma de Hodgkin com diagnóstico em Outubro 2010 até Dezembro 2012 (iniciaram QT em fevereiro 2011 até última QT em Julho de 2013) em acompanhamento

na Santa Casa de São Paulo. Foi possível a análise de 35 pacientes pois 3 possuíam dados incompletos em prontuário. Valores da PCR >1 como positivo. **Resultados:** Com mediana de idade de 29 anos, 65% dos pacientes analisados eram do sexo masculino, 85% apresentavam o subtipo clássico esclerose nodular. Vinte e nove eram estadios avançados e 28% possuíam massa bulky ao diagnóstico. Dezesete por cento tinha medula óssea acometida pelo linfoma. Na avaliação da PCR basal, seus valores tiveram relação com o estadios. Os maiores valores de PCR foram em pacientes com doença avançada e nenhum pacientes com doença localizada possuía PCR >5 ($p < 0,005$). Após o primeiro ciclo de tratamento, 50% dos pacientes já possuíam valores normais de PCR e não foi encontrada relação direta com padrão de resposta. Ao término do tratamento apenas 17% dos pacientes não possuíam PCR negativo. Como a mediana de seguimento foi de apenas 14 meses, não foi possível estabelecer se a recidiva é acompanhada de novo aumento nos valores da PCR. **Conclusão:** O valor da PCR basal tem correlação direta com o estágio e agressividade da doença, mas sua oscilação não apresenta relação com padrão de resposta. Posteriormente, com maior mediana de seguimento, avaliaremos se a recidiva se correlaciona com novo aumento nos valores da PCR.

313

Avaliação do valor prognóstico da reinfusão de nove subpopulações linfocitárias T, B e NK em pacientes com linfoma de Hodgkin submetidos ao transplante autólogo de células progenitoras hematopoéticas

Correa LE¹, Perruso LL¹, Lima ML¹, Gusmão NP¹, Souza KW¹, Pimenta GS¹, Diamond HR², Maiolino A¹, Spector N¹, Dutra HD¹, Schaffel R¹

¹Universidade Federal do Rio de Janeiro

²Instituto Nacional do Cancer

Introdução: A quimioterapia de altas doses seguida de transplante autólogo de células progenitoras hematopoéticas (TAuCPH) é utilizada para pacientes com linfoma de Hodgkin (LH) em recaída ou refratários. O sistema imune desempenha importante papel, como demonstrado pelo maior sucesso de pacientes que receberam maior quantidade de linfócitos no TAuCPH para LH. Ainda não foi elucidado qual o subtipo de linfócito responsável por este efeito. Nosso objetivo é avaliar o impacto de diferentes subpopulações linfocitárias sobre a sobrevida global (SG) e sobrevida livre de eventos (SLE) de pacientes com LH submetidos ao TAuCPH. **Métodos:** 47 pacientes com LH submetidos ao TAuCPH de Nov/1999 a jan/2009 com amostras do enxerto congeladas foram analisados por citometria de fluxo com, no mínimo 100 eventos para cada uma das seguintes subpopulações: célula T (CD3⁺), T-auxiliar (CD4⁺CD8⁻), T-citotóxico (CD4⁻CD8⁺). Analisamos populações mais raras em um subgrupo de 13 pacientes: célula T duplo-positivo (CD4⁺/CD8⁺), célula NK "convencional" (CD3⁻CD56⁺CD16⁺), NK-T (CD3⁺CD56⁺), NK de alta expressão de CD56 (CD3⁻CD56^{high}CD16^{low}), célula T reguladora (CD4⁺CD25⁺CD127⁻) e célula B (CD19⁺). As células descongeladas foram diluídas e marcadas na presença de solução de dextran/albumina para reduzir as alterações induzidas pelo congelamento/descongelamento e analisadas no citômetro de fluxo FACS Canto II. Na análise de sobrevida, os pacientes foram divididos em dois grupos pela mediana das populações linfocitárias. Calculamos as correlações pelo teste de Spearman e Qui-quadrado, as curvas de sobrevida pelo método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de log-rank e análise multivariada pelo método de Cox (SPSS 20.0). **Resultados:** As medianas das subpopulações linfocitárias ($\times 10^6/\text{kg}$) foram as seguintes: célula T 233 (7-850), T-auxiliar 84 (3-468), T-citotóxico 86 (3-401), duplo-positivo 2,9 (0,9-19), T-reguladora 4 (0,7-21), células B 28 (4-206), NK-T 15 (1,6-35), NK CD56^{high} 3,17 (0,5-9,9) e NK "convencional" 27 (6-61). Associaram-se à SG em 3 anos a célula T (89% VS 45%, $P = 0,007$), T-auxiliar (87% VS 46%, $P = 0,005$), T-citotóxico (84% vs 48%, $P = 0,025$) e NK "convencional" (100% VS 21%, $P = 0,01$).

Associaram-se à SLE em 3 anos célula T-auxiliar (44% VS 3%, $P=0,04$), T-reguladora (86% vs zero, $P=0,03$) e NK "convencional" (42% VS zero, $P=0,06$). Não houve associação entre os valores de célula T e NK "convencional", T-reguladora ou célula B, ao contrário da alta correlação com T-auxiliar, T-citotóxico e NK-T. Não houve associação entre célula T, T-auxiliar ou NK "convencional" e quimiossensibilidade, dias de aférese ou contagem de céls CD34⁺. Na análise multivariada, célula T-auxiliar associou-se isoladamente à maior SG e também à SLE, junto com quimiossensibilidade. Célula NK ou T-reguladora não foram testadas pelo pequeno número de amostras. **Conclusão:** O valor prognóstico dos linfócitos colhidos e reinfundidos no TAUCPH para LH é determinado por diferentes subpopulações que parecem atuar de forma independente. Para a SG, as células T-auxiliares e NK "convencionais" são as mais importantes e, para a SLE, as células T-reguladoras juntam-se a estas. O aumento do número de casos estudados possibilitará a confirmação destes achados.

314

Linfoma de Hodgkin – análise de algumas variáveis epidemiológicas de pacientes adultos ao longo do último meio século

Pitombeira MH¹, Costa CM¹, Quixadá AT¹, Sousa JH¹, Landim SV¹, Dantas EL¹, Dantas FE¹, Carvalho LE¹, Lopes GS¹, Duarte FB¹

¹Serviço de Hematologia do Hospital Universitário Walter Cantídio da Universidade Federal do Ceará/SESA/HEMOCE

Introdução: Importantes progressos e mudanças foram obtidos no conhecimento da biologia, fatores prognósticos, bem como no tratamento do Linfoma de Hodgkin (LH) ao longo dos últimos 50 anos. O presente trabalho pretende analisar algumas variáveis clínicas e epidemiológicas da doença em pacientes adultos atendidos no serviço de hematologia do Hospital Universitário Walter Canídeo (HUWC) da Universidade Federal do Ceará (UFC). **Métodos:** No período de fevereiro de 1958 a fevereiro de 2013 foram atendidos 1008 pacientes portadores de LH, sendo 653 (64,8%) com idade acima de 18 anos. Para análise distribuímos os pacientes nos períodos de tempo entre 1958 – 1979; 1980 – 1989; 1990 – 1999; 2000 – 2013. Foram analisadas as variáveis gênero, sintomas constitucionais, estadiamento clínico e subtipos histológicos. **Resultados:** A idade variou de 18 a 83 anos, mediana de 39,4 anos; a distribuição por gênero mostrou predomínio do sexo masculino em todos os períodos (relação M:F – 1:1,41), sem diferença significativa ($p=0,230$); quanto à presença de sintomas constitucionais houve predomínio de sintomas B, sempre maior que 50%, principalmente febre e emagrecimento, sem diferença significativa ($p=0,117$), em todos os períodos; o estadiamento clínico mostrou aumento progressivo dos estádios III + IV, mas sem significado estatístico ($p=0,413$), assim distribuídos: 1958/1979 – I+II – 54,1% e III+IV – 45,9%; 1980/1989 – I+II – 50,0% e III+IV – 50%; 1990/1999 – I+II – 47,7% e III+IV – 52,3%; 2000/2013 – I+II – 44,8% e III+IV – 55,2% (total – I+II – 44,8% e III+IV – 51,3%). Quanto aos subtipos histológicos foram encontrados, ao longo dos anos, uma maior frequência do tipo histológico esclerose nodular (EN) e diminuição da forma celularidade mista (CM), com diferença estatisticamente significativa, assim distribuídos por período: 1958/1979 – CM – 43,2%; EN – 19,6%, Predomínio Linfocitário (PL) – 7,8% e Depleção Linfocitária (DL) – 29,4% ($p=0,007$); 1980/1989 – CM – 34,2%; EN – 33,4%; PL – 13,1% e DL – 19,3% ($p<0,001$); 1990/1999 – CM – 32,4%; EN – 44,0%, PL – 11,5% e DL – 12,1% ($p=0,493$); 2000/2013 – CM – 27,4%; EN – 62,0%, PL – 6,6% e DL – 2,0% ($p<0,001$). **Conclusão:** Não houve diferença estatística nos diversos períodos quanto à distribuição dos pacientes quanto ao gênero e sintomas B. A maior frequência das formas III+IV ao longo dos anos mostra que não ocorreu melhoria quanto ao diagnóstico nas formas iniciais da doença, quando há melhor prognóstico. Há tendência linear crescente ($p<0,001$) na prevalência do subtipo histológico esclerose nodular e diminuição das formas CM e DL, fenômeno de ocorrência em outros países em desenvolvimento.

315

Apresentação de linfoma de Hodgkin com quadro de síndrome de compressão da cava superior e trombose venosa profunda no período puerperal

Vecina AF¹, Andrade FC¹, Assis JR¹, Leao LH¹, Ferrari G¹, Dib P¹, Zanutto G¹, Cliquet M¹

¹Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde da PUC-SP

Introdução: O Linfoma de Hodgkin (LH), neoplasia oriunda de linfócitos-B, caracteriza-se pela presença da célula de Reed-Sternberg em biópsia de linfonodo. O LH apresenta-se normalmente como adenomegalia, com predominância para as áreas cervicais e supraclaviculares. O envolvimento mediastinal é frequente, mas raramente isolado. O baço é o sítio de envolvimento abdominal mais comum, porém a esplenomegalia está presente ao diagnóstico em aproximadamente 10% dos casos. Os sintomas "B" (febre, sudorese noturna e perda de mais de 10% da massa corpórea) se correlacionam com a extensão da doença, sendo positivos em <10% dos pacientes em estadios I e em dos pacientes em estadio IV. O subtipo Esclerose Nodular, subtipo histológico mais comum, classicamente se apresenta em adultos jovens, em estadios I e II. Anemia leve (Hb10-12g/dl), correlaciona-se à doença crônica e está presente ao diagnóstico em 40% dos pacientes. O envolvimento da medula óssea ocorre geralmente em pacientes com sintomas B e alterações no hemograma e está correlacionada aos subtipos Celularidade Mista e Depleção Linfocitária. **Objetivo:** O presente relato objetiva descrever o caso de paciente com apresentação agressiva da doença, com adenomegalia mediastinal extensa levando à Síndrome da Compressão da Veia Cava Superior e à Trombose Venosa Profunda. **Relato de Caso:** Paciente de 19 anos, branca, puerpera de 22 dias, sem doenças crônicas prévias, deu entrada no Pronto Socorro da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba – PUC/SP com história de disfagia, tosse seca e febre. Ao exame físico, apresentava edema cervical e de membro superior direito e esplenomegalia. A investigação diagnóstica revelou adenomegalia mediastinal anterior de 10 x 10,5 cm ocasionando desvio da traquéia, derrame pleural e pericárdico, esplenomegalia e adenomegalia retroperitoneal; Hb=7g/dL, Leucócitos=12300/mm³, Linfócitos=2780/mm³ e Plaquetas=258000/mm³, além de trombose venosa profunda subclávia/axilar distal ao Duplex Scan do Membro Superior Direito. A biópsia de linfonodo cervical foi compatível com doença linfoproliferativa. Devido à demora para o resultado da imunohistoquímica e à gravidade do caso, foi iniciado o tratamento com R-CHOP, recebendo alta com melhora clínica significativa e redução da adenomegalia. A confirmação diagnóstica de Linfoma de Hodgkin (Esclerose Nodular) foi feita somente após os 2 primeiros ciclos de quimioterapia. Atualmente a paciente encontra-se no 2º. Ciclo ABVD, sem adeno ou esplenomegalia palpáveis. **Conclusão:** Com esse relato, queremos ressaltar a importância da apresentação atípica e agressiva de alguns casos de LH.

316

Linfoma de Hodgkin: o valor preditivo negativo do interim PET

Brandão IV¹, Russo R¹, Vieira FC¹, Pupo JT¹, Borduchi DM¹, Giglio AD¹

¹Faculdade de Medicina do ABC

Introdução: O linfoma de Hodgkin (LH) é uma neoplasia do tecido linfóide de excelente prognóstico, porém, aproximadamente 10% dos pacientes com doença localizada e 30% com doença avançada não respondem adequadamente ao tratamento inicial. Resultando em progressão de doença ou recaída. Identificar o grupo de pior

prognóstico é de suma importância. Alguns estudos de interim PET tem conseguido identificar este grupo ao início do tratamento. **Objetivo:** Avaliar o valor preditivo negativo do interim PET nos pacientes portadores de Linfoma de Hodgkin no Hospital Estadual Mario Covas /FMABC no período de janeiro de 2008 a novembro de 2012. **Métodos:** Foram avaliados 50 pacientes com LH em primeira linha de tratamento submetidos ao PET-CT para determinar resposta terapêutica. **Resultados:** Na avaliação do interim PET-CT 46(92%) pacientes tinham PET-CT negativo, destes apenas um apresentou progressão de doença ao término do tratamento. Considerando os quatro pacientes que tinham interim PET-CT positivos, três tiveram progressão de doença. **Conclusão:** Neste estudo o interim –PET foi capaz de identificar os pacientes com pior evolução.

317

CD4+CTLA-4+ and CD4+CD127+ T cell subsets in Brazilian patients with classical Hodgkin lymphoma

Silva JM¹, Penna AM¹, Sales MM², Chaves EM³, Silva PB¹, Garibaldi J¹, Cavalcante E¹, Perini GF¹, Baiocchi OC¹

¹Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

²Laboratório de Citometria de Fluxo do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, SP, Brazil

³Hospital Santa Marcelina, São Paulo, SP, Brazil

Background: CD4⁺ CTLA-4⁺ T lymphocytes has long been recognized as regulatory T cells, potentially decreasing antitumor response. Augmentation of immune response via blockade of CTLA-4 has shown an improvement in survival for patients with metastatic melanoma, which prompted the approval of the CTLA-4 antibody Ipilimumab for this disease. CD4⁺ CD127⁺ T lymphocytes also participate in immune homeostasis and T-cell development. CD4⁺ CD127⁺ T cells is associated with an effective immune response. CD127-mediated signaling in human leukemia T-cells that may be of therapeutic value, namely regarding the potential use of PI3K and mTOR pharmacological inhibitors. Increased frequencies of regulatory CD4⁺ cells, together with decreased effector CD4⁺ cells in the tumor microenvironment have been proposed as one of the mechanisms for the immunosuppression state observed in classical Hodgkin lymphoma (cHL) patients. **Aim:** The aim of the study was to evaluate the frequencies of CTLA-4 and CD127 on CD4⁺ T cells in peripheral blood of patients with cHL at diagnosis and post-treatment and correlate these findings with clinical and epidemiological aspects. **Methods:** This is an open multicentric study and, so far, we included 54 patients from december 2009 to July 2013. Thirty-four patients have completed therapy until July 2012 and were included in this study. Blood was drawn at diagnosis and post-treatment. The T cell phenotype was evaluated by flow cytometry using CD3, CD4, CD8, CTLA-4 and CD127 and correlated to phenotypic and clinical parameters in uni- and multivariate models. Nineteen volunteers were recruited as controls. **Results:** From the 34 cHL patients recruited for this study, 17 (50%) were male, 27 (79%) patients presented with B symptoms and 18 (53%) patients had advanced disease (stage III and IV) at diagnosis. The percentage of CD4⁺ T cells with CTLA-4 surface expression was significantly increased in patients with cHL at diagnosis compared with healthy controls (median 8.7 (0.8 - 30.3) vs 2.5 (0.7 - 11.2); P<0.001). Additionally, CD4⁺CTLA-4⁺ T lymphocytes significantly decreased following treatment (8.7 (0.8 - 30.3) vs 3.9 (0.8 - 10.3); p=0.01), with values similar to healthy controls (3.9 vs 2.5; p=0.42). By contrast, CD4⁺CD127⁺T lymphocytes were decreased at diagnosis, with values increasing after therapy (41.2 (3.3 - 75.7) vs 54.9 (17.1 - 81.3); p=0.002), similar to healthy controls (54.9 (17.1 - 81.3) vs 58.2 (41.2 - 89.8); p=0.21). The expression of CD127 on CD4⁺ T cells negatively correlated with the expression of CTLA-4 (p<0.001). The frequencies of these cells were not correlated with age, gender, disease stage, erythrocyte sedimentation rate (ESR), albumin levels and EBV status. **Conclusion:** In this study we showed a negative correlation

between CTLA-4 expression on CD4⁺T cells and the expression of CD127 at diagnosis of patients with cHL. These results suggest a role of CTLA-4 and CD127 on Hodgkin lymphomagenesis, possibly negatively regulating host anti-tumor response. Further studies investigating these CD4⁺ T lymphocytes subpopulations with functional assays are warranted. The promising immunotherapy regimen targeting CTLA-4 and the use of drugs that alter CD127 signaling might be beneficial in classical Hodgkin lymphoma.

318

Impact of treatment on regulatory CD4+ T lymphocytes, TH17 and cytokines in patients with classical Hodgkin lymphoma

Silva PB¹, Penna AM¹, Silva JM¹, Sales MM², Chaves EM³, Garibaldi J¹, Cavalcante E¹, Perini GF¹, Baiocchi OC¹

¹Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Federal de São Paulo, SP, Brazil

²Laboratório de Citometria de Fluxo do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, SP, Brazil

³Hospital Santa Marcelina, São Paulo, SP, Brazil

Although immunosuppression has long been recognized in classical Hodgkin lymphoma (cHL), the underlying basis for the lack of an effective immune response against tumor remains unclear. Increased frequencies of regulatory T lymphocytes in the tumor microenvironment have been proposed as one of the mechanisms for this anergic state. However, little is known about the disbalance between regulatory and effector CD4⁺ subpopulations in cHL patients and how treatment can modify these cells. In this study, we analyzed the regulatory and effector CD4⁺ subpopulations together with pro and anti-inflammatory cytokines in cHL patients and the impact of treatment on these cells and cytokines. **Methods:** This is an open study and, so far, we included 54 patients from December 2009 to July 2013. Thirty-four patients have completed therapy on July 2012 and were included in this study. Blood was drawn at diagnosis and after treatment. Nineteen healthy volunteers were recruited as controls. Quantification of T lymphocytes was done by flow cytometry using CD3, CD8, CD4, CD25, Foxp3, CTLA4, GITR and IL17 antibodies. Ten cytokines were studied: IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-17A, sIL-2R α , TNF- α , IFN- γ , and VEGF. Cytokine levels were determined by multiplexed immunoassay system. **Results:** From the 34 cHL patients recruited for this study, 17 (50%) were male, 16 (47%) had Epstein-Barr virus related cHL, 27 (79%) patients presented with B symptoms and 18 (53%) patients had advanced diseases. The percentage of regulatory CD4⁺GITR⁺ and CD4⁺CTLA4⁺ lymphocytes at diagnosis were increased when compared with the healthy controls (2.2 vs 0.8 p < 0.001; 8.7 vs 2.5, p<0.001), and decreased after treatment (2.2 vs 0.8, p=0.01; 8.7 vs 3.9, p=0.01). Interestingly, the same pattern of distribution could be observed with (IL-6) (5.6 vs 0.4, p<0.001; 5.6 vs 0.4 p=0.01), IL-10 (7.7 x 0.3, p<0.001; 7.7 x 0.3, p<0.001) and soluble sIL-2R α (575.4 vs 7.5, p<0.001; 575.4 vs 93.5, p<0.001). After treatment, the percentage of regulatory CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺ and effector CD4⁺IL17⁺ T lymphocytes were not different from diagnosis (0.9 vs 0.4, p=0.45; 0.6 vs 0.9, p=0.52; respectively) and from controls (0.9 vs 0.3, p=0.22; 0.6 vs 0.7, p=0.84; respectively). Interestingly, increased CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺ T lymphocytes were correlated with advanced disease (p=0.03) and an ESR > 30 (p=0.01). **Conclusion:** In this study, we showed that, after treatment, there was a decrease of some subsets of CD4⁺ T cells with regulatory phenotype, together with a decrease of IL-6, IL-10 and sIL-2R α . Understanding cHL associated immunosuppression and the immune reconstitution after treatment maybe the key to develop new treatment strategies. Further studies investigating these CD4⁺ subpopulations with functional assays are warranted. Given that the incidence of EBV-related cHL, disease presentation and severity are different in developing countries than in developed ones, we emphasize the importance of our results.

319

Absolut lymphocyte count at diagnosis is predictive of survival in patients with classical Hodgkin lymphoma: a retrospective multicenter Brazilian study

Perini GF¹, Cavalcante E¹, Garibaldi J¹, Borducchi D², Vieira FC², Farias DL³, Tavares RS³, Santos FP⁴, Hammerslack N⁴, Cecyn KZ¹, Souza EM¹, Penna AM¹, Baiocchi OC¹

¹*Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil*

²*Universidade Federal do ABC, São Paulo, SP, Brazil*

³*Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brazil*

⁴*Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brazil*

Background: Classical Hodgkin lymphoma (cHL) is one of the most curable cancers, with cure rates ranging from 65-90%, depending on different risk factors. These factors include both clinical (international prognostic score, IPS) and biological markers (tumor associated macrophages, for example). However, most biomarkers are not available in a routine basis and IPS does not offer risk stratification for patients with early stage cHL. Recently, Porrata et al described the peripheral lymphocyte/monocyte ratio (LMR) as a strong prognostic factor in patients with cHL. In his study, an LMR of less than 1.1 was related with poor outcome. **Aim:** To assess the role of lymphocyte/monocyte ratio at diagnosis in predicting outcome in cHL patients. **Methods:** This is a retrospective multicenter study conducted by the Universidade Federal de São Paulo, Brazil. Only confirmed cases of cHL, diagnosed between July 1986 to July 2013, with clinical, epidemiological and laboratory parameters available were included in this study. Response was defined as complete (CR) or less than CR (partial response or refractory disease). Event was defined as treatment related mortality, progression (defined as time for initiation of salvage therapy) or relapse. Advanced stage disease was defined as stage I or II with B symptoms and/or bulky disease and stage III or IV. Patients with conflicted data or loss of follow up were excluded. **Results:** A total of 570 patients were diagnosed with cHL in this period. However, 303 patients were selected for this study. Nodular sclerosis subtype was diagnosed in 207 (68%) of all patients. Median age at diagnosis was 30 years old (ranging from 12-78), with a 0,9:1 Female:Male ratio. The majority (210, 69%) presented with advanced disease. ABVD chemotherapy protocol was the initial therapy in 91% of patients, MOPP/ABV in 8% and 1% of patients received only radiotherapy. Consolidation radiotherapy was done in 175 (58%) of all patients after chemotherapy. Overall responses were: CR in 90,7% (n=274), Partial response/Refractory disease in 8,9% (n=27); one patient died due to treatment-related toxicity. CR rates were 97,8% in early stage disease and 89,4% in advanced stage (p=0.07). Overall Survival (OS) for the entire group was 95% in 5 years (CI95% 73-83%), with a progression free survival (PFS) of 78% (CI95% 91-97%). A Lymphocyte/Monocyte ratio (LMR) less than 1.1 was not predictive of survival in our patients, neither PFS (84% vs 78%) nor OS (95% vs 96%). However, absolute lymphocyte count (ALC) greater than 1000 cells/mL at diagnosis was related to a better OS (97% vs 88%, p=0.003). **Conclusion:** Although cHL is highly curable, it is an unmet medical need to better stratify these patients at diagnosis, especially with simple and straightforward prognostic factors, such as absolute lymphocyte count. In our study, LMR less than 1.1 was not associated with survival, as recently pointed by Porrata et al., but an ALC greater than 1000 cells/mL was related to better overall survival. It is well known that the incidence of EBV-related cHL, disease presentation and severity are different in developing countries than in developed ones; therefore, prognostic factors may differ from different studied populations, highlighting the importance of our results.

LINFOMAS NÃO-HODGKIN

320

Linfoma de células dendríticas plasmocitóides blásticas

Damach FM¹, Araujo GM^{1,2}

¹*Faculdade de Medicina do Unipam*

²*Hospital Nossa Senhora de Fátima*

Introdução: Na classificação WHO-EORTC o linfoma de células NK blásticas foi incluído como uma neoplasia clinicamente agressiva com alta incidência de envolvimento cutâneo, envolvimento da medula óssea e risco de disseminação leucêmica. **Objetivo:** Relatar o caso de paciente com linfoma de células dendríticas plasmocitóides blásticas. **Relato de Caso:** Paciente masculino, 56 anos de idade, previamente hígido iniciou com quadro de lesões eritematosas não descamativas em região dorsal há 3 meses. A área acometida pela lesão teve aumento, mas não houve mudanças na sua apresentação ou alterações clínicas/laboratorial concomitante. Foi avaliado por médico que realizou biópsia da lesão e encaminhou o material para anatomopatológico. O resultado foi: células intermediárias a grandes infiltrando difusamente derme até hipoderme; índice proliferativo alto; imuno-expressão de CD43, CD4, CD56 e TdT (poucas células); marcadores específicos de linhagem B (CD20, CD79a e PAX-5), T (CD3, CD5, CD7) e granulocítica (mieloperoxidase), bem como marcadores de diferenciação epitelial e melanocítica, não reagentes: conjunto dos achados favorece tumor de células dendríticas plasmocitóides blásticas. Feito avaliação para ver se havia infiltração de outros órgãos e tecidos pelo linfoma, mas o mesmo somente estava presente na pele e subcutâneo, ainda sem manifestações sistêmicas. Paciente não apresentava sintomas B. Estado clínico e físico estava adequado. Foi encaminhado para quimioterapia. Evoluiu com óbito apesar do tratamento. **Discussão:** Neoplasia hematológica rara sem predileção racial e relação masculino/feminino de 3,3: 1. A maior parte dos pacientes é idosa, mas tem sido descrito casos em crianças. Pode afetar qualquer órgão, mas os mais frequentemente comprometidos são pele, medula óssea, sangue periférico e gânglios linfáticos. Invariavelmente, todos os pacientes têm lesões na pele. Estes podem ser máculas, nódulos ou tumores eritematopurpúricos solitários ou múltiplos. Prevalência mais comum são o tronco e couro cabeludo. Aproximadamente 20% dos pacientes têm envolvimento ganglionar. A trombocitopenia é mais prevalente no diagnóstico. O envolvimento da medula óssea e sangue periférico avança com a progressão da doença. Histologicamente é caracterizada por uma infiltração difusa, monomórfica, com células blásticas com núcleos de tamanho irregular, cromatina frouxa e um ou mais nucléolos. O citoplasma é escasso e agranular. O infiltrado caracteristicamente ocupa a derme. Não é observado plasmocitos, eosinófilos ou destruição vascular. Nas variantes nodular o infiltrado é profundo atingindo a hipoderme. Os gânglios linfáticos são envolvidos nas formas difusas. O envolvimento da medula óssea varia de infiltração minimamente detectável por métodos imunofenotípicos a infiltração maciça causando citopenias importantes. Nenhuma diferença significativa na sobrevida é encontrada entre pacientes apresentando lesões cutâneas com ou sem doença extracutânea concomitante. **Conclusão:** O curso clínico é agressivo, com uma sobrevida média de 12-14 meses. Entre 80 e 90% dos pacientes apresentam uma boa resposta o tratamento inicial com quimioterapia, mas as recaídas precoces são comuns e com resistência a quimioterapia. A maioria dos pacientes tem recaída antes dos 2 anos. Sem regime terapêutico de escolha.

321

Leishmaniose visceral simulando linfoma: relato de casoBorges KO¹, Oliveira MM², Umbelino AM², Santos AD¹¹Hospital Regional do Baixo Amazonas do Oeste do Pará²UEPA

A leishmaniose visceral é uma infecção zoonótica crônica que afeta animais e o ser humano, causada por protozoário do gênero *Leishmania*. No Brasil, a doença apresenta uma ampla distribuição geográfica, além de alta letalidade, quando não instituído o tratamento adequado em tempo hábil. Devido à apresentação insidiosa e as manifestações clínicas e laboratoriais serem muito similares ao do linfoma. Descreve-se o caso de um paciente sexo masculino, 34 anos, pedreiro, proveniente do município de Monte Alegre (PA), que procurou atendimento no ambulatório de Oncologia do Hospital Regional do Oeste do Pará com quadro de perda ponderal progressiva, febre diária, perda de apetite e dispnéia aos esforços. Ao exame físico apresentou hepatoesplenomegalia, distensão abdominal com sinal do piparote positivo, linfonodomegalia axilar e inguinal direita e edema de membros inferiores. O hemograma da admissão demonstrou pancitopenia (Hematócrito: 21,3%; Leucócitos: 1.000/mm³ e Plaquetas: 71.000/mm³) e apresentava também aumento de enzimas hepáticas, diminuição da albumina e alargamento do INR. As sorologias virais foram negativas. Foi realizada TC do abdome que evidenciou linfonodomegalia das cadeias mesentérica superior e inferior, intracavaoárquicas e periaórticas à esquerda. Teve como hipótese diagnóstica inicial síndrome linfoproliferativa com sintomas B, sendo então iniciada corticoterapia e antibioticoterapia. Evoluiu com piora do estado geral, com quadro de neutropenia febril e hemocultura positiva para *Stafilococcus*, além de necessidade de transfusão de concentrado de hemácias. A biópsia do linfonodo inguinal mostrou formação nodular compatível com hemangioma cavernoso envolvendo o linfonodo e o tecido conjuntivo adjacente. Foi então realizado mielograma, o qual evidenciou a presença de formas amastigotas de *Leishmania*, sendo iniciado tratamento com Glucantime. Evoluiu com melhora do quadro clínico e laboratorial, recebendo alta hospitalar após 30 dias de tratamento específico.

322

Carcinoma de Merkel com metástase em linfonodo associado a linfoma não Hodgkin de células B: relato de casoCardoso CC¹, Rudolf-Oliveira RC¹, Reis ML¹, Mengatto V¹, Gaspar PC¹, Dametto GC¹, I-Ching L¹, Steffenello-Durigon G¹, Del-Moral JA¹, Santos-Silva MC¹¹Universidade Federal de Santa Catarina

Introdução e Objetivo: O carcinoma de células de Merkel (CCM) é um tipo de câncer de pele raro e agressivo de origem neuroendócrina, o qual geralmente se apresenta como um nódulo avermelhado único, firme e assintomático. O CCM atinge principalmente indivíduos idosos e/ou imunocomprometidos, em especial pacientes HIV positivos ou transplantados; além de ser frequentemente associado à presença de outros carcinomas, de doenças autoimunes e de neoplasias hematológicas. Entre as neoplasias hematológicas frequentemente associadas ao CCM estão as síndromes linfoproliferativas, como os Linfomas Não-Hodgkin de células B (LNH-B), os quais compreendem um grupo heterogêneo de doenças que se originam no tecido linfático a partir da proliferação clonal de linfócitos B. Devido à falta de características morfológicas específicas, a imuno-histoquímica (IHQ) da biópsia da lesão é necessária para definir o diagnóstico de CCM, principalmente com a utilização de marcadores específicos, como a citoqueratina 20 (CK20), cuja positividade é expressa em padrão "dot"

"citoplasmático. Como a presença de metástase linfática é frequente, é importante a análise dos linfonodos regionais. Em vista disso, o objetivo deste trabalho foi relatar um caso de CCM com metástase em linfonodo associado a LNH-B em amostra de linfonodo cervical (LC) analisada por imunofenotipagem por citometria de fluxo (IMF-CF) e por IHQ. **Relato de Caso e Discussão:** Paciente do gênero masculino, 67 anos, diagnosticado com LNH-B da zona marginal esplênica por IHQ em 2010 e tratado com três ciclos de quimioterapia e esplenectomia. Em 2011, foi novamente observada por IHQ a presença de células de LNH-B em aspirado de LC, com realização de 18 ciclos de quimioterapia. Após 11 meses, a IHQ de biópsia de LC evidenciou células de carcinoma neuroendócrino. No início de 2012, foi confirmado o diagnóstico de CCM por IHQ pela positividade das células neoplásicas para CK20 em padrão "dot" citoplasmático em amostra de biópsia de LC. No final do mesmo ano, a IMF-CF de sangue periférico detectou 25,6% de células de LNH-B, e por isso foi realizada a imunoterapia. Apesar do tratamento para ambas as neoplasias, em 2013, observou-se novamente linfonodomegalia cervical, o que justificou o encaminhamento do paciente ao HU-UFSC. A IMF-CF de aspirado de LC demonstrou 1,9% de células com fenótipo compatível com LNH-B e 78,3% de células não hematopoiéticas (CD45 negativas) com expressão de Ep-CAM (Ber-EP4), marcador de diagnóstico diferencial entre carcinoma e mesotelioma com positividade, principalmente, para carcinoma neuroendócrino. Em outros estudos, foi observada a expressão de Ep-CAM (Ber-EP4) nas células de CCM em cerca de 75% dos casos dessa neoplasia. Os resultados do exame citopatológico da mesma amostra de aspirado de linfonodo indicou infiltração por CCM (CK20+ em padrão "dot" citoplasmático) e presença concomitante de linfoma. **Conclusão:** No caso relatado, a avaliação da expressão de Ep-CAM (Ber-EP4) nas células não hematopoiéticas do LC por IMF-CF foi importante para evidenciar de maneira rápida e eficiente a presença de células de carcinoma associada a LNH-B. O desenvolvimento e a aplicação de novos anticorpos monoclonais para IMF-CF têm muito a contribuir para a abrangência desse método, a fim de realizar o diagnóstico não somente de neoplasias hematológicas, mas também de não hematológicas.

323

Linfoma primário de células T do esôfago: relato de casoBergier LL¹, Magalhães MC¹, Almeida AJ¹, Campos GM¹, Andrade CC¹, Ferry FR¹¹Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Introdução: O linfoma de esôfago é pouco frequente, respondendo por menos de 1% de todos os linfomas do trato digestório. Os linfomas não-Hodgkin primários do esôfago são muito raros, e a quase totalidade dos casos relatados são de células B. Os linfomas primários de células T, em pacientes imunocompetentes, são ainda mais raros, com menos de dez casos relatados até 2012 (PUBMED, Scielo, BIREME). O diagnóstico de um linfoma primário de esôfago é um desafio pois, dada a sua raridade, não costuma fazer parte dos diagnósticos diferenciais. **Relato de Caso:** Paciente masculino, 67 anos, internado no hospital Universitário Gaffrée e Guinle com disfagia baixa progressiva para sólidos e líquidos e odinofagia com evolução de um ano, além de emagrecimento de mais de 10% de seu peso nos três meses anteriores. A endoscopia digestiva alta mostrou a presença de lesão elevada, ulcerada, irregular, friável e avermelhada, medindo cerca de 4 cm e acometendo 40% da luz na mucosa de esôfago, próxima à linha Z, em parede anterior. A análise histopatológica da lesão revelou Linfoma não-Hodgkin de células T, cuja imunohistoquímica evidenciou CD3+, CD20+ (multifocal), CD4+, CD8+, CD56-, Citoceratina pan+, Ki67<10%, e evidência de clonalidade T (TCR g1 e g2 monoclonal). Tomografia Computadorizada (TC) de tórax mostrou acentuado espessamento parietal concêntrico e difuso de esôfago com desvio de traqueia, brônquios principais e das estruturas vasculares mediastinais;

TC de abdome normal. O paciente foi estadiado como IE-B (Ann Arbor) e com Índice Prognóstico Internacional (IPI) = 3. Realizado um ciclo de quimioterapia com esquema CHOP (ciclofosfamida 700 mg/m², doxorubicina 40 mg/m², sulfato de vincristina 2 mg/dose e prednisona 100 mg/dia), tendo apresentado arritmia cardíaca. Dois ciclos seguintes foram realizados com intervalos de 21 dias, sem doxorubicina. A evolução do paciente foi satisfatória, com retorno normal da deglutição. Cerca de 4 meses do diagnóstico e 45 dias do término do tratamento o paciente é reinternado com queda do nível de consciência, anasarca e leucocitose neutrofílica, sem evidência clínica da atividade do linfoma de esôfago, tendo evoluído para o óbito por sepse após uma semana. O relato de caso de uma apresentação tão incomum de linfoma deve chamar a atenção para um possível diagnóstico diferencial de doenças que cursam com odinofagia e disfagia, pois o tempo perdido entre os primeiros sintomas e o diagnóstico final pode ser muito prejudicial ao paciente. Portanto, apesar de ser apresentação rara, deve-se incluir a possibilidade de linfoma em pacientes que se apresentem com disfagia, fístula esofageana ou espessamento submucoso de esôfago à TC.

324

Comprometimento do sistema nervoso central por linfomas não Hodgkin

Resende LS¹, Monteiro FF², Yasuda AG³, Costa CM³, Santos DF³, Niéro-Melo L¹, Domingues MA⁴, Yamashita S⁵, Resende LA⁶, Bazan R⁶

¹Hematologia, Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP

²Acadêmico de medicina, bolsista FAPESP (Processo 2012/05472-5), Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP

³Acadêmicos de medicina não bolsistas, Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP

⁴Patologia, Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP

⁵Radiologia, Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP

⁶Neurologia Clínica, Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP

Introdução: Comprometimento do sistema nervoso central (SNC) por linfomas não-Hodgkin (LNH) usualmente leva a grandes síndromes cognitivas, motoras, sensitivas e de nervos cranianos, requerendo ações imediatas dos profissionais da saúde na luta pela sobrevivência dos pacientes. **Objetivo:** Estudar 12 pacientes portadores de LNH internados num Hospital Universitário, que apresentaram comprometimento do SNC pela neoplasia. **Métodos:** Estudo clínico-laboratorial e radiológico de pacientes portadores de LNH internados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB) – UNESP, que apresentaram comprometimento do SNC pela neoplasia, de setembro de 2005 a dezembro de 2012. **Resultados:** De setembro de 2005 a dezembro de 2012 foram internados 519 pacientes, vários com repetidas internações. Dentre eles, 258 pacientes tinham doenças linfoproliferativas (DLP), incluindo 125 LNH. Desses, 12 (9,6%) desenvolveram comprometimento do SNC, correspondendo a 1 linfoma difuso de grandes células B (LDGC-B) primário de SNC com lesão única fronto-parietal direita, 1 doença linfoproliferativa pós-transplante renal primária de SNC com múltiplas lesões cerebrais e cerebelares (LDGC-B, com pesquisa positiva do genoma do Epstein Barr vírus no tumor), 1 LDGC-B primário de nasofaringe com lesões frontal e bulbar, 1 linfoma-leucemia T do adulto HTLV-1 positivo com acometimento ocular direito que invadia o SNC por contiguidade, 1 LDGC-B com lesão no corpo vertebral de T8, 1 LNH Burkitt-like com lesão em L5 e S1, 1 LDGC-B variante anaplásico de retroperitônio e músculo ileopsoas esquerdo com invasão e fratura de L3, 2 linfomas linfoblásticos T mediastinais com infiltração líquórica, 1 linfoma de Burkitt com infiltração líquórica, 1 linfoma B da zona do manto primário de órbitas e com infiltração líquórica, 1 LNH B rico em células T e com áreas de zona cinzenta recidivado em corpos vertebrais lombares, com síndrome de Froin e infiltração líquórica. Somente 1 LNH linfoblástico T mediastinal e o linfoma de Burkitt mostravam-se assintomáticos aos diagnósticos das infiltrações líquóricas, estabelecidos em punções protocolares para quimioterapia intratecal profilática.

Todos os demais pacientes apresentaram sintomas e sinais neurológicos decorrentes do comprometimento neurológico, que foram variáveis de acordo com as topografias das lesões. **Conclusão:** Neoplasias linfoides têm potencial para acometer o SNC, primária ou secundariamente. Em certos subtipos, como os 2 linfomas linfoblásticos T e 1 linfoma de Burkitt da nossa casuística, a coleta de LCR com administração de quimioterapia intratecal e protocolar, inclusive, para profilaxia de invasão. Todos os LNH estudados corresponderam a tumores de subtipos agressivos. Além dos 3 casos com infiltração líquórica, nosso estudo incluiu 1 linfoma primário de SNC (encéfalo) em imunocompetente, 1 primário de SNC (encéfalo) em transplantado renal imunossuprimido, 3 com localização em vértebras e 4 em sítios adjacentes ao SNC (nasofaringe, órbitas, olho, retroperitônio/ileopsoas), com acometimento neurológico por contiguidade.

325

Desfecho com meningite tuberculosa de paciente em tratamento para linfoma de Burkitt

Silva JB¹, Mendes PH¹, Dias BC¹, Magalhães BL¹, Moura CL¹, Takano CY¹, Pinheiro I¹

¹Pontifícia Universidade Católica de Campinas

Introdução: Linfoma de Burkitt é uma doença de células B maduras; a meningite tuberculosa resulta da ruptura de focos subependimários da *Mycobacterium tuberculosis*, inflamando as meninges. **Objetivo:** Relatar caso de portador de HIV acometido por Linfoma de Burkitt que veio a óbito por Meningite Tuberculosa. **Métodos:** Revisão de prontuário e registro de imagens dos métodos diagnósticos. **Relato de Caso:** Paciente com história de surgimento e aumento progressivo de massa cervical há 3 meses, HIV(+) há 2 anos e sem tratamento, com 2 linfonodos palpáveis em cadeias cervical anterior e posterior à esquerda. Após ser submetido à biópsia da maior lesão, teve como resultado Linfoma de Burkitt e iniciou quimioterapia. Ao evoluir com sintomas e sinais meníngeos positivos, iniciou tratamento de meningoencefalite viral, pois apresentava paralisia facial e o líquido tinha predomínio linfocitário e ausência de células neoplásicas. Com a piora do quadro, foi transferido para a UTI, com hipótese de meningite tuberculosa, indo a óbito no 8º dia de internação, à despeito da antibioticoterapia. **Discussão e Conclusão:** Indivíduos HIV positivo tem um risco cinco vezes maior de complicar-se com meningite por tuberculose que um indivíduo imunocompetente. O diagnóstico precoce da meningite tuberculosa e a conduta terapêutica adequada são essenciais para o prognóstico. Além disso, em indivíduos imunocomprometidos a evolução desfavorável pode ser rápida. No caso descrito, havia infecção pelo HIV, presença do linfoma de Burkitt e imunossupressão secundária ao tratamento da neoplasia.

326

Diagnóstico diferencial entre variante blástica de linfoma da zona do manto e linfoma difuso de grandes células B CD5 positivo: relato de caso

Cardoso CC¹, Rudolf-Oliveira RC¹, Gaspar PC¹, Reis ML¹, Mengatto V¹, Gonçalves KT¹, I-Ching L¹, Steffenello-Durigon G¹, Del-Moral JA¹, Santos-Silva MC¹

¹Universidade Federal de Santa Catarina

Introdução e Objetivo: Os Linfomas Não-Hodgkin (LNH) compreendem um grupo heterogêneo de neoplasias, dos quais aproximadamente 90% estão relacionados com alterações patológicas nas células B (LNH-B). A imunofenotipagem por citometria de fluxo (IMF-CF) é um método importante para o diagnóstico rápido e eficaz dessas neoplasias. Os estudos imunofenotípicos permitem a identificação e a classificação dos LNH-B pela observação de alterações nos padrões de expressão normais dos marcadores celulares. As alterações fenotípicas frequentemente observadas nas

células neoplásicas consistem no assincronismo de expressão de proteínas relacionadas com a maturação celular, com a super ou subexpressão antigênica e com alterações no tamanho e na complexidade interna da célula. Apesar da disponibilidade de uma grande quantidade de marcadores celulares para o diagnóstico de LNH, alguns diagnósticos diferenciais entre subtipos não são completamente esclarecidos devido à sobreposição fenotípica apresentada pelas células em algumas dessas neoplasias. Em vista disso, o objetivo deste trabalho foi relatar um caso de LNH-B que para o diagnóstico diferencial foi necessária a junção dos resultados da IMF-CF e da imuno-histoquímica (IHQ). **Relato de Caso e Discussão:** Paciente do gênero feminino, 69 anos, foi admitida no HU-UFSC com hepatoesplenomegalia e linfonodomegalia supraclavicular e cervical. A IMF-CF nas amostras de sangue periférico e de medula óssea evidenciou 44,6% e 26,0% de células patológicas, respectivamente. Em ambas as amostras, as células apresentavam tamanho grande, avaliado pela característica de dispersão frontal de luz, e positividade para os marcadores CD45+, CD19+/-, Kappa citoplasmático+, CD5+, CD10+, CD20+, CD22+, CD24+, IgM+, Bcl2+. Devido a essas características de expressão fenotípica e ao tamanho celular, tornou-se necessária a distinção entre a variante blástica do linfoma da zona do manto (LZM) e o linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) CD5 positivo. A variante blástica do LZM é fenotipicamente semelhante à forma clássica do LZM, nas quais as células patológicas são positivas para os marcadores CD19, CD20, CD22 e CD24 e apresentam coexpressão de CD5 e CD43; entretanto, as células neoplásicas da variante blástica geralmente apresentam tamanho maior e positividade para o marcador CD10. No LDGCB também são encontradas células de tamanho grande e que, menos comumente, podem coexpressar CD10 e CD5. O LDGCB CD5 positivo está relacionado a um pior prognóstico e pode ser distinguido da variante blástica do LZM pela ausência de expressão de ciclina D1 pela IHQ. No caso apresentado, o resultado da IHQ confirmou a ausência de expressão de ciclina D1 e, portanto, o diagnóstico de LDGCB. **Conclusão:** Apesar da IMF-CF ser um método de diagnóstico com elevadas sensibilidade e especificidade e fornecer resultados esclarecedores para a maioria dos casos, há situações em que não é possível a completa elucidação do diagnóstico devido à sobreposição das características fenotípicas celulares. Dessa forma, concluiu-se que o trabalho de forma multiprofissional no ambiente hospitalar é fundamental para um diagnóstico rápido e preciso que beneficia os pacientes atendidos, e que é imperativa a necessidade de se pesquisar novos alvos imunofenotípicos que permitam o diagnóstico diferencial entre os subtipos de LNH-B.

327

Updated interim results of an international multicenter, phase 2 study of ibrutinib in relapsed or refractory (R/R) mantle cell lymphoma (MCL)

Wang M¹, Rule S², Martin P³, Goy A⁴, Auer R⁵, Kahl B⁶, Jurczak W⁷, Clow F⁸, Beaupre D⁸, Blum K⁹

¹Dept. of Lymphoma/Myeloma, The University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, TX

²Department of Haematology, Derriford Hospital, Plymouth, United Kingdom

³Division of Hematology-Oncology, Weill Cornell Medical College, New York, NY

⁴John Theurer Cancer Center at Hackensack University Medical Center, Hackensack, NJ

⁵Department Haemato-oncology, Barts Health NHS Trust, London, United Kingdom

⁶Department of Medicine-Hematology/Oncology, University of Wisconsin, Madison, WI

⁷Department of Haematology, Jagiellonian University, Krakow, Poland

⁸Pharmaceuticals, Inc., Sunnyvale, CA

⁹The Ohio State University, Columbus, OH

Background: Bruton's tyrosine kinase (BTK) is a central mediator of B-cell receptor (BCR) signaling. Ibrutinib is an oral BTK inhibitor that

induces apoptosis and inhibits migration and adhesion of malignant B-cells. Mantle cell lymphoma (MCL) is an aggressive NHL subtype, and despite high initial responses to therapy, patients often relapse. Preliminary results in 51 evaluable patients demonstrated ibrutinib induced rapid nodal responses in relapsed or refractory (R/R) MCL (Wang, ASH 2011). Interim results for the fully enrolled study, PCYC-1104, reported longer follow-up (Wang, ASH2012), showing a higher overall response rate (ORR). Updated results of this international, multicenter, phase 2 study of single agent ibrutinib in R/R MCL will be presented. **Aim:** Study objectives were to assess ORR, duration of response (DOR), overall survival (OS), progression free survival (PFS) and the safety and tolerability of ibrutinib monotherapy in R/R MCL. **Methods:** R/R MCL patients who were either bortezomib-naïve or bortezomib-exposed were enrolled. Ibrutinib 560 mg PO QD was administered continuously until disease progression. Tumor response was assessed every 2 cycles (one cycle = 28 days). The study enrolled 115 patients (65 bortezomib-naïve, 50 bortezomib-exposed); 111 patients were treated; 110 were evaluable for response. Baseline characteristics included: median age 68 yrs, median time since diagnosis 42 months, median number of prior treatments 3 (range 1 -5); bulky disease (>10 cm) 13%, prior stem cell transplant 10%, high risk MIPI 49%. **Results:** Safety data is reported for 111 patients. Treatment-emergent adverse events (AEs) seen in ≥ 20% of patients included: diarrhea (40%), fatigue (36%), URI (23%), nausea (23%), and dyspnea (21%). Grade 3 AEs included neutropenia (13%), anemia (8%), thrombocytopenia (7%), abdominal pain (5%), diarrhea (5%), dyspnea (5%), and pneumonia (5%). Grade 4 treatment-related AEs included: neutropenia (7%), hyperuricaemia (2%), pancytopenia (1%), thrombocytopenia (1%), and sepsis (1%). One Grade 5 pneumonia was reported as treatment-related. Median time on study was 9.2 months; 47% of patients remain on therapy. Median PFS was 13.9 months and DOR has not yet been reached. The ORR for all evaluable patients (n = 110) was 68%, with 46% of patients have a PR and 22% having a CR. Moreover, response rates were similar in the two cohorts: the ORR in the bortezomib-naïve cohort was 65% (44% PR, 21% CR) and the ORR in the bortezomib-exposed cohort was 72% (49% PR, 23% CR). Responses occur early (median time to response, 1.9 months) and increased with longer treatment. With longer follow-up of the initially reported subset of 51 patients described at ASH 2011 (median time on treatment then was 3.7 months, now 14.7 months), the CR rate increased from 16% to 39%, and the ORR increased from 69% to 75%. Responses occurred in all subsets regardless of number of prior therapies, high MIPI scores, or bulky disease. **Conclusion:** Analysis upon longer follow-up demonstrates the durability of responses and confirms the unprecedented single agent activity of ibrutinib in R/R MCL. The treatment-emergent AEs were consistent with safety data previously reported. Pivotal studies in R/R MCL have been initiated.

328

Doença linfoproliferativa pós-transplante: série de casos

Mo SK¹, Brazil SA¹, Rocha TM¹, Barrese TZ¹, Paes RP¹, Chiattoni CS¹

¹Faculdade Ciências Médicas da Santa Casa Misericórdia de São Paulo

Introdução: Doença linfoproliferativa pós-transplante (PTLD) representa um grupo heterogêneo de doenças linfoproliferativas relacionadas à imunossupressão crônica em pacientes submetidos a transplante de órgãos sólidos ou transplante de medula óssea e está associada à ativação do vírus Epstein Barr (EBV) em 50-90% dos casos, com a apresentação clínica variando desde síndrome "mononucleose-like" até linfomas subtipos B, T e Hodgkin. Sua incidência global varia de 1 a 20%, dependendo do órgão transplantado, idade do paciente, sorologia para EBV do hospedeiro e do doador e agressividade da imunossupressão, sendo mais frequente em crianças transplantadas e em

receptores soronegativos para EBV. É mais comum após transplante intestinal ou de múltiplos órgãos (20-25%) e mais raro após transplante renal (1-5%). Ocorre em geral no primeiro no pós-transplante, mas pode ocorrer até vários anos após o transplante. O diagnóstico é histopatológico associado à pesquisa do EBV por hibridização in situ, imunocoloração ou PCR. O tratamento inicial consiste na redução ou suspensão da imunossupressão, podendo ser curativo. Em casos localizados de PTLD, a associação de redução/suspensão da imunossupressão e extração cirúrgica também tem se mostrado um tratamento efetivo. Já em pacientes com doença disseminada, pode ser utilizado anticorpo monoclonal anti-CD20 (rituximabe) em monoterapia ou associado a quimioterapia. Deve-se tratar concomitantemente o EBV. **Materiais e Resultados:** No presente estudo, relatamos sete casos de PTLD tratados no Serviço de Hematologia e Hemoterapia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo no período de 01 de janeiro de 2010 a 01 de dezembro de 2012. A idade variou entre 17 e 63 anos e o tempo pós-transplante de desenvolvimento de PTLD variou de seis meses a nove anos. A maioria dos paciente (cinco) foram submetidos a transplante renal. Quatro apresentaram PTLD primário de SNC, sendo um deles Linfoma de Hodgkin clássico, forma mais rara de PTLD. Cinco pacientes apresentavam EBV positivo na amostra. Todos foram tratados com redução da terapia imunossupressora, associado ou não à quimioterapia e imunoterapia. Três pacientes faleceram, variando de 10 dias a 6 meses do início dos sintomas e de 5 a 30 dias após confirmação do diagnóstico, sendo dois com PTLD de SNC. Três pacientes mantêm remissão completa e um paciente ainda estava em tratamento no último contato. **Conclusão:** O presente estudo teve como propósito realizar levantamento preliminar de casos de PTLD observados em nosso serviço. Nosso objetivo futuro é de criar protocolo de acompanhamento clínico e estudar fatores biológicos relacionados ao prognóstico destes pacientes.

329

LNH após uso de etarnecepte para tratamento de psoríase

Saraiva MI¹, Gomes MP¹, Vargas AP¹, Sthel VM¹, Figueiredo VL¹

¹Hospital do Servidor Público Estadual

Psoríase é uma doença inflamatória crônica que afeta a pele, podendo acometer as articulações e outros órgãos. A fisiopatologia envolve a hiperativação de linfócitos, produção de citocinas inflamatórias (TNF- α e IFN- γ), hiperproliferação epidérmica e angiogênica. Essa alteração imune, assim como o uso de agentes biológicos em casos mais graves, parece estar relacionada ao aumento de neoplasias. Objetiva-se relatar um caso de surgimento de LNH após uso do etarnecepte em paciente com psoríase. Paciente de 71 anos, branca, diagnóstico de psoríase vulgar há 14 anos e queixa de lesões pruriginosas em MMII. Exame: placas eritematosas com escamas esbranquiçadas de limites precisos ocupando cerca de 10% da superfície corpórea. Tratamento prévio com metotrexate por 03 anos. Biópsia da lesão em perna direita: dermatite linfocitária superficial e profunda com leve espongiose compatível com Eritema Anular Centrífugo. Feito tratamento tópico com calcipotriol e betametasona e metotrexato oral. Devido à refratariedade, a terapia foi substituída por etarnecepte 50mg/semana. Evoluiu com melhora das lesões psoriásicas, quando surgiram nódulos eritematosos no mesmo membro, dolorosos. A biópsia mostrou: infiltrado linfocitário atípico com epidermotropismo. Imunohistoquímica sugestiva de LNH células T. Feito estadiamento que revelou tratar-se de doença cutânea. Realizados 05 ciclos de gencitabina, porém houve aparecimento de novas lesões. Iniciada radioterapia, a qual foi suspensa por radiodermite exacerbada e recusa da paciente em prosseguir o tratamento. **Discussão:** A psoríase está relacionada ao desenvolvimento de linfomas, principalmente o LNH-T, tanto pela natureza auto-imune quanto pelas drogas usadas no seu tratamento. Avaliar o papel do etarnecepte com o aumento desse risco é dificultado tanto pela raridade da condição

quanto pelo uso prévio ou concomitante de outros agentes imunossupressores. Além disso, a terapia com biológicos normalmente é indicada para os casos graves, os quais já apresentam maior incidência de malignidades. No caso descrito, o surgimento do LNH ocorreu 06 meses após o início do uso da droga em uma paciente com psoríase grave, refratária ao metotrexate. Não há como definir se o biológico provocou o LNH ou se apenas facilitou o aparecimento de uma neoplasia em evolução. Diversos estudos sugerem aumento do risco relativo, porém falharam em demonstrar associação devido à raridade da condição. Alguns relatos têm indicado remissão com a descontinuação da terapia, mas a associação causal não pode ser estabelecida. O uso dos biológicos revolucionou o tratamento da psoríase, sendo a terapia a curto prazo considerada segura. No entanto, o risco associado ao linfoma permanece controverso. Mais estudos são necessários para definir essa relação.

330

Tumor de Kuttner associado a linfoma do manto leucemizado - relato de caso

Ikedo AS¹, Cantadori LO¹, Martins GF¹, Adolfo B¹, Marqui LT¹, Silva IA¹, Domingues MA¹, Resende LS¹, Niero L¹, Gaiolla RD¹

¹Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Introdução: O tumor de Kuttner, ou sialoadenite esclerosante (TK) associado à doença da IgG4, é uma lesão inflamatória crônica rara da glândula submandibular. Supõe-se que a patogênese do TK seja a obstrução dos ductos por secreções anormais (sialoadenite eletrólito obstrutiva), mas a maior parte dos casos apresenta folículos reativos, o que indica provável componente imunológico. A associação de TK com doença linfoproliferativa (DLP) é raramente descrita na literatura. **Objetivo:** Relatar caso de tumor Kuttner associado a linfoma do manto leucemizado. **Relato:** paciente do sexo feminino, 82 anos, diabética e hipertensa, apresentava quadro de xerostomia e aumento importante da região de parótidas bilateralmente há 8 meses. Na tomografia computadorizada (TC) de região cervical, apresentava hipertrofia simétrica das glândulas parótidas, submandibulares e amígdalas associada à linfonodomegalia adjacente. O estudo cintilográfico mostrou redução da função das glândulas parótida e submandibular bilateralmente. Biópsia de linfonodo cervical compatível com sialoadenite esclerosante/tumor de Kuttner. Apresentava hemograma com linfocitose atípica: Hb 11.9 / Ht 35 / plaq 117.000 / GB 28.300 / neut 6396 / linfo 15.848 / creat 1.4 / U 93 / DHL 808 / TGP 25 / TGO 331 / AU 15.5 / Ca 9.6. A imunofenotipagem de sangue periférico foi compatível com doença linfoproliferativa B leucemizada. As TCs de estadiamento evidenciaram linfonodomegalia cervicais e axilares bilaterais. Devido à piora da função renal, optado por iniciar citorredução com esquema COP enquanto aguardava resultado de BMO e imunohistoquímica (IHQ). Em vigência do 2ºCOP paciente evoluiu com progressão da doença, sendo optado por CHOP com dose reduzida de antraciclina devido à idade e comorbidades. Evoluiu com boa resposta e completou 8 ciclos de tratamento. A IHQ da BMO foi compatível com linfoma de células do manto (CD20+, IgG+, BCL-2+, BCL-6 negativo). BMO de reavaliação pós-tratamento mantinha baixa carga tumoral, porém como paciente estava sem alterações clínicas, foi mantida fora de tratamento durante 4 meses, quando reiniciou quadro de xerostomia e surgimento de novas adenomegalias (cervical, submandibular e axilar). Iniciado protocolo GEMOX (gemcitabina e oxaliplatina), atualmente no 7ºciclo, com boa tolerância e melhora completa dos sintomas e redução parcial das adenomegalias. **Discussão e Conclusão:** A presença de DLP no contexto do TK é rara, com poucos relatos encontrados na literatura. Em trabalho japonês foi relatada uma série de 3 casos de linfoma folicular variante esclerosante com achados patológicos para tumor de Kuttner: separação da glândula afetada por trave espessa de tecido conectivo, presença de inflamação crônica periductal com ectasia e fibrose ductal e presença de folículos linfóides com centro germinativo. Acredita-se que

a obstrução do ducto poderia então servir como gatilho para estimulação imunitária, levando ao desenvolvimento da DLP. Não encontramos descrição de casos de TK associado a linfoma não-Hodgkin de células do manto. Embora rara, a presença de DLP no contexto do TK deverá ser considerada dentro de contexto clínico sugestivo.

331

Aids associated Burkitts lymphoma manifesting as an unresolving traumatic subdural hematoma

Ribas C¹, Pope LZ¹, Tironi FA¹, Serapião CJ¹, Koerbel A¹, Caputo RJ¹, Hornburg G¹, Miranda BJ¹, Fernandes BL¹

¹Hospital Dona Helena

Background: Burkitt's Lymphoma (BL) is a very aggressive subtype of non-Hodgkin's lymphoma (NHL) that occurs with higher frequency in patients with HIV/AIDS, developing at higher CD4 counts as compared to other AIDS-associated malignancies. We report herein an unusual case initially presenting as a traumatic subgaleal/subdural hematoma (SDH). **Case Report:** A 27-year-old HIV-positive male suffered a non-loss of consciousness blunt head trauma on the right parietal region in Dec 2012. One month later, a head CT was ordered due to persistent headache and local swelling, showing a small subgaleal/SDH on the right frontotemporal region, which was aspirated (negative cultures) and observed. Increase of head soft tissues, headache, fever and chills led to empiric antibiotic treatment for suspected local abscess. As the patient failed to improve, he underwent neurosurgery, with identification and gross resection of an extensive subdural tumor infiltrating the dura mater and skull, pathologically diagnosed as BL (CD20+, CD10+, Ki67> 95%, CD3 and bcl-2 negative). The patient was on highly active antiretroviral therapy (HAART) since 2010, had no major opportunistic infections and had a CD4 count of 513/mm³ and 61 HIV-1 RNA copies/mL. Extensive staging with diagnostic CT scans, PET-CT scan, cytology and flow cytometry of cerebral spinal fluid (CSF), bone marrow smear and biopsy, serologies and blood chemistry showed stage IVB, high-risk IPI 4 disease, with lymphomatous meningitis, bone marrow involvement and heavy systemic compromise (gingiva, bones, testicles, prostate, kidneys and pancreas). The patient was maintained on HAART, and received repeated courses of intrathecal ARA-C/MTX and five cycles of alternating mCODOX-M/IVAC chemotherapy plus rituximab while on assessment for stem cell transplantation. Treatment was complicated by tumor lysis syndrome, bilateral facial diparesis and neutropenic fever. Despite transient systemic control and CSF cleansing, the patient presented leukemization and ended up dying of rapidly progressive, chemorefractory disease three months after the initial diagnosis. **Discussion:** Primary dural lymphomas are very uncommon tumors. Burkitt's Lymphoma may arise in many atypical locations, but can rarely present as SDH. However, early diagnosis and treatment of dural BL is paramount as increased LDH level at diagnosis and combined BM-positive/CNS-positive involvement, which were observed in this patient, are independent poor risk prognostic factors. Since MRI cannot reliably differentiate between SDH and some dural lesions that present with diffuse infiltration, it is important to include non-Hodgkin's lymphomas in the differential diagnosis of subdural mass lesions.

332

Linfoma de Burkitt tratado com sucesso durante a gestação

Rocha BF¹, Souza DD¹, Neves FF¹, Belmiro JC¹, Dourado AC¹, Cavalcanti NS¹, Lira AR¹, Filgueiras PL¹, Peixoto RL¹, Botelho LF¹

¹Universidade Federal da Paraíba

A associação de câncer e gravidez coloca em contradição o início da vida e a ameaça da morte, acarretando conflitos emocionais e

éticos à paciente, sua família e equipe médica. O câncer é a segunda causa de morte em grávidas e incide em aproximadamente 0,1% das gestações, sendo o linfoma a quarta mais frequente. Sua ocorrência aumentou com a tendência da sociedade moderna de postergar a gravidez. Vários fatores concorrem para o atraso do diagnóstico do câncer na grávida: a raridade da situação, os sinais e sintomas confundidos com os da gestação, as alterações fisiológicas e anômicas que comprometem o exame físico. Em contraste com pressupostos anteriores, muitos relatos mostraram resultados positivos a curto prazo após a exposição fetal a quimioterapia iniciada no término do primeiro trimestre. Este estudo objetiva relatar a evolução de uma paciente gestante portadora de Linfoma de Burkitt. **Relato de Caso:** Paciente do sexo feminino, 25 anos, natural e procedente de Santa Rita- PB, com dor abdominal associada a diarreia e melena. Diante de amenorreia, realizou o b-HCG, obtendo resultado positivo. A ultrassonografia (USG) revelou gestação de 4 semanas e 2 dias. Após um mês, evoluiu com intensificação da dor, associada a náuseas e perda ponderal. Uma nova USG evidenciou feto morfológicamente normal (12 semanas), além de espessamento do cólon direito materno com formação expansiva hipocogênica vascularizada ao nível do ângulo hepático de 5 x 3 cm. Com piora significativa da dor abdominal, recorreu ao Hospital Universitário Lauro Wanderley, onde realizou novos exames e foi submetida à enterectomia e tiflectomia, além de colectomia segmentar direita com anastomose ileocolônica latero-lateral primária. O resultado anatomopatológico ratificou Linfoma Não Hodgkin de células de médio e grande porte. A imunohistoquímica revelou aspectos de Linfoma de Burkitt. Durante acompanhamento oncohematológico, iniciou-se o esquema COPAD-R, seguindo o protocolo LMB-95, visto maior praticidade e menor risco. Paciente teve boa evolução, com melhora clínica. Após cerca de quatro meses, evoluiu com novo quadro de abdome agudo. A laparotomia mostrou perfuração do jejuno proximal, sendo realizada nova enterectomia e cesárea de urgência (33ª semana da gestação), com retirada de criança viva, sexo feminino, 1815g e sadia. A peça ressecada foi enviada para estudo anatomopatológico que resultou em ausência de doença. Nova tomografia realizada após o parto apresentou resultado normal. A criança segue saudável. **Discussão:** As decisões sobre o tratamento devem ser específicas para cada caso. A equipe deve fornecer todas as alternativas de tratamento e a decisão deve ser tomada em conjunto após cuidadosa consideração dos riscos e benefícios. O linfoma de Burkitt, apesar de muito agressivo, apresenta alto potencial de tratabilidade. A quimioterapia com o esquema COPAD-R foi bem sucedida, garantindo a remissão da doença e a conclusão da gestação com sucesso. O câncer na gravidez levanta dilemas éticos complexos, que se tornam ainda mais complicados pela disparidade entre os dados disponíveis e as decisões dramáticas a serem tomadas. A rara ocorrência de linfoma na gestação impede a realização de estudos prospectivos grandes para examinar questões de diagnóstico, gestão e resultado. A literatura sobre o assunto é escassa e está baseada em análises retrospectivas, necessitando-se de maiores estudos.

333

Associação entre linfoma primário do mediastino e tromboembolismo pulmonar – relato de caso

Paiva VM¹, Bottura BF¹, Umehara HM¹, Giordano HF¹, Silva CS¹, Almeida AA¹, Silva JB¹

¹Pontifícia Universidade Católica de Campinas

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 homem para mulheres 1:2. Esse tipo de linfoma é condição incomum, porém não é raro. Neoplasias e tromboembolismo venoso estão fortemente associados.

Tromboembolismo é uma das mais comuns complicações em pacientes com câncer e contribui com significativa morbidade e mortalidade desses pacientes. Estudos têm mostrado que pacientes com LPMGCB têm um aumento na incidência de tromboembolismo venoso. **Objetivo:** Descrever caso clínico de LPMGCB e suas possíveis intercorrências tromboembólicas. **Métodos:** Foi realizado estudo observacional descritivo, através de levantamento de dados de prontuário. **Relato de Caso:** Paciente masculino, 18 anos, deu entrada no Hospital e Maternidade Celso Pierro devido à dispnéia, que piorava à noite e quando se deitava, de início 15 dias antes da internação, acompanhado de tosse seca, dor torácica e inapetência. Foi submetido a exames de imagem que evidenciaram massa torácica e derrames pleural e pericárdico. Enquanto aguardava a biópsia, evoluiu com tamponamento cardíaco e por isso foi realizada toracotomia anterior com drenagem pericárdica e pleural, além da biópsia da tumoração torácica. No segundo dia de pós-operatório, apresentou novamente dispnéia, seguida de crise convulsiva tônico-clônica generalizada, revertida poucos segundos após suplementação de oxigênio; exames complementares evidenciaram tromboembolismo pulmonar (TEP), que foi tratado com trombólise por estreptoquinase, com sucesso. O laudo anátomo-patológico da massa tumoral revelou positividade para CD20, CD3, CD30 e negatividade para BCL-6 e CD15, compatível com LPMGCB. **Discussão:** Numa meta-análise das complicações trombóticas de pacientes com linfoma (18018 pacientes, 1149 eventos), a incidência global foi de 6,4%, sendo maior naqueles de linfoma não-Hodgkin (6,5%) quando comparados com o subgrupo Hodgkin (4,7%). Além do que, linfomas não-hodgkin de grau elevado predispõem maior risco aos eventos. Segundo estudo de Ottinger et al., que se baseia nos linfomas de alto grau, LPMGCB é fator de risco para tromboembolismo venoso. A grande maioria dos casos ocorre nos primeiros três meses do diagnóstico. Em relação ao local de acometimento, TEP isolado corresponde a 10,5% entre todos os eventos trombóticos em linfomas. A taxa de risco de tromboembolismo venoso para LPMGCB é em torno de 35,7%; num grupo de 42 pacientes diagnosticados com o tumor, 15 tiveram algum evento trombótico e em apenas um deles houve TEP. O paciente do caso relatado apresentou TEP, o que, como já foi mostrado pela literatura, dentre os eventos trombóticos, é de menor prevalência em LPMGCB. O evento neste caso ocorreu dentro do período dos três meses iniciais do diagnóstico, algo de grande prevalência, conforme descrito. **Conclusão:** O caso relatado apresenta episódio de TEP, porém este é um evento menos frequente. O que se constatou na literatura foi a alta prevalência de outros eventos trombóticos nesses casos, revelando a importância dessa síndrome paraneoplásica nos portadores de linfoma. Portanto, é interessante no acompanhamento desses pacientes o cuidado com tais ocorrências clínicas.

334

Síndrome de Erdheim-Chester

Emerick C¹, Jazbik JE¹, Vieira MG¹, Ono S¹, Simmer F¹, Solza C¹, Araújo AC¹, Lyrio R¹, Medeiros J¹, Souza L¹

¹Hospital Universitário Pedro Ernesto - UERJ

K.M.S, 19 anos, pardo, natural do Rio de Janeiro, relata que há 2 anos apresenta edema facial progressivo, primeiramente mandibular, seguido de edema palpebral, associada à perda ponderal de aproximadamente 20kg desde o início dos sintomas. Há 1 ano apresentou alterações auditivas que motivou procura por otorrinolaringologista. Fez uso de Serumin por tempo prolongado, com melhora parcial, porém relata perda auditiva de 70% em ouvido direito. Relata ainda exoftalmia progressiva. Em fevereiro de 2013 apresentou nodulação indolor em glúteo direito e dor na nuca, sendo internado em hospital particular. Foi iniciada investigação com cintilografia, tomografias, exames laboratoriais e ressonância magnética, além de biópsia da lesão em glúteo e de região maxilar. Em cintilografia óssea, observado hipercaptação difusa podendo corresponder à doença óssea

metabólica, não podendo descartar implantes secundários. A imagem em calota craniana pode corresponder à tumor marrom. Em TC Abdome e Pelve, observado ascite de pequena monta, baço de volume aumentado com aprox 16,38cm no maior eixo, com realce homogêneo. Supra-renais mal individualizadas, material hipodenso com realce por meio de contraste, ocupando espaço perineal bilateralmente, encarcerando ambos os rins e insinuando-se em ambos os hilos renais. Tecido de aspecto semelhante envolvendo as estruturas vasculares retroperitoneais. Rins tópicos com dilatação dos sistemas coletores com conteúdo espontaneamente hiperdenso à direita com dilatação mais evidente à esquerda. Discreto retardo na concentração do contraste no rim esquerdo. Em RNM crânio, observado volumosa lesão expansiva extra-axial, com sinal predominantemente isointenso em todas as sequências, captante de contraste, localizada junto à convexidade da região occipital posterior mais evidente à direita, envolvendo a calota craniana nesta topografia, que se encontra espessada e com sinal hipointenso em todas as sequências, estendendo-se às partes moles da região cervical posterior. Pequenas lesões nodulares captantes de contraste junto à parede do corno anterior do ventrículo lateral esquerdo e junto ao teto do terceiro ventrículo, adjacente ao forame de Monroe. Lesões ósseas com sinal hipointenso em T1 e hiperintenso nas demais sequências, captantes de contraste, localizadas nos ossos frontais bilaterais (mais à direita), parietal à esquerda, bem como o corpo do esfenóide. Em TC tórax observado leve espessamento difuso das paredes brônquicas, bronquiectasia focal no lobo superior direito (segmento apical). Tecido com densidade de partes moles, relativamente homogêneo, ocupando e envolvendo as estruturas do mediastino anterior e médio, se estendendo do mediastino superior até o pericárdio, em contato com a face posterior do esterno. Íntimo contato e envolve a aorta ascendente e seus ramos principais, traquéia intra-torácica e emergência dos brônquios-fonte, sem determinar redução significativa do calibre dos mesmos. Pequena área focal de fusão entre quarto e quinto arcos costais à esquerda, próximo à articulação costo-vertebral. Biópsia em região glútea evidenciando em meio à tecido fibro-adiposo, proliferação de histiócitos, ora xantomatosos, ora fusocelulares, com presença de células gigantes, por vezes contendo material alongado e basofílico, além de leve infiltrado linfocitário e focos de calcificação, CD45, CD68, CD3, CD20 e FXIIIa+. Hipótese Diagnóstica: Síndrome de Erdheim Chester

335

Análise retrospectiva de pacientes com infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e linfoma num serviço de hematologia

Steffenello-Durigon G^{1,2}, Hames CC¹, Mendes FM¹, Tacca AL¹, Alves DM¹, Formentin C¹, Gaspareto PB^{1,2}, Moral JA^{1,2}, Soares TB¹, Brejinski-Almeida A¹

¹Universidade Federal de Santa Catarina

²Serviço de Hematologia do Hospital Universitário

Introdução: Segundo a OMS e a UNAIDS, cerca de 34 milhões de pessoas estão infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) no mundo, e o risco relativo de doenças linfoproliferativas é de 23 a 353 vezes maior do que na população em geral. A patogênese desses linfomas envolve uma gama de fatores, como a estimulação antigênica crônica, a coinfeção com vírus oncogênicos (frequente a associação de alguns subtipos com o vírus Epstein Barr), anormalidades genéticas e desregulação de citocinas. Os linfomas mais comumente associados ao HIV são linfoma difuso de grande células B e linfoma de Burkitt. Em meados de 1990 com a utilização da terapia antirretroviral combinada de alta efetividade (HAART) houve melhora na resposta e sobrevida desses pacientes, porém o padrão histológico demonstrou uma mudança, com uma redução dos linfomas com acentuada imunodeficiência e um aumento daqueles que se desenvolvem com contagem de CD4 menos crítica, como linfoma de Burkitt e linfoma de Hodgkin. Isso sugere que a melhora da resposta

imune do paciente favorece a efetividade da terapia antineoplásica.

Métodos: Análise retrospectiva de dados quantitativos e qualitativos de prontuários de pacientes no período de novembro de 2007 a julho de 2013. **Resultados e Discussão:** Foram avaliados os prontuários de 23 pacientes diagnosticados com HIV (um deles por transmissão vertical) e linfoma concomitantes, sendo 60,86% masculinos e 39,14% femininos. A idade variou de 18 a 63 anos, com média de 40,5 anos. Foram diagnosticados linfoma de Burkitt em 65,2%, linfoma difuso de grandes células B em 21,7%, linfoma de Hodgkin em 8,6%, linfoma não Hodgkin plasmablastico em 4,3% com 21,7% dos pacientes com infiltração em sistema nervoso central (SNC). O hemograma de admissão demonstrou hemoglobina variando de 6,4g/dL a 16,4g/dL (média de 11,4g/dL). O valor dos leucócitos teve mínimo de 290/mm³ e máximo de 15.811/mm³ (média 8.050/mm³). A contagem de plaquetas variou de 13.000 a 652.000/mm³ (média de 332500/mm³). No momento do diagnóstico, os valores de CD4 variaram de 1cel/μl a 490cel/μl com média de 138,7cel/μl, enquanto a carga viral variou de menos que 50cópias/ml a 304.118cópias/ml, com média de 152.084 cópias/ml. Com relação às coinfeções, 4,3% apresentava-se com hepatite C, 13,0% com EBV positivo, 8,6% com sífilis, 4,3% com tuberculose e sífilis e 4,3% com hepatite C e sífilis. O tratamento dos pacientes se deu a partir de esquemas bem descritos na literatura: CNOP (4,3%), HYPER-CVAD (34,7%), EPOCH (21,7%), CODOX M-IVAC (13,0%), CHOP (30,3%), ESHAP (13,0%), ABVD (4,3%), radioterapia localizada (13,0%) e 1 paciente (4,3%) não realizou quimioterapia por óbito. Em 3 pacientes (13,0%) com contagem de CD4 maior que 100 cel/μl foi empregada a associação com o anticorpo monoclonal anti-CD20 rituximabe. Como desfecho, observou-se que 52,1% dos pacientes evoluíram a óbito, 43,4% permanecem vivos e 1 (4,3%) abandonou o tratamento. Apenas 1 (4,3%) paciente com doença em SNC encontra-se vivo. **Conclusão:** O linfoma no paciente HIV é uma condição grave que implica em alta mortalidade e com grande impacto social e econômico. A recuperação do estado imune mostra-se determinante para a resposta terapêutica. É necessário um melhor entendimento da fisiopatologia de ambas doenças e sua interrelação.

336

Linfoma linfoplasmablastico de seios paranasais em paciente imunocompetente - relato de caso

Melo AC¹, Nicácio JM¹, Costa TC¹, Oliveira MS¹, Junior OR¹

¹Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto

O Linfoma Linfoplasmablastico é um subtipo raro e agressivo de Linfoma Difuso de Grandes Células B, descrito pela primeira vez em 1997 em indivíduos HIV positivos, preferencialmente com acometimento da cavidade oral. Também foi descrito em pacientes HIV negativos e em outros sítios como seios paranasais, estômago, intestino delgado, pulmão, pele, coração e sistema nervoso central. A etiologia do Linfoma Linfoplasmablastico não foi bem estabelecida, embora imunossupressão, infecção pelo vírus Epstein-Barr e rearranjo no gene MYC estão relacionados ao aparecimento do Linfoma Linfoplasmablastico. Este subtipo histológico caracteriza-se por resposta precoce à terapia, porém com altas taxas de recaída e prognóstico sombrio. Apesar do prognóstico altamente desfavorável e da curta sobrevida mediana descrita (menor do que um ano), o papel do transplante de células tronco hematopoiéticas não está bem definido. Devido à raridade deste tipo histológico de Linfoma, os dados disponíveis são baseados em relatos de caso e série de casos. Neste artigo relatamos caso de Linfoma Linfoplasmablastico de seios paranasais em paciente de 46 anos, HIV negativo sem outros fatores de imunossupressão, que iniciou quadro de cefaléia, náuseas, abaulamento frontal à esquerda, diplopia e epistaxe após três meses de acidente automobilístico com trauma crânioencefálico. À RM encefálica apresentava lesão expansiva localizada em seios frontais, etmoidais anteriores e cavidades nasais bilaterais, com íntimo contato com músculo reto superior da órbita esquerda, insinuando-se para fossa craniana

e comprimindo região basal dos lobos frontais, com realce meníngeo nesta topografia. Realizada ressecção parcial da lesão com avaliação imunohistoquímica demonstrando expressão de CD138, expressão monoclonal de cadeia leve de imunoglobulina kappa e negatividade para CD 20 e ALK, com expressão de EBER-1, transcrito nuclear do vírus Epstein-Barr. Baseado no diagnóstico do paciente foi iniciada quimioterapia em regime intensivo com HyperCVAD em Abril/2013, em prosseguimento, apresentando melhora completa dos sintomas e sinais clínicos, bem como RM encefálica de controle realizada em Julho/2013 evidenciando redução da lesão e diminuição do acometimento dos seios paranasais.

337

Axillary nodal diffuse large B-cell lymphoma disguised as inflammatory breast carcinoma at initial presentation

Ribas C¹, Navarro MA¹, Pope LZ¹, Tironi FA¹, Serapião CJ¹, Caputo RJ¹, Hornburg G¹, Miranda BJ¹

¹Hospital Dona Helena

Background: An enlarged, erythemic and edematous breast is not a common manifestation of nodal non-Hodgkin's Lymphoma (NHL), but should bring up Inflammatory Breast Cancer (IBC), a rare form of breast cancer, into the differential diagnosis. We report on here a patient with axillary nodal diffuse large B-cell Lymphoma (DLBCL) mimicking IBC. **Case Report:** A 66-year-old woman presented with a 3 month history of left breast enlargement, diffuse erythema and peau d'orange skin edema. There was not palpable nodule or nipple discharge. The erythema extended into the left axilla, where a voluminous, ill defined mass could be identified. No other masses or lesions were noted on the right breast, or elsewhere on exam. Bilateral mammography/breast ultrasound showed abnormalities only in the left breast: skin thickening, parenchyma diffusely hyperechogenic with dilated lymphatic vessels and a hypoechogenic mass (bulky adenopathy) in the left axilla, but no nodules or microcalcifications. Incisional biopsy of the axillary mass was carried out. H&E sections revealed subcutaneous infiltration by poorly differentiated carcinoma. Given the left breast changes, reminiscent of IBC, punch biopsy of breast skin was performed and showed dermal angiolymphatic ectasia and perivascular benign lymphocytes. Deep core biopsy showed histologic features similar to the skin, also without neoplastic cells. Immunohistochemistry on axillary tissue was negative for epithelial antigens (pan-keratin, RE, RP, Her 2-neu) and CD3, but positive for CD20 and Ki-67 (80%). These markers provided support for the diagnosis of DLBCL. Significant constitutional symptoms were absent and extensive staging showed stage IVA, high-risk IPI 4 disease, with mediastinal and bulky left axillary lymphadenopathy and multiple lung and splenic nodules. The patient underwent chemotherapy with 8 cycles of R-CHOP and IT-MTX CNS prophylaxis. Treatment was well tolerated, with good initial response (breast aspect normalization and systemic control on CT scans), despite a residual involuted adenopathy in the left axilla. End-of-chemo PET-CT showed disappearance of previous sites of disease apart from 3,8 cm, metabolically faint left axillary adenopathy, whose resection revealed only extensive coagulative necrosis. After 8 months follow-up, the patient continues in complete remission. **Discussion:** IBC is a rare (1-5% of newly diagnosed pts), virulent and poor prognosis type of breast cancer, characterized by rapid breast enlargement, skin erythema, peau d'orange edema (typically secondary to dermal lymphatic involvement by malignant cells), occasional absence of palpable tumor and metastases to axillary/supraclavicular nodes in most patients. It is diagnosed on the basis of histologic confirmation of carcinoma and the clinical characteristics. Such presentation, however, is uncommon for NHLs, being described in rare cases of primary breast lymphoma. As observed in the patient reported on, nodal lymphomas may also take on the

appearance of IBC because of lymphatic engorgement and resultant skin changes, even without direct breast involvement. Inclusion of lymphomas among the differentials of inflammatory breast changes and accurate pathologic and immunohistochemical evaluation are necessary for correct diagnosis and proper treatment.

338

Extensive analytics demonstrate comparable structure, function and quality of GP2013 with originator rituximab

Silva A¹, Costa F², Matsuo A², Carvalho F², Schneid R², Corbi F², Chinen R², Meani D¹, Munhoz EC³

¹Sandoz Biopharmaceuticals, Holzkirchen, Germany

²Novartis Bioscience, Sao Paulo, Brazil

³Hospital Erasto Gaertner, Curitiba, Brazil

Aim: The term biosimilar ("biológico não novo" in Brazil) is used to designate a follow-on biologic that meets high standards for comparability or similarity (safety, purity and efficacy) to the originator drug and is approved by stringent regulatory pathways. As other highly regulated countries Brazil requires an extensive molecule characterization to approve a biosimilar (RDC55/10). Here we report the physicochemical, functional and pre-clinical pharmacological characterization of the rituximab biosimilar (GP2013). **Methods:** Physicochemical methods were used to analyze primary and higher order structure, post-translational modifications and size heterogeneity. Functional characterization included a series of *in vitro* target binding, antibody-dependent cell mediated cytotoxicity (ADCC), complement-dependent cytotoxicity (CDC) and apoptosis and Fc receptor binding assays. Comparative PK and PD were assessed in cynomolgus monkeys. **Results:** GP2013 has the same primary amino acid sequence and higher order structure as the originator and both were comparable with regards to charge variants, specific amino acid modifications, glycan pattern and size heterogeneity. Functionally GP2013 could not be distinguished from originator preclinically. In primates, PK analysis confirmed bioequivalence between GP2013 and originator with nearly identical AUC values and 90% CIs within the acceptance range of 0.8-1.25. Bioequivalence of PD response was also shown, with 95% CIs of AUEC ratios for relative change from baseline in B-cell populations within the 0.8-1.25 acceptance range. **Discussion:** Using a broad panel of analytical methods it was shown that GP2013 is highly similar to originator at the physicochemical level. In addition, the preclinical comparability exercise confirmed that GP2013 and originator are pharmacologically similar with regards to FcR and CD20 binding, ADCC, CDC and apoptosis potency, PK exposure and B-cell depletion. **Conclusion:** Ongoing clinical trials will provide corroborative evidence of similar efficacy and safety to the originator. GP2013 is currently being studied in large scale trials in patients with Follicular Lymphoma and rheumatoid arthritis. Brazilian patients have been participating in both trials.

339

Cell Profiler: ferramenta para padronização de diagnóstico de linfoma difuso de grandes células

Hosken B¹, Bitencourt R¹, Cardoso L¹, Buzin A¹, Lenz D¹

¹Universidade Vila Velha

Introdução: A busca por diagnósticos mais precisos muitas vezes esbarra no alto custo dos exames existentes. Os métodos de citometria, por exemplo, são relativamente caros e por muitas vezes inviáveis em muitos serviços de saúde. Já as análises por microscopia observador dependente é morosa, tediosa e insipiente quanto ao número de células analisadas, resumindo a algumas centenas.

Portanto desenvolver métodos eficientes e baratos que possam ser replicáveis e de simples manuseio pode melhorar a qualidade de vida, auxiliar no diagnóstico precoce em qualquer tipo de serviço de saúde, reduzindo custos e podendo diminuir a morbi-mortalidade. Assim, aplicação de programas de reconhecimento de padrões, como o Cell Profiler®, para a interpretação da coloração histológica está revolucionando a forma de analisar a heterogeneidade fenotípica. Esse programa é software de análise de imagem modular de livre acesso, capaz de analisar milhares de células em poucos minutos e potencialmente replicável. O software contém métodos já desenvolvidos para muitos tipos de células, além de satisfazer as seguintes necessidades: algoritmos avançados de análise de imagens que são capazes de identificar com precisão as células aglomeradas; uma concepção modular, flexível, permitindo a análise de novos ensaios e fenótipos e uma interface amigável. **Objetivo:** Padronizar o programa Cell Profiler® para identificação das características morfológicas subcelulares de linfoma difuso de grandes células B (LDGCB). **Métodos:** O tecido enviado para citologia será depositado em uma lâmina de vidro, fixado e corado por hematoxilina e eosina para observação no microscópio óptico. As imagens serão salvas como, sendo catalogadas e armazenadas em um banco de dados digital. A avaliação morfológica está baseada na classificação WHO da Organização Mundial de Saúde para o diagnóstico de LDGCB. Controles negativos serão utilizados durante toda análise. Os parâmetros morfológicos subcelulares serão coletados no Cell Profiler® e o programa medirá um grande número de parâmetros para cada célula identificada ou compartimento subcelular, como área, perímetro, solidez, fator de forma, extensão, número de Euler, excentricidade, orientação e menor comprimento do eixo principal. Após a análise das imagens, os dados serão exportados para um banco de dados para análise no programa Cell Profiler Analyst® e as células de interesse serão identificadas através da classificação das células como positivas ou negativas para o parâmetro de interesse. **Conclusão:** O desenvolvimento de padrões de análise utilizando o programa analítico Cell Profiler pode ser uma alternativa viável e precisa no diagnóstico e rastreio de inúmeras doenças, propiciando um diagnóstico de alta precisão, de baixo custo, rápido, reproduzível, arquivo médico legal, compartilhamento de imagens e armazenamento de forma digital.

340

Apresentação incomum de linfoma não Hodgkin difuso de grandes células B gástrico como primeira manifestação da infecção por HIV

Pimenta MB¹, Peixoto RL¹, Guedes BA¹, Diniz JM¹, Filho RC², Rodrigues GS², Sousa LW², Furtado AR², Lima AR¹, Pimenta FC¹

¹Universidade Federal da Paraíba

²Faculdade de Medicina Nova Esperança

O risco de desenvolver linfomas é 200 vezes maior em pessoas portadoras do vírus da Imunodeficiência Humana que na população saudável. Relatamos o caso de um paciente do gênero masculino, 37 anos, que foi diagnosticado inicialmente como portador de úlcera gástrica em decorrência de queixa de três meses de dor epigástrica persistente e eventuais vômitos. Exames complementares levaram ao diagnóstico de Linfoma Não Hodgkin Difuso de grandes células B. A análise sorológica comprovou que o mesmo era também portador do HIV, fato desconhecido pelo paciente até aquela data. O paciente foi submetido a seis ciclos de quimioterapia, simultâneo ao tratamento da doença de base, repetiu endoscopia e a biópsia não revelou malignidade. Ele permanece em remissão 28 meses após o tratamento. Manejo de pacientes com vírus da imunodeficiência humana e malignidade concomitante permanece um desafio. O bom entendimento médico desempenha um papel central, havendo necessidade de conhecimento e bom senso entre as equipes de doenças infecciosas e especialistas em oncohematologia para formular um plano de manejo adequado desses pacientes.

341

Análise dos níveis séricos de 25-hidroxivitamina D [25 (OH) D], em pacientes com neoplasias linfóides

Pimenta MB¹, Peixoto RL¹, Guedes BA², Diniz JM¹, Filho RC², Rodrigues GS², Sousa LW², Furtado AR², Diniz MF¹, Pimenta FC¹

¹Universidade Federal da Paraíba

²Faculdade de Medicina Nova Esperança

A incidência de neoplasias linfóides tem demonstrado reconhecido aumento nos últimos anos. Vários estudos associam baixos níveis de vitamina D com a morbidade e mortalidade por câncer. No entanto, poucos estudos mediram a vitamina D em pacientes com doença linfoproliferativa. Nosso objetivo foi avaliar o nível de vitamina D em uma grande coorte de pacientes com doença linfoproliferativa e para definir os fatores de risco possivelmente associado. Há relatos da crescente de evidência de um relação entre os valores de 25-hidroxivitamina D [25 (OH) D] e aumento do risco de tumores sólidos em adultos e crianças. Entretanto poucos relatos existem sobre a relação entre 25 (OH) D e o risco de malignidade hematológica. Este estudo teve como objetivo principal analisar os níveis de vitamina D e a relevância prognóstica dos níveis séricos de 25 (OH) D em pacientes com Leucemia Linfocítica Crônica (LLC-B) e/ou linfoma não-Hodgkin (LNH-B). O estudo foi realizado em 30 pacientes recém-diagnosticados com LNH ou LLC-B, bem como em 30 controles saudáveis. Para todos os doentes as concentrações séricas de vitamina D foram analisadas utilizando-se metodologia ELISA e os dados analisados estatisticamente utilizando-se o GraphPadprisma, versão 5.0.

342

Parasitemia por *trypanosoma cruzi* durante imunoterapia de linfoma não Hodgkin. Relato de Caso

Silva VA¹, Pereira VC¹, Oliveira LR¹, Correia D¹, Lages-Silva E¹

¹Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Introdução: Doença de Chagas (DC) consiste em doença parasitária endêmica causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. Reativação microbiológica precedendo reativação de doença é relacionada a estados de imunossupressão, em especial em pacientes com infecção pelo HIV. Reativação em pacientes com neoplasias hematológicas ocorre principalmente na terapia de transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH). É descrito caso de parasitemia precocemente detectada no curso de imunoterapia de linfoma não-Hodgkin (LNH) com controle com itraconazol. **Relato de Caso:** Mulher, 81 anos, assistida por massa de topografia de cólon direito (*bulky* abdominal) foi submetida à colectomia direita com estudo histopatológico e imunoistoquímico de massa compatível com LNH de alto grau CD20+ com achados intermediários entre linfoma Burkitt e difuso de grandes células B (estádio IEX). Como comorbidades paciente apresentou hipertensão arterial sistêmica e DC forma crônica cardíaca arritmogênica com implante de marcapasso cardíaco em 2006. Tratamento antineoplásico constituiu-se de imunoterapia sistêmica (R-CVP 21) e quimioterapia intratecal (MADIT) com condução de oito ciclos (neutropenia transitória tratada com filgrastima) seguidos de manutenção com rituximabe. Apresenta-se com doença em remissão em seguimento clínico e controles tomográficos após 22 meses de diagnóstico. Em avaliações seriadas de parasitemia por *T. cruzi* por método de microhematócrito realizadas durante tratamento foram detectados protozoários durante segundo ciclo de quimioterapia. Hemoculturas não apresentaram crescimento. Reativação microbiológica sem comprometimento de órgãos-alvo foi documentada por estudos de eletro- e ecocardiografia e pesquisa de parasitas em líquido, sem alterações sustentadoras da reativação de doença de Chagas. Tratamento com itraconazol (100-400mg/dia) foi instituído e mantido com controle de parasitemia após 6º ciclo de quimioterapia.

Benzonidazol não foi utilizado por mielotoxicidade. **Discussão:** Poucos são os relatos de reativação da DC durante quimioterapia de doenças onco-hematológicas não relacionadas a TCTH. Reativação manifesta-se comumente por comprometimento do sistema nervoso central, febre, nódulos cutâneos, miocardite, icterícia e hepatite. Este caso ilustra reativação microbiológica da DC sem manifestações sistêmicas. Elevado índice de suspeição é fundamental para detecção e confirmação de reativação de DC em pacientes chagásicos crônicos submetidos à terapia imunossupressora. Diagnóstico é confirmado pela demonstração de formas amastigotas em tecidos ou tripomastigotas em sangue periférico ou líquidos cavitários. Imunossupressão com depleção de linfócitos T CD8+ permite desequilíbrio de mecanismos mantenedores de controle de doença crônica com multiplicação de parasitas em tecidos e subsequente parasitemia. Ainda sim, profilaxia primária com benzonidazol não está indicada em parte por efeitos tóxicos relacionados à droga a despeito de efeito protetor quando utilizada para tal finalidade. Caso ilustra necessidade do conhecimento de risco de reativação de infecção por *T. cruzi* em pacientes com DC crônica submetidos à terapia imunossupressora como em pacientes em terapia antineoplásica de malignidades hematológicas. Exames para documentação de parasitemia são fundamentais para precoce e hábil diagnóstico de condição potencialmente fatal.

343

The role of surgery in the treatment of the non-Hodgkins lymphoma with gastric involvement: analysis of cases treated at a university hospital in Brazil over the past 16 years

Nogueira DS¹, Andrade T¹, Borges N¹, Alves AC², Loureno LG³, Neto RC³, Colleoni G¹

¹Universidade Federal de São Paulo Disciplina de Hematologia e Hemoterapia

²Universidade Federal de São Paulo Departamento de Patologia

³Universidade Federal de São Paulo Departamento de Cirurgia

Aim: To analyze the cases of non-Hodgkin's lymphomas (NHL) with gastric involvement treated at a public school hospital in Southeastern Brazil and to assess the role of surgery to overcome complications after diagnosis or treatment. **Methods:** Survey of cases of gastric lymphoma treated at Hospital São Paulo-UNIFESP from 1996 to 2012. **Results:** A total of 626 cases were diagnosed as NHL, 30 cases with gastric involvement (5%). Among these, 19 cases were female, 11 male, with median age of 56.5 years. Fourteen cases were diagnosed as extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissues (MALT): 10 *H. pylori* (HP) -positive, one HP -negative case and three cases with unknown HP status. Fourteen cases were diagnosed as diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) and two cases as post-transplant lymphoproliferative disorders (PTLD). 70% had localized disease (I-II). Twelve cases of MALT were treated with antibiotic therapy, followed by chemotherapy or radiotherapy (refractory cases) and two patients were treated solely with antibiotics. DLBCL received chemotherapy with anthracycline-based regimen (recently associated with immunotherapy) and adjuvant radiotherapy in cases of localized disease. PTLD cases were treated with reducing immunosuppression and R-CHOP. Only ten cases (33%) underwent surgery being the last in 2003. All the gastrectomies were performed before first consultation with a hematologist, i.e., probably they could be avoided. **Conclusion:** HP was present in almost all cases of MALT, determining the initial therapeutic choice. DLBCL were treated systemically with chemotherapy/immunotherapy, followed by adjuvant radiotherapy in localized disease. There is no indication of surgery in gastric lymphoma in our hospital for the last 10 years because: 1) we have been following international guidelines which recommend that surgery should be restricted to tumor or treatment complications, such as perforation and hemorrhage; 2) an efficient hematology, endoscopy, pathologist and surgery doctors networking.

344

Linfoma de pequenas células B difuso de polpa vermelha esplênica em transformação para difuso de grandes células

Bezerra ED¹, Fontenele LP¹, Barquinero LJ¹, Mello ES², Medeiros RS², Siqueira SA², Lage LA¹, Maciel FV¹, Pereira J¹, Velloso ED¹, Velloso ED¹

¹Disciplina de Hematologia da FMUSP

²Disciplina de Anatomia Patológica da FMUSP

Introdução: Até recentemente apenas a Hairy cell leukemia era reconhecida como um linfoma de células B com envolvimento primário da polpa esplênica. Na classificação de 2008 da OMS, duas novas entidades foram incluídas como entidades provisórias: o linfoma de pequenas células B difuso de polpa vermelha esplênica e a Hairy cell leukemia variante. Estas entidades são raras, correspondendo a menos de 1% dos linfomas, sendo citado um curso indolente e boa resposta a esplenectomia. **Objetivo:** Relatar aspectos imunofenotípicos, genéticos e evolução clínica de um caso de linfoma de pequenas células B difuso de polpa vermelha esplênica em transformação para difuso de grandes células. **Relato de Caso:** Feminino, 29 anos, com esplenomegalia em investigação há 07 anos, sem evidência de hipertensão portal ou esquistossomose, com hepatite B crônica não replicativa. Há 2 meses com aumento da esplenomegalia (39cm), sintomas B e surgimento de adenomegalias. Hemograma mostrou Hb: 8,1, plaquetas: 80.000, Leucócitos de 12.000/mm3 com 85% de células linfóides anômalas, com imunofenótipo CD45+/, CD19+/, CD20+/, CD25+/, CD23 parcial/ CD200 parcial/ FMC7+ e clonal para cadeia leve kappa. Cariótipo complexo sugestivo de doença linfoproliferativa, apresentando anormalidades estruturais em região 14q32, deleções nos cromossomos 6 e 7, isocromossomo dos cromossomos 8 e 17, trissomia do cromossomo 18. Estudo por Fish mostrou presença de cópia extra do gene MYC e deleção de p53. Investigação medular mostrou 7,6% de células com o mesmo fenótipo. TC e PET-CT mostraram esplenomegalia de 39 cm (SUV: 6,1), hepatomegalia (SUV: 3,2), conglomerado linfonodal abdominal (SUV: 6,3), adenomegalias cervicais e mediastinais sem aumento em dimensões (SUV: 3,6-3,8,). Submetida à esplenectomia, o achado histológico mostrou neoplasia linfóide de células maduras de tamanho pequeno à intermediário, com células grandes, primário de polpa vermelha, infiltrando difusamente os espaços sinusoidais e a polpa branca, imunohistoquímica: CD20+, DBA44+, CD5-, CD10-, CD23-, CD3- e ciclina D1- e Ki67: 40%. O estudo citogenético do baço mostrou cariótipo complexo semelhante ao do sangue periférico. Feito diagnóstico de Linfoma B de células pequenas primário de polpa vermelha esplênica em transformação para difuso de grandes células B. Foi submetida à 8 ciclos de R-CHOEP e encaminhada em 1ª remissão completa para TCTH autólogo. **Discussão:** O linfoma de pequenas células B difuso de polpa vermelha esplênica foi incluído em uma entidade provisória na classificação dos linfomas esplênicos pela OMS. Os poucos casos relatados na literatura mostram curso indolente com boa resposta à esplenectomia. O caso aqui descrito só foi diagnosticado com esplenectomia quando a doença apresentou modificação do quadro clínico e evolução para linfoma de grandes células.

345

Linfoma não Hodgkin primário de efusão leucemizada: apresentação clínica inusual de uma doença linfoproliferativa rara

Marconi TD¹, Fernandes PA¹, Paulo Z¹, Lage LA¹, Pereira J¹

¹Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Introdução: O linfoma não Hodgkin está entre as complicações

oncológicas mais frequentes observadas nos pacientes portadores de Síndrome da Imunodeficiência Adquirida Humana (AIDS), constituindo a segunda neoplasia mais comum nesta população. Neste grupo de pacientes manifestam-se de forma mais agressiva com frequente comprometimento extralinfonodal, maior incidência de sintomas B e prognóstico reservado. Entre os LNH definidores de SIDA destacam-se o DGCB de padrão imunoblástico, o LNH primário de SNC, o linfoma de Burkitt e mais raramente linfomas intrinsecamente relacionados a infecção por HHV-8, destacando-se o linfoma plasmoblástico e o primário de efusões serosas. **Objetivo:** Relatar apresentação clínica incomum, caracterizada por envolvimento de sangue periférico e síndrome de lise tumoral espontânea em paciente portador de SIDA e LNH primário de serosas. **Relato de Caso:** A.P.S., 48 anos, sexo masculino, apresentou-se no pronto-socorro com quadro de síndrome consumptiva, sintomatologia B, tosse seca e dispnéia. Ao exame físico foi evidenciado hepatoesplenomegalia e derrame pleural em hemitórax direito. Investigação laboratorial mostrava anemia e plaquetopenia graves, associada a discreta leucocitose às custas de elementos atípicos. Exames bioquímicos consistentes com síndrome de lise tumoral espontânea. Sorologia resultou positiva para vírus da imunodeficiência humana (HIV) com contagem de linfócitos CD4 de 22 células/mm3 e carga viral de 29839 cópias/ml. Concomitantemente foi evidenciada associação com neurocriptococose e pneumocitose e iniciado tratamento específico. Investigação por imagem constatou extenso derrame pleural a direita. Toracocentese diagnóstica revelou exsudato com presença de células anômalas de grande tamanho, moderada relação N/C, contorno nuclear por vezes irregular, rechaçamento periférico do núcleo, citoplasma profundamente basofílico, amplo e não vacuolizado, o que conferia diferenciação morfológica plasmoblástica. Hematoscopia demonstrou células atípicas com mesmas características morfológicas. Ao aspirado de medula óssea visualizados 50% de células anômalas imaturas com diferenciação plasmoblástica. Imunofenotipagem de MO revelou fenótipo CD45+/, CD19+/, CD20-, CD3-, CD5-, CD38+/, CD138+. Biópsia pleural revelou ki67+alto índice, CD3-, CD19-, CD20-, CD79a+, CD138+, MUM1+, HHV8+, configurando diagnóstico de LNH primário de efusão. Durante internação evoluiu com rápida deterioração do estado geral, piora dos parâmetros de lise tumoral, hiperleucocitose, seguida por óbito antes mesmo que terapia específica fosse instituída. **Discussão:** O linfoma primário de efusão é encontrado mais frequentemente nos pacientes imunossuprimidos pela infecção por vírus HIV, sendo mais comum nos bissexuais e homossexuais e corresponde a aproximadamente 5% dos LNH relacionados a AIDS. Caracteristicamente os portadores apresentam intenso grau de imunossupressão com contagens de linfócitos CD4 inferiores a 50 células/mm3. Devido ao estado geral comprometido dos pacientes e à própria biologia desfavorável desta neoplasia a resposta terapêutica é frustrada na maioria dos casos e sobrevida global gira em torno 6 meses. Envolvimento secundário de medula óssea é descrito em fases tardias da doença e a leucemização é evento extremamente raro, ressaltando-se a importância do caso relatado.

346

Síndrome de Sézary: relato de caso

Oliveira EP¹, Calvacanti ER¹, Deininger MD¹, Brito PK¹, Lira AR¹, Sousa GB¹, Ferreira CF¹, Neves FF¹, Monteiro PJ¹, Botelho LF¹

¹Universidade Federal da Paraíba

Introdução: O Linfoma Cutâneo Primário Células T (LCPCT) é um tipo de neoplasia de incidência rara da ordem de 0,3 e 1:100.000 habitantes. A Síndrome de Sézary (SS) é um tipo de LCPCT. Ela é uma patologia rara, 3% de todos os linfomas cutâneos, mas deve ser considerada no diagnóstico diferencial de rotina quando se investiga eritrodermias cuja etiologia é desconhecida. É caracterizada por uma tríade de manifestações: linfonodomegalia, eritrodermia com

prurido e linfócitos atípicos com aspecto cerebriformes na circulação (conhecidos como células de Sézary ou Lutzner). A SS possui uma manifestação clínica como eritrodermia, lesões eczematosas pruriginosas, linfadenopatias múltiplas e volumosas, edema de membros inferiores (MMII) e alopecia. Apresenta aspecto histológico e imunohistoquímico indistinguíveis dos apresentados pela Micoses Fungóide (MF). Os pacientes acometidos são comumente pessoas idosas e o prognóstico é ruim, com sobrevida média de 2 a 4 anos; estes pacientes apresentam ainda uma maior chance de desenvolverem uma segunda neoplasia maligna, como um segundo linfoma. **Relato de Caso:** Paciente do Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW), masculino, 67 anos, que em junho de 2013 apresenta queixas de lesões eritematosas localizadas na face, membros superiores (MMSS) e MMII. Foi analisado por dermatologista, infectologista, hematologista e oncologista sem o diagnóstico definitivo, havia apenas suspeita de dermatite crônica escamativa, psoríase e linfoma. Iniciou um quadro de febre concomitantemente com presença de nódulos dolorosos e hiperemiados na face e nos membros. Seguiu-se a isso placas hiperemiadas e descamativas em todo o corpo, que posteriormente deram origem a lesões descamativas. Os achados laboratoriais mostraram haver presença de células de Sézary e quadro de anemia. O exame clínico e físico revelou lesões descamativas generalizadas, linfadenopatia, edema em MMII, alopecia, adenomegalias axilares bilaterais com 2 cm de diâmetro, linfonodos inguinal direito e posterior esquerdo palpáveis e aderidos a 3 cm, aumento da região da parótida bilateralmente indolor com aumento do volume no sexto dia de internação. **Conclusão:** A SS é uma patologia rara que se trata de uma manifestação de LCPCT e que por possuir baixa incidência pode estar sendo subdiagnóstica. Assim, deveria sempre ser considerada nos casos de eritrodermia de etiologia obscura. O paciente segue em tratamento e internado no HULW.

347

Linfoma não Hodgkin difuso de grandes células B após transplante renal: relato de caso

Vecina AF¹, Andrade FC¹, Ferrari G¹, Dib P¹, Zanutto G¹, Cliquet M¹

¹Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde da PUC-SP

Introdução: Os Linfomas Não Hodgkin (LNH) compreendem um grupo heterogêneo de doenças hematológicas malignas que se originam no tecido linfóide, geralmente de linfócitos B. Apesar de pouco sabermos sobre a etiologia dos linfomas, o tratamento com drogas imunossupressoras está associado à gênese de alguns tipos de Linfoma. O risco de desenvolvimento de Doença Linfoproliferativa após transplante de órgãos depende da idade, do tipo de transplante, do grau de imunossupressão e da presença ou não do Vírus Epstein Barr (EBV). A incidência é maior em pacientes jovens e naqueles que recebem órgãos de cadáver, podendo ocorrer em 1 a 15% dos transplantes de órgãos sólidos, o que representa um aumento de 30 a 60 vezes em relação à população geral. A correlação com o EBV está bem documentada, sendo seu papel importante no estímulo à proliferação dos linfócitos B. Mais de 90% das doenças linfoproliferativas que ocorrem até 1 ano após o transplante são EBV positivas e de fenótipo B, enquanto as tardias podem ter origem nas células T e apresentarem pior prognóstico. Geralmente a definição de Doença Linfoproliferativa Pós-Transplante se correlaciona a doença linfomatosas localizada ou difusa, com frequente envolvimento extra-nodal, muitas vezes no sítio transplantado. A maioria dos casos relatados, é constituído de LNH difuso de grandes células B. O LNH de células T periféricas e Linfoma de Hodgkin são raros. **Relato de Caso:** RRP, sexo masculino, 19 anos, transplantado renal há aproximadamente um ano, tendo recebido o órgão do pai, e em imunossupressão com ciclosporina A, evoluiu com emagrecimento, sudorese e dificuldade para deambular. Exames de investigação evidenciaram massa compressiva em coluna lombar, que foi irradiada em regime de urgência, além de massa abdominal, com resultado de biópsia e

imunohistoquímica compatível com Linfoma Não Hodgkin Difuso de Grandes Células B. A sorologia para EBV foi positiva. Após estadiamento, foi iniciado tratamento com o protocolo R-CHOP. O paciente segue bem, com melhora clínica progressiva, ainda em regime de quimioterapia. **Conclusão:** Esse resumo visa ressaltar que umas das principais complicações da imunossupressão em paciente transplantado de órgãos sólidos é a proliferação linfóide, representada pelo LNH agressivo de células B, na maioria dos casos.

348

Papel da via alternativa de alongamento de telômeros (ALT) em linfócitos T normais

Tellechea MF¹, Quiroz E², Santana B¹, Calado RT¹

¹Universidade de São Paulo

²Ponce School of Medicine

Introdução: A recombinação entre cromátides irmãs em regiões teloméricas (T-SCE) sugere a ativação de uma via alternativa de alongamento telomérico (ALT). A ativação de ALT confere às células imortalidade através de um mecanismo independente de telomerase tornando-as resistentes a terapias contra o câncer que inibem telomerase. Na maioria das células malignas os telômeros são mantidos pela enzima telomerase, embora 10% dos cânceres não a expressem e mantêm seus telômeros utilizando a via alternativa ALT, a qual não é totalmente compreendida. Este mecanismo estaria relacionado à adição de sequências teloméricas a traves da recombinação de cromátides irmãs, ou à utilização de círculos de DNA ricos em citosina (C circles) como moldes para a DNA polimerase. Em células humanas normais, o comprimento telomérico é geralmente mantido entre 7 a 15 kb e o encurtamento acontece com a idade. Rápidas recombinações do tipo T-SCE observadas na presença de ALT leva a variabilidade nos comprimentos teloméricos. Estas células também possuem estruturas nucleares conhecidas como ALT-associated PML bodies (APBs) que contêm DNA telomérico extra-cromossomal, proteínas de união a telômeros e proteínas envolvidas na recombinação e replicação do DNA(1). A ativação ou não de ALT em linfócitos normais é de grande importância tanto biológica como clínica. Isto poderia ajudar a compreender o rol de ALT em células humanas normais, sua interação com telomerase e providenciar as bases biológicas para a utilização de inibidores de telomerase no tratamento de vários tipos de câncer. **Objetivo:** Caracterizar e quantificar T-SCE em células T normais de sangue periférico ativadas com PHA de 10 indivíduos mediante FISH de orientação cromossômica (CO-FISH) (2). **Métodos:** A presença de T-SCE em células T de sangue periférico foi quantificada por CO-FISH. Esta técnica apresenta especificidade por fita simples, sendo assim observados sinais únicos em cada extremo dos cromossomos. A presença de T-SCE produz dois sinais, um em cada cromátide. Adicionalmente, outros mecanismos associados com ALT estão sendo investigados: Presença de APBs e C circles. **Resultados:** Sinais teloméricos foram analisados após a padronização da metodologia de CO-FISH. Foi observada a presença de sinais duplos nos extremos de cromátides irmãs em vários cromossomos das diferentes metáfases avaliadas. **Conclusão:** A observação de sinais duplos nos extremos dos cromossomos metafásicos de células T normais, indicam a presença de recombinação em regiões teloméricas entre cromátides irmãs, sugerindo assim a ativação da via alternativa ALT. Estes resultados preliminares provam que ALT é ativada também em células normais, o que proporciona importantes bases para a compreensão desta via e para o desenvolvimento de futuros tratamentos de câncer. A quantificação de sinais duplos dos diferentes indivíduos está sendo realizada a fim de avaliar a significância de ALT em células normais, assim como ensaios para avaliar a presença de APBs e C circles que confirmariam a ativação de ALT.

349

Identification of diffuse large B-cell lymphoma subtypes defined by the expression of stromal proteins and their association with angiomiRs

Borges N¹, Conti M¹, Andrade T¹, Begnami MD², Alves A¹, Colleoni G¹

¹Universidade Federal de São Paulo

²AC Camargo Cancer Center

The identification of subtypes of DLBCL defined by expression of genes related to tumor stroma may determine new paths in the treatment of these diseases using anti-angiogenic drugs. The relationship of these genes with the angiomiRs is still unknown. **Aim:** To classify DLBCL cases according to the signature *stromal-1* and *stromal-2* using TMA and IHC; to evaluate the expression of angiomiRs in paraffin embedded tissues affected by DLBCL and correlate them with the signatures of the tumor stroma. **Methods:** 101 DLBCL admitted to the Hospital São Paulo between 2000 and 2010 were included in this study. Expression of CD68 (*stromal-1* marker) was classified into four (0-3) levels. To analyze the expression of CD34 (MVD, *stromal-2*), we conducted a manual count of microvessels in the entire field of TMA. We performed miRNA extraction from paraffin samples using RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit for FFPE Tissues (Applied Biosystems). RQ-PCR was performed using TaqMan® Small RNA kit Assays and normalized with U18 and RNU44. ProangiomiRs Let-7f, miR-92a, miR-130a, miR-210, miR-296 and miR-378 and antiangiomiRs miR-16, miR-20b, miR-221 and miR-328 were selected for analyses and were considered differentially expressed when tumor samples levels were 1.2 times higher or lower than normal samples. **Results:** *Stromal-1* cases had high expression of CD68 (scores 2-3) and low expression of CD34 (quartiles I-II) (32.6% of cases), and as *stromal-2* cases had low expression of CD68 (scores 0-1) and high expression of CD34 (quartiles III-IV) (11.6% of cases). The cases that had high expression of both CD68 and CD34 (42.1%) were additionally considered as *stromal-2*, due to high MVD scores. Cases of low expression of CD68 and CD34 (13.7% of cases) were not scored. We observed a statistically significant relationship between the median expression of CD34 and Ann Arbor stage (I-II versus III-IV), with a predominance of high MVD expression in patients with advanced stage disease. The median of vessels in stages I-II was 82.5 and in stages III-IV was 111 ($p = 0.0276$, Mann-Whitney). We observed overexpression of proangiomiRs miR-92a, miR-296, miR-210, miR-378, Let-7f and miR-130a in 100%, 56.5%, 55.5%, 48.5%, 14.9% and 13.9% of cases, respectively. Among antiangiomiRs we found underexpression of miR-20b, miR-221, miR-16 and miR-328 in respectively 65.7%, 45.5%, 27.7% and 12.9%. We also observed a correlation between overexpression of miR-20b and miR-221 and low MVD ($p = 0.0225$ and $p = 0.0339$, Mann-Whitney, respectively), suggesting a correlation between antiangiomiRs expression and low angiogenesis profile. For other variables, there were no statistically significant differences between groups. **Conclusion:** The higher MVD in cases of DLBCL (53.7%) with advanced stage shows a possible association between angiogenesis and more disseminated disease, being a possible target for antiangiogenic therapy in cases that do not achieve a complete response with R-CHOP. Two angiomiRs emerge as potential new targets: proangiomiR miR-92a, overexpressed in 100% of DLBCL, and antiangiomiR miR-20b, underexpressed in 65.7% of cases. Our study provides new information about the importance of the role of microRNAs in the development of DLBCL, which can be exploited as a therapeutic target for patients with this malignant disease of high prevalence.

350

Linfoma ósseo primário: experiência da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo

Castro TG¹, Mo SK¹, Santos MR¹, Canuto DK¹, Brasil SA¹, Chiattoni CS¹

¹Santa Casa de Misericórdia de São Paulo

Introdução: Linfoma ósseo primário (LOP) é um grupo de doenças malignas linfóides raras e é definido como um linfoma que está confinado ao osso, ou de medula óssea, sem evidência de uma doença sistêmica no momento do diagnóstico inicial. Representa menos de 1% de todos os linfomas não-Hodgkin, 7% dos tumores ósseos malignos e 4 a 5% dos linfomas extranodais. A maioria dos LOP são linfomas difuso de grandes células B (LDGCB) com uma ocorrência rara de folicular, da zona marginal, anaplásico de células grandes, linfoma de células T e outros subtipos. Há uma ligeira predominância do sexo masculino e a maioria dos pacientes têm mais de 45 anos. Os pacientes geralmente apresentam dor óssea, edema de partes moles e massa palpável ou fratura. Os locais mais comuns de envolvimento são ossos longos (especialmente o fêmur). O tratamento ideal para LOP permanece obscuro. As opções de tratamento incluem a cirurgia, radioterapia, quimioterapia e terapia-alvo. Aqui nós relatamos nove casos de linfoma não-Hodgkin ósseo primário, diagnosticados e tratados em nosso serviço. **Casuística:** Nesse estudo retrospectivo, foram revisados prontuários de pacientes com diagnóstico de linfoma ósseo primário em acompanhamento no Serviço de Hematologia e Hemoterapia do Departamento de Clínica Médica da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo. **Resultados:** Foram incluídos nove pacientes, com idade ao diagnóstico entre 14 e 68 anos, sendo quatro mulheres e cinco homens. Os principais sintomas foram dor, edema e limitação funcional. Três pacientes apresentavam sintomas B. Os locais acometidos foram fêmur (5 pacientes), tíbia (2) e úmero (2). A maioria apresentava lesão monostótica (7). O tempo entre o surgimento dos sintomas até a realização do diagnóstico variou de cinco meses a dois anos, com exceção de um paciente assintomático que sofreu fratura patológica e foi submetido à biópsia óssea no ato cirúrgico. Oito pacientes foram diagnosticados como LDGCB e um como linfoma de Burkitt. Três apresentavam índice prognóstico de alto risco, incluindo os dois com lesão poliostótica. Oito pacientes foram tratados com esquema CHOP (quatro a oito ciclos), sendo seis associado ao rituximabe e um recebeu esquema R-EPOCH associado a quimioterapia intratecal. Quatro realizaram consolidação com radioterapia. Dois pacientes evoluíram a óbito, sendo um deles devido recidiva em SNC refratário à quimioterapia de resgate. Quatro pacientes mantêm remissão completa e dois estavam em investigação de recidiva do linfoma no último contato. **Conclusão:** Linfoma ósseo primário é raro e inicialmente apresenta apenas sintomas locais, tornando difícil o diagnóstico precoce. Portanto, deve ser sempre considerado como diagnóstico diferencial de tumores ósseos, especialmente em pacientes com lesão óssea solitária.

351

Microrna signature profile proposal and miR-222 as a potential biomarker for EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly

Andrade T¹, Evangelista A², Borges N¹, Campo AH³, Vassallo J⁴, Zerbini MC⁵, Paes RP⁶, Scapulatempo C², Alves AC¹, Colleoni G¹

¹UNIFESP/EPM

²Hospital de Câncer de Barretos

³AC Camargo Cancer Center

⁴UNICAMP

⁵FMUSP

⁶Santa Casa de São Paulo

Background: EBV+diffuse large B-cell lymphoma of the elderly(EBV+DLBCL)is considered a provisional entity in the latest WHO classification.It affects individuals older than 50 years without prior documented immunodeficiency.This disorder has unfavorable clinical course even after the advent of immunotherapy associated to anthracycline-based chemotherapy.It is linked to EBV,senescence and immunological deterioration.Currently there is not a characteristic pattern of expression of microRNAs in EBV+DLBCL. **Aim:** To characterize a signature profile for this new entity and to explore microRNAs as biomarkers and potential alternative therapeutic targets for EBV+DLBCL. **Methods:** 124cases of DLBCL treated at UNIFESP(2000-2010) had paraffin blocks available for immunohistochemical and molecular analyses.70 of124 patients were more than 50y (potential candidates to be EBV+DLBCL).In situ hybridization was used for EBVdetection(EBER1,Invitrogen)in a tissue microarray slide.Total RNA was obtained from tumor slides using RecoverAllTotalNucleicAcidIsolation kit and cDNA was inserted into 2 platforms containing 384human microRNA each(TLDA)on7900RT PCR(Applied Biosystems).Analyses were made in mathematical-statistical environment"R". The normalization method dct-2 was performed using the endogenous RNU48and also used RNU6 in a comparative way.MicroRNAs differentially expressed were identified by nonparametric tests rank products(RankProd)and Wilcoxon rank-sum(R-Stats) considering differentially expressed microRNAs which average fold-change above or below 1.5.After,RTquantitative PCR was performed (7500 RT PCR,Applied Biosystems)using TaqManSmallRNA kit assays normalized with RNU48. **Results:** 8.5%of DLBCL cases were considered EBV+DLBCL after ISH.We selected 4 of EBV+ and 4 of EBV- samples matched by age,gender,stage and IPI to be analyzed in thePCR platforms.We found 10 deregulated microRNAs,but only 7 achieved statistically significant differences and would be the start point of a microRNA signature profile proposal to be validated in a larger multicentric cohort(29 EBV+DLBCL,including 23 new cases, vs 65DLBCL).Among them let7g,miR126,miR146a,miR146b,miR150 and miR155 were overexpressed inEBV+DLBCL comparing toEBVnegative whereas miR151was underexpressed.After validation we confirmed overexpression of miR126 in 75.8%(median 2.14 vs 0.14,p<0.0001),miR146a in 62%(1.94vs0.49,p=0.0035),miR146b in 51.7%(1.5vs0.11,p<0.0001),miR150 in 96.5%(20.54vs2.56,p<0.0001) and miR222 in 23.8%of cases (0.67vs0.08,p< 0.0001,Mann-Whitney) and also confirmed underexpression of miR151 in 96%of EBV+DLBCL cases.Although miR222 was overexpressed in of EBV+ cases,it showed high specificity(98%)and positive predictive value(83%). **Conclusion:** The merit of the present study is to propose a microRNA signature for a recently described disease and to highlight miR222 as a possible biomarker and therapeutic target for EBV+DLBCL.The main routes deregulated are NF-KappaB and PI3K-AKT pathway,being PTEN a target of the overexpressed miR222.Thus,the findings suggest that antagonomiRs for miR222,that are being tested in some types of cancer,could be also used as adjuvant therapy to R-CHOP in EBV+DLBCL(Supported by FAPESP2010/17668-6.Dr.Claudia Camillo and Dr.Fernando A. Soares also contributed to this manuscript).

352

Doença de Erdheim Chester

Marconi TD¹, Aranha MA¹, Veslasques RD², Abdo AN², Mariano LC¹

¹Universidade de São Paulo

²Instituto do Câncer de São Paulo

Introdução: A doença de Erdheim Chester é uma doença rara de etiologia desconhecida. Também conhecida como Histiocitose de células não Langerhans, caracteriza-se por infiltração difusa nos tecidos pelos histiócitos, sendo os principais órgãos acometidos os olhos, ossos, sistema nervoso central, pulmões, mediastino, retroperitônio e rins. **Objetivo:** Relatar um caso com apresentações clínicas, laboratoriais e radiológicas típicas. **Relato de Caso:** Paciente do sexo masculino, 42

anos, com queixa de cefaleia, ataxia, paresia e perda de coordenação de membros superiores há aproximadamente 1 ano, acompanhado de perda de 18 kg no mesmo período. Referia ainda polidipsia e poliúria (aproximadamente 10 litros por dia) há 6 meses. Na investigação inicial hemograma sem alterações significativas, funções renal e hepática normais. A avaliação hormonal mostrava pan hipopituitarismo. Avaliação com ressonância magnética de crânio mostrou lesões supratentorial/infundibular, pontinas e cerebelares marginais e cintilografia óssea evidenciou hiperconcentração do radiofármaco em maxilas e mandíbula, metade distal dos fêmures de padrão homogêneo e simétrico, ulna direita de padrão heterogêneo, trocarter maior direito, calcâneos e ombro. Realizado biópsia de tíbia que mostrou imunohistoquímica com CD1a, CD20, CD3 e S100 negativos e CD68 positivo compatível com doença de Erdheim Chester. O tratamento foi realizado com reposição hormonal e interferon 3 milhões de unidade 3 vezes na semana com boa resposta até o momento. **Discussão:** A doença de Erdheim-Chester ocorre mais frequentemente no sexo masculino após os 40 anos de idade. A etiologia permanece desconhecida e o diagnóstico é baseado em achados clínicos, patológicos e radiológicos. Os histiócitos não Langerhans tem tropismo para o tecido conectivo, perivascular e adiposo. São comuns sintomas sistêmicos como febre, perda de peso, astenia e mialgia difusa. Como visto no caso o acometimento ósseo característico é de esclerose simétrica dos ossos tubulares longos, predominando nas metáfises e diáfises dos membros inferiores. Em geral não há lesões cutâneas o que colabora para a diferenciação com a Doença de Langerhans. O prognóstico baseia-se na extensão do acometimento visceral, sendo o envolvimento cardíaco o de pior evolução. Não há consenso sobre o tratamento de escolha, no entanto os mais indicados são a corticoterapia e imunossupressão, bem como correção de distúrbios secundários, como reposição hormonal.

353

Linfoma de Burkitt como causa de hepatite fulminante

Percont PO¹, Dias MA¹, Benevides TC¹, Lopes TM¹, Moura MS¹, Gusso DR¹, Pereira TS¹, Campos PM¹, Lorand-Metze I¹, Pagnano KB¹

¹Universidade Estadual de Campinas

Introdução: A Hepatite Fulminante causada por neoplasia maligna é rara. Dentre as etiologias mais frequentes, destacam-se carcinoma hepatocelular, metástases hepáticas e toxicidade por quimioterápicos. Doenças hematológicas malignas como leucemia, linfoma não-Hodgkin (LNH) e linfoma de Hodgkin (LH) geralmente não resultam em disfunção hepática por agressão direta, e raramente se manifestam como insuficiência hepática fulminante. **Relato de Caso:** Homem, 53 anos, referia fadiga, mal estar e icterícia há 4 meses, com piora há 7 dias. Internado em sua cidade, evoluiu 8 dias após com agravamento de icterícia, aumento do volume abdominal e confusão mental, sendo transferido para o Hospital das Clínicas da Unicamp. Negava etilismo, drogadição, uso de paracetamol, anti-inflamatórios não esteroidais, chás ou outros agentes hepatotóxicos, comportamento sexual de risco ou viagem para áreas endêmicas. Ao exame, estava confuso, icterico, dispneico e com *flapping*. Havia hepatoesplenomegalia, sem sinais de hepatopatia crônica. Exames complementares mostravam: AST = 442 U/L, ALT = 260 U/L, GGT = 1756 U/L, fosfatase alcalina = 1011 U/L, desidrogenase láctica (DHL) = 1292 U/L, bilirrubina total = 12mg/dL (direta: 9,75 mg/dL; indireta: 2,25mg/dL), tempo de protrombina: 32,3 segundos (INR 2,62). A tomografia computadorizada de abdome superior evidenciava hepatomegalia acentuada, com ecotextura heterogênea, pequenas áreas nodulares hipoeóicas mal delimitadas, e baço aumentado heterogêneo, sem ascite. De acordo com os critérios da *American Association for the Study of Liver Diseases*, definiu-se quadro de hepatite fulminante. As sorologias para hepatites virais A, B e C foram negativas, e a dosagem de ceruloplasmina, normal. Pela anemia leve e leucocitose, foi solicitada avaliação da hematologia. O hemograma evidenciava: leucócitos totais=26.730/mm³(mielócitos

6%, metamielócitos 2%, bastões 12%, neutrófilos 66%, linfócitos 4%, monócitos 10%), Hb=11,90 g/dL, Plaquetas=276.000/mm³. O esfregaço do sangue periférico evidenciou 54 eritroblastos em 100 leucócitos contados, sem células imaturas. A presença de reação leucoeritroblástica, hepatoesplenomegalia e aumento acentuado de DHL levantaram a hipótese de neoplasia hematológica concomitante, sendo indicado estudo da medula óssea. O mielograma evidenciava 24% de blastos com cromatina frouxa, nucléolos evidentes e vacúolos citoplasmáticos. A imunofenotipagem distinguia 21,3% de células positivas para CD19, CD20 (forte), IgM de membrana e citoplasma, CD79a e expressão monoclonal de imunoglobulina de membrana (cadeia leve Lambda); os marcadores CD13/33, CD7, CD10, CD34 e TdT eram negativos. A biópsia de medula óssea mostrava aspecto de "céu estrelado". O conjunto dos dados foi compatível com linfoma de Burkitt. Um dia após o diagnóstico, o paciente evoluiu com óbito, sem tempo hábil para realização de quimioterapia. **Conclusão:** Os linfomas de alto grau podem evoluir com infiltração do parênquima hepático, com descrição de raros casos na literatura de infiltração sinusoidal hepática difusa e compressão extra-hepática por adenopatia. Nos LNH, sua incidência varia de 16 a 22%, sendo rara a ocorrência de insuficiência hepática aguda. A despeito de sua raridade, essa condição deve ser considerada no diagnóstico diferencial de hepatite fulminante. Sua identificação imediata é fundamental para o tratamento precoce e reversão do quadro hepático agudo.

354

Prevalência da coinfeção HIV/HTLV e suas complicações

Neves FF¹, Beltrão MC¹, Ferraz RG¹, Pinho IP¹, Melo MC¹, Barbosa RF¹, Diniz JM¹, Peixoto RL¹, Pimenta MB², Pimenta FC¹

¹Universidade Federal da Paraíba

²Faculdade de Medicina Nova Esperança

O vírus linfotrópico de células T humano ou HTLV (Human T-cell Leukemia Virus) é um retrovírus humano com tropismo para linfócitos T sendo dividido em tipos 1 e 2. O HTLV-1 foi identificado como o primeiro retrovírus identificado como patogênico ao homem, isolado a partir de linfócitos de um doente americano, com um tipo de linfoma cutâneo. Quanto ao HTLV-2 foi identificado em 1982, numa linhagem de células T de um paciente com tricoleucemia, sendo considerado relacionada, entretanto distinto do HTLV-1. Os vírus linfotrópicos humanos de células T tipo 1 (HTLV-1) pode infectar diversos tipos celulares como linfócitos B, linfócitos T, fibroblastos e monócitos, possuindo tropismo especial por células T CD4+. Suas vias de transmissão coincidem com outro retrovírus, o HIV. Sabe-se que é possível existir a associação entre os vírus que infectam o mesmo tipo de células. O vírus HTLV-1 tem sido associado à aceleração da progressão clínica de doentes coinfectados com HIV. Em contraste, evidência aponta para um papel protetor confirmado de coinfeção entre HTLV tipo 2 e HIV, que se manifesta como a melhora da sobrevida e retardo as manifestações da SIDA. A infecção simultânea por esses vírus é um achado relativamente comum, principalmente na América do Sul, Caribe e África, mas os resultantes clínicos da coinfeção não estão completamente esclarecidos. O Brasil pode abrigar o maior número absoluto de pessoas soropositivas para HTLV. Um estudo transversal mostrou que as taxas de prevalência médias apresentaram grande heterogeneidade geográfica, variando de 0,4/1.000 habitantes na Região Sul, até uma taxa 25 vezes maior na Região Nordeste. Este trabalho objetivou estudar a prevalência da coinfeção de HTLV/HIV no Hospital Universitário Lauro Wanderley, no período de Agosto de 2012 a Julho de 2013, bem como as possíveis associações de doenças relacionadas à coinfeção dos retrovírus. **Resultados e Discussão:** Na amostra analisamos 106 pacientes, utilizamos o teste de triagem para o HTLV, pela metodologia ELISA, na qual obtivemos 0,94% de positividade. As complicações citadas na literatura associadas à coinfeção HIV/HTLV não foram encontradas na amostra positiva para o HTLV. Os resultados esperados de

associação com mielopatia, neuropatia, hepatite C e ATL não foram confirmados na pesquisa, de acordo com os prontuários dos pacientes. **Conclusão** Diante dos achados sugere-se que para esse grupo de pacientes estudados não houve aumento de coinfeção com HTLV, entretanto é salutar que possamos conhecer a realidade dos doentes para permitir conduzir estratégias de prevenção das complicações geradas por essa associação de retrovírus.

355

Desenvolvimento de modelo de xenotransplante de linfoma de células do manto em camundongos para estudo da eficácia e toxicidade da halofuginona

Santos MG^{1,2}, Pacheco LZ², Rizzatti EG¹, Kerbauy DM^{1,2}

¹Grupo Fleury

²UNIFESP/EPM

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, tornando-se 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, induzindo apoptose e parada do ciclo celular, além de desencadear a fosforilação de diversas quinases envolvidas na ativação de vias de resposta integrada ao estresse (estresse do retículo endoplasmático e/ou privação de aminoácidos). Tais resultados, porém, foram obtidos com linhagens celulares e células primárias em experimentos *in vitro*, sendo necessário o desenvolvimento de um modelo *in vivo* de LCM para estudos de eficácia e toxicidade desta droga em animais. Foram utilizados 90 camundongos NOD-SCID ou Gama Null com idade entre 6 e 9 semanas, alocados entre experimentos de injeção intrafemural ou subcutânea de linhagens celulares de LCM (HBL-2 e Mino). Nos camundongos submetidos a injeção intrafemural, foram realizados estudos de desenvolvimento de um modelo de LCM *in vivo*. Nos camundongos que receberam injeção subcutânea, foram feitos estudos de eficácia e toxicidade de halofuginona, através de injeções intraperitoneais de diferentes doses da droga. Ensaios de citometria demonstraram que, para os camundongos que receberam injeção intrafemural da linhagem celular HBL-2, houve "pega" do transplante, demonstrada pela presença dessas células em sangue periférico e medula óssea dos animais. Para os camundongos que receberam injeção subcutânea e halofuginona, não houve diminuição do tamanho do tumor com doses de 100 µg/kg. Com doses de 500 µg/kg, houve desaceleração no crescimento do tumor, sugerindo um efeito citostático da droga *in vivo*. Doses de 1000 µg/kg demonstraram-se tóxicas, mesmo em animais saudáveis. Dessa forma, foi possível desenvolver um modelo de xenotransplante em camundongos NOD-SCID, através da injeção intrafemural de linhagens celulares de LCM. Para os estudos de eficácia e toxicidade da halofuginona, observamos que a droga possui toxicidade elevada, mesmo em doses intermediárias. Esses achados fornecem embasamento para uma melhor exploração das atividades da halofuginona *in vivo*, com a finalidade de encontrar uma concentração da droga que seja eficaz, mas sem efeitos tóxicos significativos.

356

Prevalence ratio of HTLV-1 in nursing mothers from the state of Paraíba, Brazil

Pimenta MB¹, Diniz JM², Peixoto RL², Guedes GA¹, Guedes BA¹, Filho RC¹, Rodrigues GS¹, Sousa LW¹, Furtado AR¹, Pimenta FC²

¹Faculdade de Medicina Nova Esperança

²Universidade Federal da Paraíba

The human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) was the first human retrovirus known as a direct causal agent of a malignant disease. The vertical route of HTLV transmission is the most frequent pathway of the virus contamination. This study was performed to determine the prevalence ratio of HTLV-1 infection among nursing women. From January 2012 to January 2013, blood samples from 1000 nursing mothers from Paraíba, Brazil were evaluated for HTLV antibodies by ELISA and HTLV-1 viral particles confirmed by polymerase chain reaction (PCR). HTLV antibodies were detected in 7 women. The overall seroprevalence ratio was 0.68% and HTLV-1 viral sequences were confirmed by PCR in 2 women. These preliminary data suggest that HTLV screening should be introduced as a mandatory test before breastfeeding and breast milk donation in Paraíba, Brazil. Additionally, counseling programs would help reduce the prevalence ratio of HTLV-1 infected individuals in this state.

357

Mieloma múltiplo e linfoma linfoplasmocítico: decisão difícil na hematologia

Peixoto RL¹, Pimenta MB², Diniz JM¹, Fernandes MA¹, Medeiros A³, Cartaxo E³, Paz AR³, Pimenta FC¹

¹Universidade Federal da Paraíba

²Faculdade de Medicina Nova Esperança

³Hospital Napoleão Laureano

O linfoma linfoplasmocítico é uma neoplasia de células B caracterizada por proliferação de linfócitos plasmocitóides envolvendo a medula óssea, o baço e linfonodos. A idade média de apresentação é de 63 anos e parece haver maior predominância no sexo masculino. Quanto ao mieloma múltiplo(MM) é o principal representante das neoplasias plasmocitárias, corresponde a 10% das neoplasias hematológicas, sendo cerca de 5 vezes mais frequente que o linfoma linfoplasmocítico. A idade média de manifestação do MM é aos 60 anos e a incidência é maior no gênero masculino. Relatamos caso de paciente feminina, 43 anos, que procurou atendimento ambulatorial com queixas de astenia, palidez e dor em ombro esquerdo há um ano. Ao hemograma observamos que apresentava pancitopenia, com função renal e calcemia dentro dos limites de normalidade. A eletroforese de proteínas demonstrou expressivo pico monoclonal na região das gamaglobulinas e elevação importante da IgG sérica, além de beta2microglobulina elevada. Sorologias foram negativas para HbsAg, HCV e para HIV. Exame tomográfico de ombro revelou lesões osteolíticas em úmero esquerdo, com múltiplas fraturas e TC de abdome total demonstrou hepatoesplenomegalia homogênea e adenomegalia abdominal difusa além de adenomegalia mediastinal evidente a tomo de tórax. A imunofenotipagem foi compatível com infiltrado linfoplasmocitário. Biópsia de gânglio mediastinal com imunohistoquímica positiva para CD3, CD20, BCL2 e lambda. Há quatro meses segue em terapia com Rituximabe, Ciclofosfamida, Doxorubicina, vincristina e prednisona, evoluindo com melhora clínica. Os autores ressaltam a importância do diagnóstico diferencial entre linfoma linfoplasmocítico e mieloma múltiplo, muitas vezes indefinido por apresentarem manifestações clínicas e imunohistoquímica semelhantes.

358

Linfoma não Hodgkin com obstrução intestinal: relato de caso

Sousa TT¹, Leite DR¹, Júnior AL¹, Sales VC¹, Belmiro JC¹, Pita DF², Costa VR¹, Macedo RT¹, Cavalcanti NS¹, Botelho LF¹

¹Universidade Federal da Paraíba

²Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba

Introdução: Os Linfomas não Hodgkin (LNH) são tumores compostos por linfócitos e correspondem a um variado grupo de doenças, com morfologia, imunofenotipagem, genética e manifestações clínicas bem diversificados. São mais comuns em indivíduos com mais de 40 anos, sendo o quinto tipo mais comum de câncer no mundo, tanto em homens como em mulheres. No Brasil, o LNH é a segunda maior causa de morte por doenças hematológicas. A etiologia, na maioria dos casos, não é muito bem definida; no entanto, acredita-se que alguns fatores podem estar envolvidos, tais como fatores hereditários, ambientais, dietéticos, além de agentes virais. Sugere-se, também, relação com imunodeficiências, como o caso da infecção por HIV. Em adultos, o tipo mais comum é o Linfoma não-Hodgkin Difuso de Grandes Células B (LNHDGCB); são tumores agressivos, mas que tendem a responder bem aos agentes quimioterápicos. **Relato de Caso:** Paciente do sexo feminino, 92 anos, branca, do lar, procurou atendimento médico em maio de 2012, queixando-se de falta de apetite, constipação há muitos anos, perda de peso e quadro depressivo. Após admissão hospitalar evoluiu com vômitos. Na investigação etiológica, foi realizada uma ultra-sonografia de abdome total que revelou acentuado espessamento parietal de colón sigmoide, com hiperecogenicidade dos planos adiposos pericólicos, sugerindo neoplasia infiltrativa; e uma tomografia computadorizada do abdome, sem contraste, que revelou acentuada dilatação de algumas alças de intestino delgado, duodeno e câmara gástrica, com ponto de obstrução localizado em topografia pélvica, não sendo observados sinais de linfonodomegalias abdominais. Houve necessidade de intervenção cirúrgica para alívio do quadro obstrutivo. Exame anatomopatológico de peça cirúrgica: **diagnóstico** : neoplasia maligna, pouco diferenciada, de padrão sólido, ulceroinfiltrativa, atingindo toda espessura do segmento de intestino delgado, tecido adiposo adjacente e com contiguidade para parede da bexiga de forma extrínseca até a mucosa; presença de infiltrações linfáticas e perineurais; infiltrações vasculares sanguíneas não detectadas. Margens cirúrgicas proximal e distal : livres de neoplasia. Marcadores imunológicos: positivo: CD45, CD20, Bcl-2, MIB1, CD10, CD79a, BCL-6; negativo: CD3, CD5, CICLINAD1, CD30, AE1 + AE3, vimentina. A paciente foi diagnosticada com LNHDGCB sendo iniciado tratamento com Rituximabe. Segue em acompanhamento clínico com quadro estável e não apresentou reações adversas ao tratamento. **Discussão:** o trato gastrointestinal é o local mais acometido por LNH extranodal, sendo o intestino o segundo órgão com maior envolvimento. O LNH representa 2% de todas as neoplasias intestinais. Apresentam quadro clínico variável e inespecífico, podendo apresentar sinais e sintomas como dor abdominal, náuseas, vômitos, episódios de oclusão intestinal, sangramento digestivo, perda de peso, anemia, febre, intussuscepção e massa palpável. Dentre esses sintomas, um estudo mostrou que a obstrução intestinal representava o quarto acometimento mais frequente em pacientes com LNH. Os princípios da terapêutica da obstrução intestinal são a reposição de líquidos e eletrólitos, a descompressão do intestino e a intervenção cirúrgica no momento adequado. No tratamento quimioterápico, pode-se usar o esquema CHOP (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona), juntamente com o anticorpo monoclonal rituximab.

LEUCEMIA MIELÓIDE CRÔNICA E OUTRAS SÍNDROMES MIELOPROLIFERATIVAS CRÔNICAS INCLUINDO AS POLICITEMIAS

359

Choque hemorrágico e depressão medular severa por Glivec: relato de um caso na Amazônia brasileira

Borges KO¹¹Hospital Regional do Baixo Amazonas do Oeste do Pará

A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é uma doença clonal da célula precursora (stem cell) de medula óssea, que apresenta uma translocação recíproca entre os pares de cromossomos 9 e 22 e que resulta no encurtamento visível dos braços longos de um dos cromossomos 22. O cromossoma anormal t(9,22)(q34;q11) resultante é denominado Cromossoma Philadelphia (Ph). A translocação do cromossoma 9 conduz à fusão entre uma porção do gene BCR, localizado no cromossoma 22, e o segmento do gene ABL, no cromossoma 9. Esse gene quimérico direciona a síntese de uma nova 210-KD tirosino-fosfoproteína-quinase. O tratamento recente inclui o Mesilato de Imatinibe (STI-571), um derivado da 2-fenil-amino-pirimidina e inibidor seletivo da BCR-ABL-tirosino-quinase, que induz remissão hematológica e citogenética na LMC. Os autores relatam o caso de uma paciente, R.C.G.M., sexo feminino, 43 anos, com diagnóstico LMC (BCR-ABL+, variante p210), diagnosticada em Dezembro de 2012 em fase crônica, com tratamento padrão com Glivec 400mg, desde esta data. Em 25.02.2012, já apresentava normalização de hemograma, com Hb=12,0, Gb=9300, Pla=480.000. Em 23.04.13 apresenta-se clinicamente estável, sem queixas, exame segmentar sem alterações dignas de nota e com hemograma mostrando Hb=10,6, Gb=3700 (S=59%), Pla=73.000, sendo mantida a administração do Glivec, com dose reduzida de 300mg. Em 09.05.13, a paciente retorna muito sintomática, com metrorragia severa, epistaxe, gengivorragia, discrasias cutâneas difusas, fraqueza, astenia, e febre. O hemograma mostrava pancitopenia severa com Hb=6,4 Gb=1400(N=280), Pla=20.000, sendo suspenso o Glivec, iniciada a reposição de hemocomponentes, antibioticoterapia de amplo espectro com Cefepime e cuidadosos semi-intensivos para paciente imunossuprimido. A paciente evoluiu com choque hemorrágico com necessidade de suporte vasotônico por 5 dias. Os exames colhidos mostraram sorologias virais negativas, função renal e hepática normais, culturas negativas, mielograma e biópsia de medula óssea sem alterações. Ao final do 20º dia de internação evoluiu com recuperação progressiva das citopenias periféricas e do quadro clínico geral. Paciente recebe alta com Hb=9,6, Gb=5200, Pla=104000, sendo reiniciado o Glivec. Após 7 dias do reinício, paciente permanece com hemograma estável. A interrupção do tratamento com Glivec devido a efeitos adversos relacionados com o medicamento foi observada em 2,4% dos pacientes recentemente diagnosticados com LMC. A depressão medular é tida como efeito adverso incomum. O relato é importante, pois mostra um efeito raro, mais de alta gravidade de um medicamento teoricamente muito bem tolerado e a necessidade de seguimento rigoroso dos pacientes com adequações e ajustes das doses durante as reações.

360

Micrornas circulantes como novos marcadores prognósticos em leucemia mieloide crônica de novo

Ferreira LA¹, Capannacci J², Dadalto J², Hokama NK¹, Colturato VR², Hokama PO¹¹Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho²Hospital Amaral Carvalho

Introdução: A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é uma neoplasia mieloproliferativa crônica clonal, caracterizada pela presença do

cromossomo Ph, que resulta da translocação dos cromossomos 9q34 e 22q11, gerando a proteína híbrida *bcr-abl*, que tem atividade tirosina-quinase, responsável pela oncogênese inicial da LMC. Com os conhecimentos acumulados sobre o mecanismo de ação do *bcr-abl* foi possível o desenvolvimento de drogas alvo específicas, revolucionando o tratamento da LMC. No entanto, alguns pacientes desenvolvem resistência terapêutica, devido a mecanismos moleculares e epigenéticos desconhecidos que levam a progressão da doença^{1,2}. **Objetivo:** De encontro a essa tendência e para uma melhor compreensão molecular da doença, o presente estudo teve como objetivo a identificação de um perfil de expressão de miRNAs de pacientes com LMC recém diagnosticados. **Métodos:** Foram analisados 768 miRNAs de 14 pacientes com LMC, recém diagnosticados, virgens de tratamento, acompanhados no Hospital Amaral de Carvalho – Jahú/SP. Como controle foi utilizado um *pool* de leucócitos totais de 14 doadores saudáveis. A extração dos miRNAs foi realizada a partir de 5 mL de sangue periférico através do QiAamp RNA Blood Mini Kit® (Qiagen, Alemanha). Para a transcrição reversa utilizamos o TaqMan® MicroRNA Reverse Transcription Kit (ABI®). Para a q-RT-PCR utilizamos TaqMan® Low Density Array (TLDA) Human MicroRNA Arrays v2.0 (A and B) (ABI®), na plataforma ViiA7 (ABI®). A análise foi realizada pelo ExpressionSuite Software V1.0.1 (ABI®), através da comparação dos CTS pelo método 2^{-ΔΔCt} e utilizamos o teste estatístico *t* de Student. Consideramos uma diferença de 5% como estatisticamente significativa. **Resultados e Discussão:** Os gráficos, a serem apresentados, representam o perfil de expressão dos pacientes com LMC *de novo* com o *pool* de normais. Dos 768 miRNAs avaliados, 130 apresentaram-se diferentemente expressos entre os grupos. Vinte miRNAs dos 130 estão relacionados a neoplasia mieloproliferativa crônica. Os miR29b, miR16-1, miR223, miR23a, miR106b, miR324-5p, miR451, miR let-7c, miR20b, miR145, miR146a, miR150, miR24, miR let-7d, miR155 apresentaram redução de sua expressão nos pacientes com LMC *de novo* quando comparados com o *pool* de normais. Enquanto os miR99a, miR196b, miR29a e miR19c tiveram um aumento de expressão. Tais dados sugerem que esses miRNAs contribuem de maneira significativa na fisiopatologia da Leucemia Mielóide Crônica. Apoio: Agência financiadora FAPESP.

361

Características clínicas-demográficas e resposta citogenética ao imatinibe em pacientes com leucemia mieloide crônica

Rego MF¹, Metze IG²¹Hospital São Marcos²Universidade Estadual de Campinas

Introdução: A leucemia mielóide crônica é uma doença clonal caracterizada pela presença do cromossomo Philadelphia que provoca a fusão dos genes BCR-ABL. O tratamento atual é feito com os inibidores de tirosina-quinase que produz remissão citogenética e molecular da doença. O monitoramento correto do tratamento é essencial para otimizar a resposta. **Objetivo:** Análise das características clínicas e laboratoriais de pacientes com leucemia mielóide crônica tratados com mesilato de imatinibe no Estado do Piauí. Avaliação da eficácia do referido fármaco, monitorado pela resposta citogenética completa após 12 meses, e se possível da resposta molecular. **Métodos:** Estudo retrospectivo dos casos com leucemia mielóide crônica em fase crônica e acelerada que receberam mesilato de imatinibe de janeiro de 2002 a junho de 2013, no Hospital São Marcos (Teresina-PI): 400 mg na fase crônica e 600 mg na fase acelerada. Os dados clínicos foram obtidos ao diagnóstico. A análise citogenética foi feita em medula óssea pela técnica de bandeamento G, aos 3,6 e 12 meses do tratamento. A resposta ao tratamento foi avaliada pelos critérios do European Leukemia Net. Resultados- Noventa e oito pacientes foram estudados: 94 (96%) em fase crônica e 4 (4%) em fase acelerada. A mediana de idade foi

de 42 anos (11-83). Entre os pacientes, 54% eram homens. A grande maioria (95%) teve tratamento prévio com hidroxiuréia (mediana de 4 meses - em 48 casos menos de 6 meses). 30% dos pacientes usaram também interferon antes do imatinibe. Segundo o índice de Sokal, 22,1% foram baixo risco, 44,3% de risco intermediário e 30,5% foram de alto risco, 3,1% não foram analisados. Quanto ao ponto de quebra, 42 pacientes eram b3a2, 36 b2b2, 10 tiveram os dois pontos de quebra e em 10 casos não foi realizado o exame. A mediana da escolaridade dos pacientes foi de 4 anos (0-17). A renda per capita mediana foi de R\$226,00 (0-3000). A duração mediana de tratamento com mesilato de imatinibe foi de 45,4 meses (4,6-135), sendo que 89% foram tratados por período mínimo de 12 meses. A resposta citogenética completa (RCgC) foi atingida em 6% dos casos aos 3 meses, em outros 21,4% aos 6 meses e em 12 meses foi de 38,7% (total 72,5%). Entre os que iniciaram imatinibe nos 6 primeiros meses após diagnóstico 69% atingiram RCgC no primeiro ano, contra 39,9% que iniciaram imatinibe na fase tardia. Do total dos pacientes, 69 (70,4%) continuaram em tratamento com imatinibe e 3 morreram. Em 26 (26,5%) dos casos o imatinibe foi trocado por dasatinibe (intolerância ou resistência). **Conclusão:** As características dos pacientes são semelhantes aos observados no resto do Brasil. A resposta menos satisfatória com o uso dos TKI pode ser devida ao início do tratamento com imatinibe numa fase tardia da doença e às dificuldades do monitoramento citogenético e molecular.

362

Avaliação das reações adversas ao tratamento com Mesilato de Imatinibe em pacientes com leucemia mieloide crônica do HEMOPE

Menezes AD¹

¹Fundação de Hematologia e Hemoterapia – HEMOPE

A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa clonal caracterizada citogeneticamente pelo cromossomo Philadelphia. Dentre as opções terapêuticas estão Hidroxiuréia, o α -Interferon e o Mesilato de Imatinibe. Este último é o fármaco mais específico e efetivo para terapia da LMC. O Mesilato de Imatinibe geralmente é bem tolerado com administração oral diária, podendo o paciente apresentar reações adversas de intensidade leve a moderada, sendo de mais frequentes cefaléia, náuseas e vômitos. Nem todos os pacientes tem boa resposta ao Mesilato de Imatinibe e alguns podem desenvolver resistência depois de algum tempo de uso. Sendo, atualmente, usados para estes casos os medicamentos Dasatinibe ou Nilotinibe. O estudo foi prospectivo, incluiu 60 pacientes, em uso do Mesilato de Imatinibe, atendidos na Fundação Hemope, de Agosto a Dezembro de 2007, objetivou analisar a prevalência das principais reações adversas. Os dados foram obtidos do prontuário médico e dos questionários respondidos pelos pacientes. Esses dados incluíram: idade, sexo, fases da doença, tempo de terapêutica com o medicamento, horário de administração e reações adversas. A idade mediana dos entrevistados foi de 46 anos. Foram observados mais reações adversas no sexo feminino. Em relação ao líquido utilizado na ingestão do Imatinibe, 50 entrevistados tomavam com água, seguindo o que é orientado pela bula, mas 7 tomavam com qualquer suco, quando a bula orienta entre os sucos, tomar só com suco de maçã, 2 tomavam com leite e 1 tomava com vinho. Dos que estavam na fase crônica da doença, 69% apresentaram alguma reação, dos que estavam na fase acelerada 62,5% e dos que estavam na fase blástica, todos tiveram reações. Entre os que tomavam o medicamento durante alguma das refeições, 60,4% tiveram alguma reação e entre os que não tomavam, em nenhuma das refeições, 100% tiveram alguma reação. As reações adversas mais frequentes foram náuseas (12,7%), câimbras (12,4%), dores articulares e fadiga (8,6%), cefaléia e diarreia (7,5%) e dor abdominal (7,1%). O estudo foi importante para perceber a necessidade do acompanhamento farmacoterapêutico dos pacientes.

363

Estudo de alta resolução (aCGH) do perfil cromossômico da progressão leucêmica em trombocitemia essencial

Silva JP¹, Gouveia ME², Daumas AH², Praxedes M², Solza C³, Bonamino MH¹, Renault IZ¹, Braggio E⁴

¹Instituto Nacional de Câncer

²Hospital Universitário Antônio Pedro

³Hospital Universitário Pedro Ernesto

⁴Mayo Clinic-Arizona

As neoplasias mieloproliferativas crônicas clássicas (NMPC; Policitemia Vera – PV, Trombocitemia Essencial-TE e Mielofibrose-MF) são um grupo de doenças caracterizadas por proliferação mielóide anormal e presença da mutação no gene *JAK2* p.Val617Phe em diferentes frequências (90-98% na PV, 50% em TE e MF). As NMPC podem progredir para MF ou leucemia aguda (LA), sendo que a LA possui um mau prognóstico, não existindo até o momento nenhum marcador de progressão. A utilização de técnicas genômicas de alta resolução é uma ferramenta poderosa na procura de bio-marcadores preditivos da transformação maligna em doenças hematológicas. O objetivo deste trabalho foi buscar alterações cromossômicas associadas à progressão de TE à LA. **Métodos:** Cinco pacientes (pcs) com diagnóstico inicial (dx) de TE que progrediram para LA foram estudados em ambos os pontos por aCGH (array comparative genomic hybridization). Os casos foram analisados usando lâminas 244k, atingindo uma resolução média de 19Kb, lidas no Agilent SureScan e analisadas no Genomic Workbench. **Resultados:** 3/5 pcs apresentaram alterações cromossômicas identificadas por aCGH: a média do número de alterações/paciente foi de 6,3(5-8) nas amostras na LA e de 2,5 (1-10) ao diagnóstico. 2/3 pcs possuíam alterações ao dx, que não foram recorrentes entre os pcs. Estas, em sua maioria foram deleções (del), com um comprimento médio de 2,7Mb (848Kb-6,4Mb). Interessantemente, 2 alterações (+2p e del(5q)) foram específicas da LA e ambas recorrentes em 2/3 pcs, não sendo identificadas no dx TE em nenhum dos casos. Em um dos casos, foi analisada uma amostra adicional 10 meses após dx e 5 meses anterior à LA, a qual foi negativa para as alterações, sugerindo assim que a aquisição das alterações estão associadas especificamente com a progressão à LA. A análise de processos biológicos dos genes destas regiões alteradas mostrou que no cromossomo (chr) 5q há 9 genes deletados envolvidos na via de JAK-STAT (IL4, CSF2, TSLP, IL3, IL5, IL9, IL13, IL12B, SPRY4) e 4 desses também envolvidos na via de diferenciação hematopoietica (CSF2, IL3, IL4, IL5). No chr 2 foi observado o ganho em genes de regulação epigenética (DNMT3A, ASXL2 e DPY30) e de reparo de mismatch (MSH2). Na via JAK-STAT, foi observada a perda monoalélica de SOCS3 e ganho no gene da trombopoietina, THPO. Foram observadas deleções em diversos chr afetando genes de regulação epigenética do complexo polycomb2 e SET-parceiro de MLL: PHF1, PHF19, JARID2, SETD1B, WDR5, CXXC1, associados à repressão da transcrição. **Conclusão:** Em resumo, foram observadas duas alterações recorrentes (+ 2p e Del (5q)) que parecem estar associadas à transformação leucêmica. A haplo-insuficiência em diversos genes de controle do mecanismo de epigenético celular pode estar afetando a assinatura epigenética da célula leucêmica, com diminuição da metilação de histonas e do DNA, o que poderia sugerir uma assinatura gênica similar a células indiferenciadas, necessitando maiores estudos. Perspectivas: Avaliaremos por FISH a presença das alterações observadas em uma coorte de validação com 80 amostras de pcs com NMPC clássicas para determinar a real frequência destas lesões moleculares. Suporte Financeiro: CNPq, Faperj, INCT para controle do Câncer, Mayo Clinic.

364

Avaliação dos pacientes com leucemia mieloide crônica tratados com mesilato de imatinibe na Santa Casa da Misericórdia de Santos - análise de 68 pacientes

Nascimento VM^{1,2}, Cerqueira-Neto AB¹, Boturão-Neto E^{1,2}, Nicolau JE^{1,2}

¹Santa Casa da Misericórdia de Santos

²Universidade Metropolitana de Santos - UNIMES

Introdução: A introdução do mesilato de imatinibe (IM) no tratamento da leucemia mieloide crônica (LMC) veio alterar a história natural desta doença, permitindo que os pacientes em fase crônica alcancem uma longa sobrevivência. Na prática médica rotineira os resultados deste tratamento, embora tenham mostrado um grande progresso, não se equiparam àqueles observados nos estudos clínicos. Isto se deve, em grande parte, à falta de aderência de alguns pacientes ao tratamento, que ocorre por vários fatores como: efeitos colaterais, crença na cura da doença, esquecimento etc, que seguramente têm impacto nos resultados. **Objetivo:** Avaliar o tratamento de pacientes portadores de LMC em uso de IM na Santa Casa de Santos. **Métodos:** Durante o período, 71 pacientes com LMC foram atendidos, e analisados os resultados do tratamento com IM de 68 pacientes com LMC-fase crônica no Serviço de Hematologia da Santa Casa de Santos no período de julho de 2002 a dezembro de 2013. Todos os pacientes receberam inicialmente hidroxiureia, até o resultado do cariótipo. Alguns pacientes foram tratados com interferon-alfa antes do imatinibe. **Resultados:** Dos 68 pacientes avaliados, 35 (51,4%) eram do sexo masculino e 33 (48,5%), do sexo feminino. A mediana de idade foi de 45 anos (15 – 75 anos). Quanto à cor da pele, 43 (63,2%) eram brancos e 27 (36,7%) não brancos. Em 63 pacientes com dados para análise, 55 (87%) apresentavam escore EUTOS de baixo risco. Dos 68 pacientes, 45 (66,1%) alcançaram remissão citogenética completa (RCC) com IM, na mediana de 7 meses (3 – 33 meses). Vinte e seis pacientes (38,2%) alcançaram resposta molecular maior (RMM) com IM na mediana de 18 meses. Quatorze pacientes (20,5%) mudaram o tratamento para inibidores de TK de 2ª geração. A mediana de sobrevivência de todo o grupo foi 67 meses (7 – 142 meses), no período mediano de avaliação de 70 meses (6 – 134 meses). Neste período, ocorreram 14 óbitos (20%), sendo 2 (14,2%) após TCTH não aparentado, 2 (14,2%) por adenocarcinoma de mama, 1 (7,1%) por suicídio, 2 (14,2%) por morte súbita, 2 (14,2%) por mielodisplasia e 6 (42,8%) por evolução da doença. Quanto à aderência ao tratamento, 16 pacientes (23,5%) reconheceram não fazer uso correto da medicação. Somente 2 pacientes (2,85%) apresentaram mutação, a D325N. **Conclusão:** As análises dos nossos dados mostram que a RCC ao IM de (66,1%) é menor do que aquelas observadas em ensaios clínicos. Muito embora os pacientes sejam avaliados, periodicamente, por enfermeiras treinadas quanto à aderência ao tratamento, o uso irregular do medicamento continua sendo um fator importante de falta ou perda de resposta ao IM. Embora 23,6% dos pacientes tenham informado, quando estimulados, que não faziam uso regular do IM, acreditamos que, na verdade, esta porcentagem seja maior. Este fato contribui, em muitos casos, para a mudança de tratamento para inibidores de TK de segunda geração, sem que tenha ocorrido realmente resistência ou perda de resposta ao IM.

365

Angiogenesis assessment in primary myelofibrosis and polycythemia vera patients

Nunes DP¹, Lima LT¹, Santos LC², Ponce CC³, Shinohara EM¹, Silva MR³, Chauffaille ML²

¹Department of Clinical and Toxicological Analyses, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

²Department of Hematology, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brazil

³Department of Pathology, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brazil

Background: Neoangiogenesis has a crucial pathophysiological feature in development, maintenance and progression of myeloproliferative neoplasias (MPNs). However, bone marrow angiogenesis seems different among the MPNs when considering microvascular density (MVD) and VEGF immunoreexpression. These aspects may play important roles for clinical management. **Aim:** The aim of this work was to evaluate the neoangiogenesis process in patients with polycythemia vera (PV) and primary myelofibrosis (PMF) by assessing the quantification of MVD and VEGF immunoreexpression in bone marrow biopsies. **Methods:** Twenty eight cases of PV and 28 of PMF diagnosed according to World Health Organization criteria (2008) were selected from the Hematology Department of the Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), from April to July 2009. MVD and VEGF were assessed by immunohistochemistry on bone marrow biopsies at diagnosis by CD34 staining and murine monoclonal antibody, respectively. VEGF and bFGF plasma levels were measured by standard quantitative sandwich ELISA kits (Quantikine; R&D Systems), according to manufacturer's instructions. DNA was isolated by QiAmp DNA Blood Mini kit (Qiagen) for JAK2 V617F mutation detection, which was performed by real-time PCR using JAK2 MutaScreen™ kit (Ipsogen). Data like: age, gender, leukocyte count, platelet count, hemoglobin concentration, spleen size, thrombotic phenomena and duration of disease were collected from the patient's records. **Results:** PMF patients presented increased MVD as compared to PV patients ($p < 0.001$). No association among MVD, hemoglobin, leukocytes and platelet counts, at diagnosis, was found. VEGF and bFGF plasmatic concentrations were not related to duration of disease, and they were not associated to spleen size or thrombotic phenomena. Furthermore there was strong correlation between VEGF and bFGF plasmatic concentrations in PMF ($N=14$ $r=0.918$, $p < 0.01$) and PV ($N=18$, $r=0.795$, $p < 0.01$). PV JAK2V617F patients ($N=21$) presented higher platelets number and VEGF plasma concentration than PV JAK2V617F-negative ones ($N=3$) ($p=0.006$ and $p=0.035$, respectively). **Conclusion:** These data suggest that patients with PMF show increased angiogenesis as compared to PV. Higher platelet count in PV JAK2V617F patients could be explained by hyperactivity of thrombopoietin receptor caused by this mutation. In addition, the association between VEGF and JAK2 mutation status indicate that they can modulate angiogenesis. These findings may play important role towards diagnosis and clinical management of MPNs. Financing: FAPESP (07/55948-8).

366

Importância da mutação JAK2 V617F nas neoplasias mieloproliferativas crônicas

Viana BR¹, Azevedo IF¹, Melo FC¹, Neves WB¹, Melo RA^{1,2}

¹Fundação Hemope

²Universidade de Pernambuco - UPE

Introdução: As neoplasias mieloproliferativas crônicas (NMPc) são doenças clonais da célula-tronco hematopoiética, caracterizadas pela proliferação de uma ou mais linhagens mieloides, com

maturação eficaz, o que leva à leucocitose, poliglobulia ou trombocitose, que podem evoluir para fibrose medular ou leucemia. Dentre as NMPc, a Policitemia vera (PV), a Trombocitemia essencial (TE) e a Mielofibrose primária (MFP) são conhecidas como "NMPc Philadelphia (Ph)-negativas". O diagnóstico destas neoplasias depende de vários parâmetros clínicos e laboratoriais, como a pesquisa da mutação *JAK2* V617F. A presença desta mutação, principalmente quando em homozigose, parece modificar o fenótipo destas doenças. **Objetivo:** Descrever as principais características clínico-laboratoriais dos pacientes com NMPc Ph-negativas e verificar se a mutação *JAK2* V617F e sua carga alélica estão associadas com fenótipos clínicos específicos. **Métodos:** O estudo retrospectivo incluiu 215 pacientes com NMPc Ph-negativas acompanhados de janeiro/2000 a dezembro/2011 na Fundação Hemope. Os dados clínico-laboratoriais foram obtidos nos prontuários dos pacientes após consentimento informado e a mutação *JAK2* V617F realizada pela técnica de PCR alelo específica. **Resultados:** As NMPc foram mais comuns no sexo feminino, na sexta década de vida e a maioria dos pacientes eram assintomáticos ao diagnóstico. A TE foi a NMPc mais prevalente (63%). A ocorrência de trombose e hemorragia foi inferior a 10%. A esplenomegalia foi mais prevalente na MFP (81%). A transformação para MF secundária ocorreu em 3,3% em pacientes com PV e em 3,1% em pacientes com TE. A transformação leucêmica foi observada em apenas um paciente com MFP. A hemoglobina média foi de 19,9g/dL na PV e a plaquetometria média 952.000/mm³ na TE. Em todas as NMPc foi observada discreta leucocitose. A mutação *JAK2* V617F estava presente em 78% na PV (64% em homozigose), 46% na TE (79% em heterozigose) e 82% na MFP (67% em homozigose). Nos pacientes positivos para a mutação observou-se idade mais avançada ao diagnóstico (TE e PV), maior leucocitose (TE e MFP) e tendência a menor plaquetometria (TE). Quando em homozigose foi encontrada associação com maiores níveis de hemoglobina e leucócitos (TE/PV). Não foi encontrada associação entre a presença da mutação e esplenomegalia, trombose, hemorragia, transformação para mielofibrose ou leucemia. **Conclusão:** A mutação *JAK2* V617F tem importante valor diagnóstico e associação com parâmetros clínicos e laboratoriais nas NMPc Ph-negativas.

367

VASP protein, a binding partner of BCR-ABL and FAK, may be implicated in the chronic myeloid leukemia phenotype

Bernusso VA¹, Machado-Neto JA¹, Pericole FV¹, Vieira KP¹, Duarte AS¹, Traina F^{1,2}, Hansen MD³, Saad ST¹, Barcellos KS¹

¹Hematology and Hemotherapy Center, University of Campinas/Hemocentro-Unicamp, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Campinas, São Paulo

²Department of Internal Medicine, University of São Paulo at Ribeirão Preto Medical School, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil

³Department of Physiology and Developmental Biology, Brigham Young University, Provo, Utah 84602

Background: VASP (vasodilator-stimulated phosphoprotein) and Zyxin are actin regulatory proteins that control cell-cell adhesion. Zyxin directs actin assembly by interacting and recruiting VASP to specific sites of adhesion. The phosphorylation of VASP modifies their activity in cell-cell junctions. PKA phosphorylates VASP at serine 157 regulating VASP cellular functions. VASP is a substrate of BCR-ABL oncoprotein and is tyrosine-phosphorylated in leukemic cells. However, the function of VASP and Zyxin in hematopoietic cells, in the BCR-ABL pathway and its participation in chronic myeloid leukemia (CML) remains unknown. **Aim:** To analyze VASP and Zyxin expression in bone marrow cells from CML patients and healthy donors, as well the involvement of these proteins in hematopoietic cell differentiation and in the BCR-ABL signaling pathway. **Methods:** Were included in the study bone marrow samples from 29 individuals (5 healthy donors, 5

CML patients at diagnosis, 16 CML patients responsive to treatment with tyrosine kinase inhibitors (ITK) and 3 CML patients resistant to ITK). One patient was analyzed at diagnosis and after ITK response. VASP or Zyxin silencing was performed by shRNA-lentiviral delivery in K562 cell line, an appropriated shControl was used. ShControl, shVASP and shZyxin K562 cells were induced to megakaryocytic differentiation with 20nM of PMA (phorbol myristate -13 -12 acetate) during 4 days and CD61 expression, a marker for maturing megakaryocytes, was verified by flow cytometry. During megakaryocytic differentiation, VASP and Zyxin gene expressions were evaluated by quantitative PCR; protein expression and activation were determined by Western blotting. Effector proteins of proliferation, apoptosis and adhesion in the BCR-ABL signaling pathway were analyzed in cells silenced for VASP or Zyxin. The interaction of VASP and BCR-ABL or FAK was evaluated by co-immunoprecipitation. **Results:** Healthy donors showed p-VASP ser157 expression, in contrast to CML patients at diagnosis who did not present phospho-VASP ser157. After Imatinib treatment CML patients restored VASP phosphorylation however resistant patients maintained this absence. During Imatinib treatment of K562 cells, phospho-VASP ser157 expression was increased and its interaction with BCR-ABL protein was reduced. VASP and Zyxin gene expressions were upregulated during megakaryocyte differentiation of K562 cells (8.7-fold increase, $P=0.0115$, and 3.6-fold increase, $P=0.015$, respectively). VASP and Zyxin protein expressions were increased during megakaryocytic differentiation, including the active form of these proteins (p-VASP ser157 and p-Zyxin ser142). VASP silencing in K562 cells resulted in a 40% decrease of CD61 expression at the end of the megakaryocytic differentiation ($P<0.05$). In addition, VASP and Zyxin silencing resulted in a decrease of BCL-2 and BCL-XL proteins. VASP binds to FAK, an adhesion effector protein of the BCR-ABL pathway, and its silencing resulted in a decreased phosphorylation of FAK y925. **Conclusions:** In BCR-ABL cells, VASP and Zyxin modulated anti-apoptotic proteins and megakaryocytic differentiation. Hence, the altered expression of VASP activity in CML patients may contribute to the pathogenesis of the disease, affecting cellular differentiation or leukemic cell adhesion.

368

Frequência dos diferentes transcritos bcr/abl em pacientes com leucemia mieloide crônica

Leal CB^{1,2}, Cunha BC^{2,3}, Arantes AM², Saddi VA^{1,2}

¹Programa de Mestrado em Genética, Pontifícia Universidade Católica de Goiás

²Laboratório de Transplante de Medula Óssea e Setor de Hematologia do Hospital Araújo Jorge, ACCG

³Programa de Mestrado em Medicina Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás

O gene quimérico *BCR/ABL* é um produto da translocação t(9;22)(q34;q11), encontrado em 95% dos portadores de Leucemia Mieloide Crônica (LMC), e resulta em dois principais transcritos quiméricos conhecidos como b2a2 e b3a2. Os dois transcritos podem ocorrer simultaneamente em amostras de um mesmo paciente. Resultados contraditórios são relatados quanto à frequência dos diferentes transcritos no sangue de pacientes com LMC, ao diagnóstico e durante o curso da doença, e divergências também são descritas em relação ao valor prognóstico dos diferentes transcritos. O objetivo deste estudo foi analisar a frequência dos transcritos bcr/abl em amostras de sangue periférico de pacientes com LMC, no momento do diagnóstico, bem como as possíveis associações entre tais transcritos e o índice de Sokal. Após aplicação do TCLE, foram coletadas amostras de sangue periférico de 10 pacientes diagnosticados com LMC, no período de outubro de 2012 a junho de 2013, no Setor de Hematologia do Hospital Araújo Jorge da Associação de Combate ao Câncer em Goiás. A detecção dos transcritos bcr/abl foi feita por meio de transcrição reversa (RT) associada à reação

em cadeia da polimerase (PCR) e confirmada por sequenciamento gênico automatizado. As possíveis associações entre a distribuição dos transcritos e o índice de Sokal, que avalia a idade, tamanho do baço, contagem de plaquetas e porcentagem de blastos em sangue periférico, foram investigadas por meio do teste de Chi-quadrado. A idade média dos pacientes no momento do diagnóstico foi de 40 anos (intervalo, 11-77 anos). Três pacientes (30%) expressaram o transcrito b2a2, quatro pacientes (40%) o transcrito b3a2, dois pacientes (20%) expressaram ambos os transcritos e um paciente (10%) não expressou nenhum dos transcritos. Dentre os aspectos clínicos da doença, investigados pelo índice de Sokal, nenhuma associação estatisticamente significativa foi detectada em relação à frequência dos transcritos bcr/abl no grupo de pacientes estudados. O valor prognóstico da discriminação dos transcritos é controverso e tem sido questionado. Alguns estudos relatam que a presença dos diferentes tipos de transcritos não apresenta valor prognóstico. Outros associam a expressão b3a2 com trombocitose e a expressão de b2a2 com uma melhor resposta ao tratamento com os inibidores de tirosina-quinase. Nossos resultados apresentam distribuição dos transcritos (b2a2 e b3a2) semelhante àquelas relatadas na literatura. A presença de diferentes transcritos no sangue periférico de pacientes com LMC pode ocorrer como resultado de *splicing* alternativo e/ou surgimento de novos clones mutantes, gerando uma diversidade fenotípica. Neste estudo, a frequência dos diferentes transcritos não apresentou uma associação significativa com os aspectos clínicos da doença investigados pelo índice de Sokal, entretanto, o número reduzido de casos avaliados deve justificar esse achado.

369

Lesão hepatocelular aguda secundária ao uso de mesilato de imatinibe em paciente com leucemia mieloide crônica

Brejinski-Almeida A^{1,2}, Steffenello-Durigon G^{1,3,4}, Gaspareto PB^{1,3}, Moral JA^{1,3}, Vieira AG^{1,3}, Dias BV^{1,3}, Fermino FA^{1,3}

¹Universidade Federal de Santa Catarina

²Mestrado profissional associado a residência multidisciplinar em saúde

³Serviço de Hematologia HU UFSC

⁴Programa de Pós Graduação em farmácia

Introdução: São inúmeros os fármacos utilizados na prática clínica, especialmente no tratamento oncológico, responsáveis por lesões hepáticas. A hepatite medicamentosa é um efeito adverso raro, geralmente apresenta curso benigno, em alguns casos pode evoluir para uma hepatite crônica, cirrose ou até tumores hepáticos. Estima-se que medicamentos são responsáveis por cerca de 40% dos quadros de hepatites sintomáticas em pacientes acima de 50 anos. As reações tóxicas são causadas pela natureza do fármaco, e associadas a fatores individuais relacionados ao paciente, como idade, fatores genéticos, o uso de álcool, doenças hepáticas prévias e o uso de outros fármacos. O caso clínico explorado demonstra o desenvolvimento de Lesão Hepatocelular aguda causada pelo uso do mesilato de imatinibe para o tratamento de Leucemia Mieloide Crônica *de novo*. O imatinibe é um agente antineoplásico, inibidor da tirosina quinase, que é metabolizado no fígado pelo citocromo P450, principalmente pelo subtipo 3A4, e estima-se que seja responsável por causar hepatotoxicidade em cerca de 6-12% dos casos. **Relato de Caso:** Paciente A.J.U., masculino, 73 anos, caucasiano, procura o serviço de Hematologia do HU UFSC, após persistência de sintomas há 6 meses como astenia, emagrecimento e inapetência. Os exames laboratoriais hepáticos, renais, e bioquímicos apresentaram-se normais, com exceção do hemograma que revelou: hemoglobina 8,3g/dl, leucócitos 123.000/mm³ (com desvio escalonado até promielócitos) e plaquetas 257.000/mm³. Realizado exame de medula óssea que confirmou LMC com a presença da mutação t(9;22) por PCR em tempo real. Foi iniciada terapia medicamentosa com Hidroxiuréia 2g/

dia para citorredução. Após 7 dias de tratamento a leucometria apresentou redução importante (43.520/mm³). A posologia da hidroxiuréia foi modificada para 500mg/dia, e foi introduzido imatinibe 400mg/dia quando a leucometria atingiu 10.000/mm³. Durante o acompanhamento, no dia 32, a função hepática revelou ALT 2.972U/L (VR: 20-65U/L) 45 vezes acima do limite superior do valor de referência e a relação ALT/FAL igual a 17, caracterizando uma lesão hepatocelular aguda. Foi realizado ajuste de dose do imatinibe, com tomadas em dias alternados, conforme literatura. Decorridos 14 dias, o paciente relatou queixas de astenia, vômitos e icterícia, com ALT 14 vezes acima do limite superior e bilirrubina total 13,1mg/dl (VR: até 1,0mg/dl). Com o quadro em questão foi decidido a retirada total da medicação e contra indicado tratamento com imatinibe. Após recuperação da função hepática com a retirada do medicamento, foi introduzida terapia antineoplásica com dasatinibe 100mg, inicial de 3 em 3 dias, indicado à pacientes com resistência ou tolerância ao imatinibe. O paciente reagiu bem à modificação terapêutica e sem alteração dos parâmetros hepáticos. **Conclusão:** A condição de hepatite medicamentosa é rara, todavia podem debilitar o paciente, prejudicando o tratamento antineoplásico. Quando o medicamento é identificado e suspenso geralmente o curso da hepatite é facilmente revertido, no entanto ao persistir o tratamento pode causar a cirrose hepática. Os antineoplásicos bem como os coadjuvantes da terapia oncológica frequentemente realizam metabolização hepática e por isso podem sobrecarregar o órgão. O monitoramento da função hepática e intervenção precoce é de suma importância.

370

Familial mastocytosis: identification of KIT K509I mutation and its in vitro sensitivity to imatinib, dasatinib and PKC412

Campos PM¹, Machado-Neto JA¹, Duarte AS¹, Scopim-Ribeiro R¹, Barra FF², Vassallo J², Lorand-Metze I¹, Costa FF¹, Saad ST¹, Traina F^{1,3}

¹Hematology and Hemotherapy Center - University of Campinas/ Hemocentro- Unicamp, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Campinas, São Paulo, Brazil

²Laboratório Investigação em Patologia (LIP) CIPED, FCM, University of Campinas, UNICAMP, Campinas-SP, Brazil

³Department of Internal Medicine, University of São Paulo at Ribeirão Preto Medical School, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil

Background: Mast cell diseases are myeloproliferative neoplasms characterized by an abnormal proliferation and accumulation of mast cells (MCs) in different tissues. The clonal nature of the disease can be established on the basis of the demonstration of gain-of-function mutations involving the tyrosine kinase (TK) domain of KIT. Most of the previously described mastocytosis mutations can be treated with TK inhibitors, with exceptions such as KIT D816V, which confers resistance to the TK inhibitor Imatinib. **Aim:** To characterize the clinical phenotype and molecular mutations of two relatives with a diagnosis of systemic mastocytosis (WHO 2008), and to test the sensibility of primary bone marrow cells from both patients to tyrosine kinase inhibitors. **Methods:** Four individuals were included in the study; two patients (case 1 [mother], and case 2 [daughter]), and the parents of case 1. Genomic DNA samples were obtained from patients' total BM cells, CD3⁺ BM cells and oral mucosa, and from parents' peripheral blood. KIT (exons 1 to 21) was submitted to Sanger sequencing analysis. Primary bone marrow cells (5X10⁴) from the 2 patients were culture and submitted or not to Imatinib (50nM), PKC 412 (100nM) and Dasatinib (80nM) treatments during 8 and 12 days, and submitted to proliferation and apoptosis assays using MTT and Annexin-V/PI, respectively. **Results:** Case 1 was a 37 year-old woman with a history of lifelong cutaneous rash and pruritus who was referred to our outpatient service for evaluation of massive splenomegaly and pancytopenia. She denied comorbidities and familial history of hematological

malignancies. The patient had no siblings and had only one daughter (case 2). At biopsy, she showed extensive skin and bone marrow infiltration by mast cells. During follow up, the patient presented with spontaneous spleen rupture and splenectomy was carried out, with subsequent resolution of the pancytopenia. The diagnosis was Aggressive Systemic Mastocytosis. Her daughter, case 2, was a 16 year-old woman that was evaluated due to her previous history of life-long cutaneous rash. Skin and bone marrow biopsies showed massive infiltration by atypical mast cells and the diagnosis was Indolent Systemic Mastocytosis. The rare KIT K509I mutation was found in all DNA samples obtained from both patients, but not from the parents of case 1. This suggests that the KIT K509I mutation was acquired *de novo* by patient 1, and was subsequently transmitted to her daughter (patient 2). *In vitro* studies revealed that primary bone marrow cells harboring the KIT K509I mutation were induced to a significantly reduced proliferation and increased apoptosis upon Imatinib, PKC 412 and Dasatinib treatments. However, Imatinib resulted in a greater rate of apoptosis induction. **Conclusion:** We herein provide the second report of KIT K509I mutation in familial mastocytosis. This mutation has been previously described in the literature in one single case of familial mastocytosis. Although rare, the screening for KIT K509I mutation should be considered in all cases of familial mastocytosis. Based on *in vitro* studies, mastocytosis patients harboring the KIT K509I mutation could be effectively treated with Imatinib, PKC 412 and Dasatinib. However, Imatinib may be more efficient in inducing neoplastic mast cells apoptosis.

371

Hanseníase num paciente com mielofibrose em tratamento com Ruxolitinibe: relato de caso

Daumas AH¹, Gouveia ME¹, Damasceno JA¹, Pietro EO¹, Matos JT¹, Auler MM¹, Alves TP¹, Praxedes MK¹

¹Universidade Federal Fluminense

O Ruxolitinibe é um inibidor de Janus quinases (JAKs) 1 e 2, e está aprovado nos Estados Unidos e Europa para o tratamento de mielofibrose (MF). Nós relatamos um caso de hanseníase em um paciente com MF em terapia com Ruxolitinibe. SJS, 53 anos, masculino, risco intermediário 1, diabético em uso de insulina, com diagnóstico de MF primária há 3 anos, *JAK2*^{V617F} negativo, foi tratado inicialmente com hidroxiuréia e eritropoietina, sem resposta satisfatória. Mantinha-se dependente de transfusão de hemácias e evoluía com progressão do baço, o qual chegou a 16 cm do rebordo costal esquerdo. Foi submetido à radioterapia esplênica obtendo redução temporária do órgão. Incluído no programa de uso compassivo para Ruxolitinibe, iniciou o tratamento em dezembro de 2012 com 20 mg de 12/12 horas. Evoluiu com melhora da anemia, redução do baço, ganho de peso, melhora dos sintomas constitucionais, porém na 4ª semana apresentou neutropenia, que foi manejada com redução da metade da dose. Na 12ª semana de Ruxolitinibe apresentou uma ferida no pé diabético que evoluiu com infecção grave, ocasião em que foi suspensa a terapia por 4 semanas. Após a resolução completa da infecção, retornou à dose de 10 mg 12/12 horas. Na 25ª semana, foram observadas lesões hipocrômicas na face: uma na região malar direita, caracterizada como uma placa hipocrômica, bem definida, infiltrada sobretudo nas bordas, com 6 cm de diâmetro e sem alteração de sensibilidade dolorosa e térmica; e uma outra no terço médio da fronte, hipocrômica, única e em placa. Também tinha rarefação do terço distal das sobrancelhas e espessamento bilateral do nervo ulnar e fibular. A biópsia de pele revelou alterações compatíveis com *hansen í ase borderline tubercul ó ide*. Foi iniciado o esquema com Dapsona e Rifampicina. O Ruxolitinibe é um potente e seletivo inibidor da via JAK1 e JAK2, e foi demonstrado sua eficácia e segurança nos pacientes com MF de risco intermediário e alto, sendo capaz de reduzir o tamanho do baço e os sintomas constitucionais, independentemente da presença da mutação *JAK2*^{V617F}. O fato do Ruxolitinibe ser

eficaz em pacientes não portadores de mutação *JAK2*^{V617F} ressalta a consequência fisiopatológica da hiperatividade da via JAK de transdução de sinal e ativador de transcrição (STAT), que são característicos na MF. Além disso, esses pacientes expressam uma alta quantidade de citocinas pró-inflamatórias que podem ser reprimidas com o uso do Ruxolitinibe, o que provavelmente explica a melhora dos sintomas. A via JAK/STAT tem ainda um importante papel na defesa do hospedeiro e na autoimunidade. As mutações de *JAK* são associadas com imunodeficiência primária e a deficiência de *STAT-1* bloqueia a sinalização de interferon, que pode levar a infecções virais e bacterianas letais. A inibição seletiva de *JAK1* e *JAK2*, efeito do uso do Ruxolitinibe, pode levar à desregulação da via JAK/STAT cuja consequência são alterações na imunidade celular. O relato do nosso caso, embora seja isolado, pretende chamar a atenção para novos riscos de infecção associados às recentes terapias alvo moleculares, que não são comuns na prática clínica. Nosso paciente permanece em uso de Ruxolitinibe durante o tratamento para hanseníase, a excelente resposta justifica a concomitância. Evolui com melhora das lesões e mantém quadro hematológico inalterado, baço em redução e ausência de sintomas constitucionais.

372

IRS2 associates with JAK2 and may be involved in cell proliferation pathways in chronic myeloproliferative neoplasms

Campos PM¹, Machado-Neto JA¹, Duarte AS¹, Mendonça R¹, Lorand-Metze I¹, Costa FF¹, Saad ST¹, Traina F^{1,2}

¹Hematology and Hemotherapy Center - University of Campinas/ Hemocentro- Unicamp, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Campinas, São Paulo, Brazil

²Department of Internal Medicine, University of São Paulo at Ribeirão Preto Medical School, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil

Background: Polycythemia Vera (PV), Essential Thrombocythemia (ET) and Primary Myelofibrosis (PMF) are BCR-ABL1 negative Chronic Myeloproliferative Neoplasms (MPN) characterized by increased myeloid proliferation, with predominant erythroid, megakaryocytic and megakaryocytic/granulocytic expansion, respectively. The finding of a recurrent mutation in the gene of the tyrosine-kinase Janus kinase 2 (*JAK2*^{V617F}) in these diseases has raised the hypothesis that this could be the main cause of their development. However, the evidence that MPN patients have a very similar response to *JAK2* inhibitors regardless of *JAK2* mutation status, and the knowledge that many receptors and substrates may lead to the activation of JAK/STAT, Ras/Raf/MAP kinases and PI3K/Akt/mTOR pathways through mechanisms other than via *JAK2*, suggest that other mechanisms may be involved in the physiopathology of these diseases. Insulin receptor substrate 2 (IRS2) mediate mitogenic and antiapoptotic signaling from IR, IGF-IR, EPO-R and TPO-R. Previous studies performed on non-hematological cell lines have shown the association of IRS2 with JAK/STAT, PI3K/Akt/mTOR and Ras/Raf/MAP kinases pathways, giving rise to the hypothesis that IRS2 could participate in the activation of crucial signaling pathways in MPN through direct interaction with *JAK2* or through alternative mechanisms. **Aim:** To identify the protein interaction *JAK2*/IRS2 in leukemia cell lines harboring or not the *JAK2*^{V617F} mutation; to study the effects of pharmacological *JAK1/2* inhibition (Ruxolitinib) over IRS2 phosphorylation; to characterize *IRS2* expression in CD34⁺ cells from patients with MPN, and its correlation with clinical data and *JAK2* mutation status. **Methods:** Leukemia cell lines carrying *JAK2*^{V617F} mutation (HEL) or not (HL60) were used for immunoprecipitation and immunoblotting with IRS2 and *JAK2* antibodies. Cells treated or not with *JAK1/2* inhibitor Ruxolitinib were also submitted to immunoprecipitation and immunoblotting with IRS2 and anti-phosphotyrosine antibodies. Peripheral blood mononuclear cells from 28 healthy donors and 97 patients with MPN (PV=28, ET=38, PMF=31) were included, and CD34⁺ cells were submitted to

quantitative PCR (q-PCR). Relative expression of IRS2 was correlated with clinical data and with JAK2 V617F mutation status. **Results:** Immunoprecipitation analysis showed that IRS2 associates with JAK2 in leukemia cell lines harboring (HEL) or not (HL60) the JAK2 V617F mutation. Furthermore, treatment of HEL cell line with JAK1/2 selective inhibitor Ruxolitinib resulted in decreased IRS2 tyrosine phosphorylation. IRS2 mRNA expression in CD34⁺ cells were significantly higher in patients with ET when compared to healthy donors (1.70 [0.42-10.60] versus 0.87 [0.01-11.22], $p=0.03$). There was no difference in IRS2 mRNA expression in PV or PMF patients when compared to healthy donors. In the group of patients with a diagnosis of ET and PMF, significantly higher levels of IRS2 mRNA expression was observed in patients harboring JAK2 V617F mutation when compared to the wild type (all $p \leq 0.02$). **Conclusion:** Our data suggest that IRS2 may be involved in cell proliferation pathways in MPN, especially in ET, through its association with JAK2. Additional studies to consolidate IRS2 as a potential target in MPN may be of interest.

373

Relato de Caso: leucemia mielóide crônica com Cromossomo Filadélfia variante em paciente gestante

Lomonaco LA¹, Andrade NR¹, Pinheiro TC¹

¹Hospital do Câncer do Acre

A leucemia mielóide crônica (LMC) caracteriza-se pelo acúmulo lento e gradativo de clones neoplásicos leucocitários da linhagem granulocítica na medula óssea e no sangue periférico. Corresponde a 15 % do total de leucemias em geral. O cromossomo Filadélfia está presente na grande maioria dos casos de LMC, caracterizada pelo oncogene BCR/ABL, uma tirosinaquinase citoplasmática, que induz o crescimento celular desordenado. Cerca de 5% dos casos apresentam formas variantes de BCR/ABL sem relação com o prognóstico da doença. A história natural da LMC é a evolução para crise blástica aguda, que é caracterizada por febre, perda ponderal, agravamento da esplenomegalia e dor óssea. Até 40% dos pacientes são assintomáticos inicialmente. Apresentamos um relato de caso de LMC na gravidez, detectada por meio de hemograma de rotina e cariótipo revelando presença de Cromossomo Filadélfia variante. **Relato de Caso:** Paciente de 19 anos, feminina, natural de Rio Branco/Acre, grávida de 13 semanas. Queixava-se de tonteira e cansaço progressivo. Negava epistaxe, equimoses e dores ósseas, e esplenomegalia a 6 cm do rebordo costal esquerdo. O hemograma mostrava: 188.000 leucócitos (0-4-5-15-20-50-5-1), Ht:24.4%, Hb.:8,1 g/dl, plaquetas: 381.000 (23/03/2009). Após consulta com médico generalista foi encaminhada para o Hospital do Câncer do Acre. Feita a hipótese de síndrome mieloproliferativa crônica, e mielograma mostrava hiperplasia megacariocítica e granulocítica, e setor eritróide hipocelular com formas megaloblásticas. A Biópsia de medula óssea mostrava aumento de trama reticulínica com hiperplasia megacariocítica e granulocítica. O cariótipo inicial revelou: t(10;9;22) em 92% metáfases analisadas resultando em cromossomo Filadélfia Variante. Na 14ª semana de gestação, foi indicada a administração diária de 1,0 grama de hidroxiuréia e 300 mg de alopurinol e o parto foi realizado por cesariana com 36 semanas de gestação, sem intercorrências. O recém-nato foi considerado normal. Iniciado Imatinibe com 400mg/dia, em 27/10/2010, com remissão hematológica e citogenética em 6 meses. Atualmente paciente em controle de doença (fase crônica) e o último PCR para BCR/ABL mostrou 0,04 (28/05/2013). **Discussão:** A LMC é uma desordem clonal maligna de células-tronco hematopoéticas que resulta em aumento da série mielóide, e plaquetas no sangue periférico e hiperplasia mielóide na medula óssea. Os sintomas típicos são fadiga, perda de peso, porém, 40% dos pacientes são assintomáticos e, nesses pacientes, o diagnóstico é suspeitado com alteração do hemograma. A gravidez em pacientes com doença neoplásica que requer tratamento citotóxico transforma-se em um verdadeiro dilema. Os efeitos das drogas podem ser teratogênicos e

abortivos; ou tardios, como desordens endocrinológicas, desenvolvimento do sistema nervoso central, imunossupressão e desordens teratogênicas e genéticas que podem afetar futuras gerações. Esses riscos são mais comuns no primeiro trimestre. A intervenção terapêutica em pacientes grávidas deve ter como principal preocupação a organogênese fetal. A hidroxiuréia tem potencial teratogênico menor que os outros agentes e por essa razão, optamos pela introdução de hidroxiuréia no 2º trimestre. A gestação transcorreu sem intercorrências para a mãe e o recém-nato nasceu em condições clínicas normais.

374

JAK2 46/1 haplotype is associated with JAK2 V617F-positive myeloproliferative neoplasms in Brazilian patients

Macedo LC¹, Santos BC¹, Silva SP¹, Pagnano KB², Almeida D², Rodrigues C¹, Alencar JB¹, Sell AM¹, Visentainer JE¹

¹Universidade Estadual de Maringá

²Universidade Estadual de Campinas

Chronic myeloproliferative neoplasms (cMPNs) are disorders that are characterized by the clonal proliferation of a single hematopoietic stem cell and result in increased peripheral blood counts of mature cells; The most common BCR-ABL negative MPNs are: polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET) and primary myelofibrosis (PMF). In recently published data, inherited genetic factors were suggested to be important characters 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, represented by the G allele, and the development of BCR-ABL-negative chronic myeloproliferative neoplasms in our population. Blood were collected from 131 patients of three Brazilian hospitals who had previously been diagnosed with BCR-ABL-negative cMPN according to the 2008 WHO diagnostic criteria. Blood samples from 126 blood donors were used as controls. The DNA sample was extracted using a commercial kit QIAamp (Qiagen®) and genotyped for the JAK2 V617F mutation using a PCR-RFLP. The statistical analysis was performed using the Fisher's exact test. The test were considered as statistically significant when p -value below 0.05. To determine the role of the JAK2 46/1 haplotype in MPN and a non-MPN control population, we compared the allele frequencies of a tagging rs10974944 SNP of the 46/1 haplotype in the cohorts of patients and controls. We examined 131 Brazilian patients with cMPN, 53 men (40.5 %) and 78 women (59.5 %), including 36 with PV, 35 with ET, 28 with PMF, and 32 with unclassifiable MPN (MPNu). Regarding JAK2 46/1 haplotype, we found that 35 (27%) were G/G, 53 (40%) were G/C, and 43 (33%) were C/C. In contrast, of 126 control subjects, 14 (11 %) were G/G, 43 (34%) were G/C, and 69 (55 %) were C/C. Overall, the G variant of rs10974944, was more frequent in all MPNs, especially those that were JAK2 V617F-positive, than in the control population. We observed significant association between the G allele frequency in all MPN patients and JAK2 V617F-positive MPN patients compared with control groups ($p<0.0001$; OR, 2.25; 95% CI = 1.56- 3.25 and $p<0.0001$; OR, 2.59; 95 % CI= 1.77-3.80; respectively) and in JAK2V617-positive MPN patients with JAK2V617 negative MPN patients ($p = 0.03$; OR, 2.0; 95 % CI= 1.1-3.8); however, the comparison of JAK2-V617F-negative MPN patients with the control population did not show a strong correlation ($p=0.75$; OR, 1.11; 95 % CI=0.56-2.21). We also compared the 46/1 haplotype status in each MPN disease entity, PV, ET, PMF, and MPNu with controls. G allele frequency relative to controls was significantly enriched in patients with PV ($p<0.001$; OR, 4.24; 95 % CI=2.45-7.36) and ET ($p=0.02$; OR, 1.91; 95 % CI=1.10-3.50), but not those with PMF ($p=0.10$; OR, 1.64; 95 % CI=0.90-3.01) and MPNu ($p=0.055$; OR, 1.74; 95 % CI=0.98-3.08). PV and ET patients especially, all of whom had the JAK2 V617F mutation, showed significant excesses of the G/G and G/C genotypes and G allele frequency compared with controls. In conclusion, we demonstrated that the JAK2 46/1 haplotype is associated with JAK2

V617F-positive MPNs in Brazilian patients, especially PV and ET patients, being an important predisposing factor in the oncogenesis development of these neoplasms in our population.

375

Priapismo como apresentação inicial da leucemia mielóide crônica (LMC)

Leitão NT¹, Portugal RD¹, Loureiro MM¹, Maiolino A¹

¹Faculdade de Medicina Universidade Federal do Rio de Janeiro

Cerca de 15 a 20% dos casos de leucemia em adultos são devidos à leucemia mielóide crônica (LMC). No diagnóstico da LMC a maioria dos pacientes não apresenta sintomas e o diagnóstico é feito em exames de rotina. Atualmente, sintomas relacionados à leucoestase são incomuns ao diagnóstico. Relatamos um caso em que o priapismo surge como manifestação inicial da LMC. **Relato de Caso:** Paciente de 35 anos, procurou o nosso serviço em abril de 2011 com história de dor abdominal com duas semanas de evolução, além de dor uretral contínua há 48h, astenia, febre diária superior a 40°C e emagrecimento de 14kg no período. Ao exame apresentava-se hipocorado 2+/4+, com fígado palpável a 9cm do rebordo costal direito e baço palpável a 20cm do rebordo costal esquerdo, edema de membros inferiores 2+/4+ e priapismo. Os exames laboratoriais à admissão revelavam: Hb 7,3g/dL, Leucócitos 621.000/mm³ (às custas de granulócitos), Plaquetas 581.000/mm³. Foi feita o diagnóstico de LMC, iniciada a profilaxia de lise tumoral e hidroxiuréia 4,5g/d. O paciente foi submetido a duas sessões de leucoaférese e drenagem de corpos cavernosos seguida de confecção de fístula caverno-esponjosa para solução definitiva do quadro urológico. Recebeu alta hospitalar em maio de 2011 em uso de imatinibe. **Comentários:** Os distúrbios hematológicos podem ser responsáveis por até 20% das causas de priapismo, sendo observada maior prevalência em pacientes homozigotos de anemia falciforme. Apenas 1-2% dos pacientes do sexo masculino com LMC desenvolvem esta complicação. O caso ilustra a sequência de tratamento que deve englobar a tentativa de redução da leucocitose em conjunto com as medidas urológicas.

376

Leucemia mielóide crônica em crise blástica com apresentação de lesão intraparenquimatosa em sistema nervoso central

Oliveira LC¹, Assunção PM¹, Fernandes EM¹, Paul P¹, Dias MA¹, Percout PO¹, Duarte BK¹, Pericole FV¹, Metze IL¹, Pagnano KB¹

¹Universidade Estadual de Campinas

Introdução: A evolução para crise blástica (CB) na leucemia mielóide crônica (LMC) é caracterizada pela presença de ≥ 20% dos blastos na medula óssea e/ou sangue periférico ou proliferação extramedular. O acometimento extramedular na forma sarcoma granulocítico (SGr) é raro e ocorre em 2% a 4% dos pacientes com LMC. **Objetivo:** Relatar caso de paciente com LMC em CB com massa extramedular ao diagnóstico e na recidiva apresentação atípica de tumor intraparenquimatoso de sistema nervoso central (SNC) e resposta terapêutica ao esquema quimioterápico com metotrexate e citarabina. **Relato de Caso:** Paciente de 21 anos com diagnóstico de LMC em 2009 com quadro de tumoração em região frontal esquerda. Tratado com imatinibe com boa resposta, desaparecimento da lesão e resposta hematológica completa. Após um ano, apresentou recidiva com massa em região frontal E cuja biópsia mostrou infiltração por sarcoma granulocítico. Apresentava cariótipo com alterações citogenéticas adicionais ao Ph (ACA): 49,XY,t(9;22),+9,+del(22),+Y[07]/46,XY,t(9;22)[12]/46,XY[01], Ph+ em 95% das metáfases. Iniciado dasatinibe 140 mg/dia em fev/2011 e realizado radioterapia em campo envolvido

em maio com remissão da massa tumoral. Na avaliação de 3 meses apresentava Ph+em 75% das metáfases e ACA em 20%. Na avaliação de 1 ano houve desaparecimento das ACA e resposta citogenética parcial (RCP) (Ph+4%); na avaliação de 18 meses teve resposta citogenética completa (RCC), sem resposta molecular maior. Janeiro de 2013, teve nova progressão para CB, com imunofenotipagem compatível com leucemia bifenotípica e evolução clonal (92,XXYY,t(9;22)[17]/46,XY[03];Ph+ em 85% metáfases), e iniciado tratamento com Hyper-CVAD. Após segundo ciclo, o paciente apresentou RHC e RCP (Ph+ 15%). Em junho de 2013, evoluiu com cefaléia retrorotária bilateral, vômitos incoercíveis e sonolência. CT de crânio mostrou lesão intra-axial em região subcortical da região perirrolândica direita e recaída hematológica em CB. Submetido à quimioterapia com Metotrexate (3,5g/m²) e Citarabina (4g/m²) com dasatinibe, tendo regressão da lesão intracraniana e remissão das manifestações de hipertensão intracraniana. Em programação de terapia complementar com radioterapia de SNC. Inscrito no REREME desde diagnóstico. **Discussão:** A apresentação extramedular na forma de SGr é rara. Sítios mais comuns de acometimento são osso (57%) e linfonodos (29%). Estima-se incidência em SNC de 5% a 14%. Há raros relatos na literatura de acometimento de SNC por tumor sólido como descrito no presente caso, embora também sejam raros relatos de infiltração meníngea e lesões que simulam hematoma subdural. Propostas terapêuticas enfatizam a combinação de quimioterapia, neurocirurgia e radioterapia. Não há estudos clínicos randomizados que comparem as condutas terapêuticas. A CB permanece um grande desafio no tratamento da LMC. O tratamento com inibidores de tirosina quinase (ITK) aumentou discretamente a sobrevida desses pacientes, mas as respostas de curta duração. Pacientes com CB ao diagnóstico ou após progressão devem receber ITK associado ou não a quimioterapia e assim que possível ser submetidos a transplante alogênico, o único tratamento curativo. **Conclusão:** O presente relato é incomum pelo acometimento extramedular ao diagnóstico e pela evolução com o acometimento de SNC por sarcoma granulocítico intraparenquimatoso.

377

Avaliação das características demográficas e clínicas-hematológicas, classificação de risco e evolução de pacientes com diagnóstico de trombocitemia essencial

Pereira LM¹, Perez NM¹, Santos BP¹, Ribeiro BC¹, Ferrari G¹, Zanutto G¹, Dib P¹, Pasuld F¹, Vecina AF¹, Cliquet MG¹

¹Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde da PUC-SP

A Trombocitemia Essencial (TE) pode evoluir clinicamente em duas fases, a primeira é a fase trombocitêmica, definida pelo elevado número de plaquetas, devido à hiperplasia megacariocítica, podendo haver também mínimo envolvimento de outras linhagens mielóides (eritrocítica e granulocítica). A trombocitose determina manifestações sintomatológicas como, eventos hemorrágicos e trombóticos, sintomas vasomotores (cefaleia, síncope, distúrbios visuais, dor torácica atípica, queimação das mãos ou pés associada a rubor e calor) e a esplenomegalia. Pode também ocorrer transformação da TE nas demais Neoplasias Mieloproliferativas (NMPs) ou em leucemia mielóide aguda. A segunda fase é a fibrótica, que se desenvolve e cursa com as mesmas manifestações clínicas observadas na Mielofibrose Primária. Analisamos os prontuários de 14 pacientes diagnosticados com TE que são acompanhados no Ambulatório de Hematologia da FCMS da PUC-SP, sendo 5 do sexo masculino (35,7%) e 9 do sexo feminino (64,3%), a faixa etária dos pacientes variou entre 30 e 87 (média de 65,35 anos). Em relação às características clínicas, o tempo de seguimento desde o diagnóstico variou entre 18 e 111 meses (média de 53 meses). Verificou-se a existência de eventos hemorrágicos em 3 pacientes (21,4%), de eventos trombóticos/isquêmicos em 5 pacientes (35,7%), esplenomegalia em 5 pacientes (35,7%) e a presença da mutação JAK2 V617F em 11 pacientes (78,5%). A

análise de medula óssea, através de biópsia ou mielograma, foi realizada em apenas 5 pacientes, desses 3 apresentaram as seguintes alterações: na biópsia de um dos pacientes verificou-se hiperplasia megacariocítica com presença de formas atípicas, no mielograma de um deles obteve-se hiperplasia granulocítica e megacariocítica e o outro apresentou hiperplasia com alterações maturacionais. Quanto aos dados hematológicos, temos Hb entre 9,7 e 15,6 (média 13,06), Ht entre 31,20 e 49,20 (média 40,60), Leucócitos entre 2.398 e 38.470 (média 12.069) e Plaquetas entre 447.000 e 1.500.000 (média 933.286). Foi realizada a classificação dos pacientes de acordo com o risco clínico, considerando a idade de diagnóstico maior que 60 anos e a presença de eventos isquêmicos. Deste modo, 4 pacientes (28,5%) foram classificados como de risco baixo, 7 pacientes (50%) como risco moderado e 3 pacientes (21,5%) como risco alto. De acordo com a evolução, realizamos a classificação dos pacientes de acordo com a resposta clínico-hematológica ao tratamento, segundo os critérios da ELN. Assim, temos 3 pacientes com resposta completa ao tratamento (21,6%), 9 com resposta parcial ao tratamento (64,2%), 1 paciente sem resposta ao tratamento (7,2%) e 1 paciente com dados incompletos para a realização da classificação (7,2%). Em relação aos dados hematológicos na evolução, observamos Hb entre 9,6 e 14,8 (média 11,92), Ht de 26,9 a 45,3 (média 34,04), Leucócitos entre 2.300 e 8.120 (média 7.072) e Plaquetas de 35.500 a 560.000 (média 326.536). Os resultados observados mostraram-se semelhantes a outros estudos, com exceção de uma frequência maior da mutação da JAK2 do que a esperada. Tal achado pode estar relacionado à pequena amostra estudada.

378

Avaliação das características demográficas e clínico-hematológicas, classificação de risco e evolução de pacientes com diagnóstico de policitemia vera

Perez NM¹, Pereira LM¹, Santos BP¹, Ribeiro BC¹, Assis JR¹, Vecina AF¹, Ferrari G¹, Dib P¹, Zanutto G¹, Cliquet MG¹

¹Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde da PUC-SP

A evolução clínica dos pacientes com Policitemia Vera (PV) possui caráter progressivo, podendo manifestar-se como hiperplasia da linhagem mielóide, hematopoese extramedular, que determina esplenomegalia, transformação leucêmica ou fibrose medular além de distúrbios da hemostasia, ocasionando alto risco de eventos trombóticos ou hemorrágicos. Analisamos os prontuários de 15 pacientes diagnosticados com PV que estão em seguimento no Ambulatório de Hematologia da FCMS da PUC-SP. Quanto ao gênero, 13 (86,7%) eram do sexo masculino e 2 (13,3%) do sexo feminino. A faixa etária variou de 53 a 89 anos (média de 68,53 anos). Quanto às características clínicas, o tempo de seguimento oscilou entre 16 a 213 meses (média de 72 meses). A presença de eventos trombóticos foi observada em 4 pacientes (26,7%) e de eventos hemorrágicos em 5 (33,3%), achado clínico de esplenomegalia em 5 pacientes (33,3%) e de presença da mutação JAK2 V617F em 12 (80%). Dos pacientes analisados, apenas 4 obtiveram análise da medula óssea (2 biópsias e 2 mielogramas), sendo que 1 deles apresentou achado alterado (hiperplasia, aumento da série mieloide e fibrose grau 3). Em relação aos dados hematológicos, observamos Hb entre 9,52* e 19,7 (média 16,48), Ht de 20,20* a 59,0 (média 49,55), Leucócitos entre 2.047 e 79.400 (média 21.462) e Plaquetas de 36.000 a 1.194.000 (média 466.427). *hemorragia digestiva alta. Classificamos os pacientes de acordo com o risco clínico, considerando a idade de diagnóstico maior que 60 anos e a presença de eventos trombóticos/isquêmicos. Observamos 5 (33,3%) pacientes com baixo risco (ausência dos fatores acima), 8 (53,3%) com risco moderado (apenas um dos fatores) e 2 (13,3%) pacientes com risco alto. Avaliamos também a presença de fatores de risco independentes (HAS, DM, tabagismo, obesidade, dislipidemia), que foram observados em 11 dos 15 pacientes (73,3%). Na evolução, classificamos os pacientes de acordo com

a resposta clínico-hematológica ao tratamento, segundo os critérios da ELN. Obtivemos 15 (100%) pacientes com resposta parcial ao tratamento e nenhum caso de resposta completa ou sem resposta ao tratamento. Em relação aos dados hematológicos na evolução, observamos Hb entre 11,3 e 19,1 (média 14,48), Ht de 30,9 a 58,4 (média 41,81), Leucócitos entre 1.870 e 79.200 (média 11.477) e Plaquetas de 62.600 a 365.000 (média 278.507). Os resultados observados mostram que um terço do grupo apresenta risco intermediário ou alto, o que somado a alta frequência de outros fatores de risco independentes da PV, o que possivelmente explica os quase 60% de complicações trombóticas e hemorrágicas.

379

Avaliação das características demográficas e clínico-hematológicas, classificação de risco e evolução de pacientes com diagnóstico de mielofibrose primária

Pereira LM¹, Perez NM¹, Ribeiro BC¹, Santos BP¹, D'avila VL¹, Pasuld F¹, Assis JR¹, Vecina AF¹, Arrigatto M¹, Cliquet MG¹

¹Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde da PUC-SP

O curso clínico da mielofibrose primária (MFP) é dividido em duas etapas, inicialmente caracterizada pela hiperplasia mielóide (fase pré-fibrótica), progredindo para substituição do tecido hematopoiético por fibrose colagênica ou reticulínica (fase fibrótica). Entre as complicações mais comuns estão a leucemização, eventos trombóticos e hemorrágicos, falências cardíaca, hepática e respiratória, hipertensão portal e suas consequências e desenvolvimento de outra neoplasia. Outras alterações frequentes são os sintomas de doença consumptiva como, febre, sudorese noturna e intenso emagrecimento. Analisamos os prontuários de 4 pacientes diagnosticados com MFP que seguem no Ambulatório de Hematologia da FCMS da PUC-SP, cujo perfil demográfico foi 100% do sexo masculino, com faixa etária variante entre 61 e 78 anos (média de 67,5 anos). Em relação às características clínicas, o tempo de diagnóstico foi de 2 a 53 meses (média de 29 meses), o achado de evento trombótico foi observado em 1 (25%) paciente e de evento hemorrágico em nenhum deles. A presença de esplenomegalia clínica foi verificada em 2 pacientes (50%) e a ocorrência de mutação JAK2 V617F em 1 (25%), sendo que esse dado ainda não estava disponível para 1 (25%) paciente. Todos os pacientes realizaram biópsia de medula óssea (MO), sendo encontrados os seguintes achados: MO hipocelular para a idade e fibrose grau 3; MO hiperplasia para a idade; MO hiperplasia com hiperplasia granulocítica e megacariocítica e fibrose; mielofibrose acentuada, hipoplasia granulocítica e eritróide, proliferação multifocal de megacariócitos com forma displásica e imatura. Quanto às características hematológicas, observamos valores de Hb entre 6,8 e 12,8 (média 9,48), Ht de 20,9 a 37,0 (média 29,0), Leucócitos entre 3.500 e 33.060 (média 12.763) e Plaquetas de 52.000 a 562.000 (média 283.250). Classificamos o risco desses pacientes segundo as diretrizes preconizadas pela IPSS, de acordo com os fatores de prognóstico adverso da doença. Obtivemos os seguintes resultados: risco intermediário 2 (I2) inicialmente e baixo risco atualmente em 1 paciente (25%); risco I2 no início e na evolução em 2 (50%) pacientes; alto risco inicialmente e atualmente em 1 (25%) paciente. Dos analisados, somente 1 (25%) paciente apresenta fatores de risco independente (HA, DM e dislipidemia). Na evolução, 1 (25%) paciente apresentou episódios de febre e 3 (75%) pacientes apresentaram emagrecimento progressivo, sendo 2 (66,6%) deles considerados intensos e 1 (33,4%) leve. Não foi observado em nenhum deles sudorese noturna na evolução. Quanto aos dados hematológicos, observamos valores de Hb entre 6,6 e 11,3 (média 8,4), Ht de 17,4 a 30,4 (média 24,0), Leucócitos entre 137 e 10.500 (média 5.784) e Plaquetas de 41.900 a 249.000 (média 178.225). Houve 1 (25%) caso de agudização seguida de óbito. A Mielofibrose primária, doença mieloproliferativa rara, se mostrou nesta pequena casuística, uma doença que cursa com frequentes complicações como o emagrecimento, nível de hemoglobina baixo e transformação para leucemia mielóide aguda.

380

Avaliação de fadiga em pacientes com neoplasias mieloproliferativas Ph1 negativas

Perez NM¹, Pereira LM¹, Ribeiro BC¹, Santos BP¹, Vecina AF¹, Zanutto G¹, Santos EA¹, Pasul D¹, Assis JR¹, Cliquet MG¹

¹Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde da PUC-SP

A fadiga é uma queixa comum em pacientes com Neoplasias Mieloproliferativas (NMPs), sendo um fator que limita as atividades diárias e a capacidade produtiva do indivíduo comprometendo assim a sua qualidade geral de vida. A definição de fadiga é complexa, pois abrange duas vertentes de definições: uma objetiva e fisiológica; outra de caráter meramente subjetivo e mental. A primeira relaciona-se à fadigabilidade da força muscular, resultante de exercícios que levam à exaustão por esforço físico intenso ou por repetição, levando ao declínio da eficiência da atividade. A outra, de difícil compreensão e definição, não se relaciona a um tecido ou órgão específico, mas sim ao organismo de maneira integral. Assim, nem sempre há correlação entre o aspecto objetivo e subjetivo da fadiga, sendo o quadro sintomatológico muitas vezes desprovido de substrato anatomofisiológico e lesional que o justifique. Porém, é essencial que a fadiga seja um sintoma valorizado para prover uma intervenção efetiva, por meio de tratamentos paliativos e curativos que forneçam uma melhora na qualidade de vida aos pacientes. Em nosso trabalho avaliamos as queixas subjetivas apresentadas pelos pacientes com NMPs, frequentemente presentes e denominadas como forma de cansaço, não apenas físico, mas como sensação abrangente e sistêmica de falta de energia e exaustão. A avaliação foi realizada através de um Breve Questionário de Fadiga, em que os sintomas eram avaliados de 0 (sem fadiga) a 10 (pior imaginável), sendo eles, nível de fadiga no momento do questionário, nível habitual de fadiga nas últimas 24 horas e pior nível de fadiga nas últimas 24 horas, também houve a avaliação da interferência de tal sintoma na qualidade de vida do paciente: atividades gerais, humor, caminhar, trabalho, relação com as pessoas e aproveitamento da vida. O questionário foi aplicado em 33 pacientes com NMPs que acompanham no Ambulatório de Hematologia da FCMS da PUC-SP. Dos pacientes com Policitemia Vera (PV), 4 (26,6%) afirmaram apresentar fadiga em um dos momentos citados anteriormente e o sintoma afeta de forma leve a qualidade de vida. Dos pacientes com Trombocitemia Essencial (TE), 4 (28,57%) relataram apresentar fadiga em um dos momentos citados anteriormente e o sintoma afeta de forma leve a qualidade de vida. E dos pacientes com Mielofibrose Primária (MFP) apenas 1 (25%) afirmou a presença do sintoma, sendo que o mesmo afeta de forma leve a qualidade de vida. Como estudo comparativo, aplicamos esse mesmo Breve Questionário de Fadiga em doadores de sangue do Hemonúcleo de Sorocaba onde abordamos 49 pessoas, dessas apenas 4 (8,16%) relataram a presença de fadiga e nesses casos o sintoma interferia moderadamente na qualidade de vida. A queixa de fadiga foi menos frequente do que imaginávamos inicialmente. Esperávamos reproduzir os achados do estudo de Scherber, R e Mesa, R utilizando o questionário MPN-SAF (Blood 2011 118: 401-408) que observaram queixas de fadiga em 90,3%, 91,7% e 98,9% para TE, PV e MF respectivamente. Consideramos que a frequência de queixas de fadiga foi maior no grupo das NMPs do que no grupo controle, mas possivelmente pela dificuldade de entendimento dos pacientes e também do grupo controle a frequência tenha sido menor do que a esperada.

381

Caracterização cariotípica e molecular de leucemia mieloide aguda secundária a policitemia vera. Relato de Caso

Silva VA¹, Pereira VC¹, Resende GA¹, Oliveira LR¹

¹Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Introdução: Policitemia vera (PV) consiste em doença mieloproliferativa

crônica caracterizada por risco de transformação leucêmica (TL), precedida ou não mielofibrose. TL cursa comumente com alterações cromossômicas associadas a prognóstico desfavorável. Este relato descreve caso de paciente com leucemia mieloide aguda secundária à PV com caracterização cariotípica e molecular. **Relato de Caso:** Homem, 61 anos, com eritrocitose (Hb 19,1g/dl) e plaquetose ($1065 \times 10^9/l$) desde 2005 e antecedentes de hemorragia digestiva alta, hemorragia peniana e ataque isquêmico transitório, foi encaminhado para avaliação em 2009. Mielograma, biópsia de medula óssea, pesquisa negativa do rearranjo gênico bcr/abl por técnica de FISH e pesquisa positiva da mutação V617F do gene JAK2 confirmaram o diagnóstico de PV e citorredução com hidroxiureia (HU) foi iniciada. Cariótipo inicial foi normal. Paciente manteve uso regular de HU até novembro de 2012 quando citopenias progressivas motivaram suspensão de droga mediante suspeita de mielotoxicidade com exclusão de infiltração leucêmica ou mielofibrose por aspirados seriados e biópsia de medula óssea (hipocelular). Após três meses, leucocitose com blastos em sangue periférico motivaram novo estudo de medula óssea com 71,8% de infiltração por mieloblastos (CD45+, CD34+, CD13+, CD33+ e CD117+). Carótipo foi complexo. Estudo molecular por PCR-RT revelou ausência de transcritos PMR-RAR α , AML-ETO1, MLL-AF9 e NPM1-A e mutação CBF β -MYH11B1. Quimioterapia de indução com esquema 3+7 foi instituída sem resposta. Por doença refratária, citorredução com HU e transfusão de hemocomponentes foram instituídas com sobrevida após confirmação de TL de 3,6 meses. **Discussão:** A incidência de TL em PV é difícil de ser precisada com os poucos dados disponíveis derivados de séries de casos. Estima-se que ocorra em 0,38-0,71% por pacientes-ano com tempo médio entre diagnóstico de PV e TL de 88 $\pm$ 56 meses e idade média variando de 64-68 anos. Alterações cromossômicas relacionadas a pior prognóstico ocorrem em aproximadamente 29-72% dos pacientes. Mutações do gene JAK2, de reconhecido papel na gênese do estado mieloproliferativo, intrigantemente não são detectadas em blastos leucêmicos indicando eventos gênicos múltiplos envolvidos na evolução leucêmica. Controvérsias ainda residem no papel da terapia citorrédutora com HU como contribuinte da transformação leucêmica. Em concordância com alterações cariotípicas, resposta ao tratamento é ruim com elevada mortalidade relacionada a tratamento, reduzidas taxas de remissão completa e sobrevida média de 2-4,6 meses. Inibidor seletivo JAK2, ruxolitinib, produziu taxas de resposta de 60% em estudos fase II em pacientes com TL de doenças mieloproliferativas a despeito do estado mutacional do gene JAK2V617F e constitui promessa terapêutica. Transplante alogênico de medula óssea correlaciona-se a melhores resultados com relação à sobrevida média com limitado papel neste grupo de pacientes por idade, comorbidades, citopenias, esplenomegalia maciça e caquexia. Transformação leucêmica de doenças mieloproliferativas consiste em condição rara com elevado risco de morte por resposta ruim a tratamento padrão. Melhor caracterização de fatores de risco e de vias genéticas e moleculares diretamente envolvidas permitirá elucidação da patogênese e melhora na assistência à condição.

382

Resultados do tratamento com dasatinibe ou nilotinibe após falha a dois inibidores de tirosina quinase

Ribeiro BF¹, Vergílio B¹, Miranda EC¹, Delamain MT¹, Duarte GO¹, Almeida MH¹, Duarte VO¹, Lorand-Metze I¹, Souza CA¹, Pagnano KB¹

¹Universidade Estadual de Campinas

Pacientes (pts) com leucemia mieloide crônica (LMC) que falham à terapia com imatinibe tem como opção usar inibidores de tirosina quinase (TKI) de segunda geração, dasatinibe ou nilotinibe e, na falha ou intolerância a um destes, em geral são encaminhados ao transplante ou terapia de terceira linha com um inibidor diferente do anterior. **Objetivo:** Avaliar as respostas: hematológica completa (RHC),

citogenética e molecular, sobrevida livre de progressão (SLP), evento (SLE) e global (SG) de pacientes com LMC que usaram previamente dois TKIs. Avaliar as mutações presentes nos casos resistentes. **Métodos:** Entre julho de 2008 e agosto de 2012 foram avaliados 26 pts com LMC: 10 pts tratados com dasatinibe (38,5%) (após imatinibe e nilotinibe) e 16 com nilotinibe (61,5%) (após imatinibe e dasatinibe). As taxas de SG, SLP e SLE foram calculadas usando o método de Kaplan-Meier e aplicado o teste Log-Rank nas comparações entre curvas, usando como data de início do TKI de 3ª linha. Os eventos para SLP foram progressão para fase acelerada (FA) ou crise blástica (CB) e óbito, enquanto para SLE, além destes, se considerou perda das respostas: RHC, RCC, RMM, e descontinuação do TKI. Os pacientes foram censurados no momento do TMO para avaliação das respostas citogenéticas e moleculares, mas não para sobrevida. A análise mutacional foi feita através de sequenciamento direto. **Resultados:** 13 pts (50%) do sexo masculino com a mediana de idade de 54 anos (22-75) e a mediana de seguimento de 32 meses (1-59). Somente um paciente havia obtido RCC prévia com o uso do imatinibe. Antes do início do TKI em 3ª linha, os pts apresentavam os seguintes status: 19 (73%) menos que RCP; 2 (7,7%) RCP; 4 (15,5%) RCC; e 1 (3,8%) evolução clonal. Oito casos apresentaram mutações: F317L (2), E255V (1), Y253H (1), M351T (1), M244V (1) e F359V (2). A mediana do tempo de tratamento com o TKI de 3ª linha foi de 171 dias (15-1140). Resposta ao TKI em 3ª linha: alcançaram RHC 17/19 (89%) pts em FC; 3/3 FA; 0/4 CB; RCC: 3/19 em FC (2 pts aos 3 meses e 1 no 12º mês); 1/3 FA; 0/4 CB; RMM: 4/19 em FC; 1/3 FA; 0/4 em CB. Perderam RHC 9 (45%) pts (8 em FC e 1 FA). Aos 3 meses 4/21 pts (19%) obtiveram RMM; aos 6 meses 9/12 (75%) tinham PCR<1% e 2/13 (15%) tinham MMR, aos 12 meses 1/11 (0,9%) RMM. Após início de tratamento 3 pts (11,5%) apresentaram transformação; 6 (23%) foram a óbito (4 por LMC, 1 infarto do miocárdio e 1 doença do enxerto *versus* hospedeiro (DECH) pós TMO); um teve perda de seguimento. O tratamento de 3ª linha foi descontinuado em 12 (46%) pts: 6 por resistência; 2 óbito; 2 intolerância e resistência; 1 intolerância e 1 abandono. A SG, SLP e SLE foram 69%, 68% e 30% respectivamente. A SG foi inferior nos pacientes com CB e FA em relação a FC (0% vs 50% vs 90% - $p < 0,0001$). Não houve diferença em relação as sobrevidas de acordo com a presença de mutação. **Conclusão:** Respostas podem ser obtidas com dasatinibe ou nilotinibe após falha a dois TKIs, mas em geral não são duráveis nas fases avançadas. Apesar dos resultados, é uma alternativa para a estabilização da doença até identificação de doador para transplante ou nos casos onde o transplante não puder ser realizado por comorbidades ou pela não disponibilidade de doador compatível.

383

Mielofibrose primária: relato de caso de uma história familiar

Pereira LM¹, Perez NM¹, Santos BP¹, Ribeiro BC¹, Vecina AF¹, D'avila VL¹, Arrigatto M¹, Santos EA¹, Pasuld F¹, Cliquet MG¹

¹Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde da PUC-SP

A Mielofibrose Primária (MFP) é uma doença clonal originada da transformação neoplásica de células-tronco hematopoéticas pluripotentes, que determinam a proliferação exacerbada de células da linhagem mielóide com capacidade eficaz de maturação, diferenciando-se em megacariócitos. Observam-se reações no estroma medular que culminam em fibrose, osteosclerose e angiogênese. A base etiológica da doença talvez seja o acúmulo de múltiplos eventos genéticos e epigenéticos, ainda não bem elucidados, determinando fenótipos distintos. A mutação JAK2 V617F é observada em 50% dos pacientes com MFP, associada a manifestação clínica mais agressiva e pior prognóstico. Trata-se de uma mutação somática e adquirida, presente na forma homozigota em 13% dos casos, condição relacionada a anomalias cromossômicas desfavoráveis. Casos de história familiar de MFP são eventos raros descritos na literatura. Relatamos o caso de dois irmãos

diagnosticados com MFP, sexo masculino, brancos, que acompanham no Ambulatório de Hematologia da FCMS da PUC-SP. GP, 78 anos, em seguimento há 53 meses. Refere evento trombótico/ isquêmico prévio (IAM), nega eventos hemorrágicos. Apresentava esplenomegalia de 5 cm na admissão. Mutação JAK2 V617F negativa. A biópsia da medula óssea (MO) revelou hipercelularidade e hiperplasia granulocítica e megacariocítica, além de fibrose. Hemograma da primeira consulta com Hb 9,8; Ht 31,1; Leucócitos 5970; Plaquetas 294000. Na evolução, último hemograma registrado com Hb 8,99; Ht 28,1; Leucócitos 6500; Plaquetas 198000. Não foram detectados blastos circulantes. Negou sintomas constitucionais (febre, sudorese noturna e perda de peso). Foi classificado, segundo a IPSS, como risco intermediário 2 tanto inicialmente quanto na evolução. O outro paciente, PP, 67 anos, em seguimento há 2 meses. Nega eventos trombóticos/ isquêmicos e hemorrágicos. Detectada discreta esplenomegalia apenas à ultrassonografia. Mutação JAK2 V617F não disponível. Biópsia da MO com achado de mielofibrose acentuada, hipoplasia granulocítica e eritrocítica, proliferação multifocal de megacariócitos com forma displásica e imatura, condizente com diagnóstico de MFP. Hemograma inicial com Hb 6,8; Ht 20,9; Leucócitos 3500; Plaquetas 225000. Na evolução, último hemograma realizado apresentava Hb 6,7; Ht 20,2; Leucócitos 6000; Plaquetas 249000. Blastos circulantes ausentes. Negou febre e suor noturno. Refere perda ponderal. Foi classificado como alto risco inicialmente e na evolução. Relatamos dois casos muito parecidos, ambos com fibrose da medula óssea grau 3, necessidades transfusionais, sendo um de risco intermediário 2 e outro de alto risco. A herança genética foi pensada pela coincidência dos quadros dos dois irmãos e pelas observações de literatura, onde encontramos citações de que 5 a 10% dos pacientes com Neoplasias Mieloproliferativas (NMPs) apresentam algum parente de primeiro grau com alguma das NMPs (MFP, PV ou TE) além de encontrarmos relatos de que há predisposição genética para a mutação da JAK2 e herança autossômica dominante da Mielofibrose Primária.

384

Early molecular response is predictive of overall, progression-free and event-free survival in chronic myeloid leukemia using second-generation tyrosine kinase inhibitors after imatinib treatment

Ribeiro BF¹, Vergílio B¹, Miranda EC¹, Almeida MH¹, Delamain MT¹, Souza CA¹, Albuquerque DM¹, Santos AD¹, Lorand-Metze I¹, Pagnano KB¹

¹Universidade Estadual de Campinas

Second-generation tyrosine kinase inhibitors (2G-TKI), nilotinib or dasatinib used after imatinib failure can induce complete cytogenetic response (CCR) in 50% of chronic myeloid leukemia (CML) patients. BCR-ABL transcript levels reduction in the initial months of treatment has been associated improved outcome. **Aim:** To evaluate the predictive value of early molecular responses, at 3 and 6 months after treatment with 2G-TKI in CML patients with imatinib failure or intolerance; to correlate these responses with CCR, overall survival (OS), progression free survival (PFS) and event free survival (EFS). **Methods:** Between September 2007 and August 2012, 71 consecutive patients with CML resistant or intolerant to imatinib were treated with dasatinib (n= 50) or nilotinib (n=21). BCR-ABL transcripts were measured in peripheral blood using real-time quantitative PCR (RQ-PCR) at 3 months intervals. Results were expressed as BCR-ABL/ABL ratio, with conversion to the international scale (IS). Major molecular response (MMR) was defined as a transcript level $\leq 0.1\%$ (IS). Cytogenetic analysis was performed at baseline, 3, 6, 12 and 18 months after starting therapy with 2G-TKI. BCR-ABL mutation was analyzed by direct sequencing. Probabilities of OS, PFS and EFS were calculated using Kaplan-Meier method. An event was defined as the loss of CHR, CCR, progression to advanced phase, death or 2G-TKI discontinuation. The CCR probabilities according to molecular responses were calculated by χ^2

method and cumulative incidence, considering as competitive event death or progression. **Results:** 71 patients were analyzed, median age of 47 years (15-81); disease status before 2G-TKI was: 50 (71%) CP; 13 (18%) AP and 8 (11%) BC. Responses: 59/71 (83%) obtained CHR; 38/55 (69%) CCR and 37/60 (62%) MMR. At 3 months of therapy, 81.5% (44/54) had a BCR-ABL ratio $\leq 10\%$ and at 6 months 66% (33/50) had $\leq 1\%$. At 3 months, CCR was obtained 65% (19/29) pts with $\leq 10\%$ RQ-PCR and 16% (1/6) with $>10\%$ RQ-PCR ($p = 0.06$). At 6 months, CCR was 100% (12/12) in pts with RQ-PCR $\leq 1\%$ and 14% (1/7) in those with $>1\%$ ($p < 0.0001$). The probability to reach RQ-PCR $< 10\%$ at 3 months was 43% (95% CI 32-54%). During treatment 3 (4%) progressed to AP and 5 (7%) to BC. The 5-year probability of OS was 78% (95% CI: 68-88%) albeit by disease status was 86% in CP, 92% in AP and 12% in BC ($p < 0.0001$). OS was 45% in patients with mutation and 88% with no mutation ($p = 0.05$). OS was inferior in pts with RQ-PCR $> 10\%$ at 3 months (60 vs 84%, $p = 0.03$) and $>1\%$ at 6 months (68 vs 100%, $p = 0.006$). PFS was 68% in 5-year, and was lower in BC pts ($p < 0.0001$) and pts with RQ-PCR $>1\%$ at 6 months ($p = 0.004$). EFS was 53% and lower in BC pts ($p < 0.0001$); in pts with RQ-PCR $> 10\%$ at 3 months ($p = 0.005$) and $> 1\%$ at 6 months ($p < 0.0001$). RQ-PCR at 3 and 6 months were also predictive of a worse survival when patients in CP were analyzed separately. 2G-TKI was discontinued in 44% (31/71). Eleven BCR-ABL mutations were detected in 36 pts; 3 previously 2G-TKI (L387M-1, E255K-1, M351T-1) and 9 after therapy (T315I-5, M244V-2, E255V-1, Y253H-1). **Conclusion:** BCR-ABL transcript levels at 3 and 6 months can identify patients with worse prognosis and less chance to obtain CCR with 2G-TKI after imatinib treatment.

385

Validação da expressão dos genes ABCA1 E ABCG1 em células do sangue periférico em pacientes portadores de leucemia mielóide crônica

Vieira RM^{1,2}, Maia AL^{1,2}, Nunes CM^{1,2}, Lemos JA^{1,2}

¹Universidade Federal do Pará

²Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará - HEMOPA

A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) é uma doença clonal que se origina da célula tronco hematopoietica, produto da translocação t(9;22) (q34;q11), resultando no cromossomo Philadelphia (Ph). Nos últimos 10 anos, a terapia inibidores de quinases, em especial, o Mesilato de Imatinibe (MI), tornou-se o tratamento padrão para a LMC. Os genes ABCA1 e ABCG1, membros da família de transportadores ABC (ATP Binding Cassete), codificam os receptores ABCA-1 e ABCG-1, responsáveis por atuar no efluxo de colesterol, que é o primeiro passo do transporte reverso de colesterol, via pela qual o colesterol nos tecidos periféricos é transferido através do plasma para o fígado. Através da proteína ABCA1 existente na superfície do macrófago, a proteína apo A-1 adquire fosfolípidos e colesterol intracelular acumulado nas células e através de ABCG1, assim o colesterol é transferido para a partícula de HDL madura. Considerando que o MI é utilizado nas vias de transporte do colesterol, este trabalho tem como objetivo executar a validação clínica individual dos genes ABCA1 e ABCG1 em pacientes portadores de Leucemia Mielóide Crônica e sua utilização no manejo clínico da doença. Para isso, a população de estudo foi composta por 53 indivíduos de ambos os sexos, sendo 36 diagnosticados com leucemia mielóide crônica em tratamento com mesilato de imatinibe e 17 amostras controle. Foram analisados os genes ABCA1 e ABCG1 através da técnica de PCR em tempo real. Foi utilizado o teste de Mann-Whitney para comparação da expressão dos genes entre os pacientes e controles, sendo $p < 0,05$ considerado como significativo. A expressão de ABCG1 estava diminuída em pacientes com resposta inferior a 2 logs em relação aos indivíduos controle, e não foi encontrada diferença na expressão de ABCA1 entre pacientes de controle, independente da resposta

MI. Os genes ABCA1 e ABCG1 têm suas funções bem definidas na literatura, entretanto pouco é descrito sobre a relação de tais genes com leucemia ou qualquer tipo de câncer, todavia, a função do HDL como supressor de células tronco hematopoieticas é uma descoberta recente, a qual pode-se inferir como deficiente devida à baixa resposta ao imatinibe decorrente da baixa expressão de ABCG1 nos pacientes, porém, a utilização dos referidos genes como monitoramento terapêutico na leucemia mielóide crônica requer estudo continuado e validação em larga escala, entretanto o gene ABCG1 pode ser considerado como um candidato a indicador de resposta ao tratamento com inibidor de quinase na LMC.

386

Leucemia mielomonocítica crônica - relato de caso

Araujo CA¹, Neves MC¹, Magalhães GH¹, Athayde MS¹, Hugo CP¹, Corrêa TN¹, Torga JP¹, Campos CM¹, Souza SM¹

¹Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais

Introdução: A Leucemia Mielomonocítica Crônica (LMMC) é uma desordem clonal maligna de células progenitoras que se encontra classificada dentro das síndromes mielodisplásicas/mieloproliferativas, por apresentar características comuns às duas síndromes. Uma persistente monocitose, definida como contagem periférica maior que 1000 monócitos/dL por 6 meses, é a principal característica da síndrome mielomonocítica. **Objetivo:** Relatar a importância deste diagnóstico diferencial nos pacientes com persistente leucocitose e monocitose sem etiologia definida. **Relato de Caso:** MAJF, 77 anos, sexo feminino, residente em Belo Horizonte/MG, apresentava em hemogramas seriados, feitos ao longo dos últimos 06 meses, anemia leve a moderada acompanhada de leucocitose persistente, com predomínio de monócitos (maior que 10% da leucometria) e plaquetometria normal. Negava sintomas constitucionais neste período. Admitida em unidade hospitalar prévia devido à evento gastrointestinal, apresentando em leucograma realizado, mais de 90.000/uL leucócitos. Iniciado inibidor da síntese de ácido úrico (Alpurinol[®]) na dose de 300mg/dia, inibidor da ribonucleotidase (Hydrea[®]) na dose de 2g/dia e hidratação venosa, sendo encaminhada ao Hospital das Clínicas / UFMG em 20/07/2013 para propedêutica. À admissão, apresentava ao exame físico, discreta hepatoesplenomegalia e ausência de linfonodomegalias palpáveis, mantendo negativa da existência de sintomas constitucionais, sendo evidenciado em exames laboratoriais, insuficiência renal aguda e síndrome de lise tumoral, além de pancitopenia e necessidades transfusionais, sendo suspenso imediatamente o inibidor da ribonucleotidase. Iniciada hidratação, mantido Alopurinol[®] com ajuste de dose pela função renal e monitorização clínica e laboratorial, evoluindo com melhora gradativa, com proposta de reinício de Hydrea[®] em menor dose. Exames laboratoriais à admissão evidenciavam leucocitose de 20.910/uL com 54% de monócitos e 26% de segmentados; anemia normocítica normocrônica com 7g/dL de hemoglobina; plaquetopenia de 68.000/uL; LDH de 1555u/L e reticulócitos de 0,6%. Aspirado de medula óssea realizado evidenciou hipoplasia de séries granulocítica e eritrócítica com intensas alterações disgranulocitopoiéticas, com contagem de blastos de 2,4%, sendo observado um mieloblasto com bastonete de Auer. Apresentava ainda hiperplasia de série linfoplasmocitária e monocitose de 17,6%. Imunofenotipagem de aspirado medular continha 36% de monócitos com expressões aberrantes de CD2, CD16 e CD56. Paciente classificada como portadora de LMMC tipo 2 segundo a OMS com Specific Prognostic Scoring System (CPSS) de risco intermediário para desenvolvimento de leucemia mielóide aguda / sobrevida global. **Discussão:** A real incidência da LMMC é desconhecida, uma vez que alguns estudos epidemiológicos a classificam no grupo de doenças mieloproliferativas, enquanto em outros é alocada no grupo das síndromes mielodisplásicas. Apesar da escassez de dados, a média de idade ao diagnóstico é de 65-75 anos,

com predomínio pelo sexo masculino. **Conclusão:** Alterações nas séries do hemograma devem ser valorizadas e investigadas, mesmo na ausência de sintomatologia ou de alterações físicas. O diagnóstico diferencial com outras causas de monocitose deve sempre ser realizado, sendo que a monocitose acima de 1.000/uL por mais de 6 meses, praticamente sela o diagnóstico de LMMC.

387

Síndrome hipereosinofílica - relato de caso

Hugo CP¹, Campos CM¹, Athayde MS¹, Corrêa TN¹, Torga JP¹, Neves MC¹, Araujo CA¹, Souza SM¹, Clementino NC¹, Santana SA¹

¹Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais

Introdução: A eosinofilia no sangue periférico e em tecidos está habitualmente associada a condições alérgicas, reações de hipersensibilidade a drogas, neoplasias, doenças do tecido conjuntivo e parasitoses. Em reconhecimento ao aumento das eosinofílias primárias molecularmente definidas, em 2008 a WHO classificou uma categoria de Neoplasias Mielóides e Linfóides com eosinofilia e anormalidades do PDGFA, PDGFB ou FGFR1. A presença de eosinofilia na ausência de fator desencadeante e sem evidência de clonalidade em pacientes com lesões orgânicas é denominada Síndrome Hipereosinofílica (SHE). **Relato de Caso:** RGS, 42 anos, internado em janeiro/2013 em outro serviço com quadro de dor abdominal, emagrecimento, parestia em MSD, diarreia e fraqueza há 15 dias. Hemograma com leucocitose, eosinofilia, anemia e trombocitose. Paciente realizou propedêutica para eosinofilia, sem detectar causa secundária. Miелоgrama e BMO sugestivos de NMP. Recebeu alta com encaminhamento ao ambulatório de neoplasias mieloproliferativas do Hospital das Clínicas. Antes de comparecer à consulta, paciente foi admitido no Pronto Atendimento do HC com quadro de piora da dor abdominal, emagrecimento 25kg e queda do estado geral, prostrado e sem sinais de peritonite. Fígado palpável a 3cm RCD, doloroso. Baço não palpável. Queixava ainda parestia em MSD. Hb 11,4 g% Ht 35,5%, VCM 92,5% leucócitos 21.710/mm³, eosinófilos 4990/mm³, e plaquetas 445.000/mm³. TC de abdome mostrou abscessos hepáticos, cultura positiva para *Klebsiella pneumoniae*, tratado com antibioticoterapia e drenagem cirúrgica. Apresentou crise convulsiva tônico clônico generalizada sendo avaliado pela Neurologia, eletroencefalograma e tomografia computadorizada de crânio sem alterações significativas. Ressonância nuclear magnética com hemorragia subaracnóide e intraparenquimatosa, antiga de pequeno volume, líquido normal. Realizada eletroneuromiografia que revelou mononeurite múltipla. Colonoscopia com úlceras rasas e esparsas em cólon esquerdo, biópsia compatível com colite leve inespecífica. Miелоgrama normocelular, eosinofilia de 32%. Biópsia medula óssea hiperplásica, com desarranjo arquitetural, predomínio de granulócitos maduros em interstício e significativa eosinofilia. Cariótipo 46XY, PCR para bcr-abl e PDGFA negativo. Iniciou tratamento com corticoide 1mg/kg/dia, com normalização dos eosinófilos, mas sem melhora clínica importante. Após 1 mês de corticoide, apresentou piora clínica e nova elevação dos eosinófilos. Optado por iniciar tratamento de prova com Imatinibe 400mg/dia. Após uma semana, hemograma não apresentava eosinófilos. Apresentou melhora clínica importante, com melhora da parestia em MSD. Após 28 dias do imatinibe, apresentou nova elevação de eosinófilos, porém em menor número do que visto anteriormente. Teve choque séptico, encaminhado ao CTI e iniciado antibioticoterapia e suspenso Imatinibe por cinco dias. Após 1 semana do reinício 12000 leucócitos e 270 eosinófilos. Mantém quadro de parestia em MSD, mas com melhora progressiva. **Conclusão:** A Síndrome Hipereosinofílica ainda é um desafio diagnóstico, mas deve ser investigada em pacientes com hipereosinofilia persistente após afastadas causas reacionais ou secundárias. A infiltração de tecidos por eosinófilos pode ser grave e gerar lesões importantes. Por isso, o tratamento deve ser instituído o mais rápido possível, e o paciente acompanhado rigorosamente quanto à melhora clínica e laboratorial.

388

Poliglobulia e trombose de seio sagital em usuário de cocaína

Nucci FM¹, Mocarzel LO¹, Praxedes MK¹, Nascimento JG¹, Oliveira FP¹, Oviedo CA¹, Lusi LK¹, Camargo CM¹, Monnerat A¹, Cordeiro BA¹

¹Universidade Federal Fluminense

A cocaína é um potente vasoconstritor, capaz de aumentar o risco de infarto agudo do miocárdio nos seus usuários. A droga é capaz de induzir eritrocitose transitória e aumento da viscosidade sanguínea, secundários à hipóxia. O mecanismo das alterações hematológicas induzidas pela cocaína não é completamente conhecido, mas acredita-se que em parte, seja mediada pela constrição esplênica. A hiperviscosidade, associada ao aumento dos níveis do fator de Von Willebrand, sem elevação compensatória da fibrinólise, também contribuiria para a ocorrência de trombose nos usuários de cocaína. Relatamos o caso de um paciente masculino, de 20 anos, usuário diário de cocaína, que foi atendido na emergência do Hospital Universitário Antônio Pedro da UFF, devido à cefaleia, náuseas e vômitos, cuja avaliação diagnóstica evidenciou trombose de seio sagital. Seu primeiro hemograma apresentava poliglobulia (Hb de 20,5mg/dL e hematócrito de 64,5%), com discreta leucocitose (16.000/mm³) e contagem de plaquetas dentro da normalidade. No exame físico não foi detectada esplenomegalia, no entanto a dosagem de eritropoietina mostrou-se baixa. A fim de se excluir o diagnóstico de policitemia vera, foi realizada biópsia de medula óssea, que revelou celularidade compatível com a idade, sem hiperplasia de qualquer linhagem celular. O paciente evoluiu com normalização progressiva da série vermelha durante a internação, durante a qual foi submetido a apenas uma sangria. Não houve sequelas neurológicas. Os testes laboratoriais excluíram a Síndrome antifosfolípide, mas não foi testada a possibilidade das trombofilias hereditárias. Concluímos que as alterações hematológicas agudas induzidas pela cocaína devem ser consideradas no diagnóstico diferencial das eritrocitoses e foram as responsáveis pela ocorrência do fenômeno trombótico observado.

389

Obstrução arterial periférica relacionada ao uso de inibidores da tirosina kinase

Leão LH¹, Ruiz HT¹, Ferrari G¹, Dib P¹, Vecina AF¹, D'ávila VL¹, Assis JR¹, Santos E¹, Arrigato M¹, Cliquet MG¹

¹Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde da PUC-SP

Os Inibidores de Tirosina Kinase (ITK) são medicamentos muito eficazes para o tratamento da Leucemia Mieloide Crônica (LMC). Agem inibindo a proliferação do clone Philadelphia e seus diversos efeitos colaterais tem baixa morbi-mortalidade. A escolha do inibidor a ser utilizado depende do perfil cardiovascular do paciente, da presença de problemas respiratórios, pancreáticos e de toxicidades previamente relatadas. Alguns casos de alterações vasculares, com repercussões clínicas importantes, tem sido descritos na literatura, em especial em decorrência do uso de Nilotinib, podendo ser verificado obstrução arterial periférica (OAP) em 2% dos pacientes. O Nilotinib parece causar vasoconstrição, sobretudo coronariana. Além disso, a inibição de várias kinases envolvidas na homeostase das células vasculares, como DDR1, KIT e/ou PDGF-R contribuem para a ocorrência de OAP. Apesar de não encontramos relatos na literatura de arteriopatas relacionadas ao uso de Dasatinib, relataremos o caso de um paciente, JPF, 63 anos, do sexo masculino, ex-tabagista (96 maços/ano), com diagnóstico de LMC (índice Sokal 0.74 e Hasford 255.29) desde novembro de 1999. Fez uso de Interferon-alfa por 15 meses; Hidroxiureia por 79 meses; Imatinibe por 72 meses e Nilotinibe por 18

meses. Há 34 meses faz uso de Dasatinib. Em agosto de 2012, em uso de Dasatinibe, queixou-se de intensa dor no pé esquerdo, febre (39°C), hipertermia no local e descamação. Foi encaminhado para a vascular e realizou tratamento para Erisipela com Ciprofloxacina por 14 dias. Em fevereiro de 2013, durante consulta de retorno ambulatorial de LMC, paciente relatou dor na região sural direita e esquerda. Ao exame físico, foi constatado edema (2+/4+), duro e hipertérmico, sem pulso pedioso. Nos dois meses subsequentes, o quadro de alterações vasculares se intensificou, sobretudo no pé esquerdo, com sinais de necrose, descamação e odor fétido. Novamente foi encaminhado para a vascular, sendo submetido a uma angiografia seletiva de membro inferior esquerdo, que demonstrou oclusão femoral superficial e de tibial anterior e fibular esquerdas. Em 19 de abril de 2013, foi submetido a uma cirurgia de ponte de safena na tentativa de revascularização do pé esquerdo. Mas, nas duas semanas seguintes, a área de necrose e o odor fétido aumentaram, e a amputação da perna esquerda, acima do joelho, foi realizada na primeira semana de maio/2013. O tabagismo é o mais importante fator de risco para OAP, bem como para o aparecimento de suas manifestações clínicas, seja pela isquemia ou claudicação. O tabagismo aumenta em cerca de 4x o risco para a doença, além de, quando comparado com pacientes não tabagistas, dobrar o número de casos que necessitam de amputação. A associação do tabagismo e uso de inibidores da tirosina quinase parece aumentar esta ocorrência. Devemos evitar o uso do Nilotinibe em pacientes com quadros isquêmicos e ainda mais em pacientes tabagistas. Embora não tenhamos encontrado relatos sobre o uso do Dasatinibe e OAP, acreditamos ser possível esta associação e este relato tem como objetivo, alertar sobre esta possibilidade.

390

Síndrome de Churg Strauss: hipereosinofilia e diagnóstico diferencial

Campos CM¹, Hugo CP¹, Araujo CAS¹, Neves MC¹, Athayde MS¹, Torga JP¹, Souza SM¹, Santana SA¹, Corrêa TN¹, Clementino NC¹

¹Universidade Federal de Minas Gerais

Introdução: Eosinofilia adquirida pode ser classificada como primária ou secundária. As causas secundárias ou reacionais, incluem infecções parasitárias, reações de hipersensibilidade, vasculites, drogas, doenças metabólicas e doenças malignas como linfomas e neoplasias metastáticas. A Síndrome de Churg Strauss é causa importante de hipereosinofilia e é caracterizada por eosinofilia, asma, vasculite sistêmica e infiltrado pulmonar. **Objetivo:** Relatar caso de hipereosinofilia associado a Síndrome de Churg Strauss. **Relato de Caso:** R.F.A., 27 anos, admitido no PA HC UFMG em junho/2013. Apresentava história de dor abdominal associado a náuseas e piora após alimentação, com 3 meses de evolução e intensificação da dor nos últimos dias. Perda ponderal, 15 Kg nos últimos 45 dias, associado a parestesia em MMII e MMSS, perda parcial da força e dificuldade para deambular. Realizado em sua cidade de origem, Capelinha MG, US de abdômen em março/2013 que mostrou paredes de vesícula levemente espessadas e TC de abdômen com duvidosa ectasia das vias biliares com edema periportal posterior no lobo hepático D, sem linfadenomegalias. EDA realizada em maio/2013 evidenciando pangastrite enantematosa e duodenite erosiva moderada, sem biópsia. Foi submetido à colecistectomia videolaparoscópica em 1/6/2013, por suspeita de colelitíase, em sua cidade, sem melhora do quadro algíco. Foi encaminhado para hematologista em Belo Horizonte por causa da leucocitose, nessa época sem hipereosinofilia, sendo afastado quadro de leucemia e encaminhado para serviço de gastroenterologia do HC. No dia da consulta chegou ao ambulatório apresentando sinais de choque, sendo encaminhado para PA do HCUFG, sala de emergência. História de asma de difícil controle. Em exames da admissão paciente apresentava Hb 11,6g% Htc 38% Leucócitos 31.780/mm³ Neut 12.710/mm³ Eos 13.980/mm³ Pla 436.000/mm³. Repetido TC de abdômen por suspeita de isquemia mesentérica, mas exame sem

alterações significativas. Iniciada então propedêutica para eosinofilia pela hematologia. Prescrito antiparasitário e orientado afastar causas secundárias. Evoluiu com piora do padrão respiratório e insuficiência respiratória aguda, entubado e transferido para o CTI. Iniciado uso de hidrocortisona devido história de asma o que levou a normalização da eosinofilia. RX de tórax mostrou infiltrado intersticial difuso. Aparecimento de lesões isquêmicas em região periférica de MMII e MMSS, sugestivas de vasculites. Propedêutica hematológica mostrou PDGFA, PCR para BCR-ABL e JAK2 negativos. Solicitado interconsulta com reumatologia suspeitando de vasculite de Churg Strauss devido história de asma, vasculite e eosinofilia. Iniciado tratamento imunossupressor com metilprednisolona, ciclofosfamida, seguido de imunoglobulina. Evoluiu com melhora importante do quadro, com desmame ventilatório, melhora do padrão radiológico e melhora das isquemias periféricas. Recebeu alta do CTI e está sendo acompanhado pela reumatologia. **Conclusão:** Faz parte da propedêutica da eosinofilia primária pesquisar neoplasias hematológicas clonais, uma vez que o tratamento precoce pode evitar complicações das lesões orgânicas e a terapia alvo leva a remissão clínica e molecular. Vale ressaltar a necessidade de excluir causas secundárias através da história clínica cuidadosa e exame físico, de modo a evitar um desfecho clínico desfavorável por atraso no diagnóstico.

391

Relato de Caso: hipertensão de artéria pulmonar associada ao uso de dasatinibe em um paciente com leucemia mieloide crônica

Filho MA¹, Klumb CE¹, Prioste T¹, Arcuri I¹, Gonzaga Y¹

¹Instituto Nacional de Câncer

Introdução: A Hipertensão de artéria pulmonar (HAP) é uma doença grave caracterizada por aumento progressivo da resistência vascular pulmonar (RVP), insuficiência ventricular direita (IVD) e mortalidade precoce. A HAP apresenta diversas etiologias, entre elas medicamentosas. Existem raros relatos da associação entre HAP e o uso do dasatinibe em pacientes com leucemia mieloide crônica (LMC), reversível com a retirada da droga. **Relato de Caso:** Paciente feminina, 46 anos, com diagnóstico de LMC fase crônica em julho de 2002. Após início do imatinibe, evoluiu com toxicidade hematológica grau IV e foi realizada a substituição da medicação pelo dasatinibe. A paciente evoluiu com resposta hematológica completa no terceiro mês e resposta citogenética completa no décimo oitavo mês. Após seis anos de tratamento, iniciou quadro de derrame pleural (DP) tratado com suspensão da droga, diurético e corticóide, com melhora. Três meses depois, evoluiu com recidiva do DP, não resolvido com as medidas conservadoras. Realizada toracocentese diagnóstica, compatível com transudato. Evoluiu com piora progressiva do DP, dispnéia, hepatomegalia e edema em membros inferiores. Realizada angio-TC de tórax que excluiu tromboembolismo pulmonar. Eco-cardiograma transtorácico evidenciou pressão sistólica de artéria pulmonar (PSAP) estimada de 100 mmHg e sinais de IVD. Foram pesquisadas possíveis causas para a HAP, sendo definido, por exclusão, diagnóstico de HAP secundária ao dasatinibe. O dasatinibe foi mantido suspenso e iniciado sildenafil 75 mg/dia. A paciente evoluiu com melhora clínica progressiva dos sintomas de IVD. Hoje, após seis meses do início do vasodilatador, está completamente assintomática, sem recidiva do DP, em uso de nilotinibe. Aguardando realização de novo Ecocardiograma para controle evolutivo. **Discussão:** Complicações pulmonares relacionadas ao uso do dasatinibe têm sido bem documentadas na literatura, variando de DP a alterações do parênquima pulmonar, geralmente reversíveis com a suspensão da droga, uso de diurético e corticoterapia. Relatamos o caso de uma paciente que desenvolveu HAP grave associada ao dasatinibe, que permaneceu sintomática e com sinais progressivos de IVD mesmo após a suspensão da droga e tratamento medicamentoso convencional. A reversão do quadro ocorreu apenas após o início de vasodilatador (sildenafil). O diagnóstico

foi feito através de estimativa da PSAP pelo Ecocardiograma, uma vez que não dispomos na Instituição de serviço de hemodinâmica para mensuração direta. Causas mais frequentes de HAP (colagenoses, p. ex) foram excluídas. **Conclusão:** O diagnóstico de HAP deve ser considerado em todo paciente com LMC em uso de dasatinibe que desenvolva DP não responsivo à abordagem convencional (suspensão da droga, diuréticos, corticóide) ou sintomas sugestivos de IVD. A suspensão da droga, associada ao tratamento vasodilatador pode impedir a progressão da cardiopatia e permitir a continuidade do tratamento com outro inibidor de tirosina quinase.

392

Pancreatotoxicidade relacionada ao dasatinibe durante o tratamento de leucemia mielóide crônica

Filho IF¹, Siyoufi CT¹, Andrade FC¹, Vecina AF¹, Cliquet M¹

¹Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde da PUC-SP

Há mais de 10 anos participamos da utilização dos inibidores da tirosina quinase (ITK) para o tratamento da leucemia mielóide crônica que tem mostrado resultados muito superiores aos da era pré-ITK. A toxicidade a estes inibidores pode ser hematológica, principalmente com citopenias, mas também gastrointestinal, muscular, respiratória, cardiovascular, hepática, e ainda pancreática, entre outras. Relatamos o caso de um paciente de 48 anos de idade, tabagista, diabético tipo dois, hipertenso e portador de hipertrigliceridemia. Não etilista, faz uso de insulina e Losartana. Em 28/09/2010, diagnosticada Leucemia Mielóide Crônica (LMC) com cariótipo atípico com translocação 16;22. Baixo risco com Hasford 427,5 e Sokal 0,67. Iniciado tratamento com imatinibe 400 mg/dia, em dezembro de 2010. Após oito meses de tratamento, 08/2011 apresentou sinais de hepatotoxicidade evidenciada pelo aumento das aminotransferases. AST (Aspartato Aminotransferase) e ALT (Alanina Aminotransferase), 482 e 114, respectivamente. Reduzida a dose do imatinibe para 300 mg/d, evoluindo com normalização, mas ao ser reescalada a dose, nova toxicidade hepática. Trocado o imatinibe por dasatinibe em 09/2011 na dose de 100 mg/dia. Após 14 meses de tratamento, com resposta molecular maior, apresentou em 10/2012, aumento da amilase e lipase em 3 vezes o normal, sendo diagnosticada pancreatite e reduzida a dose do dasatinibe. Após 3 a 4 meses com redução da dose, houve melhora das enzimas pancreáticas e o paciente se manteve com resposta molecular maior. Chamamos a atenção para este evento, mais esperado com o nilotinibe, mas que pode ocorrer também com o imatinibe e dasatinibe. O manejo foi o possível, ou seja, mantivemos a dose que não piorasse a toxicidade e que mantivesse a resposta molecular maior.

393

Valor preditivo dos níveis de transcritos de BCR-ABL/ABL^{EI} em pacientes com leucemia mielóide crônica tratados com inibidor de tirosina quinase

Bonecker S¹, Cappelletti P¹, Bitencourt R¹, Thuler LC², Moellmann A³, Dobbin J³, Zalcberg I¹

¹Laboratório de Biologia Molecular, Centro de Transplante de Medula Óssea-CEMO, Instituto Nacional de Câncer-INCA

²Coordenação de Pesquisa Clínica e Incorporação Tecnológica

³Serviço de Hematologia, INCA, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: O tratamento para Leucemia Mielóide Crônica (LMC) mudou drasticamente após a disponibilização do primeiro inibidor de tirosina quinase (ITK), o Mesilato de Imatinib (IM) em 2001. O alvo deste é o BCR-ABL, uma proteína de fusão expressa pelo cromossomo Philadelphia (Ph), resultado de uma translocação recíproca entre os cromossomos 9 e 22, que está presente em 95% dos pacientes

com LMC. Atualmente outros inibidores, os ITK-2 geração já estão disponíveis na prática clínica e no Brasil, são indicados como opção para pacientes com falha na resposta ao IM. A resposta ao tratamento é avaliada através do RT-qPCR e ou citogenética aos 3, 6 e 12 meses após o início do medicamento. Os níveis de transcritos de BCR-ABL nestes períodos do tratamento tem ganhado uma enorme notoriedade, visto que trabalhos anteriores mostraram o valor prognóstico destes na sobrevida global deste pacientes. **Objetivo:** Este estudo tem por objetivo avaliar se os níveis de BCR-ABL/ABL^{EI} aos 3, 6 e 12 meses após o início do tratamento com IM, em nossa coorte de pacientes, representam aumento na sobrevida Global (SG) e sobrevida livre de progressão (SLP). **Métodos:** Para isto foram considerados os níveis de transcrição BCR-ABL1 ^{EI} ≤ 10% em 3 meses, <1% em 6 meses e ≤ 0,1% a partir de 12 meses, definidos como resposta ótima, enquanto > 10% em 6 meses e > 1% a partir de 12 meses em diante definidos como falha, exigindo uma mudança ao tratamento. Foram calculadas as medianas dos tempos de sobrevida e respectivos intervalos de confiança (IC95%), para os subgrupos de pacientes classificados pelas variáveis de interesse, e construídas curvas de Kaplan-Meier para as principais variáveis categóricas utilizadas no estudo, com comparação pelo teste *logrank* bicaudado entre os estratos. Foram avaliadas 174 amostras, pertencentes a 58 pacientes do CEMO/INCA, com uma mediana de acompanhamento de 44 (28-147) meses. Os dados das amostras recolhidas neste período de tempo eram bem caracterizados clinicamente e molecularmente. **Resultados:** Pacientes com níveis de transcritos de BCR-ABL/ABL^{EI} <10% nos 3 primeiros meses apresentaram uma SG em 3 anos de acompanhamento maior quando comparada com indivíduos com valores de BCR-ABL/ABL^{EI} >10% aos 3 meses (94% vs 80%), assim como SLP (94% vs 90%). Similarmente, níveis de BCR-ABL/ABL^{EI} < 1% aos 6 meses também apresentaram uma maior SG (100% vs 91%), porém a SLP foi similar entre os dois grupos (97% vs 97%) e < 0,1% BCR-ABL/ABL^{EI} aos 12 meses também estratificaram um grupo de alto risco, com uma maior SG (100% vs 91%) e maior SLP (100% vs 93%) quando comparado com valores >0,1% BCR-ABL/ABL^{EI}. **Discussão e Conclusão:** Estes resultados são corroboram os dados da literatura, indicando que os valores de transcritos aos 3 meses podem ser utilizados como parâmetros prognósticos de respostas, permitindo a identificação de pacientes com possível falha ao tratamento, permitindo assim uma intervenção clínica precoce. O mesmo não foi observado para os valores de BCR-ABL/ABL^{EI} aos 6 meses.

394

Pesquisa da mutação no gene JAK2 em pacientes em fase de diagnóstico

Scherer D¹, Strauhs-Nitsch L², Azambuja AP³, Takahashi JM², Medeiros LA³, Sola CB³, Mion AL³, Malvezzi M³, Funcke VM³

¹Universidade Federal do Paraná

²Hospital Universitário Evangélico de Curitiba

³Hospital de Clínicas - UFPR

Introdução: Policitemia vera (PV), trombocitemia essencial (TE) e mielofibrose idiopática (MI) são neoplasias mieloproliferativas crônicas (SMP) provenientes de um progenitor multipotente, que apresentam fenótipos distintos mas aparentemente a mesma base genética. A mutação V617F, que causa a substituição de valina por fenilalanina na posição 617 do gene Janus quinase 2 (JAK2), está frequentemente presente nestes pacientes, aumentando a atividade quinase JAK2 e provocando crescimento celular independente de citocinas. O encontro da mutação no JAK2 é útil no estabelecimento do diagnóstico das SMP, sendo, porém, a morfologia da medula óssea (MO) a principal ferramenta diagnóstica. Estudos mostram a identificação de mutações JAK2 em cerca de 95% dos pacientes com PV, e em 50 a 70% dos pacientes com TE e MI. **Métodos:** Estudo retrospectivo realizado pela seleção de 98 pacientes com pesquisa da mutação do JAK2 no Serviço de Imunogenética do HC-UFPR, no período de

set/2010 à jul/2013. Os dados foram coletados através da revisão de prontuários e os pacientes foram divididos em 2 grupos segundo o resultado da JAK2 (mutação presente ou ausente) para a análise. **Resultados:** Foram identificados 81 pacientes, entre os quais 41 apresentavam a mutação JAK2, e 57 eram negativos. Foram excluídos da análise 15 pacientes com JAK2 negativa (4 com diagnóstico de Leucemia Mielóide Crônica, 5 por pesquisa de trombofilia, 1 por LMMC, 1 leucemia neutrofílica e 4 por outros diagnósticos), e 2 pacientes JAK2 positiva (pesquisa de trombofilia). Foram estudados 34M/47F, com mediana de idade 58 (22 – 82) anos. Entre os 14 pacientes com MI confirmada, apenas 5 apresentavam JAK2 positivo (35,7%); 51,2% dos casos de policitemia (20/39) e 46,6% dos casos de trombocitose (14/30) tinham a mutação presente. No grupo de pacientes com JAK2 positivo, houve predominância do diagnóstico de PV (20 pts - 51,2%), seguida da TE (14 pts - 33,3%) e da MI (5 pts - 15,3%). Sintomatologia foi relatada em 82% dos pacientes do grupo, sendo que os sinais/sintomas mais frequentemente apresentados foram esplenomegalia (42%), fadiga (29%) e cefaleia (26%). Ao diagnóstico a mediana de hemoglobina (Hb) foi 15,15mg/dL (6,5 – 23,6), $675 \times 10^6/\mu\text{L}$ de plaquetas (42 – 2.065) e $9,9 \times 10^3/\mu\text{L}$ de leucócitos (11 a 122,9). A biópsia de MO apontou celularidade mediana de 70% e pelo menos 23 pacientes tinham dismegacariocitose. No grupo JAK2 negativo 16 ptes tinham trombocitemia, 19 poliglobulia e 7 MI. A mediana de Hb foi 14,4 mg/dL (5,2 – 21,8), $478^6/\mu\text{L}$ de plaquetas (26 – 1.826) e $9,9 \times 10^3/\mu\text{L}$ de leucócitos (28 – 28,02), com celularidade mediana de 50% na biópsia de MO. **Conclusão:** Apesar da literatura mostrar que a positividade para JAK2 nas PV se aproxima de 95%, em nossa amostra apenas 74% (20/27) dos casos apresentaram JAK2 positivo, sendo o teste negativo útil para a diferenciação entre PV e poliglobulia por outras causas. Entre os pacientes com poliglobulia e JAK2 negativo, apenas um apresentava MO hiper celular e dismegacariocitose; os demais tinham sinais clínicos sugestivos de hipoxemia/falta de eritropoetina (DPOC, IRC, HAS, etc), sugerindo poliglobulia secundária. Por outro lado, foi difícil definir trombocitose reativa nos pacientes com JAK2 negativo, já que os dados de MO são incompletos e por vezes não foi possível descartar o diagnóstico de SMP. Dentre os pacientes com TE, 46,6% são positivos, o que se assemelha à literatura.

395

Poliglobulia associada a mioma uterino: relato de caso

Marconi TD¹, Bezerra ED¹, Fonseca GH¹, Aranha MA¹, Gualandro SF¹, Sukanuma LM¹, Aguiar CN¹

¹Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Introdução: A poliglobulia associada a miomatose uterina é uma entidade rara caracterizada por poliglobulia (níveis maiores que 18 g/dl para homens e 16 g/dl para mulheres) associada a miomas gigantes. **Objetivo:** Descrever um caso típico de poliglobulia associada a miomatose uterina e revisar suas características fisiopatológicas. **Relato de Caso:** R.C.F.P., 45 anos, sexo feminino, encaminhada ao ambulatório de hematologia para investigação de poliglobulia. Queixava-se de cervicalgia e parestesia de membro superior esquerdo e aumento de volume abdominal. Em consulta subsequentes referiu cefaleia e zumbido ocasionais. Conta história de pneumonia em 2011 porém negava pneumopatia. Ao exame físico não observado visceromegalias ou linfonomegalias porém com aumento do volume uterino palpável até a região da cicatriz umbilical. Exames laboratoriais mostravam hemoglobina de 19,5 g/dl e hematócrito de 58,6 g/dl sem alterações das outras séries hematológicas e reticulócitos de 0,42% e contagem absoluta de 27000. Hemácias normocíticas e normocrômicas. Perfil de ferro sem alterações significativas. Ultrassonografia abdominal com útero medindo 1.313 cm3 com nódulo sólido. Em investigação complementar pesquisado mutação jak2 que foi negativa e dosagem de

eritropoetina normal (6,2mU/ml). Enquanto aguardava histerectomia realizou 4 sangrias e não recebeu tratamento medicamentoso específico. Realizado histerectomia sem intercorrências. Aproximadamente 3 meses após cirurgia apresentou normalização dos níveis hematimétricos: hemoglobina de 14,2 g/dl e hematócrito 42,5 g/dl, mantendo-se normocítico e normocrômico. **Discussão:** Nesta paciente os três critérios diagnóstico que definem a síndrome miomatosa eritrocitária foram encontrados: eritrocitose, miomatose uterina e normalização persistente dos níveis hematimétricos após a histerectomia. Apesar de se tratar de uma patologia descrita há várias décadas, a sua etiologia ainda não está bem estabelecida. O mais aceito é que haja produção ectópica de eritropoetina pelo leiomioma, conforme demonstrado em um único caso por um grupo holandês em 2008, através da comparação entre os níveis de eritropoetina em veia e artéria uterina durante a histerectomia. No entanto não conseguimos encontrar evidências de produção ectópica em nossa paciente. Outra hipótese proposta é de que haja produção renal de eritropoetina por compressão das estruturas renais ou hipóxia devido a "shunting" arteriovenosos em grandes leiomiomas. Sendo assim é importante lembrar de pesquisar leiomiomas em mulheres em investigação de poliglobulia por ser uma forma tratável por meio de histerectomia.

396

Primary myelofibrosis Brazilian patient journey: from initial symptoms to treatment

Datoguia TS¹, Tavares R², Pagnano KB³, Bendit I⁴, Delamain MT³, Lorand-Metze I³, Salvador J¹, Conchon M¹

¹Hospital Santa Marcelina

²Universidade Federal de Goiania

³UNICAMP

⁴Hospital das Clínicas - FMUSP

Background: The Primary Myelofibrosis (PMF) mainly affects individuals in their sixth decade of life or older. It is the most difficult myeloproliferative neoplasm to be defined, as the phenotype mimicking a variety of hematological and non-hematological diseases. No symptom or sign is specific to the PMF. Many patients are asymptomatic at presentation and the disease is usually detected by the discovery of a splenomegaly or abnormal blood counts during a routine examination. The only treatment with curative potential for PMF is allogeneic stem cell transplantation. This should be reserved for high risk patients, after careful consideration, taking into account the option for participation in clinical trials of new drugs. It is therefore extremely important the early identification of poor prognosis patients, to offer the best therapy. In Brazil, we do not have sufficient data to assess a patient's journey between the first symptoms and diagnosis of PMF. Moreover, the real incidence/ prevalence of this disease are unknown and a sub-diagnosis rate is speculated in our country. **Aim:** Understand and identify the journey of patients (clinical characteristics, diagnosis process and therapeutics interventions) and the problems between the first symptoms and initiation of treatment. **Methods:** Given the observational nature of the study and the lack of a specific hypothesis to be tested, the statistical analysis is descriptive. This partial analysis includes descriptive results of contents of the database. Categorical data are presented as frequencies and percentages. For continuous data, mean, standard deviation, median, minimum, and maximum values are presented. **Results:** 103 patient disposition (2008-2012); all of them met WHO criteria 2008: median age: 69; 58% male; 13.6% had died. Most frequent reason (63,1%) for medical evaluation seeking was symptoms and fatigue happened in 67% of them. Time from symptoms onset date until the confirmed diagnose took a median of 9.7 months. General physician was the most frequent specialist witch have evaluated the patient until confirmed or suspected diagnose. Myelogram and bone marrow biopsy were performed in all patients but one; mutation status for JAK V617F in 82.5%, PCR for BCR-ABL in 71.8% and bone marrow cytogenetics in 64.1%. According to IPSS

(78 patients), 8.5 % were low risk, 63.4% intermediated-1 63.4%, intermediated-2 28.1% and none high risk. Anemia was the most frequent laboratorial finding (67%) and most of the patients were treated with hydroxiurea (75.7%). **Conclusion:** Although most of the patients have apparently a precise diagnose of PMF, it took almost 10 months to be done. It is important to know Brazilian needs to improve diagnostic and provide a better treatment, since we are facing new drugs for PMF.

397

Impacto dos novos conceitos do European Leukemia Net (ELN) 2013 aplicados aos pacientes com leucemia mielóide crônica (LMC) fase crônica (FC) tratados com imatinibe

Fogliatto L¹, Capra M², Shaan M³, Fernandes MS³, Breunig R¹, Fraga C¹, Costa TE¹, Daudt LE¹, Torriani M¹, Silla L¹

¹Hospital de Clínicas de Porto Alegre

²Hospital Nossa Senhora da Conceição

³Hospital São Lucas da PUCRS

A história natural da LMC mudou drasticamente após o uso do imatinibe como opção terapêutica. Desde então os pacientes têm atingido níveis de remissão citogenética e molecular significativos, com baixa toxicidade ao tratamento. Entretanto alguns subgrupos demonstram prognóstico desfavorável e sua identificação auxilia acompanhamento do paciente e no planejamento terapêutico. A padronização das definições de resposta e falha ao tratamento, com identificação destes subgrupos de pacientes, foi revisada e publicada pelo ELN recentemente. **Objetivo:** Aplicar a nova recomendação do ELN 2013 para verificar as taxas de resposta e falha terapêutica dos pacientes portadores de LMC, tratados com imatinibe, diante dos novos conceitos emitidos após a revisão do ELN 2009. **Métodos:** Análise retrospectiva, em uma coorte de pacientes com LMC-FC em tratamento com imatinibe atendidos em 14 hospitais universitários do estado do Rio Grande do Sul. Respostas citogenéticas e moleculares ao tratamento e desfechos foram coletados e analisados estatisticamente. **Resultados:** Foram analisados dados dos pacientes aos 3 meses e aos 6 meses de tratamento com imatinibe. Foi verificada resposta ótima em 63%, alerta em 15% e falha em 22% dos pacientes, considerando resposta citogenética e molecular de 146 pacientes aos 3 meses. Quando a população foi analisada aos 6 meses, também considerando o resultado da análise citogenética e molecular, de um total de 239 pacientes, 67% apresentaram resposta ótima, 15% alerta e falha em 18%. **Conclusão:** Na amostra de pacientes estudados, os índices de falha diante dos novos conceitos do ELN 2013 são em torno de 20% aos 3 e 6 meses. Diante dos estudos mais recentes que demonstram o pior prognóstico com impacto negativo na taxa de sobrevida global aos pacientes com falha precoce ao tratamento (3 e 6 meses), este dado deve ser valorizado na prática clínica diária, bem como a troca para inibidor de segunda geração considerado. Participantes do Grupo Gaúcho de Tratamento da LMC: Laura Fogliatto, Marcelo Capra, Mariza Schaan, Tito Vanelli Costa, Christina Fraga, Raquel Breunig, Liane Esteves Daudt, Lucia Silla, Mayde Torriani, Katia Fassina, Mario Sérgio Fernandes, Marco Antônio Schilling, Denise Almeida, Moema Nene, Tânia Hellwig, Adriana Zardo João, Andréia Dias Almeida, Sabrina Wisintainer, Tiago Daltoe, Mariangela Moschen, Juliana Kratochvil, Viviane Fernandes, Cheila Eickhoff, Saozan Ahmad, Vítor Lenz.

398

Adesão ao tratamento de pacientes com leucemia mielóide crônica em uso de mesilato de imatinibe

Kummer B¹, Vieira N², Capra M³, Gabe LH³, Vanelli T⁴, Fogliatto L^{2,4}, Wagner S^{1,2}

¹Universidade FEEVALE

²Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre

³Hospital Nossa Senhora da Conceição

⁴Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: A LMC é uma doença caracterizada por uma mutação nas células pluripotentes, levando à formação de uma proteína quimérica que estimula a proliferação celular. Atualmente o tratamento de escolha é o mesilato de imatinibe (MI) medicamento que tem se mostrado muito eficaz, mas, por ser administrado por via oral e de uso contínuo, depende da adesão do paciente para o sucesso da terapia. **Objetivo:** Avaliar a adesão ao tratamento de pacientes com LMC que fazem uso de MI, relacionar com a taxa de efeitos colaterais e graus de fatores de concordância. **Métodos:** A adesão ao tratamento foi avaliada através do índice de posse de medicamentos (MPR) e questionário de adesão de Morisky (MMAS). O grau de concordância de fatores e atitudes que podem influenciar na adesão ao tratamento foi avaliado através de questionário. **Resultados:** Foram avaliados os dados de 58 pacientes, atendidos no HNSC de Porto Alegre/RS. A idade média foi de 54 ± 13,8 anos, sendo 51,7% (n=30) do sexo masculino e 70,7% casados. Dentre os pacientes, 96,5% obtiveram um MPR > 0,8, 93,1% com MMAS ≥ 0,6 mostrando-se aderentes ao tratamento. Conforme o grau de fatores e atitudes que podem interferir no tratamento não houve significância entre aderentes e não aderentes. Já em relação aos efeitos adversos, vômito apresentou significância estatística entre os grupos (p=0,048). **Discussão e Conclusão:** Ambos os métodos utilizados neste estudo (MPR e MMAS) mostraram elevadas taxas de adesão ao MI para pacientes com LMC (96,5% x 93,1%). A correlação com a resposta citogenética e molecular será realizada após aumento da amostra.

399

Alerta na avaliação do European Leukemia Net (ELN) 2013 corresponde a alerta na prática clínica?

Fogliatto L¹, Capra M², Shaan M³, Fernandes MS³, Fraga C¹, Breunig R¹, Costa TV¹, Torriani M¹, Silla L¹, Daudt LE¹

¹Hospital de Clínicas de Porto Alegre

²Hospital Nossa Senhora da Conceição

³Hospital São Lucas da PUCRS

O imatinibe mudou a história natural da Leucemia Mielóide Crônica (LMC). Atualmente os pacientes têm atingido níveis de remissão citogenética e molecular significativos, com baixa toxicidade ao tratamento. Entretanto alguns subgrupos demonstram prognóstico desfavorável e sua identificação auxilia acompanhamento do paciente e no planejamento terapêutico. A padronização das definições de resposta, sinais de alerta e falha ao tratamento, com identificação destes subgrupos de pacientes, foi revisada e publicada pelo ELN recentemente. Entre os sinais de alerta estão aqueles que ainda não se demonstraram como impactantes na sobrevida global. **Objetivo:** aplicar a nova recomendação do ELN 2013 para verificar a evolução dos pacientes de acordo com resposta aos 12 meses de tratamento e correlacionar os eventos associados. **Métodos:** Análise retrospectiva em uma coorte de pacientes com LMC-FC em tratamento com imatinibe atendidos em 14 hospitais universitários do estado do Rio Grande do Sul. As definições de resposta e falha seguiram os critérios do European Leukemia Net 2013 (ELN 2013) sendo os pacientes classificados de acordo com a resposta aos 12 meses de tratamento

com imatinibe em 3 grupos: resposta ótima, alerta e falha. Evento foi definido como qualquer um dos seguintes que tenha ocorrido primeiro: progressão para fases acelerada ou blástica, perda de resposta ou óbito por qualquer causa. **Resultados:** Foram analisados um total de 98 pacientes, sendo 40 meses o tempo médio de seguimento. Aos 12 meses 35 pacientes (36%) apresentavam resposta ótima segundo os critérios do ELN2013; 26 (26,5%) foram classificados como alerta e 37 (37,5%) como falha. Dos paciente que apresentavam resposta ótima, apenas 4 (11%) pacientes sofreram algum evento, com um tempo médio até o evento de 36 meses. Entre os pacientes classificados como alerta, 3 (12%) sofreram evento em um tempo médio de 28 meses. Não houve diferença significativa do número de eventos entre os grupos com resposta ótima e alerta. Por outro lado, entre os paciente com critério de falha, 24 (65%) apresentaram evento. Esta diferença foi significativa quando comparado aos grupos anteriores. Interessantemente, no grupo alerta 12 pacientes (46%) apresentaram resposta molecular maior (RMM) durante o seguimento, ao passo que somente 12 pacientes (32%), do grupo de falha ao tratamento, apresentaram RMM. **Conclusão:** Na amostra de pacientes estudados, fica bem estabelecida a diferença que existe entre os pacientes que atingem resposta ótima ou estão em alerta quando comparado com os pacientes em falha, de acordo com a nova recomendação do ELN 2013. Embora existam respondedores tardios, se deve considerar o elevado risco dos pacientes em falha aos 12 meses progredirem para fases mais avançadas da doença. De acordo com este trabalho, os conceitos adotados pelo ELN2013 são perfeitamente aplicáveis na prática clínica diária. Participantes do Grupo Gaúcho de Tratamento da LMC: Laura Fogliatto, Marcelo Capra, Mariza Schaan, Tito Vanelli Costa, Christina Fraga, Raquel Breunig, Liane Esteves Daudt, Lucia Silla, Mayde Torriani, Katia Fassina, Mario Sérgio Fernandes, Marco Antônio Schilling, Denise Almeida, Moema Nene, Tânia Hellwig, Adriana Zardo João, Andréia Dias Almeida, Sabrina Wisintainer, Tiago Daltoe, Mariangela Moschen, Juliana Kratochvil, Viviane Fernandes, Cheila Eickhoff, Saozan Ahmad, Vitor Lenz.

400

Refratariedade ao tratamento com três inibidores de tirosino quinase em paciente com leucemia mielóide crônica e mutação do gen ABL F311I

Miranda LR¹, Miranda LR², Jr AM¹, Callera F², Rosa ES², Martins FA²

¹Universidade de Taubaté

²Centro de Hematologia e Hemoterapia do Vale

Introdução: Após introdução dos inibidores de tirosino quinase no tratamento da Leucemia Mielóide Crônica, a sobrevida e qualidade de vida dos pacientes melhorou expressivamente. Hoje ainda temos o desafio de descobrir o mais precocemente possível os pacientes que não respondem ao tratamento para buscar alternativas terapêuticas. Usando a pesquisa de mutações gênicas, podemos ter mais um aliado para melhor escolha dessa terapêutica. No caso da mutação F311I temos poucos relatos na literatura e nenhuma definição quanto sua importância na resposta ao tratamento. **Relato de Caso:** DAS, 23 anos, sexo feminino, branca. Iniciou acompanhamento em Janeiro de 2006 no serviço de Onco-Hematologia do Hospital Regional do Vale do Paraíba (HRVP) assintomática, proveniente do Hospital Universitário de Taubaté (HUT), já em tratamento para LMC em uso de Imatinibe desde Novembro de 2005. Desde início do seguimento já apresentava plaquetose discreta, com piora importante em agosto de 2006. Após 12 meses de uso de Imatinibe, foi realizado cariótipo que detectou a presença do cromossomo Philadelphia em todas as células analisadas. Associado Interferon α , porém não apresentou resposta em três meses da associação, sendo suspenso e iniciado tratamento com hidroxiuréia associado ao Imatinib, mantendo-se assintomática por mais 15 meses, quando apresentou lesões sugestivas de herpes-zoster com infecção secundária. Em junho de 2009, foi realizado novo cariótipo com resultado semelhante iniciado Desatinibe. Em Agosto

de 2009, foi internada após apresentar febre, lesões dermatológicas compatíveis com dermatite crônica inespecífica em resultado de biópsia, além de leucopenia importante e plaquetose. Melhora do quadro após antibioticoterapia. Após seis meses ainda sem resposta hematológica (mantinha plaquetose), foi novamente internada devido ao quadro de lesões herpéticas de repetição e pneumonia. Durante a internação foi substituído Desatinibe por Nilotinibe, porém sem resposta satisfatória, e foi reintroduzido Hidroxiuréia 1 ano depois. Em Nov de 2012, foi então realizada pesquisa de mutação do gene ABL e detectado a presença da mutação F311I. Atualmente a paciente aguarda doador compatível para transplante alogênico não aparentado, após não apresentar parente compatível. **Discussão:** Após pesquisa literária percebemos quanto ainda é desconhecido os efeitos da mutação F311I no tratamento da Leucemia Mielóide Crônica. Há apenas poucos relatos onde essa mutação foi encontrada, e pouco seguimento com uso das medicações atualmente disponíveis. Descrevemos este caso no intuito de auxiliar a busca de dados frente a descoberta de tal mutação.

401

Avaliação do potencial citotóxico e antiproliferativo da reversina na leucemia mieloide crônica

Alves AP¹, Scheucher PS¹, Lucena-Araujo AR¹, Falcão RP¹, Oliveira FM¹

¹Universidade de São Paulo

A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa clonal decorrente da aquisição do cromossomo Philadelphia (Ph) pela célula tronco hematopoiética (HSC). Isto é caracterizado pela translocação recíproca t(9;22)(q31;q11). A consequência molecular da translocação cromossômica é a formação da fusão gênica *BCR/ABL*, e seu produto proteico, a proteína quimérica *BCR/ABL*, com atividade tirosino quinase aumentada, responsável pela patogênese da LMC. Inibidores de quinase específicos, como por exemplo, o mesilato de imatinib (Gleevec, Glivec; STI571) e o dasatinibe (Sprycel) previnem a atividade tirosino-quinase *BCL/ABL* e são ativos no controle da LMC por meio da indução seletiva de apoptose em células Ph+. Porém, cerca de 40% dos pacientes com LMC apresentam refratariedade ou resistência ao tratamento. A mutação T315I constitui a mais comum mutação encontrada em pacientes que não respondem ao tratamento com imatinib. Por isso, a necessidade de busca de novos alvos de interesse para terapia em pacientes com LMC. A descoberta de que genes da família aurora quinase encontravam-se hiperexpressos em diversas neoplasias, incluindo as leucemias impulsionou o desenvolvimento de agentes capazes de inibir suas atividades. Os genes *AURKA* e *AURKB* desempenham importante papel durante o processo de divisão celular. A reversina [2-(4-morpholinoanilino)-N6-cyclohexyladenina] constitui uma nova geração de moléculas sintéticas, a qual inibe seletivamente a atividade quinase das auroras A e B, por meio da fosforilação da histona H3. A utilização dos inibidores de aurora quinase na leucemia mieloide crônica representa uma estratégia original, frente à refratariedade observada no tratamento de pacientes com imatinib ou inibidores de segunda e terceira geração. Dessa forma, constituem objetivos deste trabalho a avaliação dos efeitos da reversina sobre a proliferação, apoptose e modulação dos níveis de expressão dos genes *AURKA*, *AURKB* na linhagem de leucemia mieloide crônica K562. Avaliamos os níveis de expressão de aurora quinase (A e B) da K562. Verificamos níveis aumentados de aurora A e B, quando comprados a amostras de medula óssea de doadores saudáveis. A reversina induziu inibição da viabilidade celular, causou acúmulo de células com conteúdo 4N/8N, mediou o processo de apoptose e inibiu a proliferação celular na linhagem leucêmica K562 como mensurado por tripan red 0,2%, análise do ciclo celular, anexina V e Ki-67, respectivamente. Os resultados evidenciaram que os efeitos produzidos estão associados tanto à concentração da reversina utilizada nos experimentos, quanto ao tempo de exposição

à droga. Similarmente ao inibidor de aurora quinase VX-680, o qual recentemente entrou em ensaios clínicos fase II destinados ao tratamento neoplásico, a reversina inibiu a formação de colônias mieloides de células leucêmicas em pacientes com leucemia mieloide aguda (LMA), porém com resposta significativamente menos tóxica do que o VX-680. A reversina representa um potencial papel como um novo agente terapêutico na leucemia mieloide crônica.

402

Evolução clínica de pacientes com neoplasia mieloproliferativa acompanhados no Serviço de Hematologia do HCUFGM

Clementino NC¹, Souza C¹, Magalhães GH¹, Cardoso PR¹, Afonso L¹, Hugo CP¹, Rabelo HK², Santana SA¹

¹Hospital das Clínicas da UFMG

²Faculdade de Medicina da UFMG

Introdução: A detecção precoce do F1P1L1-PDGFA em pacientes com hipereosinofilia crônica não explicada é hoje considerada crítica para a ótima conduta pois sua presença é associada com altas taxas de morbidade e mortalidade e o imatinibe é um agente terapêutico de primeira linha extremamente eficaz e bem tolerado para esta condição. Devido ao péssimo prognóstico da doença associada ao F1P1L1-PDGFA o tratamento com imatinibe é indicado mesmo na ausência de complicações clínicas assim que a mutação é descoberta, isto é, mesmo para os raros pacientes que continuam assintomáticos. Ao avaliar um paciente com hipereosinofilia que não é secundária, a possibilidade de neoplasia mielóide associada ao PDGFR alfa, beta ou FGRF deve ser investigada. O rearranjo PDGFA é a fusão de genes causada pela deleção intersticial envolvendo o cromossomo 4q12, detectado por FISH ou RT-PCR. O rearranjo PDGFRB ocorre devido a uma translocação envolvendo o cromossomo 5, principalmente no segmento q33, sendo detectado pela citogenética convencional. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho é descrever a evolução de pacientes com mutação no PDGFA ou beta ou sem mutação, que foram acompanhados em nossa instituição de janeiro de 2002 a julho de 2013. **Métodos:** Um total de 9 pacientes, quatro com mutação no PDGFA detectada por RT-PCR, três pacientes com alteração no PDGFRB detectada pelo cariótipo e dois sem mutação ou alteração genética detectada mas com sinais de doença mieloproliferativa, tratados com imatinibe foram estudados. Dos nove pacientes, oito eram homens. A idade ao diagnóstico variou de 25 a 54 anos com mediana de 37 anos. Todos tinham eosinofilia a apresentação e a média da contagem absoluta de eosinófilos foi de 14.700 /mm³ (variando de 1.571 a 54.460/mm³). A contagem média dos leucócitos foi de 42.000/mm³ (variou de 12.800 a 63.150/mm³). A média da hemoglobina foi de 10,5 g/dl, variando de 7,6 a 13,5 g/dl. A maioria dos pacientes tinha sintomas constitucionais como febre e emagrecimento, sintomas de fadiga e hepatoesplenomegalia. Um paciente era assintomático e teve detecção da leucocitose e eosinofilia em exame admissional. Nenhum paciente evidenciou envolvimento cardíaco pela avaliação pelo ecocardiograma ou por sintoma clínico. Nenhum paciente apresentou sintomas ou sinais de envolvimento neurológico ou de pele. A presença de tosse com infiltrado pulmonar e sintomas gastrointestinais como diarreia e dor abdominal também foram frequentes. Todos os pacientes foram tratados com imatinibe com dose inicial variando de 100 a 400 mg/dia, associado inicialmente com corticóide 1mg/Kg por uma semana. Todos os pacientes obtiveram remissão hematológica com 100mg de imatinibe, com exceção de uma paciente que necessitou de dose de 400mg/dia para obter remissão. Atualmente todos os pacientes estão em resposta hematológica, molecular e citogenética, sendo sete deles com dose de 100mg por dia, um paciente com 100mg por semana e uma paciente mantém dose de 400mg/dia.

LEUCEMIA LINFÓIDE CRÔNICA E OUTRAS DOENÇAS LINFOPROLIFERATIVAS CRÔNICAS

403

Tricoleucemia com acometimento ósseo: tratamento com bifosfonatos

Damach FM¹, Araujo GM^{1,2}

¹Faculdade de Medicina do UNIPAM

²Hospital Nossa Senhora de Fátima

Introdução: A tricoleucemia é uma doença linfoproliferativa rara de células B malignas, de ocorrência predominante em homens e que corresponde a aproximadamente 2% dos casos de leucemias. Tem um curso indolente, comumente apresentando pancitopenia, infiltração medular e esplenomegalia. Várias outras complicações incomuns tem sido descritas como meningites, compressão nervosa, derrame pleural, ascite. Entre essas complicações o envolvimento esquelético é clinicamente relevante e a dor persistente pode levar ao diagnóstico nesses casos. **Objetivo:** Relatar o caso de paciente com tricoleucemia com acometimento ósseo e seu tratamento combinado com bifosfonatos. **Relato de Caso:** Paciente masculino de 36 anos, previamente hígido, com relato de dor em quadril com 6 meses de evolução. Não apresentava outras queixas e/ou alterações clínicas e físicas ao exame. Exames de ressonância nuclear magnética do quadril e fêmur direito e esquerdo mostrou lesões líticas nos ossos do quadril e fêmur. Encaminhado para serviço especializado para realização de biópsia guiada nas lesões. Os fragmentos ósseos foram enviados para análise onde o anatomopatológico constatou: medula óssea hipocelular para a idade; ausência de sinais de infiltração neoplásica. A análise imunohistoquímica mostrou ser sugestiva de tricoleucemia. Foi avaliado pelo hematologista para validação do diagnóstico e proposta terapêutica. Exames laboratoriais não apresentavam alterações. O diagnóstico foi de tricoleucemia com acometimento ósseo. Optado por quimioterapia com cladribina por 7 dias em um único ciclo e realizar o uso de pamidronato 90mg 28/28 dias por 01 ano para tratar das alterações ósseas encontradas. Durante a quimioterapia o paciente passou bem e teve alta em boas condições. Manteve o uso de pamidronato 90mg EV 28/28 dias por 01 ano. Com 01 ano pós QT o mesmo foi reavaliado e mostrou que a doença não estava em atividade e as lesões ósseas tinham regredido. RNM: bacia: normal; coxa direita e esquerda: lesão lítica acometendo o aspecto pósterior da cabeça femoral E. Focos esparsos de anomalia de sinal acometendo a medula óssea de ambos os fêmures, sem evidências de agressividade, de aspecto inespecífico ao método. Melhora significativa do quadro radiológico em relação aos estudos anteriores disponíveis para comparação. **Discussão:** O envolvimento ósseo pela tricoleucemia apesar de ser raro é bem documentado. As taxas de incidências variam de 0 a 13% em diferentes séries. A maior parte das apresentações contam com uma história prévia de tricoleucemia, mas em casos raros as lesões ósseas são a manifestação inicial. Nesses casos o acometimento é principalmente no esqueleto axial, cabeça do fêmur, pelve, tibia, úmero. A dor prolongada é uma manifestação constante em quase todos os casos. O tratamento com quimioterapia sistêmica é curativo em praticamente todos os casos. Porém a presença das lesões líticas podem ser tratadas de forma adequada com uso de bifosfonatos e com sucesso. **Conclusão:** O envolvimento esquelético parece não afetar o prognóstico e a doença pode ser tratada de forma adequada com quimioterapia sistêmica. O uso dos bifosfonatos podem ser utilizados de forma segura para controlar os danos ósseos causados pela doença.

404

High expression of EZH2 is associated with cytogenetic abnormalities, ZAP-70 expression and high white blood cell count in patients with chronic lymphocytic leukemia

Eira VB¹, Alves-Silva JC¹, Lucena-Araújo AR², Rabello DA¹, Rego EM², Oliveira FM², Cals-Vasconcellos MC³, Pittella-Silva F¹, Saldanha-Araújo F¹

¹Laboratory of Molecular Pathology of cancer, Faculty of Health Sciences, University of Brasília (UnB), Brasília, DF, Brazil

²Department of Internal Medicine, School of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

³Hospital de Base do Distrito Federal, Brasília, Brazil

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is characterized by the accumulation of mature B cells in the blood, bone marrow and lymphoid organs. The clinical course of CLL is extremely heterogeneous and many patients present an indolent disease, while others have an aggressive clinical outcome, requiring immediate treatment. Most patients with the aggressive clinical form of the disease present high expression of the tyrosine kinase ZAP-70, while those with the more indolent clinical course show low expression of the protein. It is known that genetic factors are involved in the development of CLL, but the pathophysiology of the disease is still unclear. Several studies show that the disruption of epigenetic processes can lead to malignant cellular transformation. In this sense, it has been demonstrated that the expression of Enhancer of Zeste Homolog Type 2 (EZH2) is related to the development of lymphoma and acute lymphoblastic leukemia. Here we evaluate the expression of the EZH-family genes, EZH1 and EZH2, in peripheral blood (PB) cells of fifty-nine CLL patients by Real Time Quantitative PCR and correlate the findings with white blood cells (WBC) count, ZAP-70 protein expression and classical cytogenetics. Among the patients analyzed, 66% were classified as Binet A, 22% as Binet B and 12% as Binet C. We show that the expression of EZH2 was higher in CLL patients than in control samples ($p < 0.0001$), but no difference was detected regarding EZH1 gene expression ($p = 0.13$). Based on the continuous distribution of the EZH gene expression on CLL samples, we adopted the median value of EZH1 and EZH2 expression as the cut-off to dichotomize CLL patients in "low" and "high" EZH1 and EZH2 expression. Differential EZH1 expression had no impact on platelets counts ($p = 0.15$) ZAP-70 protein expression ($p = 0.19$) or cytogenetic abnormalities ($p = 0.12$); however, patients with low EZH1 expression had a higher WBC counts compared to those with high EZH1 expression ($p = 0.005$). In contrast, patients with high EZH2 expression showed higher ZAP-70 protein expression compared to patients with low EZH2 expression ($p = 0.005$). Furthermore, Spearman analysis revealed a strong association correlation between EZH2 gene expression and WBC counts (95% CI: -0.03421 to 0.6396; $p = 0.032$), being that patients characterized with high EZH2 expression showed higher WBC counts, compared to those expressing low levels of the gene ($p = 0.002$). Additionally, Fisher's exact test showed that high EZH2 expression had a significant association with cytogenetic abnormalities (relative risk: 6.12 [95% CI: 2.080 to 18.04], $p = 0.0005$). Taken together, our results clearly demonstrate that EZH2 overexpression is related to a poor prognosis of CLL and could be a useful tool to assess its aggressiveness. Furthermore, the results obtained in this study can serve as a basis for further studies aimed at exploring epigenetic mechanisms in order to develop new therapeutic approaches for the treatment of CLL.

405

Análise da significância das mutações JAK2 nos níveis plaquetários, da dose de manutenção do fármaco utilizado e da presença de trombose em pacientes com trombocitemia essencial

Caunetto IM¹, Poblete NC¹, Yamashita SS¹, Mauad VA¹, Ribeiro AR¹, Vieira J¹, Navarro LM¹, Jablonka F¹, Borducchi DM²

¹Disciplina de Hematologia e Oncologia da Faculdade de Medicina do ABC

²Disciplina de Hematologia e Oncologia da Faculdade de Medicina do ABC e Central Clínica

Introdução: A trombocitemia essencial (TE) é uma doença clonal da célula progenitora da medula óssea, sendo uma das síndromes mieloproliferativas. A doença afeta as três séries hematopoéticas (eritrócítica, granulocítica, e megacariocítica), mas a expressão fenotípica predominante é na série megacariocítica, responsável pela produção e diferenciação das plaquetas. Geralmente, a TE atinge o grupo etário entre os 50 e 70 anos de idade. A distribuição entre os gêneros é igual e raros casos familiares têm sido descritos. As manifestações clínicas da TE são múltiplas, sendo que 30% dos doentes estão assintomáticos, quando são diagnosticados. Os sintomas mais comuns são: epistaxe, equimoses e trombose. É notável, entre os pacientes com TE, a mutação do gene JAK2 V617F e/ou do BCR-ABL. **Objetivo:** Avaliar o impacto das mutações JAK2 V617F sobre os níveis plaquetários de pacientes com diagnóstico firmado de trombocitemia essencial (TE), além de analisar a presença de trombose ao diagnóstico e a dose de manutenção de hidróxiureia para manter a taxa de plaquetas normalizada. **Métodos:** Foram avaliados 53 pacientes provenientes de clínica privada e ambulatorios de especialidade da região de Santo André, com diagnóstico prévio de TE quanto aos níveis plaquetários no momento do diagnóstico. Mediante normalização da variável contínua (níveis plaquetários) aplicamos o teste de ANOVA relacionando-a à variável categórica de presença ou ausência de mutação. Além disso, avaliou-se a presença de trombose ao diagnóstico e a dose de manutenção do fármaco utilizado para manter os níveis plaquetários adequados. **Resultados:** Dos 53 pacientes avaliados, 36 apresentavam pesquisa de mutação, sendo estes os incluídos em nossa análise. Eram 15 homens e 21 mulheres, com média de idade de 56 anos, variando entre 15 e 86 (Dp de 20). Foram avaliados 16 pacientes WT/WT contra 20 no grupo com mutações, sendo que não foram identificados, neste grupo, pacientes com mutações BCR-ABL. Ao fim das análises obtivemos, no grupo WT/WT, níveis plaquetários médios de 906 200/mm³ (Dp 375 652) e no grupo com mutação JAK2 níveis médios de 696 000/mm³ (Dp 174 586). A análise estatística pelo teste de ANOVA resultou em $p = 0.033$, a favor do grupo mutado, que apresentou níveis significativamente menores de plaquetas. Nas doses de hidróxiureia necessárias ao tratamento desses pacientes, verificou-se o mesmo: pacientes mutados necessitavam de doses médias significativamente menores, $p(\text{ANOVA}) = 0.024$ (700mg/dia contra 982mg/dia no grupo WT/WT). Além disso, a presença de trombose não foi relevante para o desenvolvimento da TE, nem foi um sinal para tal, já que nenhum paciente apresentava trombose. Assim, na população estudada, foi observado uma aparente relação da presença de mutações JAK2 com níveis plaquetários significativamente menores, sugerindo a importância dessa pesquisa no diagnóstico desses pacientes.

406

Anti-CD20: possibilidade terapêutica na doença de CastlemanPoblete NC¹, Silva SS¹, Jablonka F¹, Borducchi DM²¹ *Disciplina de Hematologia e Oncologia da Faculdade de Medicina do ABC*² *Disciplina de Hematologia e Oncologia da Faculdade de Medicina do ABC e Central Clinica*

Introdução: A Doença de Castleman é um distúrbio linfoproliferativo raro, com diferentes manifestações, o que dificulta a realização de ensaios clínicos à procura da melhor terapêutica. A doença localizada pode ser tratada cirurgicamente, no entanto, a forma multicêntrica deve ser abordada sistemicamente. O uso do rituximab em pequenos estudos tem demonstrado resultados promissores. **Objetivo:** Descrever casos de Doença de Castleman tratados com rituximab. **Relato de caso 1:** RM, 42 anos, masculino, diagnóstico de SIDA, em uso de anti-retrovirais. Em 2007, iniciou com quadro de febre intermitente, perda de peso (> 10%) e sudorese noturna. À tomografia, apresentava linfonodomegalias cervicais, mediastinais, retroperitoneais e inguinais. Foi submetido à biópsia de gânglio cervical que revelou hiperplasia linfóide angiofolicular CD20+ e HHV8+. Iniciou tratamento com Rituximab – 375mg/m²/semana durante 4 semanas. Paciente em remissão completa mantida da doença há 6 anos. **Relato de caso 2:** JLRR, 46 anos, masculino, diagnóstico prévio de SIDA, apresentando quadro de insuficiência renal e pancitopenia de origem auto-imune, tendo sido submetido à pulsoterapia com metilprednisolona. Após 6 meses, paciente inicia quadro de febre vespertina, sudorese noturna e dispneia aos pequenos esforços. A tomografia de tórax demonstrava linfonodomegalia mediastinal, cuja biópsia foi compatível com hiperplasia linfóide angiofolicular CD20+ e HHV8+ (31/03/2007). Tratado com anti-CD20 (Rituximab 375mg/m²/semana por 4 semanas). Paciente em remissão completa há 6 anos. **Relato de caso 3:** ATRF, 49 anos, masculino, diagnóstico de SIDA, em uso de anti-retrovirais, há 3 anos iniciou com pequenos nódulos indolores em regiões cervical e inguinal, os quais, há aproximadamente 2 anos, passaram a acometer, também, as cadeias axilares e supraclaviculares. Em 2011, paciente foi submetido a biópsia de gânglio inguinal, a qual revelou hiperplasia linfóide reacional. Em março de 2013, paciente foi submetido a outra biópsia de gânglio inguinal, com resultado de hiperplasia linfóide angiofolicular, CD20+ e HHV8+. Paciente iniciou tratamento com rituximab 375mg/m²/semana por 4 semanas, com boa tolerância. **Conclusão:** O Rituximab como primeira linha de tratamento para a Doença de Castleman, em nosso trabalho, demonstrou ser eficaz, bem tolerado e com baixa toxicidade.

407

Overview of cytogenetic abnormalities in malignant hematological diseasesFernandes AM¹, Carminé FO¹, Alves EB¹, Fraiji NA¹, Ferreira YA¹, Lemos RA¹, Salina TD¹, Weber SS¹¹ *Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (FHEMOAM)*

The malignant cells in many patients with malignant hematologic disease have acquired clonal chromosomal abnormalities, which are valuable in the diagnosis and prognosis. Keeping in view the diagnostic and prognostic significance of cytogenetic abnormalities, we reported the abnormal karyotypes observed in 89 patients seen at our institution from March 2010 to May 2013. The main was report and discuss the chromosomal aberrations in hematologic diseases, detected in peripheral blood and bone marrow cells from FHEMOAM patients. Cytogenetic analysis was performed using a Trypsin-Giemsa

banding technique. Cells were obtained from aspirated bone marrow (347 patients) or peripheral blood (22 patients) samples, before therapy. Chromosome studies were performed with 24 and 48h unstimulated cultured bone marrow cells or 72h stimulated peripheral blood samples. At the least 10 metaphases were analyzed in every case by G-banding technique and cytogenetic abnormalities were defined according to ISCN. A total of 369 samples were submitted to the cell culture, however, 138 (37.5%) had no success in achieving cells in the analysis conditions (metaphase). Of the 231 patients with adequate samples, 142 (38.5%) had a normal karyotypes, and 89 (24%) had cytogenetic abnormalities. The group of patients with abnormal karyotypes was grouped into 4 categories of hematological malignancies, by WHO classification. Among the 89 patients with abnormal karyotypes, 27 (30%) presented diagnosis of lymphoproliferative disorders (LPDs), followed by acute myeloid leukemia (AML) with 25 cases (27%), myeloproliferative neoplasms (MPNs) with 22 (25%) and myelodysplastic syndromes (MDS) with 15 (17%). The importance of cytogenetic abnormalities was particularly emphasized in each hematological malignancy. Here, we seek discussion about prognostic indicators and occurrence of each abnormality. The t(9;21) appeared in all patients (20) with CML, in which represents a good prognosis. While the same translocation, in acute lymphoblastic leukemia (ALL), represents a poor prognosis, and was observed in 9 individuals (37%) with this malignancy and 2 (50%) with biphenotypic acute leukemia (BAL). We found t(15;17) in 7 cases (28%) of M3 subtypes of AML, which generates a gene fusion (PML-RARA), involved in leukemogenesis of the acute promyelocytic leukemia (APL). The t(4;11) (MLL/AF4) was observed in just one case of t(4;11) in adult with ALL. Two patients with T-cell acute lymphoblastic leukemia (ALL) and rearrangement involving band 14q11 are described. This data can be explained because the T-lymphoid malignancies frequently involve the T-cell receptor (TCR) genes, with the TCR α/δ locus on chromosome 14q11 being one of the most commonly affected. In the other hand, we were not able to detect changes over common in B-ALL, t(12;21), which involves translocation between light bands on both chromosomes, which makes their identification by conventional cytogenetic. Finally, we were able to detect many cytogenetic abnormalities in MDS cases, including some complex karyotypes. Therefore, this study allowed us to understand the cytogenetic findings in our service. In addition, we calling attention to the limitations of the technique and emphasizing the importance of the implementation of new technologies.

408

Avaliação do FISH em leucemia linfóide crônica em pacientes acompanhados em centro único no BrasilRocha TM¹, Fortier SC¹, Pinto MS¹, Galdino TG¹, Iqueoka RY¹, Alves RC¹, Chiattoni CS¹¹ *Faculdade Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo*

Introdução: A leucemia linfóide crônica (LLC) é a leucemia mais frequente no ocidente. Até recentemente, a avaliação prognóstica era determinada por características clínicas e laboratoriais com a utilização exclusiva do hemograma. Atualmente, novos marcadores tumorais foram incorporados a pesquisa e prática clínica. Entre estes marcadores estão o uso da citogenética convencional e do FISH (hibridização in situ) que separam os pacientes portadores de LLC em subgrupos específicos com prognósticos e respostas distintas ao tratamento. São avaliadas, mais frequentemente, as alterações del13q14; tr12; del11q22-23; del17p. **Objetivo:** Demonstrar a ocorrência das alterações por hibridização in situ de uma pequena amostra de pacientes acompanhados na Santa Casa de São Paulo e correlacionar com o prognóstico descrito para cada alteração. **Métodos:** Foram estudados 30 pacientes. A realização do FISH na Santa Casa de São Paulo é realizada antes do início do tratamento. **Resultados:** Dos 30 pacientes analisados, 28 possuíam dados para avaliação. A mediana de idade dos pacientes foi de 63 anos, com 50% do sexo masculino.

Sessenta por cento apresentava RAI 0/II e 34% RAI III/IV. Com relação ao estadiamento de BINET, 43% possuía BINET A, 23,2% BINET B e 26,7% BINET C. Vinte por cento possuíam COOMBS direto positivo ao diagnóstico e 69,2% possuíam b2microglobulina elevada também ao diagnóstico. Em relação ao FISH, 33% apresentavam del1p; 23,3% del11q; 33,3% trissomia 12; 73,3% del13q, 20% del17p e 10% de cariótipo normal. Como a mediana de seguimento após a realização do exame foi curta não foi possível estabelecer a sobrevida global por grupos de risco estabelecidos pelo FISH. **Conclusão:** Apresentamos as alterações do exame FISH em uma pequena população de pacientes portadores de LLC de um único centro. Como o período de acompanhamento foi curto, não foi possível ainda demonstrar diferenças entre as curvas de sobrevida para cada grupo de risco determinado pela citogenética.

409

Relato de dois casos de "neoplasia de células natural killer" - desafio diagnóstico

Soares AC¹, Carvalho AC¹, Souto EX¹, Maciel FV¹, Barroso RS¹, Viana MA¹, Silva AF¹, Alves CS¹, Sousa LB¹

¹Laboratório Diagnósticos da América - DASA

Introdução: As células Natural Killer (NK), são células efectoras não restritas ao complexo maior de histocompatibilidade e tem ação citotóxica contra células-alvo e produção de citocinas. Normalmente expressam os antígenos CD3 citoplasmático (cy), e não o de superfície, CD16 e CD56, podem expressar também o CD2 e CD8. As neoplasias de células NK são doenças linfoproliferativas raras e de prognóstico ruim. São mais comuns em indivíduos asiáticos e latino-americanos. A Organização Mundial da Saúde as classificou em três tipos: o mais comum é o Linfoma de Células T/NK tipo nasal (ENLKL) com envolvimento de estruturas da linha média e cavidade nasal. Este tipo raramente infiltra a medula óssea ao diagnóstico. Outro tipo de patologia é a Leucemia /Linfoma Agressivo de Células NK (ANKL) menos comum e que frequentemente apresenta-se como forma leucêmica com ou sem presença de linfonodomegalias e massas. Tem um curso muito mais agressivo que o anterior. O terceiro tipo é uma neoplasia de células NK de curso indolente: Doença Linfoproliferativa Crônica de Células NK (CLPD-NK) que pode progredir para uma doença mais agressiva. **Objetivo:** Relatar dois casos de neoplasias de células NK que foram recebidos num Serviço de Citometria de Fluxo, com escassos dados clínicos e enfatizar a dificuldade diagnóstica destas neoplasias raras. **Métodos:** Paciente 1) MLAP, 64 anos, sexo fem., quadro clínico informado: mal estado geral, pancitopenia, gânglios cervicais e manchas em pele. Paciente 2) RSS, 73 anos, sexo masc., portador de Linfoma não-Hodgkin (sic). Os esfregaços de medula óssea (MO) de ambos os pacientes foram corados pelo corante de Leishman e observados em microscópio. Foi realizado estudo imunofenotípico de ambos os materiais em Citômetro de Fluxo de 4 cores FACSCalibur e marcados com amplo painel de anticorpos monoclonais. **Resultados:** À microscopia óptica foram observados no paciente 1) infiltração de MO por 38% de células linfóides de aspecto maduro, algumas com granulações azurófilas finas no citoplasma; no paciente 2) MO com infiltração por 52% de células anômalas de médio a grande tamanho, alta relação núcleo-citoplasma e citoplasma basofílico e agranular. O estudo imunofenotípico revelou os seguintes resultados: paciente 1) 29% de células de médio tamanho, baixa complexidade interna, com positividade para o CD45 de moderada a alta intensidade e positividade para CD2, CD3 cy, CD7, CD11b e CD56; paciente 2) 34% de células de médio a grande tamanho, baixa a moderada complexidade interna, CD45 de alta intensidade e positividade para CD2, CD3 cy, CD7, CD56. Ambos os pacientes foram diagnosticados com Neoplasia de Células NK, sendo classificados a paciente 1) como ANKL e o paciente 2) como ENLKL. **Conclusão:** Ressaltamos a raridade e a dificuldade diagnóstica destas neoplasias

especialmente com dados clínicos escassos. Destacamos ainda que os casos apresentavam características morfológicas e clínicas distintas, porém imunofenótipos bastante semelhantes.

410

Leucemia-linfoma de células T do adulto: relato de caso

Campos MB¹, Meirelles TB¹, Frutuoso AV¹, Souza HA¹, Mello CM¹, Crivelatti A¹

¹Universidade Federal de Mato Grosso

A leucemia-linfoma de células T do adulto (LLcTA) é uma neoplasia de linfócitos T maduros relacionada à infecção pelo vírus linfotrópico de células T humanas do tipo I (HTLV-I) – infecção endêmica no Brasil, apesar da baixa prevalência. De acordo com os achados clínicos e laboratoriais, a LLcTA pode ser dividida em quatro formas clínicas (agudo, linfoma, crônico e smoldering), importantes para o prognóstico e tratamento. Buscamos neste relato descrever um caso clínico de LLcTA diagnosticada no Hospital Universitário Júlio Muller, Cuiabá, MT. E. S. B., mulher, 48 anos, natural e procedente de RO, com lombalgia intensa há 2 meses, associada a dor e parestesia intermitente de membro inferior direito, febre noturna intermitente, alopecia, prurido cutâneo difuso e lesões em MMII. Ao exame físico, palidez cutânea (+/4+), lesões descamativas e verrucosas em MMII e genitália, lesões enegrecidas em grande lábio direito. Presença de 5 gânglios submandibulares, 1 supraclavicular e 1 axilar palpáveis, medindo 1 a 2cm, sendo somente dois endurecidos. Mamas assimétricas. Esquerda maior e dolorosa e direita com adensamento às 12h. Murmúrio vesicular diminuído em base direita, com estertores crepitantes. Sopro sistólico ++/6+, em foco pulmonar. Dor a palpação de hipocondrio direito, fígado palpável a 3cm do rebordo costal. Edema de membros inferiores ++/4+, artralgia, e dor à percussão dos processos espinhosos da coluna lombar. Kernig e Lasegue positivos bilateralmente. Presença de nodulações pétreas em membro superior esquerdo, face dorsal do punho e do 3ºquirodátilo. Em exames laboratoriais apresentou anemia, leucocitose importante com predomínio linfocítico, hipercalcemia, aumento importante do LDH. A sorologia para anti-HTLV I/II foi reagente. A tomografia trouxe consolidação pulmonar em base direita e fratura não patológica em L4 e L5 sugestiva de osteoporose. Biópsia de lesão verrucosa sugestiva de eczema crônico. Avaliação de sangue periférico com inúmeras "flower cell". Imunofenotipagem positiva para CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD25, CD27, CD45, CD45RA, CD45RO, HLA-DR, TCRαβ, TCRγδ. CD7, CD45RA, HLA-DR positivos só nos linfócitos CD8. CD45RO positivo só nos linfócitos CD4. Negativo para CD11c, CD16, CD19, CD56, CD57, cadeias leves κ e λ. Este caso de LLcTA aguda, enquadra-se nos seguintes critérios diagnósticos: presença de anticorpos séricos para o HTLV-I; comprovação citológica de leucemia e ou linfoma de células T maduras com antígenos de superfície CD4/CD25; presença de linfócitos T anormais em sangue periférico, principalmente "flower cell"; e proliferação de linhagem linfóide T madura de fenótipo aberrante à imunofenotipagem. A LLcTA aguda é a mais comum, sendo agressiva e cursando com linfadenomegalia, hepatosplenomegalia, lesões cutâneas, ósseas, do sistema nervoso central e acometimento de múltiplas vísceras. Manifesta-se com leucemia aguda, numerosos linfócitos atípicos no sangue periférico, hipercalcemia e aumento importante do LDH. Praticamente todos os achados clínicos e laboratoriais relatados foram encontrados na paciente em questão. Por constituir forma grave e rara de LLcTA, e ser mais rara no sexo feminino (apenas 2.1% das mulheres portadoras do vírus HTLV desenvolvem LLcTA), o caso nos chamou atenção. Essa neoplasia, sobretudo nesta forma clínica, possui um curso clínico extremamente agressivo, apresentando baixa resposta aos tratamentos quimioterápicos atualmente propostos.

411

Diagnóstico concomitante de leucemia linfocítica crônica e mieloma múltiplo: relato de caso e revisão de literatura

Silva MC¹, Souto EX², Bigonha JG¹, Carvalho AC², Vargas AP¹, Freire MH¹, Soares AC², Maciel FV², Barroso RS², Figueiredo VL¹

¹Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo – IAMSPE

²Laboratório Diagnósticos da América - DASA

Introdução: Leucemia Linfocítica Crônica (LLC) e Mieloma Múltiplo (MM) são duas neoplasias derivadas de linfócitos (LY) B em diferentes estágios de maturação que diferem quanto à apresentação, evolução e tratamento. A concomitância de LLC e MM é incomum e apresenta diversas questões ainda não respondidas, compreendendo desde a origem destas células tumorais até qual seria o tratamento ideal. **Relato de Caso:** J.V.P(M), 78 anos, deu entrada no PS por epistaxe. Exames mostraram Hb=7,3g/dL, GB=11400/mm³(LY=81%), PLT=149000/mm³, Cr=2,5mg/dL, Ca(i)=1,4mmol/L, Alb=3,8g/dL, Globulina=8,5g/dL. Internou com suspeita confirmada de MM pela plasmocitose (80%) em medula óssea (MO), pico monoclonal em eletroforese de proteína sérica (IgG lambda) e lesões osteolíticas em crânio e ossos longos. Imunofenotipagem de sangue periférico (SP): 66% LYB clonais, com imunofenótipo característico de LLC (Escore de Matutes[EM]=5, CD38- e CD138-) e 0,5% de plasmócitos [PL] (CD38+, CD138+, CD45+mod e CD19-). Imunofenotipagem da MO: 35% de PLs clonais Lambda CD38+, CD138+, CD45+ mod, CD56+ e CD19-, compatíveis com MM e 17% de LY B clonais Lambda com imunofenótipo LLC. Fechou-se diagnóstico de MM e LLC. Cariótipo de MO:46, XY. Foi optado pelo protocolo VMP com Bortezomib 1,3 mg/m² [D1,D8,D15,D22], Melfalan 0,2mg/kg e Prednisona 100mg [D1-4]. Após o 3ºciclo o leucograma era normal, a anemia persistia, não havia resposta objetiva do MM (persistência de elevado pico monoclonal e hipercalcemia) e o paciente faleceu por arritmia cardíaca. **Discussão:** A concomitância entre as duas neoplasias é rara, apesar da relativa alta frequência de MM e LLC. A maioria dos relatos são de casos isolados ou de séries com poucos casos. Esta associação é geralmente diagnosticada de forma concomitante, menos frequentemente como LLC que evolui com MM (até 19 anos após o diagnóstico de LLC) e, raramente, casos em que MM evolui com LLC. Quando do diagnóstico concomitante, são as lesões orgânicas secundárias ao MM que, em geral, determinam o início do tratamento. Os esquemas terapêuticos descritos como efetivos para controle destas duas populações foram VAD seguido de Auto-TMO, 2-CDA, Dexametasona + Talidomida, Lenalidomida e, MP ±ciclofosfamida ±vincristina, mas é importante ressaltar que os tempos de seguimento relatados após o início de tratamento são curtos em torno de 1 a 3 anos. Síndrome de Richter, Leucemia Mielóide Aguda e falência medular pós-tratamento(s) são descritos. Os relatos mais recentes analisam alterações citogenéticas-moleculares (FISH, SNPs) e sugerem que os clones de LLC e MM têm origens distintas, contudo um estudo identificou um caso em que as imunoglobulinas das células de MM e LLC apresentavam os mesmos determinantes idiotípicos. **Conclusão:** O presente relato ressalta a raridade do caso, onde há concomitância de duas neoplasias hematológicas de células linfóides B em estágios distintos de maturação, de forma primária, ou seja, não relacionada à terapia quimio ou radioterápica prévia.

412

Leucemia linfocítica crônica com apresentação clínica e morfológica de mieloma múltiplo – relato de caso

Dametto AP¹, Ikoma MR¹, Penitenti M¹, Marques C¹, Conte JE¹, Mattos ER¹, Franceschi FL¹, Mauad MA¹, Colturato VA¹

¹Fundação Hospital Amaral Carvalho

As Doenças Linfoproliferativas Crônicas (DLPC) podem ter apresentações clínicas semelhantes, porém os pacientes portadores de Mieloma Múltiplo (MM) apresentam geralmente quadro clínico bem distinto de outras DLPCs. Descrevemos caso atendido no nosso Serviço, ilustrativo para distinção entre LLC com apresentação clínica não habitual e MM. **Relato de Caso:** Paciente de 71 anos, gênero masculino, afrodescendente, com história de dores abdominais, lombalgia e infecções de repetição por herpes zooster há 10 meses. Ao exames físico apresentava palidez discreta e não apresentava linfonodomegalias e hepatoesplenomegalia. Os achados de exames laboratoriais foram: Hemograma: Hb = 11,1 g%, Hto = 33% leucócitos = 31800/mm³, bastonetes: 1590/mm³, segmentados = 2862/mm³, basófilos = 1590/mm³, linfócitos maduros = 19080/mm³, linfócitos atípicos = 3816/mm³, monócitos = 2862/mm³, plaquetas = 210000/mm³, Creatinina = 0,9mg/dL Cálcio = 8,3 mg/dL, DHL = 180 U/L, VHS = 1mm/1ªhora. Eletroforese de Proteínas Séricas: pico monoclonal de gamaglobulina de 5,4 g/dL. Ao mielograma observou-se infiltração por células de linhagem linfóide pleomórficas pequenas e grandes com nucléolo, por vezes com núcleos monocitóides e tipo “flower-cells”, formas linfoplasmocitárias. A biópsia de medula óssea mostrou infiltração importante por doença linfoplasmocitária. Às radiografias simples de esqueleto foram observadas lesões líticas em crânio, clavícula esquerda, diáfise femoral esquerda. Realizou tomografia de tórax que mostrou lesões líticas em arcos costais e corpos vertebrais, além de massa paravertebral à direita. A imunofenotipagem de sangue periférico mostrava expressões de CD 19+, CD 20 +forte, CD 23+, cadeia leve Kappa de superfície+, CD5+ e FMC-7+ parciais, CD 200 +fraco, CD 38 e ZAP 70 negativos, sugerindo tratar-se de LLC com trissomia do cromossomo 12 ou del 13q. A imunofenotipagem da medula óssea mostrou 38,5% de linfócitos B com o mesmo fenótipo do sangue periférico e 0,33% de plasmócitos, sem monoclonalidade nem alterações de fenótipo. Concluiu-se que o fenótipo era compatível com Leucemia Linfocítica Crônica, não sendo observado fenótipo associado ao Mieloma Múltiplo. Embora os quadros clínico e laboratorial do paciente fossem típicos de Mieloma Múltiplo, a fenotipagem mostrou trata-se de LLC com fenótipo atípico, demonstrando a importância da utilização das várias ferramentas para diagnóstico de doenças hematopoéticas.

413

Deteccção da mutação BRAF-V600E em pacientes com tricoleucemia (TRL)

Leal CB^{1,2}, Caetano L³, Veiga G³, Cunha BC^{2,4}, Paula HS², Arantes AM², Saddi VA^{1,2,3}

¹Programa de Mestrado em Genética, Pontifícia Universidade Católica de Goiás

²Laboratório de Transplante de Medula Óssea e Setor de Anatomia Patológica do Hospital Araújo Jorge, Associação de Combate ao Câncer em Goiás

³Departamento de Medicina, Pontifícia Universidade Católica de Goiás

⁴Programa de Mestrado em Medicina Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás

A Tricoleucemia (TRL), do inglês: *Hairy Cell Leukemia*, é uma desordem linfoproliferativa rara e indolente, caracterizada pela infiltração de células B malignas com projeções citoplasmáticas na medula óssea,

fígado, baço, e ocasionalmente em linfonodos. O quadro clínico mais comum da TRL inclui esplenomegalia, pancitopenia e infecções recorrentes. O tratamento da TRL é feito com análogos de purina e interferon alfa e o diagnóstico é feito com análise do sangue periférico e da medula óssea dos pacientes, seguida de citometria de fluxo e imuno-histoquímica. Recentemente, a mutação BRAF-V600E foi identificada como o evento genético definidor da TRL. A mutação está presente e estável durante todo o curso da doença em pacientes com TRL e ausente em outras leucemias ou linfomas de células B. O objetivo desse estudo consistiu na detecção e caracterização da mutação BRAF-V600E em amostras de sangue periférico e de medula óssea de dois pacientes diagnosticados com TRL, em Goiânia-Goiás. Após a extração de DNA de células do sangue periférico e medula óssea, a detecção da mutação BRAF-V600E foi feita mediante amplificação de um segmento gênico do gene BRAF por PCR (reação em cadeia da polimerase), seguida de RFLP (análise de polimorfismo de fragmentos de restrição). Posteriormente, as amostras foram submetidas ao sequenciamento gênico automatizado para confirmação da mutação. O produto de amplificação do fragmento do gene BRAF com 224 pares de bases foi cortado com a enzima *Tsp* RI. A presença do alelo mutante resultou na formação de quatro fragmentos com 212-pb, 125-pb, 87-pb e 12-pb, enquanto que o alelo selvagem resultou na formação de três fragmentos contendo 125-pb, 87-pb e 12-pb. O sequenciamento direto do fragmento amplificado confirmou a presença da transição T1799A correspondente à mutação V600E na proteína BRAF. A proteína BRAF faz parte da via da MAPK, que controla a proliferação e a diferenciação celular. A mutação V600E torna a proteína BRAF constitutivamente ativada, o que resulta em um descontrole da proliferação e da diferenciação celular e, consequentemente, no desenvolvimento da doença. A mutação BRAF V600E é uma ferramenta importante para a confirmação do diagnóstico da TRL, já que sua detecção pode ser feita em sangue periférico e em biópsias de medula óssea de pacientes com Tricoleucemia. A presença da mutação BRAF V600E deve funcionar como um marcador específico para o diagnóstico da TRL, bem como um meio de monitorar o sucesso do tratamento.

414

Lise tumoral aguda em paciente com leucemia linfocítica crônica tratado com rituximab

Santos FO¹, Martins VL¹, Oliveira MM¹, Vaez R¹

¹Hospital 9 de Julho

Objetivo: Relatar um caso com rápida hipotensão e lise tumoral com infusão de rituximab em paciente sem exposição prévia a anti CD20 com diagnóstico de leucemia linfocítica crônica. **Relato de Caso:** Paciente masculino com 72 anos, que internou com quadro de astenia e anemia associado a leucocitose. Foram realizados exames de investigação com mielograma e imunofenotipagem compatível com leucemia linfocítica crônica. Recebeu alta para tratamento ambulatorial, porém reinternou após 7 dias devido a quadro infeccioso. Houve rápida progressão da proliferação celular, com duplicação dos linfócitos, sendo repetido mielograma e imunofenotipagem, mantendo o mesmo padrão. Após tratamento infeccioso foi optado por iniciar FCR-lite quando leucócitos estavam em 180mil. No dia da infusão após 100ml do rituximab 375mg/m² diluído em 500ml evoluiu com hipotensão e confusão mental, sendo transferido para UTI com quadro de acidose metabólica grave. Feito diagnóstico de Síndrome de lise tumoral aguda e iniciadas medidas para correção. Apesar da gravidade do caso evoluiu com correção da lise e conseguiu terminar o tratamento com rituximab quatro ciclos semanais na dose de 375mg/m². Recebendo alta hospitalar após 45 dias. **Discussão:** A Leucemia Linfocítica Crônica é uma doença de característica incidosa. O rituximab, uma droga anti CD20 tem demonstrado alta eficácia no tratamento desta patologia. Kevin, H Vo descreve quadro de hipotensão relacionado ao rituximab e há relato de e Jensen, M descreve

um caso semelhante a este em 1998 com síndrome de lise tumoral aguda. Alguns autores sugerem uma menor dose de rituximab para iniciar terapêutica em idoso com leucocitose maior que cem mil. Neste caso a dose inicial foi menor que a recomendada em literatura e completou os quatro ciclos de rituximab sem novas intercorrências mas a evolução não foi favorável. O paciente evoluiu com rápida progressão e invasão de pele e estômago por leucemia além de adquirir novas mutações no cariótipo. **Conclusão:** Pacientes que apresentam alta taxa de progressão celular devem receber terapia em ambiente hospitalar, o primeiro ciclo em menor dose para melhor controle da lise e dos efeitos colaterais das drogas como a hipotensão.

415

Frequency of NOTCH1 mutations in Brazilian patients with CLL

Campregher PV¹, Petroni RC¹, Muto N¹, Rodrigues JN¹, Sitnik R¹, Bacal N¹, Oliveira GB², Santana R¹, Metze IL², Chiattoni CS³, Hamerschlag N¹

¹Hospital Israelita Albert Einstein

²Hemocentro da Universidade Estadual de Campinas

³Faculdade de Medicina da Santa Casa de São Paulo

NOTCH1 is a proto-oncogene with activating mutations described in a variety of malignancies, including acute lymphoblastic leukemia (ALL), mantle cell lymphoma (MCL) and chronic lymphocytic leukemia (CLL). While the prognostic significance of NOTCH1 mutations remains controversial in ALL, recent data suggest that NOTCH1 PEST domain mutations are associated with adverse prognosis in patients with CLL. NOTCH1 mutations are found in around 8% of CLL patients at diagnosis, and since this disease has a heterogeneous clinical course and few prognostic markers, we aimed at designing a fast, cost effective and robust assay to detect NOTCH1 PEST domain mutations in patients with CLL. While 92% of the mutations in NOTCH1 PEST domain found in CLL are insertions or deletions, only 8% are represented by point mutations. Therefore we decided to use a fragment analysis approach in our assay. Given that a single mutation (c.7544_7545delCT), represents roughly 75% of all PEST domain mutations in CLL we designed a test that can, at the same time, detect the presence of this mutation specifically and also any insertion or deletion in exon 34. We designed a PCR reaction using one FAM-labeled forward primer anchored at codon 2407 and two reverse primers. One specific for the c.7544_7545delCT mutation anchored at codon 2414 yielding a product of 356 base pairs (bp) and one anchored at codon 2425, yielding a product of 391 bp, comprising the hot spot for mutations in the NOTCH1 PEST domain. Primers were designed with Primer3 software (<http://frodo.wi.mit.edu/>) and the specificity of the reaction evaluated using the tool "PCR in silico" (<http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr?command=start>). The test yields three possible outputs: a) A single 391 bp peak: wild type samples; b) Three peaks (391 bp, 389 bp and 356 bp): heterozygous for c.7544_7545delCT; c) Two peaks (391 bp and another bigger or smaller, depending on the size of insertion / deletion): another insertion or deletion, but not c.7544_7545delCT. We have studied 91 blood samples from CLL patients in diverse disease stages and found NOTCH1 mutations in 16 patients, (17.5%). When only patients with trisomy 12, isolated or with other cytogenetic abnormalities, were analyzed (N=16), we found an incidence of NOTCH1 mutations of 43% (7/16). At the same time, the frequency of NOTCH1 mutations in patients without trisomy 12 was 12% (9/75), in agreement with previous reports. All mutated cases (N=13) had the mutation c.7544_7545delCT. In conclusion, we have designed a robust, fast and cost effective assay for routine identification of NOTCH1 PEST domain mutations, suitable for implementation in the clinical setting. Additionally we have found that the incidence and distribution among cytogenetic groups of NOTCH1 mutations in Brazilian patients with CLL is similar to the incidence described in other cohorts.

416

Leucemia/linfoma de células T do adulto (LTA): análise clínica e laboratorial em um grupo de 6 pacientes diagnosticados na Fundação HEMOAM

Alves EB^{1,2}, Perdiz RH¹, Passos LN¹, Martins RN¹, Lins CM³, Machado LF¹, Pimentel JP¹, Ferreira YA¹

¹Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas - FHEMOAM, Manaus, AM

²Fundação Universidade do Amazonas - UFAM, Manaus, AM

³Secretaria de Estado de Saúde do Amazonas - SUSAM, Manaus, AM

Introdução: A leucemia/linfoma de células T do adulto (LTA) é causada pelo vírus da leucemia de célula T humana tipo 1 (HTLV-1). A maioria dos casos encontra-se no Japão, Caribe e algumas regiões da América do Sul e África. No Brasil, a infecção pelo HTLV-1 é endêmica, mas de baixa prevalência (0,4% - 1,8%), estando no Rio de Janeiro, Salvador, Recife e São Paulo, o maior número de casos. Apenas 2% a 5% dos portadores do HTLV-1 desenvolverão a LTA após longo período de latência. No Brasil, as variantes aguda e linfomatosas são as mais frequentes, com média de sobrevida de 6 e 10 meses, respectivamente. Objetivamos, neste estudo, analisar clínica e laboratorialmente 6 pacientes com a LTA acompanhados na Fundação HEMOAM. **Métodos:** Estudo descritivo e retrospectivo de 6 adultos com LTA, entre 2006 a 2013, com revisão dos dados clínicos e laboratoriais disponíveis nos prontuários médicos. A classificação clínica baseou-se nos critérios de Shimoyama. Sorologia positiva para HTLV-1, citologia e imunofenótipo, comprovaram o diagnóstico de LTA. **Resultados:** Entre 5 de 6 pacientes com LTA, 2 eram naturais do Pará, 1 do Amazonas, 1 de Minas Gerais e outro do Japão. Metade dos casos era do sexo masculino, média de idade 50 anos (24 a 72), todos com o subtipo agudo (forma leucêmica) ao diagnóstico. Não podemos descartar que um dos pacientes, doador de sangue, tivesse outro subtipo da doença antes da agudização, pela falta de dados clínicos. Organomegalias foram observadas em 4/5 pacientes (80%), um deles apresentou lesões cutâneas e outro uveíte. HTLV-1 positivo ocorreu em 100% dos casos, média de leucócitos foi $91,5 \times 10^3/\mu\text{L}$ (48,0 a $147,0 \times 10^3/\mu\text{L}$). Acentuado pleomorfismo celular, com presença de *flower cell* foi encontrado no sangue periférico (SP) de todos, como também aumento da DHL. Hipercalcemia ocorreu em 3/4 e o imunofenótipo foi de células T: CD2+ (5/5) casos, CD3+ e CD5+ (6/6), CD4+ (4/4), CD8- (5/5), CD7- em todos os casos e CD25 foi expresso no único paciente testado. Marcadores de células B foram negativos. Três pacientes responderam favoravelmente à zidovudina (AZT) e α -interferon, 2 faleceram antes de iniciar o tratamento e 1 encontra-se com doença ativa após 1 mês de QT e AZT. **Discussão:** Não há estudo populacional do HTLV-1 em nosso estado, porém os realizados em doadores de sangue, na cidade de Manaus, mostraram índice de 0,02%, considerado de muito baixa prevalência. Assim, a ocorrência de LTA em apenas 1 paciente autóctone, talvez seja reflexo desta baixa incidência. As características clínicas foram semelhantes aos da literatura quanto ao sexo (1M:1F) com predominância da forma aguda (100%), mostrando que na maioria dos casos o diagnóstico é feito durante a agudização do quadro. Houve divergência com estudos brasileiros quanto à idade, já que não tivemos uma frequência importante entre crianças e adultos jovens bem como em relação à pequena ocorrência de lesões cutâneas (17%). Chama a atenção, a boa resposta ao tratamento na metade dos pacientes, os quais apresentaram sobrevida superior a 6 meses (1 com 7,4 anos em remissão parcial). O encontro de dados laboratoriais relevantes em todos os pacientes, como sorologia positiva para HTLV-1, leucocitose com presença de *flower cells* no SP e imunofenótipo característico para LTA, foram fundamentais no diagnóstico e classificação desta doença.

417

Doença de Castleman: revisão e relato de caso

Muniz PC¹, Pereira AJ¹, Alvarenga VA¹, Assis MC¹

¹UNIVAS Universidade do Vale do Sapucaí

Descrita inicialmente por Benjamin Castleman em 1954, a Doença de Castleman (DC), também denominada hiperplasia linfonodular gigante benigna, é um distúrbio linfo-proliferativo raro de etiologia desconhecida. A DC é uma causa incomum de proliferação do tecido linfóide. Apresenta-se clinicamente sob a forma localizada ou multicêntrica e histologicamente pode ser classificada como hialina-vascular (80-90%), plasmocitária (10-20%) ou mista. Quando localizada, em 70% dos casos se encontra em região mediastino-pulmonar, 10% são abdominais e cerca de 10-15% possuem localizações cervicais, pélvicas, axilares e de forma excepcional cerebrais, pancreáticas, suprarrenais e gástricas. A DC não apresenta predileção por sexo. DC localizada é mais comum por volta da terceira ou quarta décadas de vida, enquanto a multifocal costuma atingir pacientes na quinta ou sexta décadas. Contudo, pacientes HIV (+) apresentam a doença em idades mais precoces(5) e aparentam ter maior risco para DC multicêntrica. Existem três variedades histológicas: hialinotubular (HV), plasmocitária (PC) e a forma mista. A forma hialinotubular é a mais frequente (90% dos casos), com apresentação localizada, expressão clínica mínima e resposta favorável à exérese, com raras recorrências. Tem sido descrita em associação com doença pulmonar e síndrome de Raynaud. A forma plasmocitária (10 % dos casos), tende a ser disseminada, com manifestações clínicas variadas, sistêmicas e orgânicas, e com um prognóstico desfavorável apesar do tratamento com corticoterapia e quimioterapia. Associa-se à doença de Hodgkin e hipotireoidismo. As causas de morte mais frequentes são as infecciosas, sepse ou pneumonia; outras causas descritas são sarcoma de Kaposi, linfomas, mielomas e carcinomas. A forma localizada geralmente é oligossintomática e o paciente pode apresentar sintomas compressivos. Descrevemos o caso de R.S.M, 37 anos, sexo feminino, que procurou o Serviço de Cirurgia Geral do Hospital das Clínicas Samuel Libânio (HCSL) de Pouso Alegre - MG em decorrência de nodulação cervical submandibular esquerda fixa e indolor. Realizou exérese completa da lesão, que foi enviada para avaliação anatomopatológica, quando então foi encaminhada ao nosso Serviço de Clínica Médica. O histopatológico e a imuno-histoquímica(05/03/2012) foram compatíveis com Doença de Castleman variante hialino-vascular (CD20+ CD3 + ciclina D1 + Ki67 + >50% cels centrofoliares, CD10 +, Bcl2 neg cadeia leve Ig Kappa + e Ig lambda +). As sorologias para HIV, Hepatites B e C foram negativas (04/12). As Tomografias Computadorizadas de região cervical, tórax e abdome sem linfonodomegalias/visceromegalias(10/05/2012). Avaliação laboratorial mais recente (14/03/2013) traz valores de hemoglobina de 13,8; hemácias de 4,68; hematócrito de 41,6; VCM de 88; leucócitos totais de 6100; plaquetas de 185000; VHS de 5; ferritina de 6,8; DHL de 285; beta-2microglobulina de 1280; e cálcio iônico de 4,8. A paciente evolui assintomática, sem linfonodomegalias/visceromegalias e mantém acompanhamento ambulatorial clínico, sem transformação maligna até o momento. Percebe-se pelo relatado, que embora a paciente tenha apresentado o tipo histológico mais comum da DC, o sítio anatómico da hiperplasia linfonodal - região cervical submandibular esquerda - não é o mais comumente encontrado na literatura.

418

Criptococose cutânea como infecção oportunista em paciente com LLC apresentando hipoglicemia artefactual

Azouz SF¹, Azzouz MA¹, Albuquerque LM¹, Botelho LF¹, Filgueiras PL¹, Macedo RT¹, Lemos ND¹, Neves FF¹, Carvalho NB¹, Ferreira CF¹

¹Universidade Federal da Paraíba

Introdução: A Leucemia linfocítica crônica (LLC) é uma doença linfoproliferativa expressada por uma expansão clonal de linfócitos maduros, responsável por 30% de todas as leucemias de adulto do mundo ocidental. Infecções são complicações frequentes nesses pacientes, sendo a principal causa de óbito. Os locais mais acometidos são pulmões, seios paranasais, trato urinário e pele, no entanto, são raras as de etiologia fúngica. **Relato de Caso:** Paciente do sexo feminino, 45 anos, apresentou em julho de 2012, lesão ulcerada do tipo nódulo-pápula hiperemiada em região malar direita associada à leucocitose. Foi submetida à biópsia da lesão, evoluindo com deiscência da ferida operatória e lesão ulcerada. A biópsia mostrou processo inflamatório crônico granulomatoso caracterizado por infiltrado linfohistiocitário e presença de células gigantes, plasmócitos e neutrófilos de permeio e estruturas fúngicas ovais com cápsula gelatinosa, no interior dos macrófagos e dispersas por toda derme. A pesquisa pelo método de PAS foi positiva, sorologia para HIV negativa e o hemograma apresentou leucocitose acentuada (475.000 leucócitos/mm³). Em março de 2013 foi encaminhada a Hematologia do HULW exibindo linfadenomegalia cervical, supraclavicular direita e axilares móveis e de consistência fibroelástica além de extensa massa palpável em região mesogástrica direita. As tomografias detectaram alterações fibroatelectásicas, linfonodomegalia na região axilar bilateralmente, paratraqueal superior à direita e na cavidade abdominal assim como hepatoesplenomegalia. A biópsia de linfonodo cervical exibiu proliferação linfóide atípica de células pequenas e padrão difuso. A imunofenotipagem do sangue periférico apresentou população anômala de pequeno tamanho e baixa complexidade, correspondente a 93% da celularidade total com positividade para CD 45 de forte intensidade e para o pan-B CD19. Os linfócitos B maduros exibiam monoclonalidade para imunoglobulina de cadeias leves Kappa, expressão fraca para moderada dos antígenos CD5 e CD23, e positividade para os antígenos CD79b e FMC7. Forte expressão de IgM e fraca de CD11c e CD25. O diagnóstico foi definido como LLC, Escore de Matutes para Doença Linfoproliferativa Crônica tipo B: 2, associado à criptococose cutânea oportunista. Durante a internação, a glicemia plasmática da paciente chegou a 13 mg/dL, embora assintomática. Iniciou-se tratamento com itraconazol e no 8º dia instituiu-se profilaxia para lise tumoral e pneumocistose, além da administração de ácido folínico e instituição da terapia antineoplásica. **Conclusão:** Os distúrbios imunológicos presentes na LLC geram uma deficiência humoral manifestada através da maior susceptibilidade a infecções. A vulnerabilidade aumenta com a progressão da doença e com a redução das gamaglobulinas. Na maioria dos pacientes, a hipogamaglobulinemia não melhora com o tratamento da LLC e, ao longo da evolução clínica, pode associar-se a alterações na ativação do sistema complemento. *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. aureus* e bactérias entericas Gram-negativas são os patógenos comumente envolvidos nas infecções pré-tratamento, sendo raras as infecções por fungos, vírus e micobactérias. Na literatura, a criptococose é frequentemente associada com AIDS e estados de imunossupressão, no entanto a ocorrência de lesões cutâneas da criptococose é rara.

419

Características clínicas e laboratoriais de 578 pacientes brasileiros com LLC. Um estudo do registro brasileiro de LLC

Machado CG¹, Rodrigues CA^{2,3}, Dameto AP⁴, Clementino NC⁵, Perobelli L⁶, Azambuja AP⁷, Stel VM⁸, Silva EA⁹, Metze IL¹⁰, Yamamoto M²

¹HEMOPE, Universidade de Pernambuco

²Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo

³Hospital Sírio Libanês

⁴Hospital Amaral Carvalho, JAU

⁵Universidade Federal de Minas Gerais

⁶Hospital Brigadeiro

⁷Universidade Federal do Paraná

⁸Hospital do Servidor Público Estadual/ São Paulo

⁹Hospital Evangélico de Cachoeira do Itapemirim

¹⁰Universidade Estadual de Campinas

Introdução: Leucemia Linfocítica Crônica (LLC) é a leucemia mais frequente em adultos de países ocidentais mas rara em orientais. Predomina entre idosos do gênero masculino. O prognóstico da LLC é avaliado por meio dos estádios clínicos de Binet e Rai e por outros marcadores clínico-biológicos como a beta-2 microglobulina, DHL, expressão de ZAP-70 e CD38 e estado mutacional dos genes *IgHV*, etc. Há poucos dados sobre as características clínicas e laboratoriais da LLC em brasileiros, população com alta miscigenação racial. Com foco nesta diversidade, foi proposto o Registro Brasileiro de LLC, com o objetivo de melhor caracterizar a LLC no Brasil. **Objetivo:** Avaliar o perfil da LLC quanto a dados epidemiológicos, clínicos, laboratoriais e curso evolutivo em pacientes brasileiros. **Métodos:** Os pacientes foram registrados pelos serviços participantes pela internet por meio de formulário específico. De 2005 até 2013 foram registrados por 18 centros 895 pacientes com diagnóstico de LLC. Destes, 578 foram analisáveis quanto à sobrevida. **Resultados:** Entre os analisados, houve leve predomínio masculino (n=318, 55%) e a idade mediana foi de 66 anos (variação: 28-106 anos). A maioria encontrava-se em estágio clínico precoce (Binet A= 59%, B=24%, C=17%). A mediana da hemoglobina foi de 13g/dL (variação: 3-19d/dL), glóbulos brancos (GB) 35x10⁹/L (2-900x10⁹/L), linfócitos 27x10⁹/L (0,9-801 x10⁹/L) e plaquetas 180x10⁹/L (7-465x10⁹/L). O teste da antiglobulina direta foi positivo em 11% dos casos. A expressão mediana do CD38 foi de 37% (1-100%) sendo ≥30% em 76 casos (57%). A mediana de seguimento desse grupo de pacientes foi de 25 meses. A sobrevida global (SG) foi de 90% em 2 anos. A SG foi menor nos estádios mais avançados de Binet (C:75% e B:89%) do que em estágio precoce (A:94%, p<0,0001). GB acima de 35x10⁹/L também se associou a menor SG (88% vs. 92%, p=0,02) bem como linfocitose acima de 30x10⁹/L (88% vs. 92%, p=0,02). A sobrevida livre de progressão (SLP) foi de 63% em 2 anos, também sendo significativamente menor nas fases mais avançadas da doença (30% Binet C, 50% B e 75% A, p<0,0001), naqueles com GB acima de 35x10⁹/L (p<0,0001) e naqueles com linfocitose acima de 20x10⁹/L (57% vs. 74%, p<0,0001). Além disso, SLP em 2 anos foi maior em pacientes do HEMOPE do que nos do SE/S (73% vs. 59%, respectivamente, p=0,002). Não houve diferença na SLP de acordo com a cor dos pacientes. No entanto, houve predomínio de brancos (80%) em relação aos mulatos/negros (M/N) (20%) nos serviços das regiões SE e S, maior número de M/N (48%) no HEMOPE. **Discussão e Conclusão:** A idade média e o leve predomínio de homens são achados comparáveis a literatura mundial. Contrastando com relatos de países desenvolvidos, verificou-se uma maior frequência de casos em Binet B e C, provável reflexo de um diagnóstico tardio, talvez devido à precariedade de serviços de saúde em algumas regiões do país. A SG e SLP menores em estágios mais avançados, e com marcadas leucocitose e linfocitose, também são achados esperados. Maior número de M/N na região Nordeste caracteriza a maior miscigenação desta população. Mas é interessante observar, que os

casos do HEMOPE apresentaram a SLP maior que os outros centros, possivelmente porque esse serviço centraliza o diagnóstico e tratamento de pacientes da capital e regiões interioranas do estado, com alto índice de aderência. (Em nome do Grupo Brasileiro de LLC)

420

Leucemia linfóide crônica associada à doença renal crônica dificultando o estadiamento inicial

Vecina AF¹, Andrade FC¹, Lucio DS¹, Giglio DB¹, Romero PC¹, Leao LH¹, Cliquet M¹

¹Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde da PUC-SP

Introdução: A Leucemia Linfocítica Crônica (LLC) é uma neoplasia linfoproliferativa crônica caracterizada por linfocitose persistente ($>5000/\text{mm}^3$) e sua prevalência é maior na população idosa. O estadiamento de Binet classifica a LLC em baixo risco (Binet A) até 2 áreas ganglionares comprometidas; risco intermediário (Binet B), com 3 ou mais cadeias ganglionares infiltradas e alto risco (Binet C), com Hemoglobina $< 10\text{g/dL}$ e/ou Plaquetas $< 100\,000/\text{mm}^3$. A Doença Renal Crônica (DRC) caracteriza-se por presença de lesão renal estrutural com Taxa de Filtração Glomerular (TGF) menor que $90\text{mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$ ou (TFG) inferior a $60\text{mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$ durante mais de três meses. Uma de suas manifestações clínicas é o quadro anêmico, em virtude de uma menor produção de eritropoietina pelas células peritubulares. Em pacientes com TFG de 15 a $30\text{mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$ a anemia está presente em 50% dos casos, sendo um achado universal nos pacientes em estágios terminais. Atualmente, a administração de eritropoietina recombinante (EPO) é uma alternativa, aumentando os níveis de hemoglobina e reduzindo as necessidades de transfusão. **Objetivo:** O presente relato de caso visa ressaltar a importância do diagnóstico diferencial da anemia ao diagnóstico do paciente com LLC. **Relato de Caso:** Paciente de 67 anos, masculino, branco, hipertenso encaminhado ao Ambulatório de Hematologia da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba – PUC/SP por linfocitose em pré-operatório de hérnia inguinal, queixava-se de cansaço, sudorese noturna, nictúria e urgência ao urinar. Apresentava-se descorado, com adenomegalia axilar e hepatoesplenomegalia. Ao hemograma: Hb= $7,5\text{g/dL}$; Leucócitos= $46400/\text{mm}^3$; Linfócitos= $40340/\text{mm}^3$; Plaquetas= $284000/\text{mm}^3$. A Imunofenotipagem confirmou o diagnóstico de LLC com marcadores positivos para CD19, CD20, CD22, CD23, CD43, IgM de superfície e clonalidade para Kappa. Cariótipo não avaliável pela ausência de metáfases. Após o resultado da Creatinina de $3,27\text{mg/dL}$, Clearance de $20,19\text{mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$, e nefropatia parenquimatosa bilateral à ultrassonografia foi diagnosticado com DRC. Assim, foi inicialmente estadiado como Binet A. O paciente foi tratado com EPO (4000U 3 x semana) com melhora gradual da hemoglobina até $11,6\text{g/dL}$ após 2 meses de tratamento. **Conclusão:** O achado de anemia ao diagnóstico de LLC, nem sempre está relacionado com o estadiamento avançado. Devemos atentar para outras possíveis causas de anemia como a Anemia Hemolítica Auto-Imune, presente em 2 a 10% dos casos, além de ferropenia e da própria DRC.

421

Características clínicas e laboratoriais ao diagnóstico de pacientes com leucemia linfóide crônica atendidos no Serviço de Hematologia da Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde da PUC-SP

Andrade FC¹, Vecina AF¹, Giglio DB¹, Lucio DS¹, Cliquet M¹

¹Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde da PUC-SP

Introdução: A Leucemia Linfóide Crônica (LLC) é uma linfoproliferação clonal de linfócitos B maduros, prevalente em idosos, com evolução clínica heterogênea e sobrevida variável. **Objetivo:** O

presente estudo visa traçar um perfil dos pacientes com LLC atendidos no Serviço de Hematologia da FCMS-PUCSP. **Métodos:** Trata-se de um estudo descritivo longitudinal que teve por metodologia a coleta de dados dos prontuários de 39 pacientes acompanhados no Ambulatório de Hematologia da FCMS – PUC/SP diagnosticados no período de 1995 a 2011. Para a avaliação descritiva foram obtidas distribuições absolutas e percentuais. **RESULTADOS:** Dentre os pacientes estudados 61,5% eram do sexo masculino e 38,5% do feminino. Quanto ao estadiamento inicial 71,8% eram Binet A, 17,9% Binet B e 10,3% Binet C. A mediana etária ao diagnóstico foi de 67 anos (máxima de 86 e mínima de 32 anos). A hemoglobina média foi de $13,27\text{g/dL}$ (max = $16,4\text{g/dL}$; min = $7,5\text{g/dL}$) mediana de $13,8\text{g/dL}$. A média de leucócitos foi $55.920/\text{mm}^3$ (max = $148.000/\text{mm}^3$, min = $14.500/\text{mm}^3$) e mediana de $40.150/\text{mm}^3$, linfócitos apresentaram valor médio de $38162/\text{mm}^3$ (max = $135240/\text{mm}^3$; min = $4029/\text{mm}^3$) e mediana de $26355/\text{mm}^3$, plaquetas apresentaram um valor médio de $193557/\text{mm}^3$ (max = $404200/\text{mm}^3$; min $21000/\text{mm}^3$) e mediana de $156000/\text{mm}^3$. Anemia estava presente em 28,2% dos pacientes ao hemograma inicial e plaquetopenia em 30,8%. A imunofenotipagem foi utilizada como ferramenta diagnóstica em 33 pacientes (85% dos casos). **Conclusão:** Observamos que a média de idade e distribuição por gênero foi semelhante àquelas encontradas em grandes séries. Quanto ao estadiamento, nossa população tem características de uma população de baixo risco, com 2/3 dos pacientes classificados como estágio A, semelhante ao observado na literatura.

422

Resposta ao tratamento e sobrevida livre de progressão em pacientes com leucemia linfocítica crônica

Andrade FC¹, Vecina AF¹, Romero P¹, Leao LH¹, Giglio DB¹, Lucio DS¹, Ferrari G¹, Dib P¹, Zanutto G¹, Cliquet M¹

¹ Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde da PUC-SP

A Leucemia Linfóide Crônica (LLC) é uma linfoproliferação clonal de linfócitos B maduros, prevalente em idosos, com evolução clínica heterogênea e sobrevida variável. O objetivo do projeto foi o de avaliar as respostas aos tratamentos e correlacioná-las com dados clínicos e laboratoriais, além de avaliar a progressão da doença e a sobrevida livre de progressão. Trata-se de um estudo descritivo longitudinal que teve por metodologia a coleta de dados dos prontuários dos 39 pacientes acompanhados no Ambulatório de Hematologia do Hospital Leonor Mendes de Barros da FCMS – PUC/SP diagnosticados no período de 1995 a 2011. Para a análise estatística foram aplicados os testes Qui Quadrado, Mann-Whitney e Teste de Kruskal-Wallis. Dentre os pacientes estudados, quanto ao estadiamento inicial, 71,8% eram Binet A, 17,9% Binet B e 10,3% Binet C. Vinte pacientes foram tratados com esquemas diversos, com as seguintes taxas de resposta: Completa – 9(45%); Parcial 8(40%), Progressão 2 (10%) e Estável 1 (5%). Analisando-se as taxas de resposta em comparação com fatores com possível valor prognóstico não observamos diferenças estatisticamente significantes para estadiamento ($p=0,20$), idade ($p=0,30$) ou sexo ($p=0,30$). Recidivas foram observadas em 55% dos pacientes tratados e a sobrevida livre de progressão variou de 4 a 120 meses, com média de 31.48 meses. Analisando a sobrevida livre de progressão de todos os pacientes tratados e não tratados, não encontramos significância estatística para idade maior ou menor que 67 anos ($p=0,76$), sexo ($p=0,51$) ou estadiamento ($p=0,18$). O número de leucócitos quando maior do que a mediana ($36.260/\text{mm}^3$) se correlacionou com menor sobrevida livre de progressão, 24 x 39 meses, ($p=0,03$) e o número de linfócitos maior do que a mediana ($26.355/\text{mm}^3$) mostrou uma tendência a menor sobrevida livre de progressão, 28 x 38 meses, mas sem significância estatística ($p=0,08$) A Leucemia Linfóide Crônica, embora incurável, tem curso clínico variado e apresenta importantes marcadores preditivos capazes de fornecer o prognóstico do paciente. O mais prático e de enorme valor prognóstico é o estadiamento de BINET que permite inclusive determinar o início

do tratamento. Não observamos influência da idade, sexo ou estadia-mento sobre a resposta ao tratamento, mas o número de leucócitos inicial se mostrou preditivo para o tempo de sobrevida livre de pro-gressão para todos os pacientes, ou seja, quanto maior o número de leucócitos inicial, maior a chance de progressão da doença.

423

Leucemia prolinfocítica de células B: relato de um caso

Marconi TD¹, Colturato I¹, Barquineri LR¹, Lage LA¹, Pereira J¹, Dorliac-Llacer PE¹

¹Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Introdução: Descrita pela primeira vez em 1974, como uma variante da Leucemia Linfocítica Crônica, a Leucemia Prolinfocítica de células B é definida como uma entidade clínico-patológica distinta, constituindo um diagnóstico desafiador devido a considerável sobreposição com outros tipos de leucemias e linfomas de células B maduras. É uma neoplasia extremamente rara, de curso clínico agressivo, com pouca resposta a quimioterapia e sobrevida média de 3 anos. Destacam-se como principais características a presença de esplenomegalia de grande monta, linfonodomegalia mínima ou ausente e linfocitose de rápida progressão. **Objetivo:** Relatar um caso de uma doença rara cujo diagnóstico é feito rapidamente mediante uma avaliação cuidadosa da morfologia do sangue periférico e imunofenotipagem. **Relato de Caso:** D.S.H., 78 anos, sexo masculino, diabético e hipertenso, com quadro de 3 meses de fadiga e palidez cutâneo-mucosa. Há 3 semanas apresentando turvação visual, tonturas e cefaléia. Ao exame físico encontrava-se orientado, descorado, sem evidência de linfonodomegalia e visceromegalia. A investigação laboratorial revelava anemia normocítica e normocrômica, plaquetopenia e leucocitose > 100.000 mm³ com predomínio de linfócitos. Exames bioquímicos como creatinina e b2microglobulina mostraram-se elevados. No esfregaço de sangue periférico observada população linfóide madura atípica, polimórfica com 70% de linfócitos de médio tamanho, núcleo arredondado com cromatina moderadamente condensada, proeminente nucléolo central de aspecto vesicular e moderado citoplasma basofílico claro, sem manchas de Gumprecht. Citometria revelou imunofenótipo CD19++, CD20+++, CD22+/-, CD79b++, CD23+/-, CD200+, sIgD+, sIgM-, CD10-, CD38-, ZAP70-, sendo demonstrada monoclonalidade através de restrição de expressão da cadeia leve kappa da Ig em citoplasma. Ao aspirado de medula óssea foram visualizadas células linfóides atípicas, com as mesmas características descritas no sangue periférico. Realizado diagnóstico de Leucemia Prolinfocítica B com síndrome de leucoestase e indicado primeiramente leucocitoférese com alívio sintomático. Iniciado logo após quimioterapia citorredutora com esquema CVP (Ciclofosfamida, Vincristina e Dexametasona), evoluindo com redução importante da linfocitose. **Discussão:** Uma cuidadosa análise da morfologia do esfregaço de sangue periférico e do aspirado de medula óssea é necessária para orientar o diagnóstico de Leucemia Prolinfocítica B. São necessários mais de 55% de prólinfócitos no aspirado de medula óssea e imunofenotipagem compatível, como mostrado no caso em questão. O diagnóstico diferencial com outras leucemias e linfomas de células B maduras deve ser realizado, como Leucemia Linfocítica Crônica Prolinfocítica, Leucemia de células pilosas/forma variante, Linfoma do manto e Linfoma da Zona Marginal Esplênica que também podem infiltrar sangue periférico e dificultar o diagnóstico. A Leucemia Prolinfocítica B têm curso clínico variável, não sendo recomendado o tratamento em pacientes assintomáticos, porém o período indolente geralmente é curto e a doença invariavelmente progride. Os regimes de tratamento com combinação de rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona (RCHOP) têm mostrado resposta em um terço dos pacientes e atualmente existem relatos de casos mostrando excelente resposta com uso de alemtuzumabe quando presente anormalidades do gene TP53.

424

Múltiplas infecções em pacientes com LLC e a difícil distinção da infiltração do sistema nervoso central

Miranda LR¹, Miranda LR², Ujihara JE¹, Barbosa WA¹, Callera F², Rosa ES², Reis AS¹

¹Universidade de Taubaté

²Centro de Hematologia e Hemoterapia do Vale

Introdução: A Leucemia Linfocítica Crônica ou LLC é uma neoplasia clinicamente indolente, causada pela proliferação clonal de linfócitos B, habitualmente CD5+ nos tecidos linfoides, medula óssea e sangue periférico, constituindo a leucemia crônica mais comum nos países ocidentais. As infecções continuam sendo a principal causa de morbidade e mortalidade nos pacientes com leucemia linfocítica crônica. A patogênese das infecções nesses pacientes é multifatorial, relacionada com os defeitos imunes inerentes da própria doença e com a imunossupressão associada à terapêutica. A linfocitose no líquor é sempre uma dúvida a mais nas infecções de SNC. **Relato de Caso:** R.S.H., masculino, 50anos, natural de São Paulo, morador de zona rural nos dois últimos anos em casa com forro povoado por morcego. Iniciou quadro de tosse seca, adinamia e emagrecimento em maio de 2012, sendo tratado como pneumonia grave. Exames durante a internação evidenciaram leucocitose com linfocitose, sendo então encaminhado a serviço de hematologia e diagnosticado com leucemia linfocítica crônica, comprovada por imunofenotipagem de sangue periférico, inicialmente sem indicação de tratamento específico, com eletroforese de proteínas normal. Em mesma ocasião visualizada cavitação em lobo superior direito em radiografia de tórax, encaminhado à pneumologia, baciloskopias persistentemente negativas. Após alguns dias apresentou quadro súbito de cefaléia holocraniana, de forte intensidade, refratária a analgésicos e diplopia. Após punção líquórica com lificitose, apesar de presença também de hemácias, foi tratado como meningite tuberculosa, porém com resposta parcial dos sintomas ao esquema RIPE; apesar de ressonância de encéfalo que sugeria tuberculose. Procurou então neurologista para nova punção, onde foram detectados anticorpos positivos contra Histoplasma e Criptococo além de linfócitos anômalos. Iniciado tratamento com anfotericina B (50mg/dia), porém apresentou quadro de insuficiência renal aguda por necrose tubular aguda com dose acumulada de 350 mg, sendo necessário troca do esquema por fluconazol 200 mg 12/12h. Após 15 dias de tratamento com fluconazol, já com melhora clínica expressiva e reversão da insuficiência renal foi realizado líquor de controle, que mostrava erradicação da infecção por Histoplasma e Criptococo, e imunocitoquímica com linfócitos anômalos com marcadores de LLC típica. Recebeu alta para término de tratamento e programação de quimioterapia. Após 1 semana da alta hospitalar apresentou quadro de insuficiência respiratória aguda grave por gripe H1N1, evoluindo a óbito em menos de 24 horas do início dos sintomas. **Discussão:** É sempre um desafio para o hematologista o diagnóstico de infecção de sistema nervoso central e infiltração do mesmo pele LLC. Há poucos casos relatados e poucas comprovações por anatomo-patológico de tais acometimentos. É também difícil a decisão do tratamento ideal à medida que a vigência de infecção torna a quimioterapia mais arriscada. Fazemos uma breve revisão dos casos já descritos para melhor entendimento deste acometimento.

425

Aplicação do CD200 no diagnóstico diferencial das doenças linfoproliferativas crônicas B: experiência inicial na Santa Casa de São Paulo

Cavalcante AM¹, Amorim C¹, Fortier SC², Bortolheiro TC², Chiattoni CS²

¹Hemocentro da Santa Casa de São Paulo

²Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa São Paulo

O diagnóstico diferencial das doenças linfoproliferativas crônicas B (DLPCB) pode representar um grande desafio, visto que frequentemente apresentam características clínicas, laboratoriais e mesmo imunofenotípicas que se sobrepõem. Os linfócitos B expressam CD200, uma glicoproteína de membrana, pertencente a superfamília das imunoglobulinas. Estudamos 45 casos consecutivos de DLPCB, por citometria de fluxo (CF), analisando a mediana de intensidade de fluorescência (MIF) do CD200, para avaliar sua utilidade no diagnóstico diferencial das DLPCB. As análises estatísticas foram realizadas com o CHI² e com t-student. Os 45 casos estavam assim distribuídos: 25 Leucemias linfóides crônicas (LLC), 5 linfomas de células do manto (LCM), 4 DLPCB CD5positivo, 11 DLPCB CD5negativo. As MIF encontradas foram: 763 nas LLC, 77 no LCM, 140 nas DLPCBCD5+ e 80 nas DLPCBCD5-; com $p < 0,001$. Quando comparamos MIF das LLC com as outras DLPCBCD5+, encontramos $p < 0,001$. Em nossa experiência inicial, a expressão do CD200 mostrou-se um parâmetro promissor para o diagnóstico diferencial das DLPCB, possibilitando um diagnóstico mais rápido e acurado, levando-nos a incorporá-lo ao nosso painel de DLPCB. O CD200 parece ser uma alternativa segura para a ciclina D1, cuja realização na CF é difícil e desapontadora e sua expressão na imunohistoquímica embora reprodutível é muito mais demorada. Alguns autores propõem que o CD200 poderia substituir o CD23 com vantagens. A avaliação desse marcador poderá ser de grande importância também na escolha de candidatos ao tratamento recentemente proposto da terapia alvo com anti-CD200.

426

Linfoma esplênico B inclassificável - relato de caso com características ambíguas

Miranda LR¹, Callera F¹, Rosa ES¹

¹Centro de Hematologia do Vale

Introdução: O Linfoma esplênico de pequenas células B da polpa vermelha e a Leucemia de Células Pilosas Variante são entidades provisórias raras, que diferem da forma clássica pela apresentação clínica e marcadores imunofenotípicos, mas geralmente apresentam semelhanças morfológicas além da marcante esplenomegalia. Há ainda formas pouco definidas da doença, com variação imunofenotípica capaz de ampliar ou caracterizar melhor tais entidades. **Relato de Caso:** VOM, 76 anos, masculino, pardo. Notou aumento abdominal no início de junho de 2012, em exames de investigação vista linfocitose com linfócitos atípicos e encaminhado a Hematologia. Negava qualquer outra queixa relacionada. Ao exame não apresentava linfonodomegalias, mas chamava atenção a esplenomegalia abaixo da cicatriz umbilical. Em análise de sangue periférico visto leucocitose as custas de linfócitos (15500/m³), anemia discreta (HB 10,7), plaquetas de 82mil/mm³. Células linfóides de moderado tamanho, com projeções citoplasmáticas e nucléolo evidente. Imunofenotipagem mostrou 36,7% de células CD19; CD20; CD23; CD38; CD79B; FMC7; HLA-DR; IGM fraco e IGD forte; restrição de cadeia leve Kappa. CD11c e CD103 negativos, sugestivo de linfoma esplênico. Biópsia de medula óssea mostrou hiperplasia celular às custas de infiltração de agregados de linfócitos paratrabecular e não paratrabecular. Imuno-histoquímica marcou DBA44, favorecendo diagnóstico de LCP. Realizada pesquisa

da mutação em BRAF que foi negativa. Tomografia de abdome com esplenomegalia homogênea importante sem linfonodomegalias. Após consulta da literatura optado por esplenectomia terapêutica e para confirmação diagnóstica, que foi realizada dezembro de 2012. Avaliação patológica mostrou infiltração de polpa vermelha às custas de sinusóides congestionados e dilatados, TRAP negativo, CD20 e DBA 44 positivos. Seis meses após cirurgia paciente mantém-se assintomático, com leucocitose às custas de linfocitose, com melhora parcial da anemia e completa da plaquetopenia. **Discussão:** Além de um caso raro, nosso paciente apresenta algumas características que nos chamam atenção. A descrição morfológica sugere forma variante da leucemia de células pilosas, enquanto CD 103 e CD11c sugerem linfoma esplênico da polpa vermelha; e a marcação forte de IgD torna a apresentação mais rara. A ausência da mutação BRAF ajuda na exclusão da forma típica de LCP, já que tem sido descrita em praticamente 100% dos casos. A avaliação a longo prazo nos trará mais dados sobre a resposta terapêutica a esplenectomia.

SÍNDROMES MIELODISPLÁSICAS

427

DNA repair genes are related to MDS pathogenesis

Junior HL¹, Oliveira RT¹, Maia AR¹, Filho LI¹, Sousa JC¹, Heredia FF¹, Magalhães SM¹, Pinheiro RF¹

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, Departamento de Medicina Clínica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará - UFC, Fortaleza, CE.

Background: Myelodysplastic syndrome (MDS) is a clonal hematopoietic stem cell (HSC) disorder characterized by peripheral cytopenias due to ineffective hematopoiesis. DNA damage of HSC can cause blockage of differentiation leading to dysplasia, while subsequent defects affect proliferation causing clonal expansion of aberrant cells and acute myeloid leukemia. The pathogenesis of MDS involves DNA damage in HSC affected by double strand breaks (DSBs). Non-homologous ends join (NHEJ) and homologous recombination (HR) DNA repair mechanisms are keys for ensuring genomic stability of stem cells. **Aim:** We aimed to investigate the possible associations between HR and NHEJ DNA repair mechanism polymorphisms genes with MDS pathogenesis and risk. **Methods:** Two groups were evaluated: bone marrow samples from 60 MDS Brazilian patients and samples from 82 healthy elderly volunteers sex and age-matched controls. We genotyped (using PCR-RFLP methodologies) MDS patients for seven DNA repair gene polymorphisms: *ATM* rs228593, *BRCA1* rs4793191, *BRCA2* rs9567623, *RAD51* rs1801320, *XRCC5* rs3835, *XRCC6* rs2267437 and *LIG4* rs1805388. The chi-square and multinomial logistic regression analysis tests were used to determine the differences in genotypes distributions and estimate the odds ratios for variables (cytopenia, cytogenetic, IPSS, cellularity and age) contributing to the pathogenesis and risk of MDS. **Results:** The A/G heterozygote genotype of *ATM* rs228593 polymorphism was associated with a decreased risk of developing MDS when compared to control group ($p=0.008$, HR 0.225, CI 0.075-0680). Additionally, this genotype, when presented in MDS, is associated with low risk IPSS subgroup variable ($p<0.001$; HR 43, 91; CI 36,77-52,44) confirming that this genotype is associated with protective effect in MDS. The G/C heterozygote genotype of *RAD51* rs1801320 polymorphism was associated with a decreased risk of developing MDS when compared to control group ($p=0.05$; HR 0.453; CI 0.203-1.009). The G/G homozygous wild-type genotype of *RAD51* was highly associated with patients aged over 60 years-old ($p<0.001$; HR 24.521; CI 64.033-93.907) and with the presence of one cytopenia in whole blood ($p<0.001$; HR 16.099; CI 31.299-82.808), representing less aggressive disease. The mutant genotype C/C and CG+GG of the *XRCC6* rs2267437 polymorphism

was associated with normal karyotype ($p=0.010$; HR 7.259; CI 1.616-32.600). We found that the A/G heterozygous genotype of the *XRCC5* rs3835 polymorphism is highly associated with decreased risk of developing MDS ($p<0.001$; HR 0.100; CI 0.035-0.289). **Discussion and Conclusion:** The majority of reports that evaluated the pathogenesis of MDS studied genes related to apoptosis, epigenetic alterations and block of differentiation of HSC. We are demonstrating that genes related to double strand breaks in DNA are also related to the pathogenesis of MDS. We demonstrated that, for the first time, the *ATM* rs228593 gene is associated with protective effect in MDS. The other DNA repair genes (*XRCC6* rs2267437, *XRCC5* rs3835 and *RAD51* rs1801320) were associated with favorable prognosis variables in MDS. Our results suggest that genes related to repair mechanisms in DSBs may be future important molecular markers of pathogenesis and prognosis of the Myelodysplastic syndrome.

428

Mitotic spindle and checkpoint proteins corroborates to the different pathogenesis of hypocellular MDS

Heredia FF¹, Sousa JC¹, Junior HL¹, Oliveira RT¹, Magalhães SM¹, Pinheiro RF¹

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas, Departamento de Medicina Clínica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará - UFC, Fortaleza, CE.

Background: Myelodysplastic syndrome (MDS) represents a heterogeneous group of clonal hematopoietic disorders characterized by cytopenias and dysplastic changes in the peripheral blood and bone marrow. The presence of chromosomal abnormalities plays an important role in the prognosis and follow-up of MDS. Some studies show that alterations in the expression of proteins related to the mitotic spindle (Aurora A and Aurora B) and the mitotic checkpoint (MAD2L1 and CDC20) are involved in chromosomal instability, aneuploidy and tumor progression in various solid tumors and hematologic malignancies. **Aim:** This study aimed to evaluate the expression profile of these genes in patients with MDS, and investigate its relationship with clinical and laboratory variables of disease (sex, age, bone marrow cellularity, number of cytopenias, transfusion dependence, cytogenetics, WHO classification, IPSS and WPSS). **Methods:** The cytogenetics analysis was carried out by G-banding, the analysis of AURKA and AURKB amplification genes was performed using fluorescent in situ hybridization (FISH), and the expression of genes AURKA, AURKB, CDC20 and MAD2L1 was performed by Quantitative Real-Time PCR in 61 samples of bone marrow from patients with myelodysplastic syndromes. **Results:** Most patients (55.8%) presented karyotype alterations, reflecting genetic instability. The presence of AURKA gene amplification was observed in approximately 10% (4/41) of the cases, that also showed expression levels significantly higher ($p=0.038$) than the group control. Regarding to gene expression, there was no difference between MDS and healthy donors samples related to the evaluated variables, except for the BM cellularity in all genes analyzed and age for checkpoint mitotic genes (CDC20 and MAD2L1). Patients with hyper and normocellular bone marrow presented significantly higher expression levels than patients with hypocellular BM, and did not differ itself. After applied a logistic regression analysis, our results showed that HIGH expression levels of all genes (AURKA, AURKB, CDC20 and MAD2L1) was associated with a increased risk of developing normo/hypercellular MDS when compared to hypocellular group. Regression analysis also showed that older patients (≥ 60 years) are associated with AURKA, CDC20 and MAD2L1 HIGH expression levels. **Discussion and Conclusion:** The distinct expression of hypocellular patients observed in the study emphasizes the prognostic importance of cellularity to MDS and reinforces the different pathogenesis of this entity. The amplification/high expression of AURKA also suggests that the increased expression of these genes may be related to the pathogenesis of this heterogeneous disease.

429

SPINT2 is underexpressed in myelodysplastic syndrome (MDS) patients and modulates cell - cell adhesion by altering HGF and SDF1 secretion and integrin expressions

Roversi FM¹, Lopes MR¹, Machado-Neto JA¹, Longhini AL¹, Duarte AS¹, Palodetto B¹, Corrocher FA¹, Favaro P², Traina F³, Saad ST¹

¹Hematology and Hemotherapy Center-University of Campinas/ Hemocentro-Unicamp, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Campinas, São Paulo, Brazil

²Department of Biological Sciences, Federal University of São Paulo, Diadema, São Paulo, Brazil

³Department of Internal Medicine, University of São Paulo at Ribeirão Preto Medical School, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil

MDS are clonal disorders characterized by bone marrow (BM) failure caused by an association between abnormalities within the hematopoietic stem cell (HSC) compartment and the defective mesenchymal stromal cell (MSC) support mechanisms. Through microarray analysis in MSC from MDS patients, our group found new possible target genes involved in MDS pathophysiology. An interesting downexpressed gene identified was *SPINT2*, which inhibits the enzyme hepatocyte growth factor activator (HGFA) responsible for hepatocyte growth factor (HGF) activation. *SPINT2* has a low expression in many solid tumors and determines their prognostic/progression; however the functional role of *SPINT2* in MDS still unknown. We herein analyzed, by qPCR, *SPINT2* and *HGF* expression in MSC and total BM cells from 56 untreated MDS patients (WHO 35 low-risk; 21 high-risk) and 28 healthy donors. We evaluated the role of *SPINT2* in MSC, studying HGF and SDF1 secretion and adhesion with CD34⁺, P39 and U937 cells by silencing *SPINT2* gene in HS5 and HS27a stromal cell lines. HGF and SDF1 secretion was measured by BioPlex; cell adhesion and integrin profile were analyzed by FACS. A significant decrease in *SPINT2* expression and a significant increase in *HGF* expression of MDS MSC and MDS BM cells were observed when compared to normal cells. Spearman analysis showed a negative significant correlation between *SPINT2* and *HGF* expressions. *SPINT2* silencing induced a significantly increased HGF and SDF1 secretion. Furthermore, *SPINT2* inhibition induced a significantly increased adherence of CD34⁺, P39 or U937 cells onto MSC. An increase in CD49b and CD49d and decrease in CD49e integrin expressions were observed in cells silenced for *SPINT2* gene. Considering that *SPINT2* inhibits HGF activation by HGFA, *SPINT2* downexpression in MDS enables the conversion to an active HGF. A significantly low *SPINT2* and high *HGF* expression were observed in MSC of MDS patients compared to normal cells. Interestingly, HGF serum levels are significantly increased in MDS patients. Moreover, *SPINT2* inhibition in MSC significantly increases HGF secretion. This increased HGF secretion can result in an autocrine induction of SDF1 secretion by MSC themselves. Cytokine secretions provided by MSC are required for adhesion, survival and proliferation of other cells. In this way, *SPINT2* underexpression with consequently increased HGF and SDF1 secretion by MDS MSC may cause an increase in adherence between MSC and CD34⁺ or malignant cells. This increased cell-cell adhesion occurs via an improvement in CD49b and CD49d expression, which mediates cell-MSC interaction, and a decrease in CD49e expression that interacts with the extracellular matrix. The interaction with MSC contributes to the maintenance of HSC and malignant cell properties, such as self-renewal, survival and proliferation. Cytokine release and cell adhesion onto MSC is important for MDS physiology. We demonstrate, for the first time, that *SPINT2* has a role in HGF and SDF1 secretions by MDS MSC, resulting in alteration in cell-cell adhesion and integrin expression. The *SPINT2* underexpression in MDS MSC may constitute a particular mechanism of MDS pathophysiology and maintenance of self-renewal, homing and proliferation of CD34⁺ cells and malignant clones in MDS, suggesting that *SPINT2* represents a possible therapeutic target.

430

Stathmin 1 is involved in the highly proliferative phenotype of high-risk myelodysplastic syndromes and acute leukemia cells

Machado-Neto JA¹, Campos PM¹, Favaro P^{1,2}, Lazarini M¹, Lorand-Metze I¹, Costa FF¹, Saad ST¹, Traina F^{1,3}

¹Hematology and Hemotherapy Center-University of Campinas/Hemocentro-Unicamp, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Campinas, São Paulo, Brazil

²Department of Biological Sciences, Federal University of São Paulo, Diadema, São Paulo, Brazil

³Department of Internal Medicine, University of São Paulo at Ribeirão Preto Medical School, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil

Background: Stathmin 1, also known as Oncoprotein 18 (OP18) or Leukemia-associated phosphoprotein p18 (LAP18), is an important cytoplasmic microtubule-destabilizing protein that plays a critical role in the process of mitosis, proliferation and accurate chromosome segregation through regulation of microtubule dynamics. High levels of Stathmin 1 have been reported in solid tumors and have been associated with poor prognosis in various types of cancers.

Aim: To evaluate Stathmin 1 expression in proliferating and non-proliferating hematopoietic cells, in bone marrow cells from healthy donors and from patients with myelodysplastic syndromes (MDS), acute myeloid leukemia (AML) and acute lymphoid leukemia (ALL). In addition, we evaluated the effect of Stathmin 1 silencing on proliferation and apoptosis in the U937 acute myeloid leukemia cell line.

Methods: A panel of human leukemia cell lines that included myeloid (K562, KU812, NB4, HL60, P39, HEL, U937, KG1 and THP1) and lymphoid cells (Jurkat, MOLT4, Daudi, Raji, Namalwa and Karpas 422) in exponential growth was used. Peripheral blood lymphocytes (PBL) were induced, or not, to proliferate upon PHA stimulation for 72 hours. A total of 30 healthy donors and 117 patients at diagnosis (MDS=52 [low-risk=36, high-risk=16], AML=49, and ALL=16) were included in the study. Stathmin 1 gene and protein expression was evaluated by qPCR and Western blot. Stathmin 1 was stably knocked down with specific shRNA-expressing lentiviral vector and cell growth was examined by MTT assay, clonogenicity by colony formation and apoptosis by AnnexinV/PI. Appropriate statistical analyses were performed. **Results:** A higher expression of Stathmin 1 was observed in all leukemia cell lines and in proliferating PBL when compared with normal non-proliferating hematopoietic cells. *Stathmin 1* transcripts were significantly increased in total bone marrow cells from patients with AML and ALL compared with healthy donors (all $p \leq 0.009$). No difference in *Stathmin 1* expression was observed between healthy donors and MDS patients. When the MDS group was stratified by the WHO classification into low and high-risk MDS, *Stathmin 1* expression was significantly higher in the high-risk, when compared with low-risk MDS ($p = .03$). Similar results were found in isolated CD34⁺ bone marrow cells (all $p \leq .02$). Interestingly, 3 out of 5 MDS patients showed a significant increase in *Stathmin 1* transcripts after disease progression. Also, a significant positive correlation was observed between percentage of bone marrow blasts and *Stathmin 1* expression in MDS patients ($p = .03$; $r = .31$). In U937 leukemia cells, Stathmin 1 silencing significantly reduced cell proliferation ($p = .02$) and clonal growth ($p < .0001$), but did not modulate apoptosis. **Conclusion:** *Stathmin 1* is overexpressed in high-risk MDS and acute leukemia cells, and is upregulated during MDS progression, suggesting that Stathmin 1 plays a role in the highly proliferative phenotype. Our study adds new insights to the role of Stathmin 1 in leukemogenesis. Future studies are necessary to validate whether Stathmin 1 is a predictive marker for MDS progression, and to determinate whether Stathmin 1 is a "driver" or a "passenger" during malignant transformation.

431

Downregulation of SIVA, a target of p53, in myelodysplastic syndromes

Machado-Neto JA¹, Campos PM¹, Favaro P^{1,2}, Lazarini M¹, Scopim-Ribeiro R¹, Lorand-Metze I¹, Costa FF¹, Saad ST¹, Traina F^{1,3}

¹Hematology and Hemotherapy Center-University of Campinas/Hemocentro-Unicamp, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Campinas, São Paulo, Brazil

²Department of Biological Sciences, Federal University of São Paulo, Diadema, São Paulo, Brazil

³Department of Internal Medicine, University of São Paulo at Ribeirão Preto Medical School, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil

Background: Genomic instability and apoptosis are hallmarks of cancer cells; apoptosis is a key physiological process for the elimination of irreversibly injured cells. The p53 tumor suppressor protein is a key transcription factor that regulates several signaling pathways involved in cell response to stress, suppressing malignant transformation by cell cycle arrest, DNA repair and induction of apoptosis or initiation of senescence. Downregulation or inactivation of p53 is a common event in hematological malignancies, including myelodysplastic syndromes (MDS), and has been related with poor prognosis in these diseases. *SIVA* is a transcriptional target of p53 and has been initially described as a proapoptotic protein, acting upon both extrinsic and intrinsic apoptotic pathways, and negatively regulating *BCL2* expression. *MDM2* negatively regulates p53 and also modulates the expression of *SIVA* by p53 independent mechanisms. **Aim:** We aimed to characterize the expressions of *SIVA1* and *SIVA2* in healthy controls and in patients with MDS, and their correlation with *TP53*, *MDM2* and *BCL2* expressions. **Methods:** We studied bone marrow samples from 22 healthy donors and 43 patients at diagnosis of MDS. *SIVA1*, *SIVA2*, *TP53*, *MDM2* and *BCL2* expression were evaluated by quantitative PCR. Appropriate statistical analysis was performed and the data were showed as median values. **Results:** *SIVA1* and *SIVA2* transcripts were significantly decreased in MDS cells compared with normal cells (*SIVA1* : 0.84 vs. 2.18; *SIVA2* : 0.96 vs. 4.69; $P < 0.005$), and a significant positive correlation between *SIVA1* and *SIVA2* expression was observed in normal and MDS cells ($P < 0.0001$), indicating a similar regulation for both *SIVA* transcripts in hematopoietic cells. *MDM2* expression was also decreased in MDS cells compared with normal cells, though not statistically significant (1.21 vs. 1.59, $P = 0.28$). *TP53* and *BCL2* expressions were similar between normal and MDS cells. Interestingly, a positive correlation was observed between both isoforms of *SIVA* and *MDM2* ($P < 0.05$). **Conclusion:** We demonstrated that *SIVA* expression is impaired in MDS cells. The downregulation of *SIVA* and *MDM2* in MDS may be due to defective p53 transcriptional machinery in this disease. Supported by FAPESP, CNPq and INCT do Sangue.

432

Revised IPSS cytogenetics in Brazilian patients correlates with prognosis in myelodysplastic syndrome

Costa MB¹, Sousa JC¹, Fernandes MH², Junior HL¹, Oliveira RT¹, Borges DP¹, Magalhães SM¹, Pinheiro RF¹

¹Laboratório de Citogenômica do Câncer - Universidade Federal do Ceará

²Universidade Federal do Ceará

Myelodysplastic syndrome (MDS) is a clonal hematopoietic stem cell disorder characterized by ineffective hematopoiesis, peripheral cytopenias and an additional risk to involve into acute leukemia in up to 30% of the cases. Cytogenetic abnormalities have been found at diagnosis in 20 to 60% of patients with myelodysplastic syndromes.

Cytogenetic abnormalities are important to identify malignant cells and to indicate prognosis in myeloid malignancies. According to Revised International Prognosis Scoring Systems (IPSS) 2012, very good karyotype in MDS was considered to be -Y and del(11q); good were normal, del(5q), del(12p), del(20q), double including del(5q); intermediate were del(7q), +8, +19, i(17q), any single or double independent clones; poor were -7; inv(3)/del(3q), double including -7/del(7q), complex (3 abnormalities) and very poor were complex > 3 abnormalities. The study aims to evidence the cytogenetic abnormalities of the patients with myelodysplastic syndrome and correlates with survival. The study population was 102 adult patients with primary MDS and 10 patients with related therapy MDS (t-MDS) who were diagnosed between JAN/2008 and JUN/2013 at Federal University of Ceará, Brazil. For cytogenetic analysis of patient samples were collected from bone marrow (MO). The cultures were incubated for 24 hours, at 37°C and 0.5% CO₂. Cytogenetic studies were performed according to standard techniques. The bands were made by G-banding technique. The International Systems Cytogenetic Nomenclature (ISCN) 2009 criteria were used for identification of abnormal clones. Robust Cox models for use of prognostic risk were based on multivariate analysis of survival time. The study population comprised 52 men and 60 women aged 18-91 years (median 64 years). The patients for evaluation were classified by WHO in RA (9,25%); RARS (11,11%), *RCMD* (52,77%), syndrome 5q (1,85%), refractory neutropenia (1,85%), RAEB-I (5,55%), RAEB-II (8,33%). Metaphases were available in 78/102 patients with MDS at diagnosis (76,48%) and 23,52% presented no metaphases. According to the R-IPSS (Greenberg, 2012) cytogenetic categories, 1,96% presented with very good karyotype, 53,92% with good karyotype, 14,70% with intermediate karyotype, 1,96% with poor karyotype and 3,92% with very poor karyotype at diagnostic. In cox regression analysis, the intermediate cytogenetic subgroup show an important association with major survival ($p=0,049$, HR 0,961). Additionally, the poor cytogenetic subgroup presented association with minor survival ($p=0,030$). Karyotype is crucial for providing prognostic assessments.

433

Arranjos de polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNP array) na detecção de anormalidades genético-moleculares em um caso de SMD AREB II

Noronha TR¹, Rohr SS¹, Yamamoto M¹, Chauffaille ML^{1,2}

¹Universidade Federal de São Paulo

²Grupo Fleury

Síndromes mielodisplásicas (SMD) constituem grupo heterogêneo de doenças hematopoéticas clonais com citopenias no sangue periférico, displasia e medula óssea (MO) hiperproliferativa. O estudo das alterações cromossômicas é importante para o diagnóstico, prognóstico, decisão terapêutica e seguimento. As anormalidades cromossômicas são observadas em 15 a 60% dos casos de SMD primárias. Em geral, as alterações citogenéticas observadas nas SMD, diferentemente da LMA, são perdas ou ganhos de material genético. Isso sugere tanto alteração na função de genes supressores tumorais como haploinsuficiência, exercendo um papel na gênese da doença. SNP array é um método para avaliação genômica em que o DNA em estudo é hibridado a grande quantidade de sondas polimórficas e não polimórficas, fornecendo informações de variação no número de cópias (CNV) e perda de heterozigose (LOH). Métodos que avaliam CNV permitem identificar amplificações e deleções submicroscópicas, não detectadas pelo cariótipo. Este estudo visou acrescentar ao cariótipo da MO a avaliação de SNP array de um paciente masculino, 64 anos, com diagnóstico de SMD (AREB II), IPSS 2, WPSS muito alto risco em março/2012 e com antecedente de carcinoma de reto, T3N0Mx em 2010 tratado cirurgicamente. No diagnóstico da SMD apresentava: Hb 7,7g/dL, Ht 24,1% VCM 96,8fL, HCM 30,9pg, GB2.490/ μ L (10% blastos) Plaquetas 77.000/ μ L. MO hiperclonal com displasia nas três linhagens e 9,6% de blastos, sem bastonetes de Auer;

MPO positivo 3%. Ferro medular: 73% de sideroblastos em anel. Imunofenotipagem MO: presença de blastos mielóides (HLA-DR+, CD34+, CD117+, CD13+) e alterações displásicas na série granulocítica (anormalidade de maturação pelo CD11b/CD13, perda de expressão CD16) e da série eritróide (CD36 e CD71 heterogêneos). Biópsia MO: celularidade 60%, CD34 e MPO positivos em várias células, CD61+ em algumas células, proliferação reticulínica grau II. Cariótipo: 46,XY,del(5)(q15q33),del(17)(p11.2)[16]/46,XY[4]. Para o SNP array foi extraído DNA de células mononucleares da MO e processado no chip CytoScan[®]HD da Affymetrix (experimento realizado e patrocinado pelo setor de Pesquisa & Desenvolvimento do Grupo Fleury). SNP array: deleção 5q21.1q35.3; -7; +8; deleção 12p13.3p12.3, 12p12.1p11.22, 12q22q23.3; -16; deleção 17p13.3p11.2 (mosaico); -Y. Com o resultado do SNP array, o cariótipo foi revisto e as alterações -7, +8, -16, -Y foram observadas em metafases esporádicas, não tendo sido descritas porque não se constituíam em clone do ponto de vista citogenético. As alterações de deleções no cromossomo 12 não foram visualizadas na revisão do cariótipo. Em conclusão, o SNP array adiciona informações novas e relevantes que podem auxiliar na definição de perfis preditivos de progressão. A correlação de anormalias com a patogenia da doença permite melhor compreensão da sua biologia. A redundância de exames é benéfica para a ampla e indistinta caracterização da doença.

434

Rhodiola rosea extract reduces autophagy in acute myeloid leukemia transformed from myelodysplastic syndromes tumor xenograft model

Torello CO¹, Machado-Neto JA¹, Vieira KP¹, Maso V¹, Calgarotto AK¹, Franchi-Junior GC¹, Lazarini M¹, Queiroz ML¹, Saad ST¹

¹Universidade Estadual de Campinas

Myelodysplastic syndrome (MDS) encompasses a heterogeneous group of clonal hematopoietic stem cell disorders, characterized by ineffective hematopoiesis and a tendency to progress towards acute myeloid leukemia (AML). The autophagy process has been implicated in the pathophysiology of both disorders. MDS treatment usually focuses on reducing or preventing complications, and single-target drugs are ineffective. The identification of novel compounds with anti-leukemia activity, as well as understanding the molecular and cellular basis of the disease may provide new therapeutic opportunities for MDS. In this concern, natural compounds such as *Rhodiola rosea* are considered interesting for the development of drugs against various molecular targets. Phytochemicals analyses of *R. rosea* extracts (RRE) revealed the presence of several components including polyphenols. The aim of this study was to evaluate RRE effects using human tumor xenograft model. A total of 2×10^6 P39 cells (AML transformed from MDS), were subcutaneously injected in dorsal region of NOD.CB17-Prkdc^{scid}/J mice ($n=12$). Tumor volume was measured once every 7 days and RRE treatment initiated when tumors reached 100-200 mm³ ($n=6$). The dose of 250mg/Kg body was given once every day by oral route (gavage). Control group received vehicle only ($n=6$). After 14 days, mice were sacrificed; tumors were removed and autophagy-related protein expression was evaluated by Western blot. After 14 days treatment, there was reduction of approximately 30% in tumor volume compared to controls. We found increased expression of beclin-1 and STSQM1/p62, and also Bcl-2 expression. In conclusion, *Rhodiola rosea* extract treatment in AML transformed from MDS tumor xenograft model reduces tumor growth, with pronounced inhibition of autophagy process.

435

Importância da análise imunofenotípica seriada nas síndromes mielodisplásicas

Reis-Alves SC¹, Rocha FF¹, Pereira-Cunha FG¹, Saad ST², Lorand-Metze I²

¹Centro de Hematologia e Hemoterapia, Hemocentro/INCT do Sangue, Universidade de Campinas Unicamp, São Paulo, Brasil

²Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade de Campinas Unicamp, São Paulo, Brasil

Introdução: A análise por citometria de fluxo multiparamétrica dos precursores hemopoéticos tem contribuído para o diagnóstico das SMD e fornece importantes parâmetros prognósticos. **Objetivo:** Avaliar quais das alterações imunofenotípicas estão relacionadas com a progressão da doença. **Métodos:** Realizamos imunofenotipagem de medula óssea (série mielomonocítica e células CD34⁺) na avaliação diagnóstica de SMD. O exame foi repetido quando houve piora do hemograma (PC) ou após pelo menos um ano, nos casos com doença estável (DE). O mesmo painel foi realizado na progressão para LMA (sLMA). O painel de anticorpos utilizados neste estudo foi: HLA-DR/CD14/CD45/CD33; CD16/CD11b/CD45/CD13; CD13/CD117/CD45/CD34; CD10/CD19/CD45/CD34; CD7/CD56/CD45/CD34. **Resultados:** Entraram no estudo 41 casos. Grupo DE: 10 casos. Idade mediana: 56 anos (27-88). Tempo mediano entre as avaliações: 32,5 meses. Grupo PC: 24 casos, idade mediana de 62 anos (30-93). Tempo mediano entre as avaliações: 11 meses. Grupo que progrediu para LMA (sLMA): 7 casos, idade mediana: 75 anos (28-87). Tempo mediano entre as avaliações: 7 meses. Tipos OMS ao diagnóstico: nos DE: 1 caso AR, 8 CRDM e 1 CRDM-SA. Grupo PC: 2 foram AR, 9 CRDM, 5 CRDM-SA, 1 síndrome 5q-, 4 AREB-1 e 3 AREB-2. Grupo sLMA 4 foram CRDM, 1 CRDM-SA, 1 síndrome 5q- e 1 AREB-2. Segundo o IPSS-R: nos DE 2 foram risco muito baixo e 8 baixo. Grupo PC: 4 foram risco muito baixo, 9 baixo, 5 intermediário, 6 risco alto/muito alto. sLMA: 3 tinham risco baixo/muito baixo, 1 intermediário e 2 alto risco. No grupo DE houve aumento das alterações imunofenotípicas totais (4.5 vs 8; p=0,01) e das alterações monocíticas (1 vs 3; p=0,02). Não houve alterações significativas nas células CD34⁺. No grupo PC houve diminuição da hemoglobina (10.0 vs 8.7; p=0,02). Na imunofenotipagem aumentaram os casos com desvio à esquerda assíncrono (46% vs 58% p=0,04) e com expressão anômala de CD34 (33% vs 54%; p=0,002) e CD19 (12% vs 17%; p=0,002) nos granulócitos. Nos monócitos aumentaram os CD16⁺ (0,4 vs 0,5; p=0,01) e casos com expressão anômala de CD34 (44% vs 66%; p=0,04). No grupo sLMA não houve diferenças significativas nas alterações mielomonocíticas, mas aumentaram as células CD34⁺/CD117⁺/CD13⁺ (1,7 vs 12,2; p=0,05), o número de alterações nas células CD34⁺ (4 vs 5; p=0,03) e o número total de alterações imunofenotípicas (11 vs 12; p=0,01). Na análise univariada, tiveram relação com a progressão para LMA as seguintes variáveis: % monócitos (B = -0,984; p=0,01), % gate de blastos (B = 0,246; p=0,05), % células CD34⁺ (B = 0,268; p=0,03), % células CD34⁺/CD117⁺/CD13⁺ (B=0,405; p=0,008), % células CD34⁺/CD56⁺ (B=3,750; p = 0,03), total de alterações granulocíticas (B = 0,739; p = 0,04), total de alterações nas células CD34⁺ (B = 0,638; p = 0,004) e total de alterações imunofenotípicas (B = 0,376; p = 0,001). **Conclusão:** Através da análise seriada concluímos que, se não há alteração do hemograma não há alteração na imunofenotipagem. Nos com piora do hemograma aumenta o número de alterações, mas apenas o aumento das células CD34⁺/CD117⁺/CD13⁺ (ao diagnóstico ou na avaliação sequencial) prevê a transformação em LMA. Apoio: FAPESP, CNPq e INCTS.

436

Bone marrow cytokine profile in MDS and non-clonal cytopenias

Reis-Alves SC¹, Rocha FF¹, Pereira-Cunha FG¹, Saad ST², Lorand-Metze I²

¹Hematology/Hemotherapy Center, University of Campinas, Campinas, Brazil

²Faculty of Medical Sciences University of Campinas, Campinas, Brazil

Background: MDS are clonal disorders characterized by an immune-mediated BM failure and excessive apoptosis. Immune mechanisms associated with disease progression are not well understood. **Aim:** Comparison of the normal bone marrow (BM) cytokine profile with that of reactive PB cytopenias, MDS and secondary AML. Evaluation of its relation with the BM immunophenotypic features. **Methods:** Plasma and BM plasma were collected from patients with MDS, secondary AML, non-clonal PB cytopenias (deficiency anemia, immune and toxic). Controls: BMT donors. Cytometric bead array (CBA) assay was performed to measure IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17 and TNF- α and IFN- γ . Immunophenotypic analyzes of hematopoietic precursors were also performed. **Results:** We examined 11 normal BMs, 13 reactive cases, 24 MDS and 4 cases of secondary AML. MDS WHO types: 3 were RA, 13 RCMD, 5 CRDM-RS, 3 were RAEB. IPSS-R: 5 very low risk, 9 low, 6 intermediate, 3 high and 1 very high risk. There were a significant positive correlation between all cytokine values measured in PB and BM. No significant difference was found between values found in non-clonal cytopenias and normal cases. Bone marrow cytokine profile in normal and non-clonal cytopenias: IL-2 (4.6 vs 5.3, respectively), TNF- α (3.7 vs 3.0), IFN- γ (21.4 vs 21.6), IL-4 (4.2 vs 4.4), IL-6 (3.8 vs 4.0), IL-10 (3.2 vs 2.9), IL-17a (4.3 vs 5.6). Bone marrow cytokine profile in MDS and secondary AML: IL-2 (8.4 vs 32.7, respectively), TNF- α (9.8 vs 14.9), IFN- γ (94.5 vs 119.8), IL-4 (17.9 vs 22.5), IL-6 (13.5 vs 20.3), IL-10 (10.6 vs 14.7), IL-17a (16.1 vs 22.3). MDS and secondary AML showed a significant increase of all cytokines compared to control cases, except for IL-2, that was increased only in RAEB and AML (median 20.8 and 32.7, respectively). Correlations were found between IL-2 and %BM blasts (r=0.44; p=0.008), revised karyotype risk (r=0.33; p=0.03), % CD34⁺ cells (r=0.35; p=0.03), CD34⁺/CD7⁺ (r=0.35; p=0.03) and CD34⁺/CD56⁺ cells (r=0.59; p=0.00004). IL-10 and PB neutrophils (r= -0.39; p=0.01) and total number of phenotypic abnormalities (r=0.35; p=0.03); and TNF- α and number of CD34⁺ cell abnormalities (r=0.32; p=0.05). **Conclusion:** BM cytokine profile is different in clonal and non-clonal PB cytopenias. Increase in IL-2 is associated with disease progression in MDS. As this cytokine has a stimulatory effect on hemopoietic progenitors, it may be part of an autocrine process in secondary AML. Support: FAPESP, CNPq, MDS Foundation, INCTS.

437

Increased oxidative stress and antioxidant capacity in patients with myelodysplastic syndromes and transfusional iron overload

Souza GF¹, Elias DB¹, Santos TE¹, Barbosa MC¹, Pinheiro RF¹, Freitas RM², Goncalves RP¹, Magalhães SM¹

¹Federal University of Ceará, Brazil

²Federal University of Piauí, Brazil

Background: Myelodysplastic syndromes (MDS) are mainly a group of diseases of old age. Most patients have anemia and require blood transfusions at some time in the course of their disease and many develop transfusion dependence and iron overload (IOL) what induce target organ damage and are associated to increased risk of disease

progression and shorter survival. Free iron produces activated oxygen species in high concentrations that act as mediators of lipid peroxidation, important cause of damage to cellular structures and consequent organ dysfunction. The aim of this study was to evaluate the oxidative status in patients with MDS and transfusional iron overload (IOL) and compare these findings to patients without IOL and healthy volunteers. **Methods:** Consecutive adult patients with MDS (n=101), followed at the University Hospital from Federal University of Ceará and 87 healthy volunteers were enrolled. The study was approved by the local Ethics Committee. IOL was defined as serum ferritin $\geq 1,000$ ng/mL. Peripheral blood samples were obtained at least 8 days following the latest transfusion for hematological analysis (CELL DYN Ruby® Abbott® Laboratory), serum ferritin (enzyme immunoassay Abbott® Laboratory), glutathione peroxidase (GPx - kit Ransel®) and superoxide dismutase (SOD - kit Ransol®) levels, indicative of the antioxidant capacity. The serum malonaldehyde (MDA) levels were evaluated based on its reaction with thiobarbituric acid (TBARS) at a temperature of 100°C. All statistical analyses were performed using GraphPrism program (version 5.01). **Results:** Media age of healthy volunteers, patients with MDS with and without IOL were 72.4, 68.4 and 63.5 years, respectively. Media hemoglobin level in the MDS group with IOL was significantly lower ($p < 0.0001$). The transferrin saturation and ferritin level were significantly higher in patients with IOL ($p < 0.0001$). The MDA levels were highest in MDS patients with IOL, with significant difference ($p < 0.0001$) when compared to patients without IOL and healthy volunteers, pointing to the relationship between IOL and oxidative stress. The enzymes levels GPx and SOD were also higher in these patients, indicating that lipid peroxidation raise was followed by the increase of the antioxidant capacity. **Conclusion:** The study revealed a direct relationship between iron overload and oxidative process markers. It is probable that IOL toxicity is, at least in part, mediated by oxidative damage. *Is expected that in the near future levels of free iron species in parallel with oxidative stress parameters will all be used to diagnose and monitor iron overload toxicity in MDS.*

438

Alterações citogenéticas associadas ao uso crônico de imunossupressor em doenças auto-imunes

Farias IR¹, Filho JD², Oliveira RT¹, Braga MC¹, Borges DP¹, Magalhães SM¹, Pinheiro RF¹

¹Laboratório de Citogenômica de Câncer - Universidade Federal do Ceará

²Pós-graduação em Patologia - Universidade Federal do Ceará

A síndrome mielodisplásica (SMD) é um grupo heterogêneo de doenças com alterações clonais nas células progenitoras, caracterizada por hematopoese ineficaz com citopenias periféricas e uma ampla variação de manifestações clínicas e patológicas. A SMD classifica-se como primária (*de novo*) ou secundária relacionada à terapia (SMD-t). A SMD-t é uma doença clonal com curso clínico mais agressivo que a SMD primária, é bem reconhecida como síndrome clínica que ocorre com uma complicação tardia após a terapia citotóxica. Não só as drogas citotóxicas utilizadas em terapia anticâncer, mas também fármacos imunossupressores utilizados em doenças auto-imunes têm sido associados com o desenvolvimento de SMD-t, como é o caso de antimitabólitos como a azatioprina (AZA) e metotrexato (MTX). O objetivo desse trabalho é descrever alterações citogenéticas de dois relatos de pacientes com doenças auto-imunes em uso de imunossupressores. Caso 1, paciente do sexo feminino, 57 anos, com diagnóstico de artrite reumatóide soropositiva (> 15 anos). A paciente foi tratada com metotrexato 15mg/semana durante três meses. Após três meses, a paciente apresentou sequelas radiológicas nas articulações afetadas reveladas por osteopenia justa-articular, erosões no osso subcondral e estreitamento dos espaços articulares em punhos e nas articulações metacarpos. Para isso, 3mg/kg infliximab foi prescrito em associação com metotrexato. Remissão da doença foi observada nos

primeiros seis meses de uso infliximab, mas a droga foi interrompida devido a trombocitopenia progredindo de 134.000/dL e 112.000/dL. Foi colhida amostra de medula óssea para a realização de estudo citogenético. A citogenética revelou uma deleção intersticial no braço longo do cromossomo 5 (46,XX,del(5)(q13q22)[4]). Caso 2, paciente do sexo feminino, 22 anos, diagnosticada com lúpus (> 5 anos), de acordo com o *American College of Rheumatology* (1997). A paciente apresentava serosites (derrame pleural), artrite, erupções cutâneas e auto-anticorpos (FAN, anti-Ro e anti-SM). A paciente foi inicialmente tratada com azatioprina (150 mg/dia) durante três anos. Foi observada a presença de anemia (Hb=10,4 g/dL), leucopenia (2910/mL) e trombocitopenia (30000/mL). Análise do aspirado medular foi realizado. Exame citopatológico revelou uma medula óssea normocelular, hiperplasia megacariocítica leve. A análise citogenética mostrou deleção intersticial no braço longo dos cromossomos 5 associada a deleção terminal no braço longo do cromossomo 7 (46,XX,del(5)(q31q33),-del(7)(32) [4],46,XX[11]. Azatioprina foi retirado e o quadro clínico e laboratorial remetidos dentro de uma semana: Hb = 11,5g/dL; Leuc = 13210/mL; Plt = 133000/mL. Esses casos demonstram a importância da observação rigorosa do hemograma e do cariótipo de pacientes.

439

Characterization of BNIP3 and NIX, targets of HIF-1 alpha, in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia

Lazarini M¹, Machado-Neto JA¹, Duarte AS¹, Campos PM¹, Pericole F¹, Traiana F², Saad ST¹

¹Universidade Estadual de Campinas

²Universidade de São Paulo

Background: HIF-1 alpha is a key component of hypoxia-responsive regulatory pathways and is a transcription factor that regulates several signaling pathways involved in cell differentiation, angiogenesis, apoptosis and autophagy. Expression of HIF-1 alpha protein levels has already been correlated with poor overall survival and disease progression in myelodysplastic syndromes (MDS). Among other proteins, BNIP3, NIX and GLUT-1 are targets of HIF-1 alpha. BNIP3 and NIX are pro-apoptotic and pro-autophagy proteins, targets of HIF-1 alpha, associated with many diseases. The glucose transporter GLUT-1 participates in the control of cell energy metabolism and its activation has been related to the energy imbalance found in several malignancies. However, there is a lack of studies of these genes in MDS. **Aim:** To evaluate BNIP3 and NIX expression in leukemia cell lines and bone marrow samples from patients with MDS and AML. Methylation status of BNIP3 promoter and 5-aza-2'-deoxycytidine (decitabine or DAC) effects on BNIP3 methylation were also investigated. **Methods:** Bone marrow cells were obtained from 31 healthy donors, 62 patients with MDS and 63 patients with Acute Myeloid Leukemia (AML) at diagnosis. Gene expression was evaluated by qPCR and DNA methylation was performed by combined bisulfite restriction analysis. DAC treatment (1 and 5µM) was performed for 48 hours and apoptosis and autophagy were accessed by flow cytometry. **Results:** BNIP3 expression was decreased in MDS ($P = 0.0018$) and secondary AML from MDS (AML/MDS) patients ($P = 0.04$). Interestingly, BNIP3 expression was lower in high-risk compared to low-risk MDS ($P = 0.002$). NIX expression was decreased in high-risk MDS ($P = 0.02$), AML/MDS ($P = 0.01$) and AML ($P < 0.0001$) patients. A positive correlation was observed between NIX and HIF-1 alpha expression ($P = 0.0001$; $r = 0.46$). GLUT-1 expression was not modulated between normal, MDS and AML samples. Aberrant methylation of BNIP3 promoter was detected in 19% MDS, 0% MDS/AML and 26% AML patients. BNIP3 and NIX expression were detected in HL60, U937, KG1, P39, THP1, K562 and HEL cell lines and U937 cells presented BNIP3 methylation. DAC treatment in U937 cells resulted in increased BNIP3 expression and demethylation, with a concomitant increase in apoptosis and autophagy. Interestingly, NIX and HIF-1 alpha expression were also increased by DAC. In HL60 and

P39 cells (negative for BNIP3 methylation), DAC treatment resulted in a lower increase in apoptosis and no modulation of *BNIP3*, *NIX* and *HIF-1 alpha* expression. **Conclusion:** BNIP3 and NIX expression are altered in MDS and AML patients compared to healthy donors. BNIP3 is most likely to participate in MDS and AML/MDS AML pathogenesis and the low frequency of methylated BNIP3 promoter AML suggests that this process is not the single reason for the decreased BNIP3 expression. BNIP3 is a target of DAC and its demethylation is associated with increased apoptosis and autophagy in leukemic cells. NIX plays a possible role in high-risk MDS and AML. The positive correlation between *NIX* and *HIF-1 alpha* indicates that *HIF-1 alpha* mRNA levels may be important for the control of *NIX* expression.

440

Uso da citogenética clássica como ferramenta na avaliação do prognóstico nas síndromes mielodisplásicas

Mascarenhas AS¹, Caputo LZ¹, Kuhbauche R¹, Cobacho AF¹, Silva HC¹, Gaburo N¹

¹Diagnósticos da America S.A.

Introdução: As síndromes mielodisplásicas (SMD) são um grupo de doenças derivadas de um defeito clonal nas células progenitoras hematopoiéticas caracterizadas por achados displásicos com variável grau de falência medular e de proliferação de células blásticas. Em 2012, Schanz et. al. propôs um modelo de prognóstico para SMD primária onde 19 alterações citogenéticas foram definidas e relacionadas a 5 grupos de prognóstico. **Objetivo:** Relacionar a frequência de nossos achados citogenéticos com esse novo modelo de categorização de risco. **Métodos:** Análise do cariótipo de amostra de 689 pacientes com suspeita clínica de SMD no período de janeiro de 2012 até junho de 2013. Foram realizadas culturas de curta duração, sem agentes mitógenos e análise de no mínimo 20 metáfases. **Resultados e Discussão:** Cariótipo normal foi encontrado em 456 pacientes, 155 foram reconvocados devido à ausência de crescimento celular e, 78 pacientes apresentaram cariótipo alterado, 1F:1,3M e mediana de idade neste grupo de 69 anos, igualmente citado pela literatura. De acordo com as alterações cromossômicas e ao modelo proposto dividimos nossos pacientes em 5 grupos de risco: Grupo I representado por 3,4% dos casos com alterações no cariótipo consideradas de prognóstico MUITO BOM; Grupo II: agrupados 87,3% dos casos com cariótipo consideradas de BOM prognóstico; Grupo III: 5,8% dos casos de prognóstico INTERMEDIÁRIO; Grupo IV: no qual foram identificados 0,9% dos casos com anormalidades de prognóstico RUIM e, finalmente o Grupo V: 2,6% casos com anormalidades de prognóstico MUITO RUIM. As anormalidades de prognósticos BOM e INTERMEDIÁRIO foram as mais frequentes neste estudo, em concordância com o encontrado no grupo de Schanz. Nossa frequência de casos de prognóstico MUITO BOM foi maior que o citado na literatura, nesse grupo encontramos com uma maior frequência casos com -Y. Encontramos uma frequência maior de cariótipos de prognóstico MUITO RUIM, destacando o fato de que nesse grupo, com exceção de um caso, encontramos cariótipos com mais de 5 anormalidades por metáfase. O cariótipo de prognóstico RUIM foi o menos frequente na população estudada, pois anormalidades no cromossomo 3 não foram achado isolado simples, quando presente, estava em clones considerados complexos. Em nossa casuística encontramos alterações ditas pouco frequentes em SMD, tais como rearranjos envolvendo o cromossomo 5[t(5;21); t(5;12)], cromossomo 22q-, rearranjos envolvendo o cromossomo 6, cromossomo 1 e outras aneuploidias distintas das categorizadas no estudo. Esses achados caracterizam a variabilidade citogenética nesses pacientes e a necessidade de se aprofundar em um estudo molecular para melhor entendimento biológico. **Conclusão:** Os sistemas de classificação de prognóstico são padrões importantes para avaliar o prognóstico dos pacientes não tratados primários com SMD. O modelo aplicado neste estudo, será melhor aplicado em nosso meio quando as informações clínicas

forem adequadamente informadas em formulário próprio do laboratório. A heterogeneidade cariotípica das SMD também devem ser melhor estudadas, inclusive por métodos moleculares, para melhor entendimento do seu impacto no prognóstico.

441

FMNL1 plays a role in the megakaryocytic differentiation

Lopes MR¹, Machado-Neto JA¹, Traina F^{1,2}, Pereira JK¹, Lorand-Metze I¹, Costa FF¹, Saad ST¹, Favaro P^{1,3}

¹Hematology and Hemotherapy Center-University of Campinas/Hemocentro-Unicamp, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Campinas, São Paulo, Brazil

²Department of Internal Medicine, University of São Paulo at Ribeirão Preto Medical School, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil

³Department of Biological Sciences, Federal University of São Paulo, Diadema, São Paulo, Brazil

Myelodysplastic syndromes (MDS) are characterized by morphological dysplasia, impaired differentiation and defective cellular functions. FMNL1 belongs to a family of formin proteins, indispensable for many fundamental actin-dependent processes. FMNL1 has been described to be upregulated and to play a role in the actin cytoskeleton dynamics during monocyte differentiation to macrophages. The aim of this work was to characterize *FMNL1* expression in total bone marrow (BM) cells of patients with MDS comparing to normal donors. We also analyzed *FMNL1* expression in erythrocytic, granulocytic and megakaryocytic differentiation. Finally we evaluated the impact of inhibition of *FMNL1* during megakaryocytic differentiation. A total of 49 patients with a diagnosis of MDS, receiving no treatment, and 18 samples from normal donors were included in the study. *FMNL1* expression levels were determined by qPCR or Western blot. KU812 was treated with 50 μ M hemin and 100 μ M hydroxyurea, for erythrocytic differentiation. K562 was stimulated with 20nM of PMA, for megakaryocytic differentiation. NB4 was treated with 10⁻⁶M of ATRA, for granulocytic differentiation. Megakaryocytic differentiation was evaluated by flow cytometry and May-Grunwald-Giemsa staining. K562 cells were transduced with lentivirus-mediated shRNA targeting *LacZ* or *FMNL1*. Apoptosis was assessed by Annexin-V/PI staining and cell cycle was evaluated by flow cytometry, both at 24 and 48 h after induction with PMA. The statistical methods used were the age-adjusted multivariate regression analysis, Mann Whitney test or *t test*. *FMNL1* expression in bone marrow samples was significantly lower in MDS when compared with normal donor cells ($P=0.01$), especially in the high risk group ($P<0.02$). Using cell line models for hematopoietic differentiation, we observed a fifteen-fold increase and a five-fold increase in *FMNL1* expression for megakaryocytic ($P=0.002$) and granulocytic differentiation ($P=0.05$) respectively. Western blot analysis corroborated these findings. There was no difference for erythrocyte differentiation. After PMA treatment, the level of the megakaryocytic markers CD61 was significantly lower in K562 sh*FMNL1* when compared with sh*LacZ* ($P=0.01$). The level of CD41a ($P=0.5$) and CD42b ($P=0.1$) showed a trend toward a decrease in sh*FMNL1* when compared with sh*LacZ*. K562 sh*FMNL1* showed reduced megakaryocytic morphological features (larger cells with polylobulated or polysegmented nuclei and vacuolization) compared with cells sh*LacZ*. After PMA treatment, there were no statistical differences between K562 sh*FMNL1* and sh*LacZ* cells during cell cycle analysis or in apoptosis levels. The family of formin-related proteins has mainly been related to many actin-dependent processes although little is known regarding their involvement in hematopoiesis. The lower *FMNL1* expression in MDS BM could reflect the role of this protein in cell differentiation. In agreement, *FMNL1* knockdown deregulates differentiation, suggesting that *FMNL1* is required for maintaining the effective megakaryocytopoiesis in MDS. Although *FMNL1* silencing effectively down-regulated CD61 expression, *FMNL1* silencing reduced CD41a and CD42b to a lesser extent. The effect of *FMNL1* cannot be explained by modifications of

the cell cycle or apoptosis during differentiation; and is probably due to the effect of changes in the dynamic remodeling of the cytoskeleton.

442

Alterações epigenéticas no gene *p15^{INK4B}* e sua associação com alterações citogenéticas e clínicas em pacientes com síndrome mielodisplásica primária

Graca HC¹, Rodrigues EF¹, Camargo A², Souza DC¹, Tavares RC¹, Costa ES³, Fernandez CS⁴, Bouzas LF¹, Abdelhay E¹, Fernandez TS¹

¹Instituto Nacional de Câncer (INCA), Centro de Transplante de Medula Óssea (CEMO), Divisão de Laboratórios, Rio de Janeiro, RJ Brasil

²Instituto de Hematologia Arthur Siqueira Cavalcante, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

³Instituto de Pediatria e Puericultura Martagão Gesteira, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), RJ, Brasil

⁴Instituto de Matemática e Estatística, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil

A síndrome mielodisplásica primária (SMD) compreende um grupo de doenças clonais de célula tronco hematopoética, caracterizada por hematopoese ineficaz, apoptose intramedular aumentada, displasias na medula óssea e citopenias no sangue periférico. Cerca de 10 a 40% dos casos evoluem para leucemia mielóide aguda (LMA). No entanto, pouco se sabe sobre as alterações genéticas e epigenéticas associadas com a transformação leucêmica. Este estudo apresentou como objetivo principal analisar o padrão de metilação do gene *p15^{INK4B}* em células de medula óssea de pacientes pediátricos e adultos com SMD primária e sua associação com características citogenéticas e clínicas. Foi feita uma correlação do padrão de metilação do gene *p15^{INK4B}* com o com o cariótipo, a porcentagem de blastos na medula óssea, evolução de SMD para LMA. O padrão de metilação do gene *p15^{INK4}* foi analisado através das metodologias MSP, COBRA e sequenciamento. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética do INCA. A análise do padrão de metilação do genes *p15^{INK4B}* foi realizada em 47 pacientes com SMD primária na infância e 36 pacientes adultos. Metilação do gene *p15^{INK4B}* foi observada em 15 (32%) dos 47 pacientes pediátricos e em 14 (39%) dos 36 pacientes adultos. A porcentagem de metilação do gene *p15^{INK4B}* foi maior nos subtipos mais avançados da SMD, AREB e AREB-t, comparado com o subtipo inicial da doença AR/CR ($p < 0,0001$). Nossos resultados sugerem que existe uma correlação direta entre o nível de metilação dos genes *p15^{INK4B}* e a porcentagem de blastos ($p < 0,0001$). Observamos uma associação entre a presença de metilação e de cariótipos anormais, tanto em pacientes pediátricos e adultos, onde a principal alteração cromossômica associada com a metilação em *p15^{INK4B}* foi a monossomia de 7. Nossos resultados sugerem que a presença de metilação em *p15^{INK4B}* é um evento associado com a evolução da doença, sendo um marcador epigenético de transformação leucêmica em pacientes com SMD primária. E uma provável via de evolução da SMD para LMA envolve alterações do cromossomo 7 e metilação na região promotora do gene *p15^{INK4B}*. Suporte Financeiro: Ministério da Saúde - INCA, FAPERJ, CNPq.

443

SMD AREB-1 e sarcoidose: relato de caso

Lacerda MP¹, Rohr SS¹, Melo MK¹, Pelloso LA¹, Silva MR¹, Chauffaille ML¹

¹Universidade Federal de São Paulo

Introdução: SMD constituem um grupo de doenças clonais da célula tronco hematopoética caracterizada por citopenia(s), displasia em

uma ou mais linhagens mieloides e hematopoese ineficaz. A anemia refratária com excesso de blastos-1 é um subtipo de SMD com 5-9% de blastos na medula óssea e 2-4% de blastos em sangue periférico¹. Sarcoidose é uma doença caracterizada pela presença de granulomas não-caseosos nos tecidos envolvidos. O acometimento pulmonar é o mais frequente (>90%)², seguido pelo cutâneo (25%) e ocular (20%). Anemia está presente em 13-28% dos pacientes e em 50% dos casos está associada à infiltração da medula óssea por granulomas epitelioides³. Outras possibilidades como anemia da inflamação, hiperesplenismo e hemólise autoimune não podem ser descartadas⁴. Embora a fisiopatologia ainda seja pouco conhecida, há associação com exposição a partículas inorgânicas, inseticidas, bolor e outros fatores ambientais⁵ além de suscetibilidade genética⁶. **Relato de Caso:** JV, 76 anos, masculino, caucasiano, encaminhado, em agosto de 2011, por anemia. Comorbidades: HAS, DM II, Dislipidemia, Hiperplasia prostática benigna com bexiga neurológica e polirradiculoneurite. Trazia hemograma de abril de 2008 sem alterações. Em janeiro de 2011: Hb9,4g/dL Ht28% VCM98fL HCM33pg RDW13% GB 3720/ μ L (1580/2/8/388/129) e Plaquetas 105000/ μ L. O mielograma realizado em agosto/2011 era hiperplástico, relação GE 2,5/1, SE com 24,6% de eritroblastos com diseritropoese moderada, SG com 9% de blastos sem Auer, presença de pseudo-Pelger, SLMP com 12% de monócitos, SMega bem representada, sem displasia. Biópsia MO (agosto/2011) revelou celularidade de 30%, desvio a esquerda de séries eritroide e granulocítica, fibrose grau II, e displasia megacariocítica e o cariótipo de medula óssea (janeiro/2012): 46,XY,del(5)(q13q33)[3] possibilitando o diagnóstico de SMD AREB-1, IPSS INT-2 e WPSS Risco Alto. Durante acompanhamento ambulatorial foi solicitada TC para avaliação de colúna torácica que revelou linfonodomegalia paraesofágica esquerda (2,7x2,1cm), áreas de vidro fosco com espessamento septal em lobos inferiores e imagem cística em lobo superior direito. O exame anátomo-patológico de parênquima pulmonar obtido por biópsia transbrônquica (novembro/2012) revelou inflamação crônica granulomatosa epitelióide, sem necrose, pesquisa de fungos e BAAR negativa e fibrose septal alveolar favorecendo o diagnóstico de Sarcoidose Pulmonar. **Discussão e Conclusão:** A associação entre SMD e sarcoidose é rara, com apenas três casos descritos^{6,7,8}. Uma hipótese^{7,8} para esta associação é de que a deleção de 5q na qual há genes responsáveis pela transcrição de citocinas (IL-3-, IL-4 e IL-5), promove desequilíbrio entre resposta Th2 e Th1, com predomínio de TNF α e IFN γ que também estão associados à formação de granulomas. O presente caso reforça a possibilidade de concomitância destas patologias, bem como a hipótese relacionada ao *clustering* genético no braço longo do cromossomo.

444

DNMT3A silencing does not modulate PTEN expression or activation in leukemia cells

Scopim-Ribeiro R¹, Machado-Neto JA¹, Campos PM¹, Duarte AS¹, Lorand-Metze I¹, Costa FF¹, Saad ST¹, Traina F²

¹Hematology and Hemotherapy Center-University of Campinas/ Hemocentro-Unicamp, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Campinas, São Paulo, Brazil

²Department of Internal Medicine, University of São Paulo at Ribeirão Preto Medical School, Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil

Background: DNA methyltransferases catalyze the addition of a methyl group in CpG islands. New sequencing technologies have enabled the identification of mutations in DNA-methyltransferase 3A (DNMT3A), which predict a worse prognosis in myelodysplastic syndrome (MDS) and acute myeloid leukemia (AML). The underlying mechanism to explain how DNMT3A mutations participate in leukemogenesis is still unclear. Although DNMT3A mutations were initially thought to lead to a loss of function phenotype, recent studies demonstrated that the DNMT3A mutations resulted in active

enzymes with altered catalytic properties. In hepatocellular carcinoma cells, DNMT3A depletion results in suppressed cell proliferation and restored PTEN expression through demethylation. PTEN activation leads to downregulation of PI3K/AKT/mTOR signaling pathway, which results in reduced cell survival, growth, proliferation, and invasion. We hypothesized that DNMT3A silencing could reduce cell proliferation and PTEN activation in leukemia cells. **Aim:** In HL60 and U937 leukemia cell lines, to evaluate the effect of DNMT3A silencing on PTEN expression and its downstream targets p-Akt and p-P70S6K, and also on cell cycle, apoptosis and proliferation. **Methods:** Gene silencing was performed by specific shRNA-expressing lentiviral, apoptosis by AnnexinV/PI, cell growth by MTT assay and colony formation, and cell cycle by flow cytometry. Gene expression was assessed by qPCR and the protein expression by Western blotting. *Mann-Whitney* or Student *t* test were used for statistical analysis. **Results:** DNMT3A silencing did not modulate cell cycle, apoptosis or proliferation of leukemia cell lines studied. In agreement, DNMT3A knockdown did not modulate the PTEN gene or neither protein expression nor the PTEN downstream targets p-Akt and p-P70S6K proteins. **Conclusion:** Our result indicates that DNMT3A inhibition does not modulate survival, proliferation or PTEN activation in the leukemia cell lines U937 and HL60. The functional consequence of DNMT3A silencing in DNA methylation and cell biology may vary according to the cell line model and may involve other signaling pathways. Different functional studies using primary leukemia cells may add more valuable information to the field.

445

Análise da sobrevida relativa às classificações de risco em 146 pacientes portadores de síndrome mielodisplásica em um único centro

Silva RO¹, Athayde MS¹, Ribeiro DD¹, Paes CA¹, Araújo SS¹

¹Hospital das Clínicas da UFMG

Introdução: As síndromes mielodisplásicas (SMD) compreendem um conjunto heterogêneo de doenças malignas de células-tronco hematopoéticas clonais com significativa morbidade e alta mortalidade. A SMD se caracteriza por hematopoiese ineficaz e geralmente apresenta citopenias no sangue periférico, medula óssea hiperplásica e displasia na diferenciação celular. Vários fatores clínicos e laboratoriais foram analisados como prognósticos. Os objetivos dessa revisão foram: 1. Desenvolver um estudo descritivo das características clínico-laboratoriais dos pacientes portadores de SMD 2. Avaliar os sistemas prognósticos de risco através da análise de sobrevida. **Métodos:** Estudo retrospectivo descritivo tipo série de casos, através de levantamento de dados em prontuários dos pacientes portadores de SMD atendidos no Serviço de Hematologia do HC-UFMG, no período de dezembro de 2002 a julho de 2013. Foram estudados 153 pacientes. A probabilidade de sobrevida e as curvas foram determinadas pela técnica do produto-limite de Kaplan-Meier, utilizando-se o teste de Log-Rank pelo SPSS 17.0. **Resultados:** A idade ao diagnóstico variou de 18 a 95 anos (M:69,4/ DP: 15,11), menor que a encontrada na literatura internacional, com predomínio do sexo masculino (54,2%). Análise de cariótipo foi realizada em 150 pacientes (98%). Desses, 81 (52,9%) encontravam-se no estado "risco bom" da classificação citogenética de risco e 15 (9,8%) no estado "muito ruim". O subtipo morfológico predominante foi anemia refratária (52,3%) na classificação FAB e citopenia refratária com displasia de múltiplas linhagens (22,2%) na WHO, similar aos resultados encontrados por Magalhães et al, 2010. Os pacientes analisados foram estratificados segundo as classificações de risco IPSS e WPSS, que inclui alterações citogenéticas e dependência transfusional. Considerando o IPSS, a maior parte dos pacientes (41,17%) estava no estado "intermediário-1" e pela WPSS no estado "baixo risco" (31,4%). Dependência transfusional foi reportada em 101 pacientes (66%) e 39 destes (25,5%) usavam terapia quelante.

Transplante de medula óssea foi realizado em apenas 2 pacientes. Considerando a presença de blastos medulares, 19 pacientes (12,4%) apresentavam contagem maior que 10%. A sobrevida global dos pacientes foi de 73,1 meses (IC95%57-89). Na análise univariada os fatores significativamente relacionados à sobrevida foram: "Grupo de Risco Citogenético", "Classificação WHO", "Escore Prognóstico WPSS", "Dependência Transfusional", "Presença de >10% de Blastos", todos com $p < 0,05$. **Conclusão:** Nossos pacientes apresentam características similares às relatadas na literatura internacional exceto pela menor idade ao diagnóstico e pela maior sobrevida encontrada em todos os grupos de risco estudados. Um estudo prospectivo multicêntrico é necessário para ampliar as informações relativas ao risco e ao prognóstico dos pacientes brasileiros.

446

Sinal de Leser-Trélat como apresentação inicial em paciente com síndrome mielodisplásica: um relato de caso

Kerbaux LN¹, Carvalho PD¹, Aranha MA¹, Farnes VC¹, Fontenele LP¹, Velloso ER¹

¹Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Introdução: Sinal de Leser-Trélat consiste em múltiplas ceratoses seborréicas e é considerado uma síndrome paraneoplásica rara. Este sinal é mais comumente associado aos tumores de órgãos sólidos, sendo o adenocarcinoma gástrico o mais prevalente. Apresentamos um caso de sinal de Leser-Trélat associado a Síndrome Mielodisplásica ainda não descrito na literatura. **Relato de Caso:** Paciente masculino, 78 anos, hipertenso e diabético, com história de astenia, perda de peso importante há 6 meses. Apresentava lesões hiperocrômicas, correspondentes à ceratose seborréica em face e principalmente em dorso com aparecimento há aproximadamente 2 anos e aumento progressivo do número de lesões no último ano, com diagnóstico de Sinal de Leser-Trélat. A pesquisa de neoplasias sólidas foi realizada por meio de marcadores tumorais e endoscopia digestiva alta que resultaram negativos. O paciente foi encaminhado ao Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas-FMUSP para investigação de pancitopenia em maio de 2013. Em hemograma, observou-se anemia macrocítica, leucopenia com desvio escalonado até promielócito e plaquetopenia. Aspirado de medula óssea revelou-se hiperplásico às custas de séries granulocítica e eritrocítica, com displasia da séries granulocítica e eritrocítica com 7,6% de blastos. Imunofenotipagem mostrou 1% de células precursoras mielóides (CD45 fraca intensidade, CD34+, HLA-DR+, CD13+, CD33+) e 10% de células CD45++, HLA-DR+, CD117 negativo, CD34 negativo, que expressam os antígenos mielomonocíticos CD13+/-, CD14 de fraca a forte intensidade, CD33+, CD36 heterogêneo +/-/+++, com coexpressão aberrante do antígeno NK associado CD56 e 25% linhagem granulocítica madura (HLA-DR negativo, CD13+, CD14+, CD11b+, CD13+, CD15+, CD16+) também expressavam o antígeno NK associado CD56. Biópsia de medula óssea apresentou-se hiperplásica para a idade às custas da série eritrocítica. Foi realizado, então, diagnóstico de anemia refratária com excesso de blastos I. **Discussão:** Na literatura, temos poucos casos relatados de sinal de Leser-Trélat e neoplasias. Apesar de ceratoses seborréicas serem achados frequentes, o aparecimento precoce dessas queratoses ou a piora de lesões crônicas e a associação temporal com doenças malignas são incomuns. O sinal está mais frequentemente associado a adenocarcinoma. Das doenças hematológicas, o sinal já havia sido relacionado a linfoma e síndrome de Sezary, e nos últimos dois anos, foram publicados dois relatos relacionando o sinal à leucemia mielóide aguda e à leucemia linfóide aguda recidivada. Desta forma, pacientes com sinal de Leser-Trélat devem ser submetidos a triagem diagnóstica de doença maligna e a associação com doenças hematológicas deve ser lembrada.

447

Síndrome mielodisplásica com trombocitopenia de provável etiologia autoimune

Muzzi GC¹, Amorim SR¹, Peixoto EF¹, Castro LR¹, Macedo AV¹¹Hospital da Polícia Militar de Minas Gerais

Introdução: O termo "síndrome mielodisplásica" (SMD) refere-se a um grupo de doenças hematopoiéticas de origem clonal da medula óssea, no qual se observam uma ou mais citopenias, associadas a displasia em uma ou mais linhagens mieloides. A maioria dos casos é devida a hematopoiese ineficaz. No entanto, um mecanismo autoimune pode estar relacionado à fisiopatogênese da SMD, principalmente em sua forma hipocelular. **Objetivo:** Relatar um caso de síndrome mielodisplásica com possível mecanismo autoimune envolvido. **Relato do caso:** Paciente do sexo masculino, 73 anos, atendido no ambulatório do Hospital da Polícia Militar de Minas Gerais, em fevereiro de 2012, com trombocitopenia (PLT 34.000/mm³). Realizado diagnóstico de SMD, subtipo "anemia refrataria com excesso de blastos" (FAB), "anemia refrataria com excesso de blastos 1" (OMS), IPSS intermediário I, IPSS-R "baixo risco", WPSS "intermediário", MDACC Score de 6 pontos. Optou-se por conduta expectante inicial. Em 19/06/2012, o paciente foi internado com plaquetopenia grave, sem sangramentos exteriorizados (PLT 10.000/mm³). Iniciou-se prednisona na dose de 1mg/Kg/dia. Houve aumento progressivo do número de plaquetas (29/08/2012: PLT 85.000/mm³). Durante a redução da dose do corticoide, o paciente evoluiu com fratura de uma vértebra lombar (junho/2013). O número de plaquetas era de 35.000/mm³. Como a fratura necessitasse de correção cirúrgica, optou-se por "pulsoterapia" com dexametasona (40mg/dia por 4 dias). Houve aumento da plaquetometria para 90.000/mm³. Como se tratasse de cirurgia com risco de lesão do canal espinhal, após discussão do caso com a clínica ortopédica, decidiu-se pelo uso de imunoglobulina endovenosa (EV), com o intuito de se atingir contagem plaquetária pré-operatória mínima de 100.000/mm³. Não houve sucesso (PLT 39.000). Após reavaliação do caso, considerando-se a relativa urgência da cirurgia ortopédica (com risco crescente de sequelas sensitivo-motoras), apesar da suspeita de componente autoimune para a plaquetopenia, o paciente recebeu transfusão de concentrado de plaquetas, com incremento plaquetário para acima de 80.000/mm³, motivo pelo qual se optou, nesse momento, por realizar o procedimento ortopédico proposto. A cirurgia obteve êxito, sem complicações hemorrágicas.

Discussão e Conclusão: Este relato ilustra um caso de mielodisplasia associada a trombocitopenia de mecanismo autoimune, provavelmente com destruição plaquetária em nível medular (não houve resposta com imunoglobulina EV). O quadro demonstra a importância da suspeição diagnóstica de um processo autoimune subjacente para a definição da melhor estratégia terapêutica em pacientes com SMD. Nesse caso, o uso recente, anterior, de imunoglobulina pode ter contribuído para a resposta à transfusão de plaquetas. Um seguimento mais prolongado é necessário para melhor se avaliar a evolução clínica do paciente em questão, bem como se estabelecer o momento oportuno para o início de um agente hipometilante, somado ou não a um agente imunossupressor.

448

Expressão do gene SEMA3A em pacientes com SMD e LMA

Palodetto B¹, Corrocher FA¹, Roversi FM¹, Baratti MO¹, Campos PM¹, Lopes MR¹, Favaro PM², Traina F³, Saad ST¹¹Centro de Hematologia e Hemoterapia - Universidade Estadual de Campinas/Hemocentro- Unicamp²Departamento de Ciência Biológicas - Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP³Departamento de Medicina Interna - Escola de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo - USP

O microambiente contribui para a regulação da auto-renovação, manutenção, diferenciação, proliferação e apoptose das células progenitoras e quando é anormal pode favorecer o desenvolvimento de doenças. Apesar de serem amplamente estudados, 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. Os resultados de microarranjo identificaram diversos transcritos com expressão diferenciada em células estroma de pacientes com SMD dentre eles o gene SEMA3A, sendo encontrado hiperexpresso, que sintetiza as semaforinas, que são uma grande família de imunoglobulinas que podem ser secretadas ou estar associadas à membrana. As semaforinas desempenham um papel importante no sistema imunológico e podem afetar vascularização, a organogênese, angiogênese e consequentemente a progressão de alguns tipos de câncer. Para validar nossos resultados de microarranjo selecionamos 18 amostras de estroma de pacientes com SMD, (De acordo com a classificação WHO, Baixo risco: ARSA=8, CRDM=3; Alto Risco: AREB1=1, AREB2=2), 2 pacientes com LMA de novo, 2 pacientes com LMA secundária a SMD e 4 doadores. Após análise por PCR quantitativo, utilizando o gene HPRT como endógeno normalizador, encontramos maior expressão de SEMA3A em amostras de estroma de pacientes quando comparados ao grupo controle. A expressão tende a aumentar de acordo com a progressão da doença sendo maior em LMA. Esse resultado é preliminar e são necessários novos estudos com maior número de pacientes para que possamos correlacionar a expressão de SEMA3A com prognóstico, sobrevida e progressão da doença.

449

Verificação do perfil de expressão de NR4A e do RNA não codificador longo em células CD34+ de medula óssea de pacientes com síndrome mielodisplásica e leucemia mieloide aguda

Corrocher FA¹, Palodetto B¹, Roversi FM¹, Baratti M¹, Campos PM¹, Traina F¹, Saad ST¹¹Centro de Hematologia e Hemoterapia - Universidade Estadual de Campinas Hemocentro/UNICAMP

A família de receptores nucleares NR4A é composta por três proteínas altamente homólogas envolvidas em vários processos celulares incluindo apoptose, proliferação, ciclo celular e reparo de DNA. As proteínas NR4A1 e NR4A3 são potentes supressores tumorais e estão silenciadas em leucemias agudas. Além disso, modelos animais com redução da dosagem destes 2 genes, desenvolvem síndrome mielodisplásica/mieloproliferativa, porém a contribuição para a desregulação de NR4A ainda permanece desconhecida. RNAs não codificadores (ncRNAs) possuem redes de sinalização e podem atuar em eventos transcricionais, pós transcricionais e epigenéticos. A relação da expressão de lncRNA (RNAs não codificadores longos) foi

descrita na regulação de eventos que desencadeiam neoplasias. Em vista disto, é objetivo deste estudo verificar a expressão dos transcritos não codificadores de *NR4A1* e *NR4A2* em células CD34⁺ de medula óssea de pacientes com SMD e LMA em comparação com o grupo controle e também compará-los com a expressão dos próprios genes correspondentes. Para tal, foi realizado PCR quantitativo, utilizando os genes da β -actina e HPRT como endógenos normalizadores de acordo com a proximidade do CT (cycle threshold) do gene. Os resultados em 14 amostras de pacientes com SMD de baixo e alto risco (FAB; ARSA/AR=8 pacientes, AREB=6 pacientes) e 10 amostras de pacientes com LMA (LMA-sec=4 pacientes, LMA-de novo = 6 pacientes) mostraram que há aumento da expressão dos transcritos não codificadores de *NR4A1* e *NR4A2* em células CD34⁺ de pacientes em relação ao grupo controle (4 indivíduos saudáveis), entretanto, a expressão dos genes correspondentes mostrou estar diminuído em relação as amostras controles. A análise dos dois transcritos mostrou uma correlação inversa entre a expressão do gene e do RNA não codificador nas mesmas amostras dos pacientes e controles. Sabendo que a baixa expressão dessa família de receptores está intimamente associada aos mecanismos moleculares e fisiopatológicos que desencadeiam SMDs e LMA, os resultados inesperados e inéditos obtidos neste trabalho sugerem que os ncRNAs podem estar diretamente envolvidos na regulação desses genes nas tais desordens hematológicas.

MIELOMA MÚLTIPLO

450

Plasmocitoma ósseo recidivado

Damach FM¹, Araujo GM^{1,2}

¹Faculdade de Medicina do UNIPAM

²Hospital Nossa Senhora de Fátima

Introdução: Os plasmocitomas solitários ósseos são tumores raros, representando 3% a 7% das doenças dos plasmócitos. Aproximadamente 5% dos pacientes com plasmocitoma o apresentam em sua forma solitária. O diagnóstico exige critérios que variam desde uma única área de destruição óssea, como uma medula óssea sem evidências de proliferação de clones plasmocitários, achados normais de outros locais ósseos, ausência de anemia, hipercalcemia ou disfunção renal atribuída ao mieloma. **Objetivo:** Relatar o caso de paciente com plasmocitoma ósseo recidivado. **Relato de Caso:** Paciente masculino, 58 anos, com relato de queda da própria altura há sete dias com trauma em região de nádegas, mantendo dor local sem alívio com uso de antiinflamatórios. Como a dor não melhorou procurou atendimento em Pronto Socorro onde foi avaliado clinicamente, sem alterações físicas aparentes. Devido trauma pregresso foi solicitado raio x de região pélvica que mostrou lesão em corpo do osso do quadril a esquerda. Devido essa lesão foi encaminhado ao hospital para melhor avaliação. Relato de plasmocitoma solitário em região de coluna lombar há 23 anos atrás tendo sido submetido a cirurgia para exérese do tumor e radioterapia local, tendo sido considerado curado após acompanhamento durante os primeiros dez anos. Na época realizou enxerto ósseo em corpo vertebral de material retirado do mesmo local onde apresentava agora essa lesão. Não possuía patologias crônicas. Durante avaliação não foram encontradas alterações laboratoriais que sugerissem quadro de mieloma múltiplo ou linfoma. Mielograma e biópsia de crista ilíaca não apresentavam alterações. Ressonância magnética de quadril não mostrou outras áreas acometidas e as tomografias de região cervical, tórax e crânio não apresentavam lesões ósseas. Feito biópsia da lesão que mostrou quadro compatível com plasmocitoma ósseo. Iniciado radioterapia com regressão da lesão ao fim do tratamento. **Discussão:** No plasmocitoma solitário não se encontram evidências clínicas e radiológicas de outras afecções esqueléticas. A

biópsia de medula óssea e o mielograma são normais. Os exames laboratoriais de rotina não apresentam alterações significativas. Cerca de 2/3 dos pacientes com plasmocitoma solitário ósseo desenvolverá mieloma múltiplo em algum momento da vida, podendo ocorrer até mesmo muitos anos após o tratamento. O diagnóstico se faz quando a biópsia demonstrar um tumor de células plasmáticas dentro ou fora do osso, com a proliferação destas células abaixo de 10% do total de células da medula óssea, e nenhuma lesão lítica detectada além do local do tumor. A presença ou ausência de proteína M no sangue no momento do diagnóstico parece não ter um grande efeito sobre o desfecho da doença em longo prazo. A manutenção da proteína M no sangue após tratamento com radioterapia parece ser fator significativo para progressão para mieloma múltiplo. Na doença localizada e sintomática não responsiva à radioterapia prévia, há indicação de ressecção cirúrgica. O tratamento cirúrgico pode ser a primeira opção e com boa resposta. Não há evidências consistentes que a quimioterapia profilática reduza a progressão para mieloma múltiplo. Após o tratamento radioterápico, os pacientes devem ser acompanhados periodicamente. O rastreamento para metástases ósseas deve ser feito anualmente ou mais precoce no caso do paciente que venha a apresentar proteína M no sangue, ou caso pré-existente aumente.

451

Mieloma múltiplo não secretor

Damach FM¹, Araujo GM^{1,2}

¹Faculdade de Medicina do Unipam

²Hospital Nossa Senhora de Fátima

Introdução: Mieloma não secretor é uma variante rara que representa 1% a 5% de todos os mielomas. É caracterizado pela ausência de detectável de proteína M no soro e urina. **Objetivo:** Relatar o caso de paciente com mieloma múltiplo não secretor. **Relato de Caso:** Paciente feminina, 72 anos, com queda do estado geral progressiva há 1 ano e com piora nos dois últimos meses. Não conseguia deambular adequadamente e apresentava fortes dores em região de coluna lombossacral. Hiporética com perda de peso (12kg) em 01 ano e alterações neurológicas. Deu entrada no hospital devido debilidade extrema e por não estar se alimentando e nem ingerindo líquidos fazia 5 dias. Uso de tramal e dipirona contínuo devido quadro algíco fazia 1 mês. Portadora de hipotireoidismo, distúrbio depressivo e arritmia cardíaca. Exames laboratoriais: Hm: 3,99 Hb: 10,9 Ht: 33,3, GL: 5300 Plaquetas: 212000 Ca iônico: 1,28 Cr: 0,6 Ur: 27 PCR: 68 LDH: 245 Eletroforese de proteínas: Proteínas totais: 5,8 Albumina: 58,9% α 1: 12,3% α 2: 12,4%, β 1: 8,4%, β 2: 3% γ : 5% Imunofixação sérica e urinária: presença de zona policlonal, sem outras alterações. Rx tórax: sem alterações dignas de nota. US abdominal: dentro dos limites da normalidade. TC crânio: presença de lesões ósseas em calota craniana de aspecto lítico. Mielograma: Presença de 53% de plasmócitos no aspirado, sugerindo mieloma múltiplo. Diagnosticada como portadora de mieloma múltiplo não secretor. Indicado quimioterapia com: Zometa 28/28 dias por 2 anos e VMP (Velcade, Melfalana e Prednisona) – 9 ciclos. Teve boa evolução com estabilização do quadro e controle da doença após término do tratamento. **Discussão:** O mieloma múltiplo é diagnosticado no com base em critérios como gamopatia monoclonal, plasmocitose em medula óssea, presença de lesão em tecido ou órgão. Este sistema tem inconvenientes em que alguns pacientes com doenças relacionadas com sintomas podem não apresentar os critérios para o mieloma devido a um envolvimento menor de medula e/ou diminuição ou ausência da proteína M. O mieloma não secretor é caracterizado por ausência de proteína M sérica e/ou urinária, plasmócitos na MO $\geq$ 10% ou plasmocitoma, presença de comprometimento de tecido ou órgão relacionado. Apresenta características semelhantes aos observados em doentes com uma proteína M detectável, com exceção para a ausência de dano renal. A resposta ao tratamento e a sobrevivência de pacientes

com mieloma não secretor são semelhantes aos dos doentes com proteína M presente. O dilema de diagnóstico pode ser resolvido nesses casos, com diagnóstico de tecidos, lesões ósseas líticas e níveis séricos elevados de beta 2-microglobulina. A resposta a terapia e sobrevivência são similares aos dos pacientes com proteínas M mensuráveis. **Conclusão:** O mieloma não secretor apresenta uma dificuldade diagnóstica mas que pode ser diminuída com a avaliação criteriosa da doença. O tratamento é realizado da mesma forma para o mieloma múltiplo clássico.

452

Neoplasias hematológicas x comprometimento de medula espinal

Resende LS¹, Monteiro FF², Yasuda AG³, Costa CM³, Santos DF³, Niêro-Melo L¹, Domingues MA⁴, Yamashita S⁵, Resende LA⁶, Bazan R⁶

¹Hematologia - Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP

²Acadêmico de medicina, bolsista FAPESP (Processo 2012/05472-5), Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP

³Acadêmicos de medicina não bolsistas, Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP

⁴Patologia - Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP

⁵Radiologia - Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP

⁶Neurologia Clínica - Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP

Introdução: Comprometimentos de medula espinal e raízes nervosas correspondentes são relativamente comuns na prática clínica de pacientes hematológicos portadores de neoplasias, porém, tais estudos são escassos em nosso meio. **Métodos:** Estudo clínico-laboratorial e radiológico de pacientes adultos portadores de alterações mielorradiculares secundárias a neoplasias hematológicas, internados na Enfermaria de Hematologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB – UNESP), de setembro de 2005 a dezembro de 2012. **Casuística:** Treze pacientes adultos portadores de alterações mielorradiculares secundárias a neoplasias hematológicas, internados na Enfermaria de Hematologia da FMB – UNESP, de setembro de 2005 a dezembro de 2012. **Resultados:** De setembro de 2005 a dezembro de 2012, foram internados 519 pacientes, vários com repetidas internações. Dentre eles, 258 tinham doenças linfoproliferativas (DLP), incluindo 125 linfomas não Hodgkin (LNH) e 53 mielomas múltiplos (MM) /outras displasias de células plasmáticas. Treze pacientes apresentaram alterações mielorradiculares consequentes à neoplasia, sendo 8 MM, 4 LNH e 1 leucemia de células plasmáticas (LCP). Dentre os MM, 5 apresentaram fraturas patológicas de vértebras lombares, 2 de vértebras torácicas e 1 de vértebras torácica e cervical. Os LNH apresentaram massa tumoral na topografia de L5-S1 (1 paciente), fratura de L3 decorrente de infiltração por massa no retroperitônio e ileopsoas esquerdo (1), lesão no corpo vertebral de T8 (1), hipersinal nos corpos vertebrais lombares, síndrome de Froin e infiltração líquórica (1). A paciente com LCP apresentou lesão em vértebra cervical e infiltração líquórica. Todos os pacientes apresentaram sintomas neurológicos mielorradiculares incluindo: dor lombar, dor na coluna torácica ou cervical; parestesias, hiperestesia, hipoestesia, paresias e plegias em membros inferiores e/ou superiores; incontinência urinária e bexiga neurogênica. **Conclusão:** Nos MM e na LCP as lesões ósseas (osteoporose, lesões líticas e fraturas patológicas) decorrem de ativação osteoclástica pelas células tumorais situadas na medula óssea, e comumente ocorrem nos ossos chatos que contém medula hematopoética ativa. Observou-se predomínio de fraturas/compressões radiculares em vértebras lombares, por possível maior sustentação do peso corporal nessa topografia. Nos LNH, além de lesões primariamente situadas na medula óssea de vértebras (3 casos), houve um caso com lesão vertebral consequente a invasão por tumor adjacente (ileopsoas).

453

ANKHD1 promotes in vitro clonogenicity and in vivo tumorigenicity of multiple myeloma cells

Dhyani A¹, Machado-Neto JA¹, Favaro P^{1,2}, Saad ST¹

¹Hematology and Hemotherapy Center, University of Campinas/ Hemocentro-Unicamp, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue, Campinas, São Paulo, Brazil

²Department of Biological Sciences, Federal University of São Paulo, Diadema, São Paulo, Brazil

Background: ANKHD1 is a multiple ankyrin repeats containing protein, highly expressed in cancers, such as acute leukemia. Earlier studies showed that ANKHD1 is highly expressed and plays important role in proliferation and cell cycle progression of multiple myeloma (MM) cells. It was also observed that ANKHD1 downregulation modulates cell cycle gene expression and upregulates p21 irrespective of TP53 mutational status of MM cell lines. **Aim:** The present study aimed to study the effect of ANKHD1 silencing on MM growth both *in vitro* (clonogenicity, migration) and *in vivo* (xenograft tumor mice model). The purpose was to investigate the feasibility of ANKHD1 gene therapy for MM. **Methods:** In the present study, ANKHD1 expression was silenced using short hairpin RNA (shRNA)-lentiviral delivery vector in MM cell lines (U266 and MM1S). For control MM cells were transduced by lentiviral shRNA against LacZ. Downregulation of ANKHD1 expression was confirmed by qPCR and Western blot. Colony formation capacity and migration of control and ANKHD1 silenced MM cells was determined by methylcellulose and transwell migration assays, respectively. For *in vivo* MM growth, NOD-SCID mice were divided in two groups injected with control and ANKHD1 silenced cells, separately. Mice were observed daily for tumor growth. Once the tumor size reached 1 mm³, mice in both groups were sacrificed and tumor was excised to measure tumor volume and weight. **Results:** Corroborating the results obtained in our earlier studies, in the present study also inhibition of ANKHD1 expression suppressed growth of MM cells *in vitro*. MM cell lines transduced with ANKHD1 shRNA showed significantly low number of colonies ten days after plating in methylcellulose medium as compared to control ($p < 0.05$). Similarly, in transwell migration assay, cell lines transduced with ANKHD1 showed significantly less migration as in response to 10% FBS at lower chamber as compared to control group ($p < 0.05$) in both the cell lines analyzed. Further in xenograft MM mice model, the growth of tumor was visibly suppressed in mice injected with ANKHD1 silenced cells compared to control group. There was significant difference in tumor size (volume) between these 2 groups ($P < 0.006$). The tumor weight of the inhibition group was 0.71 ± 0.2 g, significantly lighter than those of the control group (1.211 ± 0.5 g, $P = 0.02$). **Conclusion:** Our data indicates ANKHD1 downregulation significantly inhibits colony-forming ability and migration of both glucocorticoid resistant (U266) and sensitive (MM1S) MM cells. Further, gene silencing of ANKHD1 also resulted in reduced *in vivo* tumor growth in NOD/SCID mice. Collectively, the result obtained indicates that ANKHD1 may be a target for gene therapy in MM.

Efficacy and safety profile of single agent carfilzomib (CFZ) for the treatment of patients with relapsed or refractory multiple myeloma (RRMM): results from 4 phase II trials

Siegel DS¹, Martin T², Wang M³, Vij R⁴, Jakubowiak AJ⁵, Lonial S⁶, Trudel S⁷, Kukreti V⁷, Bahlis N⁸, Alsina M⁹, Chanan-Khan A¹⁰, Buadi F¹¹, Reu FJ¹², Somlo G¹³, Zonder J¹⁴, Stewart AK¹⁵, Stadtmauer E¹⁶, Harrison B¹⁷, Nooka A⁶, Harvey RD⁶, Niesvizky R¹⁸, Badros AZ¹⁹, McCulloch L²⁰, Rajangam K²⁰, Orlowski RZ³, Jagannath S²¹

¹John Theurer Cancer Center at Hackensack University

²University of California at San Francisco

³MD Anderson Cancer Center

⁴Washington University School of Medicine

⁵University of Chicago

⁶Winship Cancer Institute, Emory University School of Medicine

⁷University of Toronto Princess Margaret Hospital

⁸Tom Baker Cancer Centre, University of Calgary

⁹H. Lee Moffitt Cancer Center, University of South Florida

¹⁰Mayo Clinic, Jacksonville

¹¹Mayo Clinic, Rochester

¹²Taussig Cancer Center-Cleveland Clinic

¹³City of Hope National Medical Center

¹⁴Karmanos Cancer Institute, Wayne State University

¹⁵Mayo Clinic, Scottsdale

¹⁶University of Pennsylvania Abramson Cancer Center

¹⁷Multiple Myeloma Research Consortium

¹⁸Weill Cornell Medical College

¹⁹Greenebaum Cancer Center, University of Maryland

²⁰Onyx Pharmaceuticals Inc

²¹Mount Sinai Medical Center

Aim: CFZ, a selective proteasome inhibitor, is approved in the US as single agent treatment for patients with RRMM. Here we present an efficacy analysis of the pivotal phase 2 study PX-171-003-A1 and a safety analysis of 4 phase 2 studies (PX-171-003-A0, PX-171-003-A1, PX-171-004, and PX-171-005), data which supported the US approval. **Methods:** Single agent CFZ was administered intravenously over 2-10 minutes and dosed at 20-27 mg/m² in a 28-day cycle for all studies except 005 (15-27 mg/m²). The primary efficacy endpoint of 003-A1 was overall response rate (ORR), confirmed by independent review committee. Adverse events (AEs) were graded by NCI Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v3.0. **Results:** All patients in PX-171-003-A1 (N=266; intent to treat population) were heavily pretreated with median of 5 prior lines of therapy (range, 1-20). The ORR was 22.9% (95% CI, 18.0–28.5) with a median duration of response of 7.8 months (95% CI, 5.6–9.2). Median overall survival was 15.4 months (95% CI, 12.5–19.0). The safety population (N=526) was heavily pretreated (median 4 prior regimens; range, 1-20). Patients received a median of 4 CFZ cycles (range, 1-21), and 21.9% received ≥12 cycles or were continuing CFZ at analysis. Patients discontinued CFZ due to disease progression (51.0%), AEs (14.8%), or other reasons (12.3%). Dose reductions due to AE were required in 14.6% of patients. The most common grade ≥3 AEs were hematologic, and included thrombocytopenia (23.4%), anemia (22.4%), and lymphopenia (18.1%). There were low rates of febrile neutropenia (1.1%) and herpes virus infections (4.8%), and common opportunistic infections were not seen. There was a notable lack of cumulative or grade 4 thrombocytopenia. At baseline 23.8% of patients had moderate to severe renal dysfunction (CrCl < 50 mL/min). One-hundred seventy-four patients (33.1%) had ≥1 grouped renal impairment AE, of which nearly half (48%) experienced a renal AE with disease progression. Although 73.6% of patients had a past medical history of cardiovascular events, cardiac failure rates were reported in 7.2% of patients, regardless of causality. Dyspnea was the most common AE in the pulmonary analysis (42.2%) and pneumonia was the most

common respiratory infection (12.7%). While most patients had pre-existing peripheral neuropathy (71.9%), newly developed peripheral neuropathy was reported infrequently (13.9% overall; 1.3% grade 3). **Conclusion:** Single-agent CFZ produced robust and durable responses in heavily pretreated patients with advanced RRMM. The safety profile was acceptable, with few dose reductions or discontinuations. The efficacy and safety of single-agent CFZ in RRMM is being compared to low-dose corticosteroids and optional cyclophosphamide in the randomized phase III FOCUS study (NCT01302392), which will facilitate regulatory approval outside the USA.

Plasmocitoma para-selar com invasão de canal optico: relato de caso

Borges KO¹, Resende WJ², Novaes RR³, Herênio YM³, Fortes MF¹, Silva PW^{1,2,3}, Uchoa JN³, Ferreira C³, Quaresma JV³, Othman HA³

¹HRBA

²RESGATE

³UEPA

As gamopatias monoclonais são um grupo de desordens associadas com proliferação monoclonal de plasmócitos que se caracterizam pela produção e secreção de uma proteína monoclonal – Ig ou um fragmento de Ig. Pode se apresentar como uma lesão isolada (plasmocitoma) ou múltiplas lesões (MM), sendo caracterizada por proliferação irreversível de um clone de plasmócitos, produzindo Ig monoclonal. O MM é uma neoplasia progressiva e incurável de células B, caracterizada pela proliferação desregulada e clonal de plasmócitos na MO, os quais produzem e secretam Ig monoclonal ou fragmento dessa, chamada proteína M. As consequências fisiopatológicas do avanço da doença incluem: destruição óssea, falência renal, supressão da hematopoiese e maior risco de infecções. Plasmocitomas são tumores compostos por plasmócitos com variáveis graus de maturação, histologicamente idênticos aos observados no mieloma múltiplo. Quando ocorrem nos ossos são denominados plasmocitomas solitários ósseos, e nos tecidos moles são denominados plasmocitomas extramedulares. Devido à epidemiologia dessas doenças onco-hematológicas e a importância do diagnóstico e da diferenciação delas, são de extrema valia a descrição de tal relato de caso para demonstrar como se apresenta tais patologia das células plasmáticas e como fazer o diagnóstico diferencial de cada uma e dessa forma chegar ao diagnóstico definitivo do paciente como relatado no caso. Paciente JCCF, 47 anos, sexo feminino, começou a apresentar como sintoma clínico uma cefaleia de longa data e alteração visual à um ano. Sendo que à dois meses apresentou redução da visão no olho direito evoluindo para cegueira. Ao exame físico apresentou amaurose direita e edema de papila ao exame ocular e hiperreflexia ao exame neurológico. TC de crânio mostrava lesão expansiva sólida, hiperdensa, com pequenas e poucas calcificações, apresentando contornos lobulado, apresentando localização extra-axial, supra-selar anterior em região parasselar direita estendendo-se para o lobo frontal (região olfatória) e com o lobo temporal direito medindo 5,47 x 2,95, com íntima relação com o quiasma e nervo optico à direita. Realizou-se uma cirurgia de ressecção total do tumor paraselar direito com invasão de canal optico. Posterior a ressecção cirurgica foi realizada a análise anatomopatologica da peça cirurgica, apresentando ao exame microscópico fragmentos de proliferação de células de padrão poligonal, ou fusiforme, tendo de permeio, tecido fibroso e vasos neoformados. Extensas áreas mostravam-se autolizadas. Ao exame IHQ: Plasmocitoma/Mieloma múltiplo ou Linfoma B com diferenciação Plasmacítica. Na Eletroforese de Proteínas a alteração presente foi as Gama globulinas com resultado de 27, 2%. Imunofixação em soro apresentou proteína monoclonal lambda isolada. Posterior a essas análises, certificou-se o diagnóstico definitivo de Mieloma Múltiplo. Atualmente a paciente esta sobre o tratamento radioterapico e quimioterapico em curso.

456

Searching for the multiple myeloma stem cell compartment: investigation of circulating clonotypic B-cells in multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance

Thiago LS^{1,2}, Pérez-Andrés M², Balanzategui A², Sarasquete ME², Paiva B², González M², Garcia-Sanz R², Almeida J², San-Miguel JF², Orfao A²

¹Instituto Nacional de Câncer - INCa, RJ, Brazil

²Centro de Investigación del Cáncer, Universidad de Salamanca, Spain

Background: A major challenge in the understanding of the pathogenesis of both multiple myeloma (MM) and monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) has been the identification of the ancestral tumor cell clone of both neoplasias. Although some findings suggest that pre-plasma cells may contain tumor initiating-cells, these results could not be confirmed by others groups and this issue remains controversial. **Methods:** We investigated the potential presence of mature surface-membrane immunoglobulin (Smlg)⁺ B lymphocytes clonally-related to the tumoral bone marrow (BM) plasma cells (PC) in different subsets of peripheral blood (PB) B-cells from 10 patients (MM, n=7; MGUS, n=3). Presence of clonotypic immunoglobulin heavy chain (IGH) gene rearrangements was investigated in multiple highly-purified fractions of PB B-lymphocytes including SmlgM⁺ CD27⁻ naïve B-lymphocytes, plus SmlgG⁺, SmlgA⁺ and SmlgM⁺ memory CD27⁺B-cells, and normal circulating PC (N-PC), in addition to (mono)clonal PC (M-PC) by a highly-specific and sensitive allele-specific oligonucleotide polymerase chain reaction (ASO-PCR) directed to the CDR3 sequence of the rearranged IGH clonal of tumor PC from individual patients. **Results:** Our results showed systematic absence of clonotypic rearrangements in all different B-cell subsets analyzed, at frequencies lower than 0.03 cells/ μ L (range: 0.0003-0.03 cells/ μ L); except for the M-PC compartment. Also, no altered patterns of protein expression were found in any of the purified fractions of naïve and memory B-lymphocytes and N-PC, all such cell subsets also showing a normal polyclonal Igk vs. Ig λ light chain ratio, except M-PC. **Conclusion:** These findings clearly show that circulating clonotypic B-cells are undetectable in PB outside the compartment of immunophenotypically aberrant PC of patients with MM and MGUS. Altogether, these results suggest that the ancestral tumor cell clone could more likely be related to the PB compartment of circulating M-PC than to other populations of less differentiated naïve and memory B-lymphocytes.

457

Leucemia de células plasmocitárias simulando linfoma linfoplasmocítico: desafio diagnóstico solucionado pela citometria de fluxo

Loureiro AD¹, Melo MK¹, Ykoma MR², Nogueira DS¹, Braga WM¹, Chauffaille ML¹, Colleoni GW¹, Silva MR³, Yamamoto M¹

¹Disciplina de Hematologia e Hemoterapia - UNIFESP/EPM

²Lab Citometria de Fluxo, Hemonúcleo Regional de Jau, Fundação Amarel Carvalho

³Departamento de Patologia - UNIFESP/EPM

Introdução: A leucemia de células plasmocitárias (LCP) é uma situação rara, ocorrendo em 2-5% das neoplasias de plasmócitos. Define-se pela presença de ≥ 2.000 plasmócitos/mm³ em sangue periférico ou mais de 20% dos leucócitos em hemograma, podendo apresentar organomegalias e linfonodomegalias. Do ponto de vista da imunofenotipagem, as células clonais do Mieloma Múltiplo (MM) costumam ser positivas para: CD138, CD38, CD28 e CD56 (este comumente é negativo na

LCP) e negativas para: marcadores B (CD19,20), CD45, CD27. Por outro lado, o Linfoma linfoplasmocítico (LLP) se caracteriza morfológicamente pela presença de linfócitos pequenos e plasmocitóides e plasmócitos envolvendo a medula óssea (MO) e, ocasionalmente, linfonodos e baço. Apresenta um imunofenótipo positivo para: CD19, CD20, CD79a, CD22; CD25⁺/ - e CD138 nos plasmócitos. A seguir, relatamos um caso com hipótese inicial de LLP pela morfologia, porém com diagnóstico definitivo de LCP, pela imunofenotipagem por citometria de fluxo (CF). **Relato de Caso:** Paciente feminina, 77 anos, em acompanhamento no serviço de Reumatologia do Hospital São Paulo (HSP) por osteoporose, encaminhada ao ambulatório de Hematologia por anemia. Ao exame físico encontrava-se em bom estado geral, sem evidências de linfonodo ou organomegalias. Exames complementares: hemograma: Hb 10,1g/dL; Ht=32,4%; GB 8,6x10⁹/L (Nt 37%, linfócitos 58%) e plaquetas 140x10⁹/L; eletroforese de proteínas com proteínas totais de 10,2g/L e pico monoclonal na região gama às custas de IgG (4,4g/dL; Ca total 10,8mg/dL; beta2 microglobulina 4,7ng/dL e presença de lesões líticas em raio X de crânio. Feita hipótese diagnóstica de MM. Porém na análise morfológica do SP havia 75% de linfócitos linfoplasmocitóides, de tamanho pequeno a moderado, citoplasma basofílico e presença de 1 a 2 nucléolos. Na MO, presença de 90% de linfócitos com as mesmas características e 5,6% de plasmócitos, aventando-se a hipótese de LLP. A biópsia de MO evidenciou hiperplasia com cerca de 80% de células linfoides jovens, pequenas, ciclina D1 negativa e expressão de Ki67 5%. A CF evidenciou presença de 69% de células clonais com fenótipo de plasmócitos neoplásicos (CD45⁻; CD138⁺, CD38⁺, cyKappa⁺; CD81⁺; CD43⁺; beta2 microglobulina⁺). negativas para: cyLambda, CD19, CD20, CD56, CD23, CD22, CD79a, CD10, CD103, CD3, CD5, CD11c, CD117, CD25. Fez-se, então, o diagnóstico de LCP. A paciente encontra-se em bom *performance status* porém, devido à idade avançada e à impossibilidade de consolidação com transplante autólogo de células tronco-hematopoéticas, optamos por tratamento conservador. **Discussão:** Nas neoplasias plasmocitárias a morfologia costuma ser muito característica. No caso descrito a clínica sugeria MM, porém a análise morfológica dos linfócitos no SP e MO era de LLP. A CF foi decisiva no diagnóstico, demonstrando tratar-se de LCP, conforme os critérios da OMS, onde o CD56 é geralmente negativo. Além disso, a negatividade de CD117, a positividade de CD81, CD28 e beta2 microglobulina, são marcadores de prognóstico desfavorável no MM. Na literatura, duas publicações descrevem casos de MM com t(11;14)(q13;q32) e morfologia de LPL em cerca de 42%. A análise citogenética encontra-se em andamento.

458

Recidiva como plasmocitomas extramedulares múltiplos em paciente com diagnóstico prévio de mieloma múltiplo

Steffenello-Durigon G^{1,2,3}, Dalcegio M¹, Dias BV^{1,2}, Vieira AG^{1,2}, Moral JA^{1,2}, Brejinski-Almeida A^{1,4}

¹Universidade Federal de Santa Catarina

²Serviço de Hematologia do HU UFSC

³Programa de pós graduação em farmácia

⁴Mestrado profissional associado a residência multidisciplinar em saúde

Introdução: A tríade clássica do mieloma múltiplo é caracterizada pela proliferação de plasmócitos clonais na medula óssea (>10%), lesões osteolíticas e componente M na urina e/ou soro. Plasmocitoma ósseo solitário e plasmocitoma extramedular são variantes do mieloma múltiplo. Plasmocitoma extramedular representa cerca de 5% dos casos de neoplasias de células plasmáticas e o sítio mais comum são as vias aéreas superiores, podendo acometer também o trato gastro-intestinal, pele, pulmões, fígado, SNC, bexiga, testículos, tireóide, baço, mamas, linfonodos e pâncreas. O diagnóstico baseia-se na presença de tumor plasmocitário

extramedular na ausência de mieloma múltiplo na medula óssea. Casos de plasmocitomas extramedulares múltiplos são raros, e o tratamento de escolha que é a radioterapia fica inviabilizada nessa condição. **Relato de Caso:** L.H.V, 43 anos, masculino, pardo, com diagnóstico de mieloma múltiplo em novembro de 2011, após investigação para fratura patológica de L3, apresentando pico monoclonal gama e biópsia de medula óssea com 30% plasmocitos clonais. Feito tratamento com dexametasona, talidomida e pamidronato, no período entre novembro de 2011 e setembro de 2012. Em setembro de 2012 iniciou com dor cervical refratária a morfina e a RNM revelou lesão expansiva infiltrativa em C3, associado à plegia em membros inferiores e paresia em membros superiores. Não havia evidência de mieloma em exame de medula óssea. Realizado tratamento com esquema D-PACE e radioterapia local, com melhora do quadro neurológico e diminuição da lesão cervical. Na avaliação para TMO autólogo em abril de 2013, o paciente apresentou quadro de icterícia colestática com bilirrubina total de 11,3mg/dL (VR: até 1,0mg/dL). A colangiorrressonância evidenciou massa na cabeça pancreática causando obstrução do colédoco e do ducto pancreático com colocação de *stent* e o estudo imunohistoquímico foi compatível com plasmocitoma. Completou 3 ciclos de D-PACE em maio 2013, com melhora da icterícia. Em julho 2013, o paciente apresentou novamente icterícia, feito esquema VAD, com melhora do quadro. A tomografia computadorizada revelou múltiplos nódulos sugestivos de plasmocitomas no parênquima pulmonar bilateral, hilar à D envolvendo as veias pulmonares, na parede torácica lateral direita. No abdome visualizou-se lesão na cabeça pancreática associada à redução do terço distal do colédoco e à dilatação das vias biliares a montante, bem como atrofia do corpo e cauda pancreáticos, lesões situadas junto ao ligamento gastroesplênico, junto ao ureter, no tecido subcutâneo da parede abdominal e região glútea direita. Medula óssea sem infiltração. Iniciado tratamento com bortezomibe, ciclofosfamida e decadron. **Discussão:** A incidência de plasmocitomas extramedulares é rara e existem relatos, até julho de 2012, de 25 casos na literatura inglesa. Este pode ser primária ou secundária ao mieloma múltiplo e há uma predominância dos que usaram previamente a talidomida. O tratamento para casos localizados é a radioterapia e/ou a cirurgia quando necessário. Casos de múltiplas lesões necessitam de quimioterapia sistêmica, mas a sua resposta é variável, pouco sustentada e não existem dados de literatura consistentes sobre qual a melhor forma de terapia.

459

Plasmocitoma de testículo como manifestação inicial de mieloma múltiplo: relato de caso

Carvalho NB¹, Cavalcanti ER¹, Deininger MD¹, Oliveira EP¹, Botelho LF¹, Hirsch-Monteiro C¹, Lemos ND¹, Filgueiras PL¹, Macedo RT¹, Belmiro JC¹, Belmiro JC¹

¹Universidade Federal da Paraíba

Introdução: O mieloma múltiplo corresponde a 10% de todas as neoplasias hematológicas e é caracterizado como uma doença maligna clonal de plasmócitos. A neoplasia de plasmócitos tem apresentação de 3% a 5% na forma de lesão solitária (plasmocitoma). O plasmocitoma é encontrado geralmente nos ossos, trato respiratório e gastrointestinal, assim como linfonodos e tecidos moles, sendo o plasmocitoma de testículo um dos mais raros. Frequentemente os pacientes já se apresentam com sinais e sintomas da doença difusa à época do diagnóstico de plasmocitoma solitário extramedular. Estes pacientes, por apresentarem uma alta taxa de progressão para doença disseminada, requerem acompanhamento periódico mesmo depois de tratado o sítio de lesão inicial. **Relato de Caso:** Paciente do sexo masculino, 70 anos, apresentou em novembro de 2012 aumento indolor do volume testicular direito há 4 meses. Foi submetido a orquiectomia direita cujo anatomopatológico revelou plasmocitoma. A propedêutica para mieloma múltiplo não mostrou

alterações. Os achados radiográficos evidenciaram presença de lesão osteolítica no 7º arco costal esquerdo e no terço superior do fêmur esquerdo. Como achado laboratorial, foi identificada paraproteína sérica monoclonal IgG tipo κ na imunofixação, com demais exames normais, inclusive mielograma. O diagnóstico foi definido como mieloma múltiplo, estágio clínico IIa segundo a classificação de Durie-Salmon e ISS1. O paciente foi submetido a radioterapia testicular e quimioterapia sistêmica com bortezomib (Velcade®) associado a bifosfonato e continua sob o acompanhamento de equipe multidisciplinar. **Conclusão:** Muitas vezes o plasmocitoma testicular se assemelha a quadros de volume testicular aumentado por outras causas mais comuns, tais como linfoma e germinoma. Com isso, pode estar sendo subdiagnosticado, uma vez que o diagnóstico preciso pode ser difícil e exigir exames específicos. Embora seja um achado extremamente raro, deve ser lembrado como diagnóstico diferencial de aumento de massa testicular de etiologia desconhecida em idoso a fim de se instituir o tratamento correto, tendo em vista o risco de progressão para mieloma múltiplo.

460

Mieloma múltiplo contradizendo a literatura

Rabelo IB^{1,2}, Velano CE¹, Junior JG², Cerezoli MT¹, Cardoso PF¹, Sedrin CP¹, Silva RE¹, Carvalho HJ¹, Santos KD¹

¹Universidade José do Rosário Velano – UNIFENAS

²Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP/EPM

Introdução: Mieloma Múltiplo é uma neoplasia hematológica de células plasmáticas clonais que se manifesta clinicamente por anemia, comprometimento renal, lesões líticas e hipercalcemia. É comprovado pela plasmocitose medular $\geq 10\%$, com clonalidade evidenciada à imunofenotipagem ou à imunohistoquímica da biópsia de medula óssea. Corresponde a 13% das neoplasias hematológicas, com pico de incidência aos 65 anos e ocorrência rara antes dos 45 anos de idade. A sobrevida tem aumentado consideravelmente após estratégias de triplex ou quadriplex de indução, TCTH autólogo como consolidação e terapia de manutenção pós transplante. **Objetivo:** Relatar o caso atípico de um mieloma múltiplo diagnosticado em um paciente com 30 anos. **Métodos:** Estudo observacional transversal com revisão de prontuário e de literatura específica. **Relato de Caso:** O.J.A., 30 anos, gênero masculino, raça branca, procedente de Juruia-MG, admitido no HUAV com dor lombo-sacra e limitação da deambulação sem comprometimento sensitivo ou motor. TC sacral evidenciou lesão expansiva em L5 e S1. Anátomo-patológico da biópsia local sugestivo de plasmocitoma. Ao hemograma, Hb 7,9g/dL, Ht 22,7%, sem outras citopenias; creatinina 2,1 mg/dL (clearance 44mL/min); lesões líticas disseminadas; cálcio total 9,3mg/dL (iônico 2,59mmol); Eletroforese de proteínas com pico monoclonal de 1,78g/dL (25,2%) em região de beta globulina. Imunofixação sérica com IgG Kappa. IgG 6.060mg/dL; albumina 2,7 g/dL; beta2microglobulina 24mcg/mL. Mielograma com 35% de plasmócitos displásicos; clonalidade ratificada pela imunohistoquímica da biópsia de medula óssea (Kappa). Cariótipo não disponível. Com o diagnóstico claro de Mieloma Múltiplo (Durie Salmond IIIB; ISS III), foi iniciada Indução com protocolo CTD 06 ciclos (Ciclofosfamida, Talidomida e Dexametasona) e radioterapia sacral (20 sessões); consolidação com TCTH autólogo, com mobilização satisfatória e pega medular no D+16. No momento, paciente em remissão completa, deambulando sem dificuldades, em seguimento no ambulatório de pós-TCTH (D+194 em 25.06.13). **Discussão:** A sobrevida dos pacientes com Mieloma Múltiplo tem aumentado consideravelmente após novas estratégias de tratamento mas a incidência ainda persiste maior em pacientes idosos, com a média do diagnóstico por volta dos 70 anos. No caso supracitado, a epidemiologia foge dos dados rotineiros de literatura quanto à idade de incidência. Somente 10% dos pacientes acometidos têm menos que 50 anos e a doença tende a ser mais agressiva e menos responsiva nesta faixa etária, talvez

pela maior ocorrência de alterações citogenéticas de riscos intermediário ou alto. **Conclusão:** Apesar da faixa etária ter sua importância na suspeita do Mieloma Múltiplo, é imprescindível investigar a doença mesmo nos pacientes mais jovens, desde que apresentem um quadro clínico ou laboratorial sugestivos.

461

Mieloma múltiplo como evolução de crioglobulinemia tipo I em paciente jovem: relato de caso

Oltamari MR¹, Vassalli LC¹, Arantes AQ¹, Candôlo AA¹, Leal CT¹, Ramos AF¹, Madeira MI¹, Dalmazzo LF¹, Calado RT¹, Oliveira LC¹

¹Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Doenças linfoproliferativas B são a principal causa de crioglobulinemia associada à malignidade. Crioglobulinemia tipo I está associada, predominantemente, à macroglobulinemia de Waldenström, mieloma múltiplo e leucemia linfocítica crônica. Mulher de 23 anos foi admitida no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto em 14/06/02, com quadro de gengivorragia havia 3 meses, após procedimento de extração dentária, associada a episódios de epistaxe. Evoluiu com cefaléia com características migranósas de forte intensidade e dispnéia em repouso. Ao exame físico, apresentava fenômeno de Raynaud, e à fundoscopia, vasos dilatados e tortuosos. Observado em avaliação laboratorial, anemia normocítica, roleaux eritrocitário, pico monoclonal gama à eletroforese de proteínas (2470mg/dL), aumento de IgG (8968mg/dL), pesquisa de crioglobulinas positiva para IgG, fator reumatoide positivo em altos títulos e FAN positivo 1:800 com padrão pontilhado fino, sorologias negativas para HIV e Hepatites B e C. Aventura a hipótese diagnóstica de síndrome de hiperviscosidade, secundária a crioglobulinemia tipo I. Realizado tratamento com plasmaférese e imunossupressão por pulsoterapia com metilprednisolona e ciclofosfamida. Observou-se melhora completa dos sintomas. Em investigação adicional, realizado punção e biópsia de medula óssea, sem achados relevantes e tomografias de tórax e abdome, sendo observado pequeno aumento das dimensões do timo. Devido à recorrência dos sintomas, mesmo em vigência de imunossupressão, com melhora expressiva apenas com realização de plasmaférese, optado por exérese do timo em 06/10/2003, sendo diagnosticado em estudo anátomo-patológico doença de Castleman variante plasmocitária. Desde então, paciente evoluiu, por inúmeras vezes, com recorrência dos sintomas, com frequência mensal a semestral, apresentando respostas pouco expressivas e não duradouras ao uso de corticosteroides; melhora efetiva era obtida apenas com plasmaférese. Paciente perdeu seguimento no serviço de 2009 a 2011, retornando ao final de 2012 e reapresentando manifestações clínicas compatíveis com síndrome de hiperviscosidade. Em avaliação laboratorial, persistia com anemia normocítica, roleaux eritrocitário, pico monoclonal à eletroforese de proteínas, aumento de IgG e presença de inversão de relação kappa/lambda. Realizada nova biópsia de medula óssea, que demonstrou achados de hiperplasticidade às custas de infiltração por moderada carga (20%) de plasmócitos monoclonais para cadeia leve lambda. Não observado alterações do metabolismo do cálcio, de função renal nem lesões ósseas líticas em radiografias do corpo inteiro. Dessa forma, foram preenchidos os critérios para Mieloma Múltiplo Durie-Salmon IIIA International Staging System I, sendo iniciado tratamento quimioterápico com ciclofosfamida, talidomida e dexametasona, com programação de posterior consolidação com transplante de medula óssea autólogo. Em pacientes com crioglobulinemia tipo I, é essencial a investigação extensa e criteriosa para doenças onco-hematológicas, com especial atenção às doenças linfoproliferativas B. Neste caso, o diagnóstico de Mieloma Múltiplo corresponde muito provavelmente à evolução de Gamopatia Monoclonal de Significado Indeterminado ou de Doença de Castleman variante plasmocitária, o que permitiu a definição de uma nova proposta terapêutica à paciente.

462

Síndrome de POEMS : relato de caso

Souza DD¹, Rocha BF¹, Queiroz MY¹, Pita DF², Cavalcanti NS¹, Júnior AL¹, Peixoto RL¹, Sales VC¹, Carvalho NB¹, Botelho LF¹

¹Universidade Federal da Paraíba

²Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba

Introdução: A síndrome de POEMS é uma discrasia rara de células plasmáticas. Seu acrônimo, POEMS, foi cunhado em 1980 por Bardwick e refere-se a várias características encontradas na síndrome: polineuropatia, organomegalia, endocrinopatia, desordem monoclonal de plasmócitos e alterações cutâneas. A prevalência da síndrome de POEMS é de aproximadamente 0.3 por 100.000 habitantes, a maioria dos casos ocorre entre a quarta e a quinta décadas de vida e há leve predomínio no sexo masculino (63%). A síndrome é frequentemente confundida com polineuropatia inflamatória e o retardo no seu diagnóstico provoca aumento da morbidade e diminuição da sobrevida. Não existem ensaios clínicos randomizados para a síndrome de POEMS, provavelmente devido à raridade da doença, por conseguinte, não existe nenhum regime de tratamento padrão. O presente trabalho visa relatar um caso de síndrome de POEMS, enfatizando a abordagem diagnóstica e terapêutica. **Relato de Caso:** Paciente do sexo feminino, branca, procedente de João Pessoa, PB. Queixa principal de parestesia em membros superiores e inferiores e alodínia em mãos há cerca de um ano. A paciente foi acompanhada ambulatorialmente em um serviço de hematologia de JP. Ao exame apresentava-se com esplenomegalia, sem adenomegalias periféricas e com manchas hiperocrômicas em mãos e tórax. Realizou eletroneuromiografia prévia demonstrando polineuropatia sensitivo – motora axial crônica grave. Em tomografias computadorizadas (TC) de tórax e abdome apresentou linfonodomegalias mediastinal superior e para – aórtica, respectivamente, além de esplenomegalia. As imunofluorescências sanguínea e urinária demonstraram presença de proteína monoclonal do tipo IgG e na imunofixação de proteínas séricas, cadeia leve Kappa. A RNM de coluna lombossacra não apresentou anormalidades. Seguindo a investigação, foi solicitado biópsia de gordura subcutânea com corante vermelho do congo, com resultado negativo. Assim, diante dos achados de proteína monoclonal, organomegalia (esplenomegalia), adenomegalia sugestiva de doença de Castleman, alterações cutâneas hiperocrômicas e polineuropatia sensitivo – motora diagnosticamos a paciente como portadora de Síndrome de POEMS, sendo então iniciado quimioterapia com Bortezomibe. A paciente apresentou boa resposta ao agente, referindo melhora das parestesias em membros inferiores. **Discussão:** Dispenzieri et al. propuseram critérios para o diagnóstico da síndrome. Os critérios maiores são: polineuropatia e desordem plasmoproliferativa monoclonal; os critérios menores são: lesões osteoescleróticas, doença de Castleman, organomegalia, sobrecarga de volume, endocrinopatia, alterações cutâneas e papiledema. Para o diagnóstico de POEMS é necessário 2 critérios maiores e um critério menor. A síndrome de POEMS apresenta uma sobrevida média de 13,8 anos. Foi demonstrado que o aumento de citocinas pró-inflamatórias e pró-angiogênicas apresentam importante papel no desenvolvimento da síndrome de POEMS. Dada a importância na patogênese, novas abordagens terapêuticas são direcionadas contra estas citocinas. Terapias anti VEGF (fator de crescimento vascular endotelial), drogas imunomoduladoras e inibidores de proteossomos (Bortezomibe) são as novas opções terapêuticas. Bortezomibe inibe a expressão aumentada de citocinas, fatores de crescimento, moléculas de adesão celular e fatores angiogênicos. Suas características o tornam um candidato apropriado para o tratamento do POEMS.

463

Serum free light chain (FLC) and heavy light chain (HLC) assays are complementary methods for monitoring of IgA multiple myeloma patients

Hughes R¹, Delgado F², Harding S^{1,3}, Drayson M⁴

¹The Binding Site Group Ltd, Birmingham, UK

²The Binding Site Group Ltd, Argentina

³University of Birmingham, Department of Immunity and Infection

⁴University of Birmingham, Birmingham, UK

Background: Quantification of intact monoclonal immunoglobulins (M-Ig) by serum protein electrophoresis (SPE) is the standard for monitoring patient responses in multiple myeloma (MM). However, determination of low M-Ig concentrations by SPE can be inaccurate. Assessment is further compromised by co-migration of M-Ig with other serum proteins, frequently seen in IgA myeloma. Furthermore, standard electrophoretic techniques may not identify clonal changes observed as subtle alterations in M-Ig expression. Recently, nephelometric assays that enable accurate quantification of serum IgAκ & IgAλ (HLC) have been developed. Here we assess the serum free light chain (FLC) and IgA HLC assays as complementary methods in detection and monitoring IgA MM patients. **Methods:** Serial samples from 30 IgA (20 IgAκ; 10 IgAλ) patients were measured retrospectively for FLCκ & FLCλ (Freelite®) and IgAκ & IgAλ (IgA Hevylite™) and the respective ratios calculated. Results were compared with historic clinical evaluations. Survival analysis was performed using SPSSv19. **Results:** FLC ratios were abnormal in 29/30 IgA MM patients at presentation & HLC ratios were abnormal in all 30. 9/30 patients had non-quantifiable M-Ig by SPE. 27/30 patients responded to therapy (12 PR, 6 VGPR, 9 CR). All patients achieving a PR had abnormal FLC ratios as did 5/6 patients who achieved a VGPR. In all patients achieving a PR or VGPR the HLC ratio remained abnormal. For those patients achieving a CR the FLC and HLC ratios were normal in 5/9 & 4/9 patients, respectively. The 5 patients with an abnormal HLC ratio at CR had shorter overall survival compared with the 4 patients with a normal HLC ratio (median OS: 981 days v not reached; p=0.019). Through follow-up, FLC & HLC ratios were abnormal in 11/30 (37%) patients where SPE was non-quantifiable. Clonal changes were identified in 2/30 (7%) patients by HLC & FLC assessment. One patient, IgAκ, presented with 29g/L IgAκ & 92mg/L FLCκ. The patient responded to treatment & achieved a VGPR after 243 days. At this time HLC and FLC ratios had decreased but remained abnormal. The patient subsequently relapsed after 713 days, HLC & FLC ratios had increased at this time. The patient was given a second line of treatment & a response was recorded after 798 days; the HLC & FLC ratios dropped in line with this response but remained elevated. The patient's terminal relapse was characterized by an increasingly abnormal HLC ratio with no increase in FLC production, indicating a subtle change in M-Ig production. A second IgAκ patient presented with 48g/L IgAκ & 400mg/L FLCκ. After 492 days the patient achieved a CR, characterized by normalization of the HLC & FLC ratios. After 1122 days the patient relapsed, characterized by IgAκ production & elevated IgA HLC ratio but no significant increase of FLCκ production or FLC ratio. The patient responded to second line therapy, however, HLC ratios did not normalise. The patient's terminal relapse was characterized by production of both monoclonal IgAκ & FLCκ. **Conclusion:** The HLC assays offer a novel system to identify & quantify intact M-Igs that can otherwise be challenging to measure by SPE. Furthermore, FLC and HLC assays are complementary methods that allow identification of M-Ig production changes, possibly reflecting clonal changes, during a patient's disease.

464

Intact immunoglobulin Igkappa / Iglambda ratios are prognostic in multiple myeloma and may provide better discrimination than the international staging system

Hughes R¹, Delgado F², Avet-Loiseau H³, Mathiot C⁴, Attal M³, Moreau P⁵, Harousseau JL⁶, Harding S^{1,7}

¹The Binding Site Group Ltd, Birmingham, UK

²The Binding Site Group Ltd, Argentina

³Centre Hospitalier Universitaire Toulouse, Toulouse, France

⁴Department of Hematology, Institut Curie, Paris, France

⁵Centre Hospitalier Universitaire Nantes, France

⁶Laboratory of Hematology, Clinical Hematology Department, University Hospital, Nantes, France

⁷University of Birmingham, Department of Immunity and Infection

Background: The current international staging system (ISS) for multiple myeloma (MM) relies upon the measurement of Beta 2 microglobulin (B2M) and albumin. B2M is thought to be a measure of tumour bulk and correlates well with the Durie and Salmon staging system. The role of albumin in MM is less well understood; hypoalbuminemia is a common occurrence, this reduced level of albumin in MM is not influenced by the degree of proteinuria although it has been correlated to the concentration of monoclonal immunoglobulin. Somewhat counter-intuitively measurement of immunoglobulin production is not prognostic, but is the most commonly used laboratory method for monitoring patients' responses to therapy. Newly developed nephelometric assays enable the accurate quantification of serum heavy/light chain (IgAkappa / IgAlambda and IgGkappa / IgGlambda) proteins; the measurement of which provides a closer estimate of tumour-derived immunoglobulin than total immunoglobulin assays and indicates the level of isotype-specific immunoglobulin suppression. **Methods:** Presentation sera from 339 patients enrolled on the IFM 2005-01 trial were assayed retrospectively. Free light chain (FLC), B2M and albumin were measured in all sera. IgGkappa & IgGlambda concentrations were measured in sera from the 245 IgG MM patients (166 IgGkappa, 79 IgGlambda). IgAkappa and IgAlambda concentrations were measured in the sera from the 94 IgA MM patients (60 IgAkappa, 34 IgAlambda). Association with progression free survival (PFS) was determined using univariate and multivariate analysis (SPSS Version 18). **Results:** Abnormal HLC ratios were recorded for all 339 patient sera tested, matching IFE sensitivity. 33% (31/94) of IgA patients had monoclonal immunoglobulins which could not be accurately quantified by SPE because of low concentrations or co-migration with other serum proteins, all had abnormal HLC ratios. There was a weak, negative correlation between the HLC ratio and albumin concentration ($r=0.195$ $p<0.0001$), but there was no correlation with other serum markers including B2M and FLC. Cox regression analysis identified an abnormal HLC ratio as being associated with reduced progression free survival (PFS, $p>0.001$). Separation of the HLC ratio into production and suppression clearly showed that polyclonal suppression had a greater influence on outcome than the level of production ($p=0.002$), but was not as significant as the ratio ($p=0.0005$). Combining B2M and the HLC ratio in a risk stratification model separated the population with 0, 1 or 2 risk factors and had greater statistical strength than the current ISS ($p=0.00000013$ v $p=0.023$). Levels of monoclonal protein have only been weakly associated with outcome in MM and are not used in the current ISS. Heavy/light chain ratios are significantly associated with outcome and can be used to replace albumin in a risk stratification model.

465

Serum free light chain (Freelite) analysis alongside serum protein electrophoresis improves detection of haematological malignancies

Harding S^{1,2}, Delgado F³, Sutton D⁴, Hughes R¹, Seetharam A⁴, Macwhannell A⁴, Jacob A⁴, Honda S⁴, Mirbahai L¹, Basu S⁴

¹The Binding Site Group Ltd, Birmingham, UK

²University of Birmingham, Department of Immunity and Infection

³The Binding Site Group Ltd, Argentina

⁴The Royal Wolverhampton Hospitals NHS Trust, Wolverhampton, UK

Background: The identification of monoclonal immunoglobulins, either intact Ig or serum free light chains (FLC) has historically relied upon serum protein electrophoresis (SPEP) and urine analysis. The gold standard for urine analysis relies upon the collection of 24hr urine, a difficult and inaccurate process that is seldom adhered to. The introduction of the serum free light chain test, Freelite® has changed the diagnostic paradigm and is now included in international guidelines as part of the gold standard approach for monoclonal gammopathy screening. However, there are few prospective studies that look at the positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) of the test, either used in isolation or alongside SPEP. Here we assess SPEP, FLC and SPEP + FLC as tools to diagnose haematological malignancies in a referral population. **Methods:** 1483 patients referred to the Royal Wolverhampton Hospital for haematological evaluation were enrolled on to the study. Median patient age was 64 years, with a slight female preponderance (60%). Patient sera were analysed at presentation using routine electrophoresis tests (serum protein electrophoresis, SPEP and immunofixation, IFE). FLCκ and FLCλ (Freelite®, The Binding Site Group, Birmingham, UK) were measured on a BN™II nephelometer (Siemens, Germany). Diagnosis was recorded up to 3 months after sample analysis. All statistics were performed using SPSS v21. **Results:** Haematological malignancies were identified in 84/1483 patients, including 29 monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS), 19 multiple myeloma (MM, 7 light chain LCMM), 13 chronic lymphocytic leukaemia (CLL), 11 lymphoma and 4 waldenstrom's macroglobulinemia. SPEP was positive in 109/1483 patient sera, 115/1468 patients had abnormal FLC ratios and 75/1468 patients were positive by both tests. Abnormal SPEP alone had a 48% PPV and 97.7% NPV for haematological malignancies, abnormal FLC ratio had 44% PPV and 97.3% NPV and both abnormal SPEP + abnormal FLC ratio had 58.7% PPV and 99.4% NPV. Abnormal FLC alone identified 2/2 AL amyloid, 2/7 LCMM, 3/12 MM (either NSMM or treated) and 7/13 CLL patients. Using both tests it was notable that 1 plasmacytoma patient, 3 lymphoma, 3 CLL and 1 MDS patient were not identified. **Discussion:** The addition of FLC measurements improved the detection of light chain only disease and some lymphoma / CLL patients. Monoclonal protein production was not a defining characteristic of the patients missed and an algorithm of both assays can be used when screening for monoclonal gammopathy.

466

Estudos funcionais da expressão dos genes P53CSV e Hsp70 em linhagens celulares de mieloma múltiplo: inibição do Hsp70 como alvo terapêutico

Alves VL¹, Zanatta DB², Braga WM¹, Carvalho F¹, Strauss BE², Colleoni GW¹

¹Universidade Federal de São Paulo

²Universidade de São Paulo

Introdução: O gene P53CSV, envolvido na sobrevivência celular mediada pela via do gene TP53, atua inibindo a ativação da caspase-9

e prevenindo a indução da apoptose. Resultados do nosso grupo obtidos por Felix *et al* (2009) sugerem que o gene P53CSV pode desempenhar importante papel para a tumorigênese do mieloma múltiplo (MM) e figurar como possível alvo terapêutico, pois apresentou hiperexpressão em 90,3% dos casos de MM analisados; porém a ausência de um anticorpo comercial não permitiu a identificação da sua expressão tecidual. Estudos de Park e Nakamura (2005) mostraram uma interessante conexão entre P53CSV e a maquinaria apoptótica ou antiapoptótica envolvendo, respectivamente, Apaf-1 e/ou Hsp70. Apesar dos vários estudos sobre a função da Hsp70 na apoptose e resistência a drogas, faltam informações do seu papel no microambiente tumoral e doença residual mínima na terapia do MM. **Objetivo:** Analisar P53CSV e Hsp70 como potenciais alvos para terapia em MM através: 1) silenciamento dos genes P53CSV e Hsp70 em linhagens celulares de MM que apresentem expressão dos mesmos. 2) avaliação do efeito do silenciamento dos genes sobre o ciclo celular e apoptose. **Métodos:** A análise da expressão dos genes foi realizada a partir do RNA extraído das linhagens celulares de MM U266, SKO007, SKMM2 e RPMI8226 e avaliada através da técnica do PCR em tempo real. A expressão relativa dos genes foi calculada utilizando a linhagem U266 e o gene β-actina como constitutivo. Utilizando a tecnologia do *short hairpin* RNAs (shRNAs) com vetor lentiviral pLKO as linhagens selecionadas, com melhores níveis de expressão dos genes de interesse, foram transduzidas com os vetores contendo o shRNA para silenciamento, inicialmente, do gene HSP70, e com vetores lentivirais *scramble*. Para avaliar a eficiência de transdução, utilizamos a linhagem U266 e vetores lentivirais com o gene GFP (*green fluorescent protein*) e as análises realizadas por citometria de fluxo. **Resultados:** A eficiência de transdução, avaliada com o vetor pLKO e o gene GFP, foi de 70%. As linhagens selecionadas foram transduzidas com vetores lentivirais contendo o shRNA para silenciamento do gene HSP70 e com vetores lentivirais, nas mesmas linhagens, contendo o vetor *scramble*. Essas linhagens foram submetidas a três transduções independentes seguidas da avaliação da apoptose tardia, por citometria de fluxo, utilizando anexina e iodoeto de propídeo. Em relação ao HSP70, houve redução da expressão do gene em mais de 90%, quando comparado com a linhagem transduzida com o shRNA *scramble*, nas duas linhagens. Na análise da apoptose tardia avaliada com 7 dias após transdução, houve diferença estatisticamente significativa entre as linhagens transduzidas com o shRNA HSP70 e o vetor *scramble* (p<0.001 para a linhagem RPMI8226 e p<0.05 para a linhagem U266) e entre as linhagens transduzidas com o shRNA HSP70 e as linhagens sem transdução (p<0.0001 para a linhagem RPMI8226 e p<0.01 para a linhagem U266) (One-WayANOVA). **Conclusão:** Os resultados obtidos com o silenciamento estável do gene HSP70 em linhagem celular RPMI8226 e U266 demonstram forte impacto na indução da apoptose tardia, sugerindo que inibidores dessa "heat shock" podem ser extremamente úteis como adjuvantes no tratamento de primeira linha do MM ou nos pacientes refratários/recidivados. Suporte: FAPESP2010/17668-6.

467

Xenotransplante de linhagens celulares de mieloma múltiplo bioluminescentes em camundongos Balb/c nude: proposta de modelo para estudo "in vivo" utilizando o método de bioluminescência com luciferase

Eugênio AI¹, Alves VL¹, Porcionatto M¹, Strauss BE², Dreyfuss J¹, Colleoni GW¹

¹Universidade Federal de São Paulo

²Universidade de São Paulo

Introdução: Modelos *in vitro* envolvendo testes com drogas que atuam em várias vias celulares estão sendo realizados na tentativa de encontrar novos alvos para tratamento do mieloma múltiplo

(MM), doença ainda considerada incurável, a fim de complementar as terapias atuais. Assim, um modelo *in vivo* de xenotransplante capaz de reproduzir aspectos relevantes da biologia do MM é necessário para validar os resultados obtidos com linhagens celulares *in vitro*. A técnica de imagem por bioluminescência (BLI) é uma ferramenta interessante para ser associada aos estudos *in vivo*. A BLI se baseia na captura de bioluminescência de células transduzidas com o gene repórter da luciferase, que após a administração de luciferina, emitem luz, que será captada pelo equipamento. A bioluminescência pode ser quantificada, sendo equivalente à massa tumoral. Essa técnica agrega tecnologia de imagem aplicada à pesquisa molecular em camundongos, possibilitando acesso dinâmico ao tumor antes e após a administração de drogas antitumorais. **Objetivo:** Implantação de um modelo *in vivo* utilizando a técnica de BLI em camundongos Balb/c nude como ferramenta para validar estudos *in vitro* envolvendo linhagens celulares de MM. **Métodos:** Linhagens celulares de MM (U266B1, SKO-007 e RPMI8226) foram transduzidas com o vetor repórter da luciferase em plasmídeo *pLenti PGK V5-LUC Puro*, produzidos a partir das células 293T ou HEK para criação de um banco de células bioluminescentes, e cultivadas com puromicina a 2 µg/ml por aproximadamente três semanas. **Resultados:** As linhagens transduzidas foram testadas, para avaliar a expressão da luciferase, a partir do *kit Luciferase Assay System* (Promega) no equipamento Victor Wallac. A análise da expressão da luciferase nas linhagens bioluminescentes RPMI8226-LUC, U266B1-LUC e SKO-007-LUC foram respectivamente 637.000 QuantLum, 11.510 QuantLum e 23.670 QuantLum quando comparadas com as linhagens controle (não-transduzidas), que foram de 95 QuantLum, 25 QuantLum e 53 QuantLum. As linhagens também foram avaliadas no equipamento IVIS Kinetic para captura da bioluminescência, sendo que novamente a RPMI8226-LUC apresentou o melhor resultado de emissão de bioluminescência e foi escolhida para a próxima etapa do estudo. Seis camundongos nude com 6-8 semanas de vida foram injetados com 10⁶ células tumorais humanas RPMI8226-LUC com BME/matrigel ou sem matrigel no flanco direito subcutâneo após anestesia com isoflurano e injeção de luciferina intraperitoneal. Os camundongos foram monitorados a cada 48 horas pela técnica de BLI, utilizando o equipamento IVIS Kinetic, até que o tumor atingisse 2 cm de diâmetro e os resultados obtidos nessa padronização serão apresentados. **Conclusão:** O presente modelo está em fase de implantação em nosso laboratório, de modo que já estabelecemos três linhagens geneticamente modificadas bioluminescentes RPMI8226-LUC, U266B1-LUC e SKO-007-LUC. A RPMI8226-LUC foi a de mais fácil cultivo e a que apresentou melhores resultados de transdução do gene da luciferase, sendo a escolhida para a implantação de um modelo de xenotransplante em camundongos Balb/c nude utilizando a técnica de BLI. Esse modelo será utilizado futuramente para avaliação de novas drogas para auxiliar no tratamento do MM. Suporte: FAPESP 2010/17668-6.

468

Carcinoma epidermoide de escalpe e gamopatia monoclonal de significado indeterminado mimetizando plasmocitoma ósseo secretor

Pereira VC¹, Silva VA¹, Carvalho PH¹, Meneses AC¹, Oliveira LR¹

¹Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Introdução: As displasias de células plasmáticas compõem grupo heterogêneo de doenças. Destaca-se por sua elevada prevalência e risco de transformação maligna a gamopatia monoclonal de significado indeterminado (GMSI) que pode coexistir com tumores sólidos tornando imperioso diagnóstico diferencial com plasmocitomas ou mieloma múltiplo (MM). É descrito caso de paciente com tumoração em cabeça e gamopatia monoclonal em que plasmocitoma deve considerado como principal diagnóstico diferencial. **Relato de Caso:** Relata-se avaliação de homem, 72 anos, com tumoração de

crescimento progressivo em região frontal com dois meses de duração. Antecedentes pessoais apontavam ressecção de carcinoma epidermoide (CEC) invasivo de ombro direito há nove anos. Febre, perda de peso, dores ósseas e nefropatia foram negadas. O exame físico revelou massa (±10cm de diâmetro) e lesões cutâneas sugestivas de ceratose actínica. Paciente foi inicialmente assistido em ambulatório de Neurologia no qual eletroforese de proteínas séricas (EFP) e tomografia de crânio (TCC) foram solicitadas. Detecção de banda monoclonal em região de gamaglobulinas em EFP e lesão lítica isolada em crânio com comprometimento de partes moles adjacentes em TCC motivaram avaliação hematológica. Em avaliação hematológica, hipótese de plasmocitoma ósseo foi considerada com hemograma sem citopenias, creatinina sérica (0,9mg/dL), cálcio total sérico (9,8mg/dL), imunofixação de proteínas séricas (padrão monoclonal IgG/kappa) e IgG sérica (2,5g/dL). Estudo radiológico de esqueleto axial e ressonância magnética (RNM) de coluna vertebral não evidenciaram lesões líticas adicionais. Análise de medula óssea por aspirados seriados demonstrou <2% de infiltração por plasmócitos típicos, achado confirmado em biópsia de medula óssea. Biópsia incisional de lesão em osso frontal confirmou CEC invasor com destruição de osso frontal subjacente, sem evidências de plasmocitoma. Tratamento com radioterapia regional e quimioterapia sistêmica foi realizado. Conjunto de exames foi compatível com GMSI simultânea a CEC de escalpe. **Discussão:** A GMSI consiste em condição assintomática pré-maligna caracterizada por proliferação limitada de células plasmáticas, sem lesão em órgãos-alvo e risco de transformação em MM e doenças correlatas. Com prevalência de 3,2% em população com mais de 50 anos e 5,3% em população com mais de 70 anos, diagnóstico é realizado na maioria dos casos incidentalmente através de hiperproteinemia ou EPS. Documentação de banda monoclonal em EFP exige propedêutica específica para confirmação de diagnóstico de doenças de plasmócitos e coexistência de gamopatia monoclonal com tumores ósseos ou de partes moles constitui cenário em que plasmocitomas ou MM devem ser considerados. Critérios diagnósticos para plasmocitomas requerem documentação histológica e imunistoquímica de tumor único de plasmócitos, ausência de doença óssea lítica em esqueleto axial por radiografia simples e em coluna vertebral por RNM, infiltração de medula óssea por plasmócitos <5%, ausência de lesão em órgãos-alvo e ausência ou baixos níveis de proteína monoclonal em soro ou urina. Estudo destaca EFP como importante ferramenta para detecção e avaliação de doenças de plasmócitos clonais. Frente à elevada prevalência de GMSI, sugere-se que EPS componha parte de rotina laboratorial de pacientes com mais de 50 anos.

469

Síndrome PRES em paciente com mieloma múltiplo em tratamento com talidomida: relato de caso

Assunção PM¹, Oliveira LC¹, Paul P¹, Fernandes EM¹, Benevides TC¹, Sousa LG¹, Delamain MT¹, Metze IG¹, Pagnano KB¹, Duarte GO¹

¹Universidade Estadual de Campinas

Introdução: A Síndrome da Leucoencefalopatia Posterior Reversível (PRES) é uma síndrome clínico-radiológica potencialmente reversível, caracterizada por edema vasogênico e sintomas clínicos de hipertensão, cefaléia e convulsão. A neuroimagem mostra sinais de edema da substância branca nos hemisférios cerebrais posteriores bilateralmente. Trata-se de condição de incidência ainda não definida relacionada a desordens na autorregulação cerebral e disfunção endotelial. Correlaciona-se a fatores de risco como desordens hipertensivas, insuficiência renal, eclâmpsia e terapias imunossupressoras. A Talidomida é um agente imunomodulador utilizado no tratamento do Mieloma Múltiplo e alguns casos de Síndrome PRES potencialmente associados à talidomida têm sido relatados na

literatura. **Objetivo:** Este artigo tem o objetivo de relatar o caso de um paciente portador de Mieloma Múltiplo em tratamento com talidomida que evoluiu com Síndrome PRES, com critérios de resolução clínica e radiológica após suspensão da terapia imunossupressora.

Relato de Caso: Paciente do sexo masculino, 48 anos, com diagnóstico de Mieloma Múltiplo de Cadeia Leve Lambda, ISSIIB. Ao diagnóstico, apresentava hipercalcemia, disfunção renal e anemia; além de lesões líticas e fratura patológica em arcos costais. Iniciado quimioterapia com CTD; apresentando após este ciclo, choque séptico de foco pulmonar com necessidade de ventilação invasiva prolongada. O paciente evoluiu com resolução do quadro infeccioso e melhora progressiva da disfunção renal e 45 dias após o início da quimioterapia apresentou aumento dos níveis pressóricos e crise convulsiva tônico-clônica generalizada, sem distúrbios hidroeletrólitos ou metabólicos associados. O exame neurológico não apresentava déficits focais. A tomografia de crânio sem contraste mostrou lesão hipoatenuante em região occipital bilateral, sendo realizada hipótese diagnóstica de Síndrome PRES diante de quadro clínico e radiológico característicos. Mantido suporte clínico com prescrição de fenitoína e suspensão de talidomida. Realizada nova tomografia de crânio uma semana após evento, com melhora significativa das lesões. O paciente segue em tratamento para Mieloma Múltiplo com reintrodução gradual dos quimioterápicos supracitados e em uso regular de fenitoína, sem recorrência do quadro. **Discussão:** Os agentes imunossupressores podem lesar a barreira hematoencefálica por toxicidade direta ao endotélio vascular, vasoconstrição ou microtromboes. Hipertensão, sobrecarga hídrica e insuficiência renal geralmente associam-se à toxicidade dos imunossupressores, o que pode ter corroborado para o desenvolvimento da síndrome em paciente com Mieloma Múltiplo em uso de Talidomida. A redução da dose ou pronta suspensão da droga citotóxica resulta em melhora clínica e está recomendada, além do controle rigoroso da pressão arterial e da volemia. Em quadros com crises convulsivas, recomenda-se prescrição de fenitoína, porém não há evidências de risco prolongado de recorrência de convulsões. **Conclusão:** As causas da Síndrome PRES são multifatoriais devendo ser prontamente reconhecida por achados clínicos e de neuroimagem devido ao seu potencial de reversibilidade com a correção dos fatores desencadeantes. Com o crescente uso de talidomida, a conscientização dos seus efeitos adversos raros, como a Síndrome PRES, deve ser ressaltada.

470

Estudos com linhagens celulares de mieloma múltiplo sugerem que inibição de JAK1/2 pode ser alternativa para tratamento de mieloma múltiplo de alto risco

Oliveira MB¹, Eugênio AI¹, Alves VL¹, Kimura EY¹, Chauffaille ML¹, Yamamoto M¹, Colleoni GW¹

¹Universidade Federal de São Paulo

Introdução: A ativação constitutiva das proteínas JAK tem sido demonstrada em mieloma múltiplo (MM) e em outros tipos de câncer, promovendo a sobrevivência e proliferação de células tumorais. No MM, as JAKs podem estar ativadas persistentemente devido à estimulação constante pela IL-6. Estudos envolvendo moléculas sintéticas inibidoras de JAK mostraram a supressão da fosforilação do STAT3, fator de transcrição ativado pela IL-6, induzindo apoptose em linhagens celulares de MM. Esses estudos sugerem que a inibição da via JAK/STAT pode ser um alvo potencial para o tratamento de pacientes com MM. **Objetivo:** Realizar ensaios funcionais com linhagens celulares U266 e RPMI8226 utilizando o inibidor de JAK1/2, ruxolitinibe, e avaliar a morte celular causada pela droga. **Métodos:** As linhagens celulares de MM U266 (hipoexpressão de JAK1 e hiperexpressão de JAK2) e RPMI8226 (hiperexpressão de JAK1) foram cultivadas em meio RPMI 1640, suplementado com 10% de soro bovino fetal, 1% de NEAA (aminoácidos não essenciais)

e antibiótico gamicina, em estufa a 37°C, na presença de 5% de CO₂. Realizamos plaqueamentos com as linhagens U266 (2x10⁶ células por well) e RPMI8226 (1x10⁶ de células por well) e a droga ruxolitinibe, nas concentrações 5µM, 10µM e 15µM. Os controles utilizados foram células sem a adição da droga e células com adição de DMSO (diluente da droga) e os experimentos foram realizados em duplicata. Realizamos marcação com anexina IV e iodeto de propídeo (PI) para leitura no citômetro de fluxo, 24, 48 e 72 horas após o plaqueamento. Para os resultados da citometria de fluxo, foram analisados apenas os dados que correspondem às células marcadas duplamente (com anexina IV e PI), ou seja, que estão em apoptose tardia/morte celular, capaz de melhor prever o IC50 (concentração da droga responsável por matar 50% das células tumorais). Os resultados foram avaliados através da análise de variância ANOVA de uma via. **Resultados:** Análises de citogenética/FISH realizadas previamente por nosso grupo demonstraram que a linhagem celular RPMI8226 não possui a deleção 17p, onde está localizado o gene P53, enquanto a linhagem U266 apresenta esta deleção. A resposta máxima à droga ruxolitinibe na linhagem RPMI8226 foi de 33% de morte celular, obtida na concentração 15µM, 72 horas após plaqueamento, sendo significativamente superior ao controle sem adição de droga (p<0,001). Na linhagem U266, houve 15% de morte celular, nas mesmas condições, quando comparada com o controle (p<0,01). Nas duas linhagens, não atingimos a IC50 com o uso isolado de ruxolitinibe. **Conclusão:** As duas linhagens celulares apresentaram resposta ao inibidor de JAK1/2 na concentração de 15µM, após 72 horas de incubação, mas não conseguimos obter a morte de pelo menos 50% das células com o uso *in vitro* dessa droga. A linhagem RPMI8226 apresentou melhor resposta à droga do que a linhagem U266, talvez devido à diferença em relação à deleção 17p, de modo que a U266 representaria, *in vitro*, um paciente com MM de alto risco. Assim, a combinação do bortezomibe, droga utilizada no tratamento de primeira linha do MM, e do inibidor de JAK, ruxolitinibe, poderia ser benéfica, com um efeito sinérgico, para a linhagem U266 e para os pacientes refratários ao tratamento, o que está sendo testado nesse momento em nosso laboratório. FAPESP 2010/17668-6.

471

Plasmocitoma pulmonar com mieloma múltiplo - relato de caso

Rilhas GP¹, Costa MF¹, Correia MC¹, Correia CW¹, Brandao RA¹, Koury J¹

¹Universidade Federal de Pernambuco

Introdução: O plasmocitoma consiste em uma massa tumoral de células plasmáticas atípicas. Quando um único tumor é encontrado sem evidências de mieloma múltiplo, o plasmocitoma é classificado como solitário. Entretanto, uma quantidade significativa dos plasmocitomas solitários progride para mieloma múltiplo. A associação entre plasmocitoma e mieloma múltiplo no diagnóstico encontra-se entre 7-17%. Trata-se de uma doença neoplásica caracterizada por infiltração localizada ou difusa de plasmócitos com produção excessiva de anticorpos monoclonais (imunoglobulinas do tipo A, D, G e E) ou imunoglobulinas de cadeia leve kappa ou lambda. As infiltrações plasmocíticas estão usualmente localizadas nos ossos chatos (pelve, coluna vertebral, arcos costais e crânio), sendo raro o acometimento não ósseo. **Relato de Caso:** Paciente do sexo feminino, 70 anos, natural e procedente de Pernambuco, foi encaminhada ao serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas-UFPE em fevereiro de 2013 com queixa de dor óssea intensa e dispnéia moderada, não havendo relato de sintomas B ao diagnóstico. Na ocasião do primeiro atendimento a paciente apresentava hemograma e sumário de urina sem alterações, radiografia de coluna dorsal e lombar com achados de lesões degenerativas caracterizadas por osteófitos e redução de espaços discais, radiografia de tórax com

opacidade de aspecto lobulado no terço superior do pulmão esquerdo e aumento da área cardíaca com aorta alongada e tomografia de tórax com múltiplas lesões osteolíticas, múltiplos linfonodos mediastinais e volumosa massa no terço superior do pulmão esquerdo medindo cerca de 9,5 x 8,9 cm nos diâmetros transversos, todos os exames tendo sido realizados no ano de 2012. Durante o atendimento ambulatorial, a paciente realizou biópsia da tumoração torácica sendo o achado caracterizado por inúmeras células plasmocitárias atípicas, condizente com o diagnóstico de plasmocitoma. Realizado o mielograma que mostrou medula óssea hipocelular com 48% de plasmócitos anômalos, a eletroforese de proteínas séricas que revelou pico monoclonal e a imunofixação do sangue e da urina com achados de proteína M do tipo IgG kappa estágio 3A, com o diagnóstico de mieloma múltiplo. Foi iniciada a quimioterapia para paciente idoso não elegível para transplante com o esquema bortezomibe, melfalano e prednisona. Após dois ciclos do tratamento instituído a paciente evoluiu com citopenia severa, grandes necessidades transfusionais e infecções recorrentes. Decidiu-se então pela troca do esquema quimioterápico para bortezomibe, ciclofosfamida e dexametasona. No momento, a paciente segue em tratamento com quimioterapia a nível ambulatorial. A tomografia de controle realizada em julho de 2013 revelou redução da massa tumoral medindo cerca de 7,2 x 5,3 cm nos diâmetros transversos. A paciente refere melhora clínica da dor torácica. **Conclusão:** O relato de caso acima busca chamar a atenção para o diagnóstico do plasmocitoma extramedular de localização pulmonar associado ao mieloma múltiplo, uma vez que se trata de uma localização rara da doença neoplásica em questão, conferindo pior prognóstico para a paciente. A revisão da literatura corrobora a raridade do caso, sendo necessária a apresentação de casos como o descrito para uma melhor abordagem e manejo do paciente com plasmocitoma pulmonar.

472

Leucemia de células plasmocitárias – relato de 04 casos do Hospital Walter Cantídeo da Universidade Federal do Ceará

Dantas EL¹, Dantas FE¹, Carvalho LE¹, Lopes GS¹, Leitão JP¹, Araújo BS¹, Kaufmann J¹, Sousa JH¹, Silva HF¹, Duarte FB¹

¹Hospital Universitário Walter Cantídeo/HEMOCE

Introdução: Leucemia de células plasmocitárias (LCP) é a forma mais agressiva das discrasias plasmocitárias, definida pela presença de >2000 células plasmocitárias no sangue periférico ou >20% do diferencial leucocitário. Sendo classificada como primária, quando não há um quadro prévio de mieloma múltiplo (MM); ou secundária, quando é uma transformação de um estágio final de MM. Tem um prognóstico ruim com uma sobrevida global (OS) em torno de 7 meses, quando usado terapia convencional. Atualmente, preconizam-se, como terapia de primeira linha, regimes que contenham inibidores de proteossomo; e, se elegibilidade para transplante de células tronco hematopoéticas (TCTH), fazê-lo após. **Objetivo:** relatar 4 casos de LCP no serviço de Hematologia do Hospital Universitário Walter Cantídeo da Universidade Federal do Ceará. **Métodos:** Análise retrospectiva de 04 casos, avaliando diagnóstico: sintomas iniciais, presença de doença extramedular, eletroforese de proteínas (EP) com quantificação de pico monoclonal (PM), imunofixação (IF), mielograma com porcentagem de plasmócitos e/ou biópsia de medula óssea (BMO), hemograma inicial com quantidade de células plasmocitárias; estadiamento baseado nos critérios de Durie-Salmon (DSS); tratamento de 1ª linha utilizado, quantidade de ciclos e reavaliações; TCTH autólogo e resposta pós-TCTH. Além de análise quanto a OS e sobrevida livre de progressão (PFS). **Resultados:** Os 4 casos avaliados foram classificados com primários, sendo todas mulheres com idade média de 55 anos. Duas tinham doença extramedular (plasmocitoma em joelho e derrame pleural), 1 não apresentou PM nem IF positiva. A média de células plasmocitárias

no sangue periférico foi de 16.517 células/mm³; duas com DSS IIIA, 1 com IIIB e 1 IIB. O tratamento utilizado foi o esquema VCD: bortezomib, ciclofosfamida e dexametasona com uma média de 3,25 ciclos. Uma foi para TCTH autólogo e atualmente está em VGPR (resposta parcial muito boa). Três foram a óbito após 2,76 meses do diagnóstico, sendo 2 por complicações infecciosas e 1 por progressão de doença. A média da OS foi de 3,86 e da PFS de 3,66 meses. **Conclusão:** LCP é uma doença agressiva com uma baixa OS e PFS. No nosso centro, uma paciente apresentou boa resposta à terapêutica com protocolo VCD e TCTH autólogo.

473

Imunofenotipagem por citometria de fluxo: fenótipos aberrantes em mieloma múltiplo

Barroso RS¹, Maciel FV¹, Soares AC¹, Carvalho AC¹, Mascarenhas AS¹, Fazzani C¹, Boas BV¹, Viana MA¹, Junior NG¹, Souto EX¹

¹Laboratório Diagnósticos da América - DASA

Introdução: O mieloma múltiplo é uma neoplasia de células plasmáticas anômalas multifocal que acomete principalmente a medula óssea e é associada com um componente monoclonal no soro ou na urina. A imunofenotipagem por citometria de fluxo (CF) vem ganhando espaço no diagnóstico/prognóstico desta patologia uma vez que permite estabelecer/quantificar os plasmócitos anômalos (PA) demonstrando um perfil imunofenotípico aberrante e clonalidade através da restrição de cadeia leve de imunoglobulina citoplasmática. Esta abordagem é fundamental para a relação de células anômalas/células residuais normais que tem impacto prognóstico e é o alicerce da pesquisa de doença residual mínima após tratamento. **Objetivo:** Identificar os PA e suas aberrações fenotípicas em amostras enviadas para o laboratório com suspeita clínica de mieloma múltiplo. **Métodos:** O estudo foi iniciado em maio de 2013 estabelecendo um painel amplo de anticorpos monoclonais para identificação dos PA (CD38/CD138/CD45/CD19) e para fenótipos aberrantes (CD3/CD11b/CD13/CD14/CD33/CD34/CD36/CD56/CD71/CD117/HLA-DR). As amostras foram processadas em Citômetro de Fluxo BD FACScanto II e analisadas com o software Cytognos Infinicyt. A estratégia de "gating" foi estabelecida através da intensidade de fluorescência do CD38/CD138 associada ao CD45/CD19. Foram adquiridos 300.000 eventos em cada tubo para aumentar a acurácia do método. **Resultados:** Foram avaliadas 26 amostras sequenciais de medula óssea, no período de 01 de maio de 2013 até 31 de julho de 2013, sendo 12 do gênero masculino e 14 do gênero feminino, a mediana de idade foi 64 anos (45-86). Todas as amostras apresentaram PA cuja quantificação variou entre 0,5% a 83,4% pela CF com uma mediana de 13,4%. Todas as 26 amostras apresentaram positividade para o CD38 e CD138, e foram negativas para o CD19. 18/26 (69,2%) apresentaram CD45 negativo, e 13/25 (52%) apresentaram CD117 positivo. 18/26 (69,2%) foram CD56 positivos e 5/25 (20%) apresentaram CD33 positivos. Deste último grupo todas as 5 amostras também foram CD117 negativos. Houve ainda positividade pontual para CD3(2), CD11b(2), CD13(3), CD36(1), CD64(3), CD71(1), HLA-DR(1). A mediana de idade do grupo CD33positivo/CD117 negativo foi maior (70a) versus o grupo CD33negativo/CD117positivo (60a), contudo sem significância estatística (p = 0,2). **Conclusão:** A utilização de amplo painel de anticorpos monoclonais em amostras suspeitas de mieloma múltiplo mostrou-se fundamental para identificação das células neoplásicas e de fenótipos aberrantes, inclusive com padrões pouco estudados na literatura (CD117negativo/CD33positivo) e com a consequente utilidade na pesquisa de doença residual mínima. Outro fator de destaque em nosso estudo foi a aquisição de um grande número de eventos (300.000/tubo) que possibilitou a identificação de PA em amostras hemodiluídas e/ou com baixo número de células neoplásicas. Nossa casuística ainda é pequena, e os dados aqui relatados serão validados com o aumento do número de amostras.

474

Plasmocitomas extra-medulares: relato de caso de amplo acometimento cutâneo em mieloma múltiplo

Strauhs-Nitsch L¹, Gevert F¹, Bremer FP¹, Reinaldin JA¹, Nocera VB¹, Pietrovicz J¹

¹Hospital Universitário Evangélico de Curitiba

Introdução: O mieloma múltiplo (MM) é uma neoplasia maligna resultante da proliferação anormal de plasmócitos, representando cerca de 13% das doenças hematológicas malignas. As células plasmáticas neoplásicas crescem comumente dentro da medula óssea, mas podem infiltrar sítios extra-medulares. Exemplos são: tratos respiratório e gastrointestinal, partes moles, linfonodos e pele. Esta última, consideravelmente rara, é dividida em específica e não específica. Lesões inespecíficas incluem uma miríade de formas, de púrpuras até xantogranulomas. As lesões específicas são os plasmocitomas cutâneos, subdivididos em primários e secundários. Primários não apresentam outras evidências de MM, sendo mais raros. Secundários ocorrem por disseminação hematogênica (lesões subcutâneas ou intradérmicas) ou diretamente da medula óssea subjacente acometida por MM. As lesões são consideradas fator agravante no prognóstico, uma vez que ocorrem na doença avançada ou em tumores de grande massa celular. Neste trabalho, relata-se o caso de um paciente com MM que desenvolveu múltiplos plasmocitomas cutâneos. **Relato de Caso:** J.L.O.M, masculino, 39 anos, foi diagnosticado como portador de MM estágio clínico III em abr/2010 em um Hospital de Curitiba. Ao diagnóstico, a biópsia de medula óssea mostrava-se hiperplásica por infiltração de células plasmáticas (40%), com diminuição eritrocitária acentuada, configurando uma anemia normo/normo ao hemograma. Também apresentava pico monoclonal em eletroforese de proteínas séricas e aumento de IgG, porém não havia disfunção renal ou lesões ósseas líticas. Como tratamento, o paciente foi submetido à 4 ciclos de talidomida + dexametasona, com excelente resposta hematológica e medular, seguido de transplante autólogo de medula óssea (TAMO) em set/2010. Após o TAMO, já em ambiente ambulatorial, houve aumento progressivo do pico monoclonal de IgG, piora da função renal e surgimento de lesões líticas em coluna lombar, com fratura patológica de L1 nos meses seguintes. Na ocasião, foi iniciado Bortezomibe em combinação com outros quimioterápicos. Ao diagnóstico das lesões líticas, foi identificado também um plasmocitoma comprimindo o canal medular, tratado cirurgicamente em conjunto com radioterapia local. Em jun/2013, ainda em uso de Bortezomibe, o paciente começou a apresentar múltiplos nódulos violáceos, de consistência endurecida, medindo cerca de 7 a 10 cm em antebraço esquerdo, dorso, parede torácica e membros inferiores. Constatou-se, por meio de biópsia e estudo imunohistoquímico, trataram-se de plasmocitomas. Uma cintilografia realizada no mesmo período não mostrou novas lesões ósseas. As lesões foram tratadas com quimioterapia, com bom controle clínico, e o paciente continua em acompanhamento no ambulatório, com planos de seguir o esquema vigente de tratamento e acompanhar o comportamento das lesões. Considerações finais: A documentação de casos de plasmocitomas cutâneos é escassa na literatura brasileira. Em concordância com a literatura, o caso apresentado tem relação com uma variante de caráter agressivo. A multiplicidade das lesões também abre precedentes para estudos sobre como conduzir o tratamento nestes casos. Assim, o plasmocitoma cutâneo, uma manifestação rara e indicador de mau prognóstico, é um dado importante na avaliação do mieloma múltiplo, devendo o médico dar especial atenção ao exame físico de um paciente com esta doença.

475

Amiloidose AL sistêmica com grave comprometimento cardíaco: relato de caso

Bellintani LM¹, Koury LC¹, Maio KT¹, Dutra VF¹, Sá MB¹, Costa LH¹, Arantes AQ¹, Vassalli LC¹, Simões BP¹, Chahud F¹, Romano MM¹

¹Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Introdução: A amiloidose AL sistêmica caracteriza-se pela produção de imunoglobulinas de cadeia leve, com alteração em sua conformação, por uma população de células plasmocitárias da medula óssea levando ao depósito destas proteínas nos tecidos, acarretando disfunção nos órgãos. Apresentações comuns de amiloidose AL incluem síndrome nefrótica, hepatomegalia, neuropatia periférica, macroglossia e diátese hemorrágica. **Relato de Caso:** Paciente masculino de 60 anos com história de constipação intestinal há dez anos e queixa de hematoquezia, perda ponderal de 10kg e disfagia de condução há 6 meses, além de aumento do volume abdominal, edema de membros inferiores e dispnéia progressiva há 3 meses. Apresenta ainda antecedente de hepatite C crônica não tratada. Iniciou acompanhamento neste serviço em junho de 2013, já em diureticoterapia, e tendo realizado colonoscopia e endoscopia digestiva alta com biópsias de estômago e intestino delgado positivas para a técnica imunohistoquímica do vermelho do congo. Na investigação complementar foi evidenciado: Creatinina 1,46mg/dL; sumário de urina- 100mg/dl de proteínas; eletroforese de proteínas- pico monoclonal 0,74g/dL na região das gamaglobulinas; dosagem de Ig (IgG- 1.520mg/dL, IgA- 15,8mg/dL, IgM- 13,2); dosagem de Kappa- 9,75mg/L; Lambda- 221mg/L; relação Kappa/Lambda 0,04; HCV-RNA 55.081 UI/ml (LOG 4,74); mielograma com 6% de plasmócitos; biópsia de medula óssea com população plasmocitária de 25% da celularidade da medula, com positividade para CD 138 e Lambda e vermelho do congo negativa; troponina I- 0,11mcg/L; pro BNP- 12.525 pg/ml; eletrocardiograma com ritmo sinusal, baixa voltagem no plano frontal e alteração de repolarização ventricular em parede lateral e lateral alta; e ecocardiograma transtorácico com dilatação acentuada dos átrios (AE- 52cm, volume do átrio direito- 119ml, do átrio esquerdo- 129ml), fração de ejeção- 54%, aumento da espessura do miocárdio ventricular direito (espessura da parede livre do VD= 6,0mm) e esquerdo em grau acentuado (septo= 18 mm), aumento do brilho e aspecto levemente granuloso, sugerindo doença infiltrativa. Dado o grave comprometimento cardíaco, optamos por realizar ciclofosfamida 50mg/dia inicialmente devido ao risco de maiores complicações, como descompensação cardíaca, com a associação de talidomida e dexametasona. **Discussão:** A cardiomiopatia amiloide manifesta-se mais comumente por falência cardíaca, com dispnéia progressiva e edema de membros inferiores, podendo apresentar-se também com distúrbios da condução. O paciente não tratado tem prognóstico reservado. O comprometimento cardíaco na amiloidose AL sistêmica é o principal preditor de mortalidade, sendo que a troponina T e o pró BNP são os marcadores mais relacionados com o prognóstico da doença. Um modelo de estadiamento e prognóstico proposto pela Clínica Mayo leva em consideração tais marcadores, evidenciando que pacientes que apresentam valores de pró BNP maiores ou igual a 1.800 ng/L e troponina T maiores ou igual a 0,025mcg/L, classificados como estágio IV, apresentam sobrevida estimada em 5 meses, se não submetidos a transplante de medula óssea.

476

Doença de Gaucher associada a mieloma múltiplo e histiocitose em cristais : apresentação de caso e revisão da literatura

Bortolheiro TC¹, Aranda P², Tmhungria V¹, Chiattoni CS¹¹Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa São Paulo²Hospital Evangélico de Londrina

A doença de Gaucher(DG) é a doença de depósito lisossômico mais prevalente, autossômica recessiva, causada por mutação no gene da β -glicosidase, ocorre por diminuição da atividade enzimática e acúmulo de glicocerebrosídeo nos macrófagos do sistema monocítico-macrofágico. A terapia de reposição enzimática(TRE), iniciada nos anos 1990, proporcionou aos pacientes uma expectativa de vida normal, o que também abriu a possibilidade de sua associação com outras doenças, como hipertensão pulmonar, Parkinson e aumento da incidência de diversos tipos de câncer, principalmente neoplasias hematológicas. A literatura mostra que pacientes com DG tem 2,5 vezes mais risco de neoplasias, sendo de 12,7 vezes o risco de neoplasias hematológicas, mais frequentemente o Mieloma múltiplo(MM). A incidência de gamopatia monoclonal de significado incerto (MGUS) varia de 2,2 a 25%. **Relato de Caso:** ME, vista pela primeira vez em 2008, aos 56 anos, pancytopenia hepatoesplenomegalia, 70% de células de Gaucher na medula óssea, deficiência Beta glicosidase, quitotriosidase elevada, sem lesões ósseas. Iniciou tratamento de reposição enzimática (TRE) com imiglucerase, 30ui/kg. Análise DNA não detectou nenhuma das mutações mais frequentes na DG. Após 6 meses de TRE :piora da hepatoespleno e da pancytopenia, crise dores ósseas, a TRE foi aumentada para 60ui/kg. A eletroforese de proteína mostrou pico monoclonal, com aumento de IgA e cadeia Kappa. Novo mielograma mostrou, além das células de Gaucher, 30% de plasmócitos, havendo cristalização intra e extracelular das imunoglobulinas nos plasmócito e nos macrófagos. O sequenciamento do gene mostrou presença de mutações menos frequentes mas características e confirmou a DG. A histiocitose com depósito de cristais é um raro evento, associado à gamopatia monoclonal, com expressão de cadeia Kappa e devido a sua raridade traz grandes dificuldades diagnósticas, sendo seu desfecho frequentemente fatal. Em vista do aumento da expectativa de vida dos pacientes com DG, da alta incidência de MGUS nesse grupo de pacientes e da semelhança das lesões ósseas na DG e no MM, é importante monitorar esses pacientes quanto ao surgimento de outra doença.

477

Estimulação linfocitária por células dendríticas fusionadas com plasmócitos de pacientes com mieloma múltiplo

Silva MP¹, Prado JS¹, Wong TM¹, Rossi MI¹, Pinho RT¹, Nogueira CM¹, Mercante DR¹, Filho RJ¹, Maiolino A¹, Dutra HD¹¹Universidade Federal do Rio de Janeiro

Introdução: Células dendríticas (DC) possuem a habilidade de capturar, processar e apresentar antígenos aos linfócitos T. Por esta razão têm sido utilizadas em protocolos de imunoterapia. Estratégias para obtenção de resposta antitumoral incluem a vacinação com DC fusionadas às células neoplásicas. Os resultados deste tratamento no MM são promissores, mas faltam estudos que expliquem a diversidade e os mecanismos da resposta neste protocolo de vacinação. O objetivo deste trabalho foi avaliar, *in vitro*, a qualidade da estimulação linfocitária através da análise das subpopulações de linfócitos que são capazes de proliferar por estímulo de DC fusionadas com plasmócitos de pacientes com MM. **Métodos:** Foram incluídos nove pacientes portadores de MM no diagnóstico ou em recaída pós-transplante. DC foram

obtidas por diferenciação *in vitro* dos monócitos com IL-4/GM-CSF e a maturação com TNF- α ou IFN- α /TNF- α . Os plasmócitos (CD138⁺) foram isolados por seleção positiva. A fusão das DC com plasmócitos com polietilenoglicol apresentou taxa de eficiência até 10%. A proliferação linfocitária (PL) foi induzida com linfócitos de doadores saudáveis (selecionados em coluna de lã de nylon e marcados com o éster de succimidil-carboxifluoresceína-CFSE) em co-cultivo (10:1) com DC, DC fusionadas (FUS) e misturadas (MIX) com plasmócitos. A fenotipagem das células foi feita com os marcadores HLA-DR, CD86, CD83 e CD1a para as células dendríticas e CD4 e CD8 para os linfócitos. Análises estatísticas - métodos de *Spearman*, *Students t-test paired*, (diferenças significativas tiveram $p < 0,05$). **Resultados:** As DC cultivadas com TNF- α apresentaram menor expressão do CD86 que quando cultivadas com IFN- α /TNF- α . DC cultivadas nestas condições foram utilizadas para fusão e testes de estimulação linfocitária. A mediana da taxa de proliferação (PL) induzida por FUS, MIX e DC foi de 3,9%, 20,3% e 18,0%, respectivamente. A análise destes dados mostrou diferença significativa quando comparamos as taxas de proliferação linfocitária induzida por FUS e MIX ou FUS e DC. Não observamos diferença na proliferação linfocitária induzida por DC de pacientes na fase do diagnóstico ou da recaída pós-transplante de células tronco hematopoéticas. A proporção de linfócitos CD4, CD8 e DP (duplo positivos=CD4+CD8⁺) que proliferaram foi semelhante quando estimuladas por FUS (CD4=56CD8=23%, DP=11%), MIX (CD4=48%, CD8=24% e DP=19%) ou DC (CD4=46%, CD8=23%, DP=21%), mas a relação CD4/CD8 sofreu grande variação entre os pacientes (min=0,36 max=8,04), entretanto apresentou alto coeficiente de correlação *Spearman* $r > 0,8500$ e pareamento significativamente efetivo quando comparamos a estimulação entre FUS e MIX ou DC e MIX. **Conclusão:** O uso de IFN- α pode induzir um fenótipo nas culturas de DC com maior expressão do CD86. A presença dos plasmócitos parece não interferir no estímulo da proliferação linfocitária induzido pelas DC nas condições estudadas. A ampla variação da resposta linfocitária que altera a relação CD4/CD8 deve ser estudada e pode ser uma variável importante a ser considerada no estudo da resposta dos pacientes em imunoterapia com células dendríticas. A estimulação linfocitária induzida por células fusionadas selecionadas por citometria de fluxo poderá auxiliar na compreensão dos efeitos diretos destas células sobre os linfócitos. Suporte Financeiro: CAPES CNPq, FAPERJ.

478

Serum free light chain kappa/ lambda ratio in patients with B cell dyscrasia and renal failure

Greloni G¹, Luxardo R¹, Saez MS¹, Varela F¹, Sorroche P¹, Diez GR¹, Delgado MF²¹Hospital Italiano de Buenos Aires, Servicio de Nefrología y Laboratorio²The Binding Site Group Ltd, Argentina

Background: Plasma cell dyscrasias (PCD) are a common cause of kidney injury. The analysis of serum free light chains (FLC) and evaluation of kappa/lambda (k/L) ratio is a useful diagnosis tool for PCD. It has been suggested an alternate k/L ratio reference range for patients with severe renal injury. We evaluated the diagnostic sensibility of k/L ratio in patients with PCD and AKI. **Methods:** 94 patients under PCD suspicion were enrolled on to the study in a time frame of 12 months. These patients showed an abnormal result in serum protein electrophoresis (SPE), serum or urine immunofixation (IFE), renal biopsy (RB) or bone marrow biopsy (BMB). FLC were measured by nephelometry, and the ratio calculated (normal range; 0.26-1.65). The PCD diagnosis was performed according to RB and/or BMB results. Patients presenting and eGFR<60ml/min (estimated by MDRD) were analysed separately. We evaluated if the diagnostic sensibility was improved by using the modified reference range for severe renal impairment (ratio 0.37-3.1). **Results:** 42 out of 94 patients

presented a eGFR<60ml/min. The diagnosis of PCD was confirmed in 21 cases (14 multiple myeloma, 5 AL Amyloidosis and 2 light chain deposition disease). 16/21 patients had a k/L ratio out of normal range with elevated production of either κ or λ sFLC. Of the 5 patients within a normal FLC ratio, 2 were patients in remission of their PCD. Using the modified renal reference range other 2 patients were excluded of normality. The remained patient presented a RB suggesting MM but the BMB was not conclusive. **Discussion:** Detection of serum FLCs and the evaluation of k/L ratio has become a diagnostic foundation in PCD. However, the variations of FLC serum levels in renal injured patients place some individuals into normal range, making the final evaluation difficult. The evaluation of these patients with the renal reference range, allowed us to establish an adequate PCD diagnosis. **Conclusion:** In this study we showed that for patients in renal failure, the measurement of sFLC and evaluation of k/L ratio (renal reference range) strongly contributes to PCD diagnosis. For patients with renal failure in different stages, the k/L ratio could be modified accordingly to increase diagnostic sensitivity.

479

Estudo retrospectivo: tratamento bortezomibe em pacientes com mieloma múltiplo

Pimenta MB¹, Peixoto RL², Diniz JM², Guedes BA¹, Filho RC¹, Rodrigues GS¹, Souza LW¹, Furtado AR¹, Guedes GA¹, Pimenta FC²

¹Faculdade de Medicina Nova Esperança

²Universidade Federal da Paraíba

O mieloma múltiplo (MM) é conhecido por ser uma doença crônica, incurável e que reconhecidamente tem um curso recidivante, com muitos pacientes que necessitam de terapias múltiplas. Realizamos estudo retrospectivo quanto a eficácia e segurança do bortezomibe em pacientes com MM utilizado em primeira linha. Revisamos os prontuários de pacientes com idade $\geq$ 18 anos, com MM secretor. Foram avaliadas as seguintes variáveis: Quantos ciclos receberam até obterem remissão, número médio de ciclos por pacientes, a duração da resposta, o tempo para progressão, e segurança. Eventos adversos foram também incluídos no estudo. Um total de 35 prontuários foram avaliados. O tratamento utilizado foi bortezomibe, melfalano e prednisona para pacientes não elegíveis a transplante e bortezomibe dexametasona, ou bortezomibe, dexametasona e ciclofosfamida para aqueles elegíveis a transplante medular. Analisamos a taxa de resposta global, toxicidade hematológica, ocorrência de eventos como neuropatia, sua resposta ao tratamento e reversibilidade. Em conclusão, o bortezomibe demonstrou ser eficaz e tolerável em pacientes com MM, sem evidência de toxicidade grave.

480

Mieloma múltiplo não secretor

Pimenta MB¹, Peixoto RL², Diniz JM², Guedes BA¹, Guedes GA¹, Filho RC¹, Rodrigues GS¹, Souza LW¹, Furtado AR¹, Pimenta FC²

¹Faculdade de Medicina Nova Esperança

²Universidade Federal da Paraíba

O mieloma múltiplo (MM) é uma neoplasia reconhecida pela proliferação clonal de células plasmáticas com imunofenótipo de célula B. Corresponde a 1% de todas as neoplasias e 10% das doenças oncohematológicas. Suas manifestações esqueléticas são geralmente lesões osteolíticas cujo diagnóstico diferencial inclui tumor ósseo primário e secundário. Este tumor é caracterizado pela presença de uma paraproteína anormal no sangue e na urina. Em um a cinco por cento dos casos MM pode não vir acompanhado da paraproteína, dificultando e retardando o diagnóstico. São os casos

de MM chamados de não secretores. Os mielomas múltiplos não secretores apresentam ausência de proteína M sérica ou urinária com imunofixação e plasmocitose medular maior ou igual a 10% ou plasmocitoma, com lesão de órgão-alvo. Nosso relato de caso exemplifica um dilema para tal diagnóstico. Relatamos o caso de uma paciente 65 anos com fortes dores ósseas e lesões ósseas líticas, cujo diagnóstico de MM foi em parte retardado pela não manifestação de paraproteinemia urinária e sanguínea.

481

Amiloidose cardíaca sistêmica associada a piora da insuficiência cardíaca com o início do tratamento: relato de caso

Dutra VF¹, Bellintani LM¹, Maio KT¹, Koury LC¹, Costa LH¹, Sa MB¹, Ramos AF¹, Dalmazzo LF¹, Palma LC¹, Simões BP¹

¹Hospital das Clínicas Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

Introdução: A amiloidose sistêmica de cadeia leve da imunoglobulina (AL) é causada pelo depósito extracelular de fibrilas amiloides, gerando uma disfunção orgânica progressiva. O envolvimento cardíaco é frequente e ocorre em até 50% dos casos, sendo a maior causa de mortalidade e morbidade, o que torna o prognóstico ruim, com uma sobrevida média de 05 meses. O padrão ouro para o diagnóstico é feito através de um exame anátomo-patológico. **Relato de Caso:** Relatamos o caso de paciente de 48 anos, internada para investigação de cardiomiopatia restritiva. Ecocardiograma mostrou fração de ejeção normal, porém com disfunção diastólica. Ressonância magnética do coração mostrou fibrose miocárdica, sugerindo doença infiltrativa. Como apresentava alterações de leito ungueal, essa região foi biopsiada, onde se demonstrou positividade para o vermelho congo. A dosagem sérica de cadeia lambda livre estava aumentada. Programado inicialmente tratamento com 04 ciclos de CTD (ciclofosfamida, talidomida e dexametasona). Porém não se iniciou talidomida devido a níveis aumentados de proBNP e pressão arterial sistólica abaixo de 100 mmHg. No primeiro ciclo de CD, a paciente teve piora da classe funcional da insuficiência cardíaca, necessitando internação para compensação do quadro. Após melhora, foi reiniciada a dexametasona em dose menor (2,5mg de 12 em 12h) para os próximos ciclos e feita nova programação de 04 ciclos de CD, associado a restadiamento com ecocardiograma e dosagem de kappa e lambda, com mudança do tratamento para mais 02 ciclos de CTD após a normalização da pressão arterial e da queda dos níveis de proBNP. Apesar da diminuição da dose, a paciente teve nova internação por ICC descompensada, porém conseguiu completar os 06 ciclos propostos. **Conclusão:** Trazemos para discussão um caso de difícil manejo terapêutico em paciente com amiloidose e sintomas cardíacos, onde o tratamento quimioterápico piorou os sintomas funcionais, sendo necessário doses alternativas. Apesar disso a sobrevida da paciente já chega a 08 meses, ultrapassando o previsto pela literatura.

482

Leucemia de plasmócitos – importância da análise morfológica do sangue periférico no diagnóstico desta rara entidade

Oliveira CF¹, Martins GC¹, Suzuki KT¹, Ferreira TZ¹, Ommati LV¹, Sandes AF¹

¹Grupo Fleury

Introdução: A leucemia de plasmócitos (LP) é uma variante agressiva das neoplasias plasmocitárias caracterizada por elevados níveis de plasmócitos circulantes e corresponde a 2-4% dos pacientes com mieloma múltiplo (MM). O diagnóstico é definido

pela presença de mais que 20% de plasmócitos em sangue periférico (20%), associado a uma contagem absoluta de plasmócitos superior a $2 \times 10^9/L$. LP é classificada como primária quando o diagnóstico é realizado em pacientes sem evidência prévia de MM (60-70% dos casos) e como secundária quando observada como transformação leucêmica na recaída ou casos refratários de MM (30-40% dos casos). Os sintomas são semelhantes aos encontrados no MM, podendo incluir hepatoesplenomegalia. É associada a características agressivas como risco citogenético desfavorável, aumento de $\beta 2$ microglobulina e DHL, estadiamento clínico avançado e prognóstico adverso. A sobrevida de pacientes com LP é curta, variando de 6,8 a 12,6 meses, sendo ainda mais curta nos casos de LP secundária. O objetivo do trabalho é relatar um caso de LCP, atentando para a observação das características morfológicas dos plasmócitos no diagnóstico dessa variante rara de MM. **Relato de Caso:** Paciente sexo masculino, 71 anos, diagnóstico prévio de MM há cinco anos, tratado com poliquimioterapia e TMO autólogo. Um ano após o transplante, apresenta hemograma em avaliação de rotina com hemoglobina de 12 g/dL, leucócitos de $12,6 \times 10^9/L$ e plaquetas de $172 \times 10^9/L$. A análise do esfregaço de sangue periférico demonstrou a presença de 24% de plasmócitos de tamanho pequeno, com pouco citoplasma, sendo que 60% eram displásicos. Foi realizado mielograma, com presença de medula óssea hiperplásica às custas de infiltração extensa de plasmócitos (80%), com presença de formas imaturas de plasmócitos (plasmoblastos). A imunofenotipagem por citometria de fluxo confirmou a clonalidade dos plasmócitos, que expressavam cadeia lambda intracitoplasmática e eram negativos para os antígenos CD56, CD19 e CD45. O cariótipo, que anteriormente era normal, apresentou-se complexo na transformação, sugerindo evolução clonal. O paciente foi submetido à poliquimioterapia, mantendo-se refratário ao tratamento, com presença de infiltração por plasmócitos em SP e MO. **Discussão:** O exame minucioso do sangue periférico por microscopia convencional deve ser realizada em todos pacientes com MM que apresentem suspeita de LP, como leucocitose e DHL elevado. A presença de citoplasma escasso e a semelhança com linfoplasmócitos podem confundir o diagnóstico de LP e o diagnóstico correto é dependente da habilidade do patologista em identificar os plasmócitos anormais no sangue periférico. O presente caso ilustra a importância da análise morfológica de sangue periférico para a identificação precisa da leucemia de plasmócitos, bem como a agressividade dessa doença. Embora novas terapias com bortezomib, lenalidomida e transplante de medula óssea tenham melhorado a sobrevida da LP primária, nenhuma melhora significativa na sobrevida de LP secundária foi observada até o momento.

483

Síndrome de Bing-Neel em paciente com Macroglobulinemia de Waldenström

Rassi AB¹, Barquinero LJ¹, Scanhola GQ¹, Colombo ES¹, Cerqueira LA¹, Martinez GA¹

¹Universidade de São Paulo

Introdução: Descrita em 1936, a Síndrome de Bing-Neel é uma rara complicação neurológica da Macroglobulinemia de Waldenström (MW), que consiste na infiltração do sistema nervoso central (SNC) por células linfoplasmocitoides neoplásicas. Existem duas formas de apresentação: difusa e tumoral (linfomatosa). Na primeira ocorre deposição difusa de IgM, que leva, através de mecanismos auto-ímmunes, à desmielinização de leptomeninge, medula e região periventricular. A tomografia computadorizada (TC) nestes casos é negativa. Na segunda forma a TC mostra tumoração e infiltração do líquor cefalorraquidiano (LCR). Os sintomas englobam mudança de personalidade, diminuição do estado de alerta e, tardiamente, convulsões e surgimento de sinais focais. O diagnóstico é confirmado

ressonância nuclear magnética (RNM) ou por anátomo-patológico. **Relato de Caso:** MSV, sexo feminino, 56 anos, previamente hígida, iniciou sonolência e confusão mental em agosto/2012, com progressiva restrição ao leito. Internada no Hospital Universitário da FMUSP em 04/10/12 com diagnóstico de pneumonia. O hemograma inicial mostrava anemia (Hb: 4,8g/dL) e formação de rouleaux, com 1 plasmócito circulante. A eletroforese de proteínas séricas compôs monoclonal em gama de 6,94%, imunofixação IgM kappa, IgM: 8150mg/dL. Biópsia de medula óssea hiperplásica, com população de linfócitos pequenos B e T aumentada em número de distribuição intersticial e em agregado mal definido com predomínio de células B. Plasmocitose (10%). Feito diagnóstico de MW e suspeitada de síndrome de hiperviscosidade pela persistência do rebaixamento do nível de consciência (RNC). Transferida para o Instituto do Câncer do estado de São Paulo, realizou plasmáfereze, sendo a viscosidade plasmática 4.1cp após a primeira sessão. Realizou mais 2 sessões com melhora neurológica, mantendo Escala de Coma de Glasgow (ECG) grau 8. Na investigação neurológica: LCR apresentava 8 células/mm³ (75% de linfócitos), citologia oncológica negativa, proteína de 22 mg/dL e glicose de 81 mg/dL. Pesquisas para herpes vírus tipo I, II e VI e citomegalovírus foram negativas. Realizada RNM de SNC, que mostrou realce parieto-occipital por meio de contraste frontotemporo-parietal à esquerda. Tratada empiricamente com meningite herpética, também sem melhora neurológica. Realizado Tomografia por Emissão de pósitrons (PET-CT) de SNC que mostrou redução difusa da concentração relativa do radiofármaco em grau moderado/acentuado nas regiões corticais temporo-parieto-occipital e insular bilateral. Como paciente permanecia sem diagnóstico foi levantada hipótese de Síndrome de Bing-Neel e iniciado tratamento quimioterápico com esquema: cladribina (0,1mg/Kg/dia) por 3 dias e Ciclofosfamida semanal (300mg/m²). Após cinco dias do fim da infusão de cladribina, evoluiu, surpreendentemente, com recuperação do nível neurológico passando a oscilar entre 11 e 15 na ECG. Após passagem de cateter central paciente evoluiu com CIVD e faleceu de choque hipovolêmico refratário. **Discussão:** O diagnóstico de Síndrome de Bing-Neel pode ser suscitado em paciente com MW e RNC, descartando outras causas como infecciosas, metabólicas e vasculares. Os pacientes podem ou não apresentar achados radiológicos típicos e o achado de monoclonalidade de IgM no LCR é patognômico. A biópsia confirma o diagnóstico. Este síndrome rara é subdiagnosticado, e quando corretamente tratada pode reverter o estado comatoso dos pacientes acometidos.

484

Ativação da via de inflamação em pacientes com mieloma sintomático prediz resposta a quimioterapia com talidomida

Pericole FV¹, Duarte AS¹, Roversi FM¹, Lazarini M¹, Saad ST¹

¹Hematology and Hemotherapy Center-University of Campinas/Hemocentro-Unicamp, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue

Inflamação é complexo proteico ativado por sinais de perigo, desencadeando vias de defesa imune inata, promovendo maturação de citocinas pro-inflamatórias, como interleucina (IL)1 β e IL18. Ativação do inflamação produz respostas adaptativas e limita produção de espécies reativas de oxigênio (ERO). Autofagia é uma via citoprotetora, sequestrando proteínas e organelas lesadas para degradação lisossomal. A via de inflamação é inibida pela autofagia e, por sua vez, ativação da inflamação gera ativação da autofagia. Atividade da inflamação tem papel crescente em várias doenças não infecciosas com inflamação crônica, como diabetes tipo 2 e câncer. Amostras diagnósticas de MO total de 31 pacientes com mieloma múltiplo (MM), 3 pacientes com leucemia plasmocitária (PCL) e 9 doadores saudáveis (HD), além de

dados clínicos. Havia 4 MM assintomáticos, 27 MM com sintomas clínicos e 3 PCL (2 primários e 1 secundário). De acordo com ISS, havia 6 pacientes ISS I, 9 pacientes ISS 2 e 16 pacientes ISS III. Posteriormente, classificamos 18 MM sintomáticos em grupos, de acordo com sua resposta terapêutica (RC/RPMB, RP, DE/PD). O tratamento oferecido foram triplets baseados em talidomida. Genes da via de inflamassoma (*NLRP3*, *PYCARD*, *CASP1*), citocinas pro-inflamatórias (*IL1B*, *IL18*) e autofagia (*BECN1*, *SQSTM1*, *MAP1LC3B*) foram analisados por q-PCR. A expressão gênica foi comparada entre subgrupos e correlacionada com dados clínicos. *CASP1* e *PYCARD* foi maior em MM, comparado com HD, sem diferenças entre ISS. Nos PCL, *CASP1* e *PYCARD* tiveram menor expressão quando comparado com MM, mas sem diferenças com HD. *NLRP3* não teve diferença de expressão. *IL18* foi menos expresso em PCL, comparado com MM e *IL1B* não foi diferente entre subgrupos. PCL e MM tiveram altas expressões de *BECN1*, comparados com HD e também houve diferença em grupos ISS. *SQSTM1* teve alta expressão no subgrupo PCL, comparado com HD e MM, mas MM não foi diferente de HD. *MAP1LC3B* foi similarmente expresso entre os subgrupos. Notamos correlação entre monócitos e a expressão de *CASP1* e *PYCARD*. Níveis de

beta-2-microglobulina tiveram correlação com *CASP1* e *NLRP3* e, finalmente, houve correlação entre leucócitos e neutrófilos e valores de *IL1B*, *BECN1* e *SQSTM1*. Quando subdividimos pacientes de acordo com resposta, RC/RPMB tiveram valores mais altos de *NLRP3* ao diagnóstico (teste t, $P=0.03$). A complexa intercomunicação das vias de inflamassoma e autofagia ainda não foi elucidada. Mieloma Múltiplo é uma neoplasia B com grande dependência do microambiente medular. Células inflamatórias, especialmente monócitos e macrófagos, são os principais ativadores da inflamassoma, reduzindo a produção de ERO no microambiente e protegendo as células do mieloma contra estresse oncogênico e senescência. A autofagia é essencial aos plasmócitos, devido altos níveis basais de proteínas intracelulares. Nossos resultados confirmam o papel essencial da via de autofagia no mieloma, com aumento de expressão em todas as fases de doença, mas mais acentuado em PCL. A sinalização de inflamassoma parece importante nas fases iniciais da doença, criando alças de retroalimentação entre o plasmócito neoplásico e monócitos inflamatórios. De modo interessante, a ativação da via inflamassoma em nosso estudo predisse uma melhor resposta a quimioterapia com talidomida e pode ser usado como um marcador ao diagnóstico de resposta.