



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

www.rbhh.org



Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular – HEMO 2015

São Paulo, 19-22 November 2015

HEMATOLOGIA

DOENÇAS DA SÉRIE VERMELHA: ANEMIAS CARENCIAIS E HEMOCROMATOSE

01. ANEMIAS EM MULHERES NA IDADE REPRODUTIVA: PREVALÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS

Melro PM, Carvalho MR, Tavares CFF

Universidade de Franca (UNIFRAN), Franca, SP, Brasil

As anemias hipocrômicas microcíticas são as formas morfológicas mais comuns entre as anemias no mundo. Dentre elas está a anemia por deficiência de ferro (ADF), resultante da longa falta do ferro no organismo. A ADF é a forma mais prevalente de anemia, afeta principalmente mulheres em idade reprodutiva, gestantes e crianças, tem uma alta incidência de morbimortalidade materna e infantil e pode ocorrer o comprometimento do desempenho cognitivo e do sistema imunológico, como diminuição da resistência às infecções ou infecções de repetição em intervalos curtos de tempo. As hemoglobinopatias afetam 7% da população mundial, e constituem um grupo de doenças hereditárias classificadas com base na presença de hemoglobinas estruturalmente anormais, como as hemoglobinas S, C, D e E, e/ou na deficiência de uma ou mais cadeias globínicas, como as talassemias. As mais comuns são o α -talassemias e β -talassemias. Devido à alta prevalência dessas anemias, suas consequências e a importância de um diagnóstico correto, o presente trabalho teve como objetivo estudar e diferenciar os principais fatores que contribuem para o desenvolvimento das anemias hipocrômicas microcíticas em mulheres na idade reprodutiva estudantes da Universidade de Franca (UNIFRAN) em Franca (SP). Participaram do estudo 150 mulheres entre 15 e 49 anos. Os fatores associados com a ADF foram a avaliação antropométrica, o estado nutricional e os fatores socioeconômicos. Os dados analisados foram: a) hematológico por meio do contador automático BC-3200 Mindray® e análise do esfregaço sanguíneo; b) status férrico pelos níveis de ferro sérico dosado pelo equipamento BS-200 Mindray®; c) análise das hemoglobinas por eletroforese em acetato de celulose em pH alcalino. Com base no critério recomendado pela OMS (Hb < 12,0 g/dL), verificou-se que 15 (10%) mulheres eram anêmicas. Dessas, seis (40%) eram portadoras de anemia por deficiência de ferro, seis (40%) não identificadas e três (20%) de hemoglobinopatias. Desses casos, um era traço-falciforme (HbAS) e dois β -talassêmicos. Foram observadas quatro (2,7%) participantes com deficiência de ferro sem anemia. Na identificação da ADF e da deficiência de ferro foi usado o cut off de 67 g/mL para ferro sérico. O fator mais relevante no desenvolvimento da anemia por deficiência de ferro foi o socioeconômico, com destaque para o nível básico de escolaridade dos pais e a baixa renda familiar. Assim, nosso trabalho mostra que anemia ainda é presente entre as mulheres na idade reprodutiva e é necessário analisar um conjunto de determinações, incluindo exame he-

matológico, status férrico e perfil eletroforético, para diagnóstico e tratamento corretos, além das possíveis ações na prevenção das anemias nutricionais e aconselhamento genético para portadores de hemoglobinopatias. **Palavras-chave:** Anemia por deficiência de ferro; Hemoglobinopatias; Fatores associados.

02. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE VIDA E DA PERCEPÇÃO DE SAÚDE EM PACIENTES COM HEMOCROMATOSE HEREDITÁRIA

Fonseca PFS^a, Cancado RD^b, Fonseca GHH^c, Gualandro SFM^d,
Naoum FA^e, Santos PCJL^a, Grupo Brasileiro de Hemocromatose
Hereditária

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

^b Departamento de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina, Santa Casa de Misericórdia, São Paulo, SP, Brasil

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

^d Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^e Academia de Ciência e Tecnologia, São José do Rio Preto, SP, Brasil

Introdução: A hemocromatose hereditária (HH) é uma doença autossômica recessiva caracterizada pelo aumento da absorção de ferro e, consequentemente, acúmulo no organismo e danos em vários órgãos. Mutações no gene HFE são as alterações mais comuns envolvidas na HH, especialmente os genótipos homocigoto para a p.C282Y ou a heterocigose composta p.C282Y/p.H63D. Pesquisas para avaliar a qualidade de vida (QV) e a percepção de saúde (PS) de pacientes são reconhecidas em estudos epidemiológicos e clínicos. Os questionários de QV permitem avaliar os efeitos de uma determinada doença sobre a vida de um indivíduo em diversos aspectos, tais como as disfunções decorrentes da doença, os problemas físicos, sociais e emocionais. Os testes genéticos podem causar algum tipo de impacto psicossocial na vida do paciente, o que tem sido discutido em vários estudos. **Objetivos:** Avaliar a qualidade de vida e a percepção da saúde dos pacientes com HH; aferir o conhecimento da HH pelos pacientes; identificar a forma do diagnóstico (especialidade do médico, sinais e sintomas iniciais, tempo decorrido, quantos médicos foram necessários até o diagnóstico, exames feitos, entre outros); e observar um possível efeito do resultado do teste genético na QV e na PS dos pacientes. **Metodologia:** Pacientes portadores de sobrecarga de ferro primária foram informados sobre o projeto e consultados quanto à vontade de participar. Após, se aceitassem, assinaram o termo de consentimento. Aplicaram-se questionários validados para a QV e PS dos pacientes. Além desses, outros questionários com dados gerais sobre o paciente e a doença. O primeiro questionário validado é o SF-36 (*The Medical Outcomes Study 36-item Short-Form Health survey*), que fornece oito dimensões da saúde e bem-estar: capacidade funcional, dor, percepção geral de saúde, vitalidade, aspectos físicos, sociais e emocionais e saúde mental. O outro questionário

é o PHQ9 (*Patient Health Questionnaire-9*), um instrumento de aplicação relativamente rápida, que permite avaliar a depressão. Foram incluídos os pacientes que fizeram o teste genético para HH, independentemente de valores bioquímicos atuais. Foram excluídos os pacientes que apresentaram sobrecarga secundária de ferro, segundo avaliação médica do histórico clínico, dos exames clínicos e laboratoriais. **Resultados:** Neste piloto, foram incluídos 30 pacientes com HH. As análises dos parâmetros dos questionários de QV e PS serão computadas posteriormente. Quanto às respostas sobre dados gerais da HH, os pacientes responderam que concordaram plenamente (43,3%) e concordaram (26,6%) que receberam informações suficientes sobre a doença, desde que foram diagnosticados. Para 30% dos participantes, a informação do tratamento da doença poderia ser mais efetiva e clara, e para 60% o melhor tipo de material informativo/educativo é a internet. Todos os participantes afirmaram que ficaram satisfeitos quanto à participação no presente estudo e consideraram útil o material distribuído sobre HH. **Conclusão:** Compreender quais informações os pacientes sentem necessidade, sua preferência por materiais informativos/educativos e aspectos da QV, da PS e dos testes genéticos é de extrema importância, a fim de contribuir para o cuidado ao paciente, inclusive nos processos de diagnóstico e do tratamento. **Palavras-chave:** Hemocromatose; Qualidade de vida; Percepção de saúde; Teste genético.

03. ANEMIAS CARENIAIS: UMA PROPOSTA DE FLUXOGRAMA PARA MANEJO NA ATENÇÃO BÁSICA

Júnior ALAI, Fernandes DVB, Chaves DG, Pontes TC, Botelho LFB

Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB, Brasil

Introdução: Anemia, definida como a redução dos níveis de hemoglobina no sangue, é o mais frequente sinal encontrado na prática clínica e sempre secundária a uma doença de base. As anemias carenciais figuram como as doenças mais frequentes do mundo – está em primeiro lugar a anemia ferropriva, seguida da anemia megaloblástica, por deficiência de vitamina B12 ou ácido fólico. Dada sua relevância clínica-epidemiológica, as anemias carenciais devem ser suspeitadas por todo profissional de saúde. A atenção básica tem obrigação de diagnosticar e conduzir adequadamente essas anemias, instituir uma reposição apropriada de nutrientes e investigar sua causa básica. Casos excepcionais podem ser encaminhados aos serviços secundários de hematologia. A necessidade de hemotransfusão de resgate por carência de ferro ou de vitaminas seria bastante reduzida se isso acontecesse de fato. Entretanto, muitos pacientes se apresentam ao ambulatório de hematologia com carências de longa evolução, francamente sintomáticas, sem uma propedêutica diagnóstica ou terapêutica adequadas, com ameaça à vida, o que justifica a hemotransfusão. **Objetivo:** Relatar casos de anemias carenciais conduzidos pela atenção básica que preenchiam critério para hemotransfusão ao se apresentar ao ambulatório de hematologia do Hospital Universitário Lauro Wanderley (HULW) e, com isso, propor um fluxograma para manejo de pacientes com tal patologia na atenção básica. **Material e métodos:** Série de casos desenvolvida no HULW, na cidade de João Pessoa (PB), que envolveu pacientes atendidos no serviço de hematologia. Foram registrados anamnese, exame físico e exames complementares que nortearam o diagnóstico dos pacientes que aceitaram participar da pesquisa. **Resultados:** Relataram-se quatro casos de anemias carenciais (duas por deficiência de ferro e duas por deficiência de vitamina B12), que evoluíram com critérios de gravidade para hemotransfusão. **Discussão:** A atenção básica no Brasil ainda apresenta grandes dificuldades no manejo das anemias carenciais, as quais podem ser justificadas pela baixa densidade de exames complementares disponíveis em muitas regiões, associada a uma baixa complexidade no cuidado. Sabe-se que a maioria dos médicos que atuam na atenção básica não apresenta especialização em saúde da família e tem pouca experiência clínica, quando, na verdade, esses profissionais deveriam estar preparados para um alto nível de complexidade diagnóstica, já que muitas vezes os exames que confirmam o tipo de anemia não estão disponíveis. Diante da dificuldade detectada, os autores deste estudo propõem um fluxograma diagnóstico e terapêutico das anemias carenciais, baseado em provas terapêuticas, diante da indisponibilidade dos exames confirmatórios do tipo de anemia. **Conclusão:** Os casos relatados revelam uma deficiência da atenção básica em diagnosticar e conduzir anemias carenciais. Esta série de casos alerta médicos e outros profissionais de saúde para a investigação das anemias carenciais na população de risco, que abrange uma parte significativa dos usuários do sistema de saúde em um país em desenvolvimento, bem como sugere um

fluxograma baseado em testes baratos e amplamente disponíveis na atenção básica.

04. DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE HEMOGLOBINA DOS RETICULÓCITOS E INTERVALO DE REFERÊNCIA

Takihi IY, Mourad SC, Aveiro JL, Sá J, Sandes AF, Goncalves MV, Chauffaille ML

Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Com o uso da citometria de fluxo fluorescente, atualmente os equipamentos hematológicos fazem, além da medição dos reticulócitos, o conteúdo de hemoglobina dos reticulócitos. O Ret-He no equipamento da Sysmex é derivado do RET-Y, determinado pela medição do valor médio dos histogramas de dispersão frontal dos reticulócitos, e equivale ao conteúdo de hemoglobina dos eritrócitos. Vários trabalhos publicados mostram a relevância clínica desse parâmetro na diferenciação de algumas anemias, como anemia de doença crônica, deficiência de ferro clássica e funcional. O Ret-He deve tornar-se um parâmetro de rotina padrão no diagnóstico e monitoramento de pacientes com anemia por deficiência de ferro, e seu uso implica a definição do intervalo de referência. **Objetivo:** Estimar o intervalo de referência para o Ret-He com o equipamento Sysmex em indivíduos de todas as idades, a partir das análises da rotina laboratorial. **Material e métodos:** Para o estabelecimento do intervalo de referência, foram incluídos os resultados de 1.012 análises consecutivas de Ret-He de maio a julho de 2015. As amostras são de indivíduos atendidos nas unidades do Grupo Fleury. Desses indivíduos, foram selecionadas as amostras com valores de hemograma, plaquetas e reticulócitos normais. Constituiu-se um subgrupo de pacientes, formado por 408 amostras que eram do sexo feminino entre 2 e 92 anos e 604 do masculino, entre 1 e 95 anos. As análises foram feitas em amostra de sangue colhido em tubo com EDTA. Para análise e cálculo do Ret-He foi usado o método da fluorocitometria de fluxo com laser semicondutor com os equipamentos da Sysmex 2100 e 5000. As rotinas foram monitoradas pelo uso diário de três níveis do controle E-check. Para a estimativa do intervalo de referência foi aplicado o procedimento preconizado pela National Commission for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), número C 28-A, com programa EP Evaluator RI (6). **Resultados:** A análise evidenciou que eles têm distribuição gaussiana, condicionada ao uso de estatística não paramétrica para a determinação de intervalo que incluíse os 95% dos dados centrais. Para o conjunto de todos os indivíduos testados, os limites inferior e superior foram, respectivamente, 29,1% (intervalo de confiança de 95%: 28,2 a 29,5) e 36,3 (intervalo de confiança de 95%: 35,9 a 36,5). **Discussão:** A análise de distribuição dos dados obtidos entre todos os indivíduos e subgrupos de pacientes por sexo e idade não evidenciou diferenças significativas, o que justifica o uso de um único intervalo de referência. **Conclusão:** Os resultados obtidos no equipamento Sysmex permitem o uso de um único intervalo de referência para o Ret-He.

05. AVALIAÇÃO DA SOBRECARGA DE FERRO EM PACIENTES SUBMETIDOS A MÚLTIPLAS TRANSFUSÕES SANGUÍNEAS NO CONJUNTO HOSPITALAR DE SOROCABA

Mandola MB^a, Ferri RNS^a, Santos EAD^b, Cliquet MG^a

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

^b Conjunto Hospitalar de Sorocaba (CHS), Sorocaba, SP, Brasil

O ferro é indispensável para a vida por participar de diversas reações bioquímicas essenciais. Os mecanismos básicos para a manutenção da sua homeostasia são absorção, captação, interiorização, transporte e excreção. No caso do transporte, a transferrina, proteína produzida pelo fígado, responsável por se ligar ao ferro e distribuí-lo por meio da circulação, é necessária para a manutenção da integridade do organismo, visto que o ferro livre em excesso é altamente tóxico. Já a excreção do ferro é feita de modo a evitar sobrecargas, que podem acontecer por anormalidades genéticas do metabolismo ou por hemossiderose secundária, caracterizada, principalmente, pela sobrecarga transfusional. Uma bolsa de sangue tem uma carga extra de ferro 100 a 200 vezes maior do que a absorção diária normal, configura um estado acumulativo crônico que satura os níveis de transferrina e deposita o excesso do metal em alguns órgãos-alvo. Como os mecanismos de excreção não são capazes de se adaptar à sobrecarga de ferro, a queilação apresenta-se como proposta terapêutica, com vistas

a diminuir futuras comorbidades. **Objetivos:** Avaliar a sobrecarga de ferro em pacientes submetidos a múltiplas transfusões. **Material e métodos:** O projeto foi feito com 40 adultos (18-95 anos), em tratamento hematológico, que fizeram seis ou mais transfusões de sangue no último ano. **Resultados:** O perfil geral da amostra caracteriza-se por pacientes predominantemente brancos, com média de 55 anos, 52,50% portadores de doença maligna, com 13 transfusões de concentrados de hemácia, em média. Os exames laboratoriais, independentemente da aplicação de terapia quelante, apresentaram resultados com níveis elevados de perfil de ferro. As mulheres mostraram tendência a ter maior índice de ferritina quando diagnosticadas com doenças malignas, como síndromes mielodisplásicas. A saturação de transferrina para todos os pacientes, independentemente de terem feito terapia quelante ou não, tende a aumentar em consonância com a quantidade de transfusões de sangue. O grupo de pacientes submetidos à terapia quelante, composto por 24 voluntários, tem média de 56 anos, transfundiu 14 bolsas em média e 75% receberam dose menor ou igual a 1.500 mg do quelante. Metade dos pacientes administrou a medicação por sete meses, e 75% tomaram a medicação por até 14 meses. De acordo com os dados estatísticos, a quantidade da dose administrada e o tempo de tratamento não influenciaram nos resultados dos exames laboratoriais. Em relação ao grupo em vigência da quelação, em geral há uma tendência ao acúmulo de ferro nos pacientes mesmo após a terapia, o que põe em discussão a adesão ao tratamento e a importância do ajuste adequado da dose. Esse acúmulo é grande na pós-quelação para ferro sérico e saturação de transferrina e para ferritina em mulheres. No caso dos homens, o pequeno aumento da ferritina permite sugerir que a pré e pós-quelação têm resultados iguais estatisticamente. **Conclusão:** Em geral, houve um aumento do perfil de ferro associado ao número de transfusões para a casuística total. Contudo, ao contrário da literatura, na análise comparativa do perfil bioquímico para pacientes ao longo da terapia por quelação, destaca-se um incremento dos valores laboratoriais referentes aos estoques de ferro.

06. ESTABILIDADE DOS ANALITOS DO HEMOGRAMA

Petruzzi JA, Andrade LP

Faculdades Metropolitanas Unidas (FMU), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O hemograma, exame de rotina, pode apresentar alterações decorrentes do tempo e da temperatura em que a amostra foi armazenada antes da análise. **Objetivo:** Avaliar as possíveis alterações nos parâmetros do hemograma em diferentes períodos e temperaturas de armazenamento. **Material e métodos:** Foram coletadas amostras de sangue de 16 indivíduos que não apresentavam sinais ou sintomas de doenças, selecionados de maneira aleatória, oito de cada sexo. As amostras obtidas foram armazenadas em temperatura ambiente e refrigerada nos períodos de até 1 hora após a coleta, 24 horas e 48 horas, para observar possíveis alterações nos parâmetros do hemograma. **Resultados:** Os parâmetros hematócrito, VCM, CHCM, RDW e neutrófilos mostraram alterações significativas em amostras mantidas em temperatura ambiente em todos os tempos de armazenamento (24 e 48 horas). Em relação às amostras refrigeradas, não foram observadas alterações em 24 e 48 horas de armazenamento. **Conclusão:** As amostras em temperatura ambiente devem ser analisadas antes de 24 horas, e as amostras em temperatura refrigerada podem ser analisadas em 48 horas. **Palavras-chave:** Contagem de células sanguíneas; Células sanguíneas; Temperatura ambiente; Refrigeração; Armazenamento de materiais.

07. CAMPANHA RECOMEÇAR: OLHAR DIFERENCIADO PARA SOBRECARGA DE FERRO

Queiroz AMM, Carvalho EM, Hanzen JB, Silva EDC, Cirino LML

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

Introdução: O ferro é uma substância fundamental para o organismo, pois é responsável por processos do metabolismo energético celular, tais como o transporte de oxigênio, a síntese de DNA e o transporte de elétrons.¹ Entretanto, é altamente reativo e danoso ao organismo quando se encontra livre. Dentre as situações clínicas decorrentes da sobrecarga de ferro, a hemossiderose secundária se destaca pelo fato de estar diretamente ligada às transfusões de sangue necessárias aos pacientes com doença falciforme. Na ausência de tratamento adequado, o ferro em excesso deposita-se gradativamente em vários órgãos ou tecidos, principal-

mente no fígado, baço, miocárdio, nas glândulas endócrinas e na medula óssea, e ocasiona lesão celular e tecidual, fibrose e insuficiência funcional.² A terapêutica com quelante de ferro se torna essencial para o controle da hemossiderose, pois é um medicamento composto por substâncias que têm a capacidade de se ligar ao ferro e permitir a liberação do excesso dessa substância, com o objetivo de prevenir e proteger o paciente de complicações decorrentes da doença.³ **Objetivo:** Avaliar a pessoa com sobrecarga de ferro quanto ao conhecimento dos malefícios do ferro no organismo. **Material e métodos:** Estudo quantitativo, desenvolvido em um hospital público estadual, especializado em hematologia, no Rio de Janeiro. A população deste estudo foi de pacientes matriculados na referida instituição em uso de quelante de ferro, acima de 16 anos, de ambos os sexos. A produção dos dados ocorreu de março a abril de 2015, por meio de formulário com roteiro para identificação dos órgãos que apresentam acúmulo de ferro, distribuído aos pacientes durante as consultas de enfermagem, médica e no setor de farmácia ambulatorial. De posse das respostas, os dados foram submetidos à análise de estatística simples. **Resultados:** Participaram do estudo 42 pessoas em uso de quelante de ferro: 37 (88,09%) com doença falciforme, três (7,14%) com síndrome mielodisplásica e duas (4,76%) com anemia aplásica. Quanto à faixa etária: sete (16,66%) até 20 anos; 20 (47,61%) com 21 a 40 anos; 12 (28,57%) com 41 a 60 anos e três (7,14%) com 61 a 80 anos. Quanto à resposta do formulário em relação ao órgão que apresenta depósito de ferro, a maioria assinalou mais de uma resposta: quatro (9,52%) paratireoide/tireoide; 22 (52,38%) coração; 35 (83,33%) fígado; 12 (28,57%) pâncreas; um (2,38%) ovário/testículos; um (2,38%) rins e quatro (9,52%) não responderam ao formulário. **Conclusão:** A atividade proporcionou uma avaliação do conhecimento dos participantes em relação aos malefícios do ferro em excesso no organismo. O fígado e o coração foram os órgãos mais assinalados pelos participantes em relação à sobrecarga de ferro e à toxicidade. Isso demonstra a necessidade de desenvolvimento constante de ferramentas educativas.

Referências:

1. Cançado RD, Jesus JA. A doença falciforme no Brasil. Rev Bras Hematol Hemoter. 2007;29(3):204-6.
2. Cançado RD. Sobrecarga e quelação de ferro na anemia falciforme. Rev Bras Hematol Hemoter. 2007;29(3):316-26.
3. Hamerschlak N. Manual de Hematologia. Programa Integrado de Hematologia e Transplante de Medula Óssea. Barueri: Manole, 2010.

08. IMPORTÂNCIA DO TRATAMENTO POR TRANSFUSÕES SANGUÍNEAS COM QUELAÇÃO DE FERRO EM PACIENTES COM -TALASSEMIA MAIOR

Pacheco G, Pacífico DM, Oliveira AP, Costa ACB, Araújo S, Alencar MS, Lima EBS, Moita LA, Silva FRP, Souza FM

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

Introdução: As hemoglobinopatias compreendem um grupo complexo de anemias hereditárias, na qual têm destaque as β -talassemias, que se constituem no comprometimento da síntese das cadeias β de globina, o que leva à redução da sua síntese (β^+) ou, nos casos mais graves, à ausência delas (β^0), e se desenvolve a chamada β -talassemia maior. A ausência ou redução de cadeia β também leva ao excesso de cadeias α com eritropoese ineficaz e gera hemólise. Entretanto, o organismo tenta compensar essa intensa anemia hemolítica por meio da hipertrofia e hiperplasia do tecido medular, na qual o mecanismo de compensação causa expansão dos ossos, principalmente na face e no crânio. Os pacientes com β -talassemia maior são completamente dependentes de transfusões sanguíneas periódicas. Isso provoca um aumento considerável de ferro no organismo, o que desenvolve a hemocromatose. **Objetivo:** Enfatizar a importância do tratamento por transfusões sanguíneas juntamente com a quelação de ferro para melhorar o quadro das deformidades ósseas e a deposição de ferro nos tecidos de pacientes com β -talassemia maior. **Material e métodos:** Foi feita uma revisão de artigos indexados nas bases PubMed, LILACS e MEDLINE, de 2005 a 2015. Para identificação dos trabalhos foram usados os descritores: "beta-thalassemia greater", "blood transfusions" e "bone changes". Dois investigadores independentes revisaram os conteúdos dos artigos para extração dos dados. **Resultados:** As hipertransfusões sanguíneas constituem a terapia padrão-ouro para pacientes com β -talassemia maior. No entanto, cada unidade de bolsa de sangue contém cerca de 200-250 mg de ferro que o organismo não consegue eliminar e que se acumulam no tecido cardíaco, no baço e no fígado. Essa deposição nos

tecidos faz com que o paciente desenvolva a hemocromatose transfusional, o maior problema das transfusões. Dessa forma, para minimizar o acúmulo desse metal no organismo, o tratamento consiste em um esquema transfusional seriado juntamente com quelantes de ferro. Em um estudo, observou-se que os pacientes tratados apenas com transfusões de sangue sobreviviam somente até a terceira década de vida devido às complicações pós-transfusional, em especial, a insuficiência cardíaca. Por outro lado, demonstrou-se que a terapia combinada com agentes quelantes (deferasirox e deferoxamina) juntamente com a transfusão sanguínea mostrou melhorias nos marcadores de sobrecarga de ferro em paciente portadores da doença. Isso mostra o quanto são importantes as transfusões sanguíneas combinadas com agentes quelantes de ferro. **Conclusão:** Esta pesquisa evidencia a importância do tratamento por transfusões sanguíneas com o uso de quelantes de ferro como adjuvantes. Assim haverá melhoria na qualidade de vida dos portadores da doença e a diminuição das deformidades ósseas, que se desenvolvem quando o paciente abandona o tratamento.

09. ANEMIA FERROPRIVA CORRELACIONADA COM PARASITÓSES EM INFANTES DE UMA ESCOLA MUNICIPAL EM CAMPINA GRANDE (PB)

Batista BCS^a, Melo KLR^b, Siqueira CD^c, Peixoto MDSRM^{c,d}, Virginio GA^c, Lima G^c, Oliveira SSS^c

^a Hemocentro da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil

^b Hemocentro Regional de Campina Grande (HRCG), Campina Grande, PB, Brasil

^c Faculdade Maurício de Nassau, Campina Grande, PB, Brasil

^d Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Campina Grande, PB, Brasil

A anemia ferropriva tem maior prevalência no mundo, é causada pelo déficit de alimentos nutricionais no organismo e afeta milhares de pessoas, principalmente lactantes, pré-escolares, adolescentes e gestantes. Essa patologia acarreta prejuízos em curto e longo prazo no desenvolvimento neuropsicomotor e na aprendizagem, além do comprometimento na resposta imunológica, fazendo com que as pessoas fiquem mais vulneráveis a infecções e infestações por microorganismos patogênicos. Diante dessas premissas, o trabalho teve como objetivo avaliar as alterações hematológicas e os níveis de ferro sérico e ferritina em crianças de 48 a 96 meses, matriculadas em uma escola municipal de Campina Grande (PB), com a finalidade de se identificar a quantidade de crianças com anemia ferropriva e correlacionar os casos confirmados de anemia com a presença ou não de parasitoses intestinais. A pesquisa foi iniciada após aprovação conforme exigências estabelecidas pela Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde que norteia a prática de pesquisa com seres humanos. A aprovação pode ser confirmada por meio da Plataforma Brasil, com indicador 0595.0.133.0009-09. Este estudo tratou-se de uma pesquisa de campo, feita em uma escola municipal de nível fundamental em Campina Grande (PB), com os alunos regularmente matriculados nos turnos manhã e tarde. Teve como estratégia para levantamento de dados a feitura do hemograma, dosagens de ferritina, ferro sérico e o coproparasitológico para diagnóstico de possíveis casos de anemia ferropriva e parasitoses na população estudada. Para feitura do hemograma e das dosagens bioquímicas, o sangue foi coletado por punção venosa periférica de manhã, após período de repouso e jejum de 8 a 10 horas, com a presença dos pais ou responsáveis. O sangue foi coletado em dois tubos e 1 mL de sangue foi colocado em tubo com anticoagulante EDTA, para feitura do hemograma completo, e 1 mL em tubo sem anticoagulante para a obtenção do soro, para a dosagem bioquímica de ferro sérico e ferritina. Foram também confeccionadas lâminas sanguíneas, coradas com Rosenfeld, para a análise da morfologia dos eritrócitos e contagem diferencial dos leucócitos. Para feitura do parasitológico de fezes, o material foi colhido na residência de cada aluno, onde foi informado aos pais/responsáveis das crianças o procedimento de coleta e preservação da material fecal. A população foi constituída de 59 crianças, das quais nove (15,25%) apresentaram-se anêmicas, com valor da hemoglobina abaixo de 11,5 g/dL. Dessas crianças anêmicas, quatro (6,78%) eram do sexo feminino e cinco (8,47%) do masculino. Das 59 crianças, 17 (28,81%) apresentaram níveis inferiores a 59 ng/mL de ferro sérico. No exame ferritina, apenas cinco (8,47%) crianças apresentaram valores abaixo de 14 pg. Foram analisados 59 parasitológicos; 21 (41,17%) crianças apresentavam-se positivas para alguma forma parasitária. Dessas 21 crianças infectadas, 14 (31,81%)

tinham formas evolutivas compatíveis com helmintos e 11 (25%), compatíveis com protozoários intestinais.

10. CARACTERIZAÇÃO DE PACIENTES COM FERRITINA SÉRICA ELEVADA NA CIDADE DE SINOP (MT)

Crestani AR, Marisco PC

Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT, Brasil

A ferritina, uma proteína relacionada aos estoques corporais de ferro, representa um importante marcador desse metal no organismo e, em correlação com índice de saturação de transferrina (IST), é útil para avaliar o grau de acúmulo de ferro na hemocromatose hereditária (HH). Além disso, a ferritina é uma proteína de fase aguda que, em casos de inflamação, apresenta 25% de elevação, no mínimo. Também se relata hiperferritinemia em casos de obesidade, diabetes mellitus tipo II e síndrome metabólica. O objetivo deste estudo foi caracterizar os pacientes com hiperferritinemia na cidade de Sinop (MT) e buscar correlacionar tal elevação com a sobrecarga de ferro ou outras prováveis condições. No banco de dados do Laboratório Municipal de Análises Clínicas (Lamac), foram analisados os exames laboratoriais de pacientes com resultados das determinações de ferritina, ferro, IST e marcadores inflamatórios, feitos em 2013. Posteriormente, os resultados foram estratificados conforme grau de hiperferritinemia. Em uma segunda etapa, foi aplicado um questionário a 12 pacientes com hiperferritinemia e analisados seus exames laboratoriais. Em 2013 foram feitas 289 avaliações de ferritina no Lamac, dentre as quais 42,36% eram de pacientes homens e 57,64% de mulheres. Dentre o total das solicitações de exames de ferritina, 36% (104) dos pacientes também fizeram a dosagem de ferro concomitante com ferritina; 19% (54) fizeram exames de ferritina, ferro e IST; 21% (60) fizeram ferritina e IST e, por fim, 57% (164) fizeram apenas exames de ferritina. Nos pacientes homens, 45% (55) apresentaram valores de ferritina sérica elevados, e nas mulheres, 44% (73). O teste de correlação linear simples de Pearson demonstrou baixas correlações estatísticas entre aumento de ferritina e de ferro, como também entre ferritina e IST, em ambos os sexos, o que sugere que a causa de hiperferritinemia nessa população não estava relacionada à sobrecarga de ferro. Em relação aos pacientes entrevistados, foi observado o desconhecimento sobre a causa da hiperferritinemia, bem como o diagnóstico frágil em relação à sobrecarga de ferro, mesmo em casos de HH (mutação heterozigótica H63D) ou em relação a outros marcadores inflamatórios. Concluiu-se que investigações mais aprofundadas são necessárias para elucidar as causas de hiperferritinemia nos pacientes na cidade de Sinop.

11. PANORAMA DA ANEMIA EM GRUPOS VULNERÁVEIS NA ÚLTIMA DÉCADA NO BRASIL

Qualio B, Marisco PC

Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT, Brasil

A anemia, uma das desordens orgânicas mais prevalentes em todo o mundo, é caracterizada por uma redução patológica da concentração de hemoglobina no sangue circulante. Tem como causa diversos mecanismos fisiopatológicos, tais como o câncer, as doenças inflamatórias, as doenças renais, a perda de sangue e as deficiências nutricionais (anemias carenciais). Os fatores envolvidos na etiologia das anemias carenciais envolvem contextos políticos, econômicos e sociais que colaboram para o agravamento do quadro carencial. Assim, apesar de atingir países ricos e pobres, em diferentes estratos de renda, são mais prevalentes nos grupos sociais mais vulneráveis, tais como as crianças (lactentes e pré-escolares), os adolescentes e as gestantes. Estudos feitos na última década mostram um aumento na prevalência das anemias entre todos os grupos de risco e em todos os países e classes sociais. Sabe-se que a anemia reduz a qualidade de vida e aumenta a vulnerabilidade a outras doenças e, por isso, deve ser dada uma atenção especial a essa patologia. O objetivo deste estudo foi verificar o panorama da anemia nos grupos de risco em todo o país na última década, com vistas a avaliar essa situação no Brasil segundo a literatura científica da área, e fazer um alerta sobre esse crescente problema de saúde pública. Este estudo observacional retrospectivo consistiu numa revisão, com artigos indexados na base de dados SciELO (Scientific Electronic Library Online), publicados em língua portuguesa e inglesa, entre janeiro de 2004 e junho de 2014. Foram consultados estudos referentes à anemia em crianças, mulheres em idade fértil e gestantes, por serem considerados grupos de risco para esse problema. Além

desse, foram incluídos dados sobre os idosos, porque o prejuízo à saúde que essa patologia causa nesse grupo é muito grande. A prevalência média nacional de anemia, incluindo-se todos os grupos levantados, foi de 38%. A prevalência média de anemia em crianças no Brasil foi de 43,3%. Regionalmente, a região Sul apresentou a maior prevalência de anemia em crianças, 48,9%. Entre as mulheres em idade reprodutiva, a prevalência média de anemia obtida no país foi de 23,1%. A maior prevalência em mulheres também foi observada na região Sul (25,2%). A prevalência média de anemia em gestantes, em nível nacional, foi de 26,6%. A análise regional demonstrou uma prevalência média de anemia em gestantes de 48,3% no Nordeste, o que representa um problema de saúde pública grave. Finalmente, nos idosos, a prevalência média de anemia observada foi de 10,6%. Concluiu-se que a alta média nacional de prevalência de anemia representa um problema moderado de saúde pública. Porém, na análise regional e entre os grupos de risco, as prevalências foram em sua maioria bem superiores à média nacional, o que revela a alarmante condição encontrada em nosso país em relação a esse distúrbio de saúde.

12. ANEMIA PERNICIOSA MIMETIZANDO PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA TROMBÓTICA

Datogüia TS^a, Nascimento VM^a, Peniche FF^a, Torres BC^a, Cerqueira-Neto AB^a, Nicolau JE^b, Boturão-Neto E^b

^a Santa Casa de Misericórdia de Santos, Santos, SP, Brasil

^b Universidade Metropolitana de Santos (UNIMES), Santos, SP, Brasil

Introdução: A deficiência de vitamina B12 (cobalamina) acarreta disfunção neurológica e anemia megaloblástica por déficit de síntese de DNA, geralmente acompanhada de plaquetopenia e neutropenia. Por outro lado, a presença de esquizócitos em pacientes com anemia e plaquetopenia é típica de anemia hemolítica microangiopática, tais como coagulação intravascular disseminada, púrpura trombocitopênica trombótica (PTT) e síndrome hemolítico-urêmica atípica. **Objetivo:** Relatar um caso raro de anemia perniciosa grave com apresentação atípica que mimetiza PTT. **Relato do caso:** LASS, masculino, 45 anos, com palidez cutâneo-mucosa, astenia e confusão mental. Exames iniciais revelaram eritrócitos: 1,6 milhão/mm³, hemoglobina: 4,6 g/dL, hematócrito: 14,6%, VCM: 91 fL, neutrófilos: 1.752/mm³, plaquetas: 27.000/mm³, DHL: 19.005 U/L, bilirrubina indireta: 2,44 mg/dL e reticulócitos: 2,9%. Presença de esquizócitos e eritroblastos à microscopia. Função renal e metabolismo de ferro sem alterações. Iniciada plasmáfereze terapêutica devido ao diagnóstico presuntivo de PTT. Posteriormente, com os resultados da ADAMTS13: 71%, vitamina B12: < 45 pg/mL e folato sérico: 10 ng/mL, a plasmáfereze terapêutica foi interrompida e iniciada reposição de vitamina B12 intramuscular. A positividade para o anticorpo anticélula parietal permitiu o diagnóstico de anemia perniciosa. O paciente evoluiu com melhora clínico-laboratorial. **Discussão:** A presença de esquizócitos em pacientes com anemia perniciosa é uma condição rara. São raros os casos descritos na literatura. Recentemente, Tadakamalla et al. (2011) e Routh & Koenig (2014) relataram a presença de esquizócitos em pacientes com anemia perniciosa que também foram submetidos à plasmáfereze terapêutica. Os critérios de diagnóstico da PTT são presença de anemia hemolítica microangiopática e plaquetopenia sem outras causas aparentes. Apesar de a apresentação clínica da PTT ser diversa, muitos casos evoluem com complicações graves e risco de óbito. Antes da plasmáfereze terapêutica, a sobrevida dos pacientes com PTT era de 10%. Rock et al. (1991) reportaram uma taxa de sobrevida de 78% com emprego da plasmáfereze terapêutica. A alta mortalidade sem o tratamento adequado gera urgência no início da terapêutica, antes mesmo da documentação da deficiência da ADAMTS13, o que pode resultar no tratamento de pacientes que não tenham PTT. Apesar de raros, os distúrbios hereditários da vitamina B12 (doença da cobalamina C) estão associados com ativação plaquetária, stress oxidativo, disfunção endotelial, aumento da expressão do fator tecidual e ativação da coagulação. Essas alterações bioquímicas podem causar microangiopatia trombótica. Talvez uma deficiência adquirida grave de vitamina B12 também cause alterações semelhantes às observadas nos distúrbios hereditários da cobalamina. Porém, ainda se faz necessário maior conhecimento das alterações bioquímicas nos casos extremos de deficiência grave adquirida da cobalamina. Em conclusão, descrevemos um caso de anemia perniciosa grave com apresentação atípica que mimetiza PTT e aproveitamos para ressaltar a importância de estarmos atentos à possibilidade de casos raros de deficiência de vitamina B12 com presença de esquizócitos. É imperativa a comprovação de deficiência da ADAMTS13 para o diagnóstico definitivo de PTT.

13. FERRITINA ELEVADA E FATORES ASSOCIADOS: ANÁLISE DE UM SERVIÇO DE HEMATOLOGIA

Soares TCM, Carvalho SFG, Lula JF, Teles LF, Cangussu LML

Universidade Estadual de Montes Claros (UNIMONTES), Montes Claros, MG, Brasil

Objetivo: Analisar os fatores associados aos níveis elevados de ferritina em 30 indivíduos de um serviço especializado em hematologia. **Resultados:** Analisamos 30 indivíduos com ferritina elevada, 28 homens e apenas duas mulheres, com uma média de ferritina de 932 µg/L, variação de 332 a 1564 µg/L. A pesquisa genética para hemocromatose apresentou-se negativa em 18 indivíduos; nove tinham a forma heterozigótica e dois, a forma homozigótica. O exame de ressonância magnética para avaliar a sobrecarga hepática de ferro evidenciou 18 indivíduos com sobrecarga leve de ferro, seis com sobrecarga moderada e dois com sobrecarga acentuada. Em relação às hemoglobinopatias, um indivíduo apresentava anemia associada à β-talassemia. Dos indivíduos analisados, somente seis apresentavam etilismo crônico e em torno de 70% tinham valores normais de triglicérides, colesterol e glicose. A avaliação do perfil hepático demonstrou 60% dos indivíduos com gama glutamil transferase, TGP e proteína C-reativa de alta sensibilidade elevadas e marcadores de hepatites B e C não reagentes. **Discussão:** Observamos em nosso serviço de hematologia que as solicitações de médicos clínicos para avaliação especializada de indivíduos com dosagens de ferritina elevadas têm se tornado cada dia mais frequentes, o que nos motivou a esta pesquisa. A hemocromatose é uma condição clínico-laboratorial caracterizada pelos níveis elevados de ferritina e depósito anormal de ferro em diversos órgãos, como fígado, medula óssea, pâncreas, coração, glândulas e sistema nervoso. Existem duas formas de hemocromatose: a forma hereditária, que é causada por diversas mutações, as mais frequentes a C282Y e a H63D, e a forma adquirida, que pode ser secundária a hemoglobinopatias, alcoolismo, infecção pelo vírus da hepatite C, hepatite não alcoólica e doença hepática crônica. **Conclusão:** Apesar de se tratar de um número pequeno de indivíduos com ferritina elevada, observa-se neste estudo que em torno de 60% desses indivíduos apresentaram alteração hepática associada a um marcador inflamatório, condizente com os achados da literatura.

14. HIGH DOSE (5 MG) DAILY FOLIC ACID SUPPLEMENTATION IN HEALTHY BRAZILIAN VOLUNTEERS IS ASSOCIATED WITH REDUCTION OF SERUM IRON AND INCREASED TOTAL IRON BINDING CAPACITY

Paniz C^{a,b}, Bertinato JF^a, Lucena MR^c, Carli E^d, Amorim PMS^a, Roehrs M^b, Carvalho JAM^b, Figueiredo MS^c, Colli C^d, Shinohara EMG^a

^a Department of Clinical and Toxicological Analyses, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brazil

^c Hematology and Blood Transfusion Division, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil

^d Department of Food Science and Experimental Nutrition, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

Background: Individuals with pathological or physiological increased cell duplication, including pregnant women and patients with hemolytic anemia, need increased amounts of folate. In Brazil, some patients with hemolytic anemia, such as hereditary spherocytosis (HS), have been receiving 5 mg/day supplemental folic acid (FA), the synthetic form of folate, in addition to being exposed to mandatory fortification with 150 µg FA per 100 g of corn and wheat flours. The effects of FA intake higher than the defined tolerable upper intake of 1 mg/day on iron status parameters are poorly understood. **Objective:** The aims of this study were to verify the effects of an intervention with 5 mg/day FA on iron status parameters in healthy Brazilian volunteers and to check the frequencies of anemia at baseline and after the intervention. **Material and methods:** Fifteen healthy male and 15 healthy female subjects were given 5 mg/day FA for 90 days. Blood was collected at baseline, day 45, and day 90 for blood count, including reticulocytes, C-reactive protein, and lactate dehydrogenase (LDH). Folate and vitamin B12 were de-

terminated by a microbiological method. Iron and TIBC were determined by spectrophotometric assay, ferritin by electrochemiluminescence, and transferrin saturation was calculated. **Results:** All blood count parameters were unaffected by FA intervention, whereas LDH activity showed a slight increase after 90 days compared with baseline and 45 day measurements ($p < 0.001$). Serum folate levels increased over four-fold after 45 days of FA intervention and kept similar after 90 days. The median of serum folate levels was 17 nmol/L (12.0-29.8) at baseline, increasing to 80 nmol/L (interquartile interval [II]: 53.0-108.8) and 79.7 nmol/L (II: 61.9-115.7) after 45 and 90 days of intervention, respectively ($p < 0.001$). Similar increase ratios were observed to whole blood folate levels ($p < 0.001$). Regarding iron status, intervention with 5 mg/day FA in healthy people was associated with lower serum iron levels at 45 days when compared with 90 days of intervention (respectively, 88.5 $\mu\text{g/dL}$ [II: 72.0-117.5] and 108.0 $\mu\text{g/dL}$ [II: 93.50-122.3]) ($p = 0.025$); and increasing of TIBC at 45 and 90 days when compared with the baseline ($p < 0.001$). No difference was observed in serum ferritin and transferrin saturation values after the intervention. Only two (6.7%) subjects, males, presented anemia at baseline. The first presented Hgb of 12.2 g/dL and serum folate of 11.8 nmol/L; the second presented Hgb of 12.6 g/dL and serum folate of 15.0 nmol/L at baseline. Both presented normal iron status. After 45 days using FA, Hgb increased to 14.7 and 14.6, in the first and second subject, respectively, continuing increase to 15.0 and 15.9, respectively, after 90 days of FA intervention. As expected, in these two subjects, serum folate levels increased similarly to the whole group in general during the intervention time. **Conclusion:** Intervention with 5 mg/day of FA in healthy people was associated with alteration of iron status parameters. It appears that higher amounts of FA allow higher cell duplication; in this situation higher amounts of iron could be necessary, reducing circulating levels. Although only two subjects presented anemia, they became non-anemic after 45 days of daily use of 5 mg FA. **Funding:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) 2012/12912-1, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) 4826412012-6, and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) 401586/2014-6.

15. MTHFR C.677C>T POLYMORPHISM WAS NOT ASSOCIATED WITH CHANGES IN SERUM AND WHOLE BLOOD FOLATE OF BRAZILIAN HEALTHY VOLUNTEERS SUBMITTED TO INTERVENTION WITH 5 MG OF FOLIC ACID DAILY

Lucena MR^a, Paniz C^b, Bertinato JF^b, Amorim PMS^b, Gomes GW^b, Figueiredo MS^a, Shinohara EMG^b

^a Hematology and Blood Transfusion Division, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, Brazil

^b Department of Clinical and Toxicological Analyses, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

Background: Folic acid (FA) plays important functions in cells, such as nucleic acids synthesis and methylation reactions. Several important enzymes participate in folate metabolism, such as methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). This enzyme is essential to catalyze the reduction of 5,10-methylene-tetrahydrofolate (5,10-methylene-THF) to 5-methyl-THF, and present a crucial role in the regulation of available folate for re-methylation of homocysteine. In Brazil, the vast majority of FA supplements are presented in the dosage of 5 mg, the most used in therapeutics. As the upper limit intake to FA is 1 mg/day, people receiving 5 mg/day are exposed to higher amounts. The effects of MTHFR c. 677C>T genotypes on folate levels in healthy individuals who are receiving high amounts of FA supplements (5 mg/day) are unknown. **Objective:** The aim of the study was to evaluate the effect of MTHFR c. 677C>T genotypes on folate levels (serum and whole blood) in healthy people, who have used 5 mg/day of FA for 90 days. **Methodology:** Fifteen healthy male and 15 healthy female subjects were given 5 mg/day FA for 90 days. Blood collection was performed at baseline, day 45, and day 90 after the intervention. Blood count was carried out. Levels of serum and whole blood folate were determined by microbiological assays. Ratios of folate levels (serum and whole blood) at day 90 compared to baseline (t_{90}/t_0) and at day 45 compared to baseline (t_{45}/t_0) were calculated. Genomic DNA was obtained from whole blood using a commercial kit. The genotypes for MTHFR c.677C>T were determined by PCR-RFLP. **Results:** The folate levels (serum and whole blood) were higher at 45 and 90 days of intervention with 5 mg/day of FA comparing with base-

line ($p < 0.001$ for both). No association was found between genotypes for MTHFR c.677C>T and folate levels (serum and whole blood) ($p > 0.05$). The t_{90}/t_0 and t_{45}/t_0 ratios of serum and whole blood folate levels were similar among the study subjects regardless genotypes for MTHFR c.677C>T. **Conclusions:** Intervention with 5 mg/day of FA in healthy people was associated with around four-fold increase in serum and whole blood folate. However, the MTHFR c.677C>T polymorphism was not associated with serum and whole blood folate levels, nor with the increase in values of these parameters after the intervention. **Funding:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) 2012/12912-1 and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) 4826412012-6.

DOENÇAS DA SÉRIE VERMELHA: ANEMIAS HEMOLÍTICAS

16. CARACTERIZAÇÃO DOS PACIENTES COM HEMOGLOBINOPATIAS DO HEMOCENTRO REGIONAL DE JUIZ DE FORA

Paula NCS^a, Mendes PS^b, Thees RM^a, Mendes RS^a

^a Hemocentro Regional de Juiz de Fora, Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (HEMOMINAS), Juiz de Fora, MG, Brasil

^b Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, MG, Brasil

A Fundação HEMOMINAS é referência para o diagnóstico e tratamento de pacientes com hemoglobinopatias (doença genética do sangue com alteração na hemoglobina) no Estado de Minas Gerais. Em decorrência de tais patologias serem de evolução crônica e das sequelas físicas que podem acarretar, o atendimento requer uma equipe multiprofissional. Estudos que viabilizem o tratamento das hemoglobinopatias são importantes de maneira que possibilitem ao paciente uma melhor qualidade de vida e, sobretudo, a garantia de sua integridade física e emocional. Com este trabalho pretende-se quantificar o número de pacientes com hemoglobinopatias atendidos no Hemocentro Regional de Juiz de Fora, desde sua criação até junho de 2015, com exceção daqueles que se submeteram ao exame de triagem neonatal. Objetivou-se quantificar/confirmar pacientes cadastrados no Hemocentro de Juiz de Fora com diagnóstico de hemoglobinopatias quanto a idade, sexo, cidade onde mora e diagnóstico. Fez-se levantamento de prontuários de pacientes cadastrados com hemoglobinopatias, com exceção daqueles que foram identificados pelo programa do Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (NUPAD) (teste de triagem neonatal) no Hemocentro de Juiz de Fora. Após, usou-se o programa Excel para elaboração das referidas tabelas. Esta pesquisa contou com 328 pacientes, entre 2 anos e 71 anos, esse com diagnóstico HbCC. Em relação à faixa etária predominante, observou-se que a categoria 21 a 30 anos mostrou uma representação de 31,7%, e em segundo lugar a categoria 31 a 40, com 25%. Identificamos pacientes que não fizeram o teste do pezinho, de 1 a 17 anos, que perfizeram 29 pacientes, 31% moradores de Juiz de Fora. Grande parte dos pacientes são do sexo feminino, 54,3%. O maior número de casos se dá em relação à hemoglobinopatia SS (64,7%), seguido de 24,7% de hemoglobinopatia SC, Sbt (6%), CC (4%) e Hb rara 0,6%. Em relação ao local de residência, temos Juiz de Fora com 37,8% dos casos, Cataguases 4,5%, Muriaé 3,6% e Santos Dumont 3,3%. As hemoglobinopatias são de fato uma questão de relevância em saúde pública, devendo receber atenção significativa por parte daqueles que pensam, programam, investem e executam as políticas de saúde no país. O diagnóstico precoce por meio da triagem neonatal tem como objetivo alterar o curso evolutivo da doença, reduzir os óbitos, aumentar o tempo de vida e melhorar a qualidade de vida do sujeito. Pacientes e parentes necessitam receber informações precisas sobre a complexidade da doença, de modo a contribuir e se envolver no tratamento. Tal pesquisa torna-se relevante, pois a partir dos dados coletados o profissional de saúde pode, além de sua contribuição científica, dispor também de meios para avaliação de sua atuação, bem como alterar/propor novas formas de ação profissional, com vistas à melhoria na qualidade de vida dos pacientes. Assim, o profissional de saúde precisa conhecer as características da população que assiste, bem como identificar aquelas cidades onde a cobertura do teste do pezinho não atinge 100% das crianças nascidas e implantar ações para mudar esse quadro.

17. DOENÇA FALCIFORME E ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO: A IMPORTÂNCIA DO TRABALHO INTERDISCIPLINAR

Ferreira AA, Paula NCS, Thees RM, Mendes RS

Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (HEMOMINAS), Juiz de Fora, MG, Brasil

Introdução: A doença falciforme é hereditária e de alta prevalência no Brasil. Caracteriza-se por eventos agudos e complicações crônicas, como o acidente vascular encefálico (AVE), que causam grande impacto no paciente e na família. **Objetivo:** Mostrar a importância do trabalho interdisciplinar para propiciar a integralidade do cuidado. **Relato de caso:** L.A., sexo masculino, 21 anos, residente com a mãe, padrasto e três irmãs, com diagnóstico de anemia falciforme feito aos 14 meses. Em 2011, devido à cefaleia crônica, foi submetido à tomografia de crânio que evidenciou várias lesões isquêmicas antigas. O adolescente apresentava dificuldade de reter novas informações e baixo rendimento escolar. Diante de uma lesão arterial oclusiva diagnosticada na angiorrisonância encefálica, o esquema de transfusão crônica foi iniciado e, meses mais tarde, ocorreu o primeiro AVE clinicamente evidente, com afasia discreta e paresia de membro superior direito, tratada com fisioterapia motora. Após esse episódio, notou-se que L.A. e sua família ficaram ainda mais vulneráveis, tanto em aspectos sociais quanto emocionais. Percebiam-se no paciente fala/pensamento descontínuos, com repetição de temas como a falta de ocupação, o desejo de morrer e de ser “normal”. Em três anos ocorreram mais cinco eventos cerebrais isquêmicos. O déficit cognitivo se agravou, afetou negativamente a escolarização e a inserção em programas sociais. O paciente passou a apresentar crises algícas frequentes, que até então não ocorriam, e crises convulsivas, e foi medicado com hidroxiureia e anti-convulsivantes em doses altas. Em 2015, um novo AVE causou paresia do membro inferior direito e provocou alteração da marcha. A afasia progrediu e ele se tornou incapaz de elaborar frases complexas. Muitas vezes era necessário que os parentes interpretassem suas palavras. Nota-se a dificuldade de L.A. de aceitar que sua doença não é transitória, manifesta-se, com o tempo, naquilo que pode ser traduzido por cansaço, desânimo e vontade de parar de seguir as orientações recebidas. Existe o desejo de continuar vivendo, L.A não deseja é continuar vivendo com as restrições e os sofrimentos advindos da doença. A partir da rede socioassistencial, buscou-se a inserção do jovem em atividade de integração à vida comunitária para pessoas com necessidades especiais. Buscou-se também responder à demanda por acesso à rede de serviços para complementação do tratamento. **Conclusão:** Observa-se a importância do trabalho em equipe numa perspectiva interdisciplinar com objetivo de atender o paciente e a família. A compreensão de que nenhuma profissão detém o conhecimento necessário para responder às necessidades de saúde em toda sua complexidade é evidência para a legitimação do trabalho interdisciplinar. Portanto, no acompanhamento às pessoas com doença falciforme, faz-se mister o trabalho das equipes multiprofissionais, sob a primazia da interdisciplinaridade, na busca pela efetivação da integralidade do cuidado.

Referência:

Gomes RS, Guizardi FL, Pinheiro R. A orquestração do trabalho em saúde: um debate sobre a fragmentação das equipes. In: Pinheiro R, Mattos RA (orgs.). Construção social da demanda: direito à saúde, trabalho em equipe, participação e espaços públicos. Rio de Janeiro: CEPESC/UERJ: ABRASCO; 2005. p.105-116.

18. CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DOS PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME NA MACRORREGIÃO DE DIVINÓPOLIS (MG)

Pinheiro MB^a, Araujo AM^a, Pimenta CT^a, Bezerra MLPK^a, Santana PGDS^a, Junior SPB^a, Neto VM^a, Dias JS^b, Lopes AF^b, Rios DRA^a

^a Universidade Federal de São João Del Rei (UFSJ), Divinópolis, MG, Brasil

^b Hemonúcleo Regional de Divinópolis, Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (HEMOMINAS), Divinópolis, MG, Brasil

A anemia falciforme (AF) é uma doença hereditária autossômica recessiva decorrente da homozigose para a hemoglobina S (HbS). Caracteriza-se pela presença de anemia hemolítica crônica e episódios de dor recorrente, com oclusão vascular e lesão de tecidos. Uma opção terapêutica atualmente disponível para o tratamento é a hidroxiureia (HU), que é capaz de

umentar os níveis de hemoglobina fetal e hemoglobina e o volume corpuscular médio e reduzir os níveis de reticulócitos. O presente estudo analisou as características clínicas e laboratoriais dos pacientes com AF da macrorregião de Divinópolis (MG). Foram analisados dados de todos os prontuários de pacientes com AF acompanhados pelo HEMOMINAS, obtidos a partir da aplicação de uma ficha clínica com variáveis clínicas e laboratoriais. Foram analisados os dados de 50 portadores de AF. De acordo com os dados obtidos, a maioria dos pacientes é do sexo feminino, predominantemente entre 20 e 29 anos. Os eventos mais cometidos nessa população foram infecções, transfusões, colecistectomia, esplenectomia e hipertensão arterial sistêmica. A causa mais frequente de internações foi a ocorrência de crises algícas. Em sua maioria, os pacientes apresentam algum grau de anemia, com valores de hemoglobina e hematócrito reduzidos, com aumento do percentual de hemoglobina fetal. Na comparação dos indivíduos que fazem ou não o uso de HU, nenhuma das variáveis clínicas analisadas se mostrou estatisticamente relevante. Dentre as variáveis laboratoriais, os níveis de hemoglobina e hematócrito apresentaram-se aumentados no grupo de pacientes que usam HU (9,4 mg/dL e 28%) quando comparados com os pacientes que não usam o medicamento (8,2 mg/dL e 24%) ($p = 0,001$ e $p = 0,005$, respectivamente), o que demonstra a efetividade da HU. A falta de diferença significativa nos demais parâmetros avaliados (clínicos e laboratoriais) pode ser devida ao fato de o grupo que usa HU ser composto por pacientes portadores de uma doença clinicamente mais grave. Ao equivaler-se ao grupo dos pacientes que não usam tal medicamento, especula-se que por si só já seja uma demonstração do benefício do uso da HU. Assim, conclui-se que a AF necessita de tratamento e acompanhamento por equipe multiprofissional. Uma opção terapêutica disponível é HU, que reduz as manifestações clínicas e melhora os parâmetros laboratoriais. No presente estudo, fica evidente o aumento nos níveis de hemoglobina e hematócrito nos pacientes em uso de HU e a igualdade entre os demais parâmetros laboratoriais e clínicos entre os pacientes que usam e não usam HU, demonstrando a sua efetividade. **Financiamento:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

19. NÍVEIS DE HEMOGLOBINA FETAL E SUA RELAÇÃO COM CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAS DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Pinheiro MB^a, Neto VM^a, Dias JS^b, Lopes AF^b, Rios DRA^a

^a Universidade Federal de São João Del Rei (UFSJ), Divinópolis, MG, Brasil

^b Hemonúcleo Regional de Divinópolis, Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (HEMOMINAS), Divinópolis, MG, Brasil

Introdução: A anemia falciforme (AF) é uma hemoglobinopatia caracterizada pela presença em homozigose de uma variante da hemoglobina, chamada hemoglobina S (HbS). A HbS apresenta uma mutação na posição seis da cadeia de globina beta, que consiste na substituição do ácido glutâmico pela valina. Pacientes com AF apresentam quadro clínico heterogêneo. Dentre os fatores relacionados a essa diversidade pode ser citada a variação dos níveis de hemoglobina fetal (HbF). A HbF modula o fenótipo dos pacientes com AF por meio da inibição da polimerização da desoxi-hemoglobina S, evento principal na patogenia da AF. **Objetivo:** Analisar as características clínicas e laboratoriais dos pacientes portadores de AF de acordo com os níveis de HbF. **Material e métodos:** Estudo transversal retrospectivo com informações extraídas de prontuários do Hemonúcleo Regional de Divinópolis da Fundação HEMOMINAS. Foram incluídos 30 pacientes com diagnóstico de AF, que tinham dosagem sérica de HbF e não usavam hidroxiureia. Os pacientes foram divididos de acordo com os valores de HbF. Fez-se uma primeira análise com os pacientes divididos em três grupos: HbF $\leq 5\%$ ($n = 5$), HbF $> 5\%$ e $\leq 10\%$ ($n = 9$) e HbF $> 10\%$ ($n = 16$). A segunda análise foi composta por dois grupos: aqueles com HbF $\leq 10\%$ ($n = 14$) e HbF $> 10\%$ ($n = 16$). Foram avaliadas complicações clínicas e variáveis hematológicas (Hb, hematócrito, leucócitos, neutrófilos, plaquetas, ferro sérico, capacidade total de ligação à transferrina, ferritina e desidrogenase lática). **Resultados:** Quando comparadas as complicações clínicas entre os pacientes com AF divididos em três grupos, a insuficiência renal crônica (IRC) foi mais prevalente em pacientes com HbF $\leq 5\%$ ($p = 0,026$). Não houve diferença significativa na comparação entre os três diferentes níveis de HbF e as variáveis hematológicas. Não foi observada diferença significativa entre os grupos que apresentam HbF $\leq 10\%$ e HbF $> 10\%$ quanto à presença de complicações clínicas. Porém, em relação às variáveis hematológicas, foi observada dife-

rença entre hematócrito e plaquetas, maiores no grupo que apresentava HbF > 10% ($p = 0,039$ e $p = 0,018$, respectivamente) e uma tendência a níveis aumentados de Hb também nesse grupo ($p = 0,057$). **Discussão:** Quanto às complicações clínicas, foi encontrada apenas uma relação entre os níveis de HbF e a ocorrência de IRC. Isso pode estar relacionado à porcentagem de HbF em cada célula. A concentração de HbF ou o número de células com HbF não é capaz de mensurar a porcentagem de HbF em cada célula. Assim, pacientes com alta concentração de HbF podem apresentar manifestações clínicas graves porque a HbF não é uniformemente distribuída entre as células. Com isso, algumas células podem ter HbF em concentração insuficiente para inibir a polimerização. Também foi encontrada uma relação entre os níveis de HbF e dosagem de hemoglobina, hematócrito e plaquetas nos pacientes com HbF > 10%. O aumento de hemoglobina e hematócrito provavelmente deve ser devido ao aumento da HbF, uma vez que tais parâmetros são correlacionados e indicam um quadro de anemia menos grave. **Conclusão:** A HbF é um fator importante para a avaliação do prognóstico de pacientes com AF, mas não deve ser a única ferramenta para prever o quadro clínico e laboratorial desses pacientes. **Financiamento:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

20. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE VIDA DE PACIENTES PORTADORES DE DOENÇA FALCIFORME

Pinheiro MB^a, Pimenta CT^a, Trindade GC^a, Barbosa AR^a, Souza DMR^b, Lopes AF^b, Rios DRA^a

^a Universidade Federal de São João Del Rei (UFSJ), Divinópolis, MG, Brasil

^b Hemonúcleo Regional de Divinópolis, Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (HEMOMINAS), Divinópolis, MG, Brasil

Doença falciforme (DF) é um termo genérico, que engloba um grupo de anemias hemolíticas hereditárias caracterizadas pela presença de hemoglobina S (HbS). A HbS é o resultado de uma mutação pontual no códon do gene da globina beta que conduz a uma substituição de ácido glutâmico por valina na sexta posição da cadeia polipeptídica. O indivíduo pode ser homocigoto (SS) ou heterocigoto (AS) para a presença de HbS. Além disso, o gene da HbS pode combinar-se com outras anormalidades hereditárias das hemoglobinas, como hemoglobina C e β -talassemia, que gera combinações que também são patológicas. O quadro clínico pode variar desde quase assintomático a formas graves. Uma opção terapêutica é o uso do medicamento hidroxiureia (HU), que é capaz de promover uma elevação no nível de hemoglobina fetal. A DF é uma doença crônica, cujo tratamento é longo. Portanto, a qualidade de vida (QV) surge como um desafio para os pacientes, parentes e profissionais de saúde. O presente estudo analisou a QV de 31 pacientes portadores de DF acompanhados no Hemonúcleo Regional de Divinópolis da Fundação HEMOMINAS. Os dados foram coletados por meio do questionário validado de avaliação de Qualidade de Vida Abreviado da Organização Mundial de Saúde (WHOQOL-bref) autoaplicado. De acordo com os dados obtidos, constatou-se que a maioria dos pacientes era do sexo masculino e solteiro, com 18 a 54 anos. A grande maioria dos entrevistados (87%) tem fenótipo HbSS, e apenas 39% fazem uso de HU. No que se refere à QV, 77,3% dos pacientes consideram ter uma boa QV e 58% têm um bom nível de satisfação com a saúde. Além disso, o escore de QV geral para os pacientes estudados foi de 70,4, com o uso de uma escala que varia de 0, o pior dos índices, a 100, o melhor. Ao se analisarem os quatro domínios que compõem o WHOQOL-bref foram encontrados os seguintes escores médios: domínio físico 58,5; psicológico 69,8; relações sociais 74,7; e meio ambiente 56,1. O estudo mostrou uma correlação positiva entre domínio físico e grau de escolaridade dos pacientes e que pessoas com maior grau de escolaridade cuidam melhor da saúde. Ao comparar o grupo de pacientes que usam HU com os pacientes que não fazem uso desse medicamento, não foram encontradas diferenças significativas na QV geral. Porém, foi encontrada uma correlação positiva entre domínio físico e uso da HU, o que pode estar associado a uma melhoria do quadro clínico dos pacientes que usam esse medicamento. A ausência de diferença significativa na QV geral entre os pacientes que usam e não usam HU demonstra que o tratamento é eficaz, uma vez que os pacientes que usam o medicamento são portadores de um quadro clínico e laboratorial mais grave. Dessa forma, pode-se inferir que, nos pacientes estudados, a HU foi capaz de equiparar as variáveis clínicas e laboratoriais, bem como a QV, dos pacientes que usam o medicamento com aqueles que não usam. Concluímos que

nos pacientes estudados a HU se mostrou um medicamento efetivo. Além disso, foi possível observar que apesar da necessidade de mais políticas públicas específicas para melhoria da QV de pacientes com doenças crônicas, os pacientes estudados têm uma QV bastante satisfatória. O domínio relações sociais foi o que mais impactou positivamente na QV. **Financiamento:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

21. VALIDAÇÃO DA TÉCNICA DE PIROSSEQUENCIAMENTO PARA CLASSIFICAÇÃO DAS HEMOGLOBINOPATIAS

Piza LCG^a, Alencar CS^b, Martino CC^a, Junior NG^a, Sabino EC^a

^a Instituto de Medicina Tropical, São Paulo, SP, Brasil

^b Laboratório de Medicina Laboratorial, Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Os distúrbios relacionados à hemoglobina (Hb) são denominados hemoglobinopatias e podem ser classificados em dois grupos: doenças falciformes e talassemias. As doenças falciformes são um grupo de doenças hematólogicas hereditárias causadas por variações estruturais no gene da cadeia α , β ou γ da globina, e surgem devido a polimorfismos de único nucleotídeo (SNP) ou mutações circunstanciais que caracterizam a presença da hemoglobina S (HbS). As talassemias são causadas pela diminuição da síntese da cadeia α ou cadeia β da globina. As β -talassemias são divididas conforme o grau da mutação: ausência total da produção da cadeia β (β_0) ou produção parcial da cadeia β (β). Essa também pode ser classificada de acordo com a gravidade clínica: β -talassemia maior, com presença de duas mutações β_0 , e β -talassemia intermediária, que resulta de duas mutações β_0 ou uma combinação β_0/β . O diagnóstico das hemoglobinopatias é feito por eletroforese de hemoglobina. Mas muitas vezes é necessária a confirmação por testes moleculares. A técnica mais usada é a PCR convencional seguida por digestão enzimática (RFLP). Essa técnica é manual e difícil de ser implantada em larga escala. Recentemente, foi colocada no mercado uma nova tecnologia de sequenciamento (pirossequenciamento) para detecção localizada de mutações a um custo semelhante à técnica de PCR e com a capacidade de testar um grande número de amostras de forma semiautomatizada. O objetivo deste estudo foi padronizar a técnica de pirossequenciamento para a classificação das hemoglobinopatias. Foram analisadas 15 amostras previamente sequenciadas pelo método Sanger (seis SS, quatro SC e cinco S/ β) e quatro controles normais. O ensaio foi desenhado para amplificar nove pares de base do gene HBB, no qual usamos 10 ng de DNA para amplificação da PCR. O sequenciamento foi feito com o kit PyroMark Gold. Evidenciamos, por meio das nossas análises, que não houve discrepância entre os resultados obtidos das técnicas de pirossequenciamento e sequenciamento de Sanger. Portanto, pode-se concluir que a padronização da técnica de pirossequenciamento para a detecção das mutações relacionadas ao gene HBB é uma ferramenta de alta confiabilidade para a classificação das hemoglobinopatias e que se mostrou adequada para testagem em larga escala.

22. CÂNCER RENAL E DOENÇA FALCIFORME: RELATO DE CASO

Ferreira AA^{a,b,c}, Leite ICG^b, Rodrigues MCB^a, Diniz RW^c

^a Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (HEMOMINAS), Juiz de Fora, MG, Brasil

^b Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, MG, Brasil

^c Instituto Oncológico de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil

Introdução: A incidência de câncer em portadores de doença falciforme permanece desconhecida; são raros os casos publicados sobre essa associação. Hipóteses de que as cadeias anormais de globina atuam como inibidores da oncogênese foram aventadas, mas não comprovadas. Também não foi confirmado se o dano renal crônico, secundário à falcização, e o efeito imunossupressor de múltiplas transfusões podem ser considerados fatores de risco para carcinoma renal nesses pacientes. **Relato de caso:** D.I., sexo masculino, 44 anos, portador de hemoglobinopatia SC (S 53%, C 46%, A2 1%), diagnosticada aos 35 anos a despeito de várias internações prévias por crises algícas e pneumonias. Havia relato de uma única hemotransfusão na infância. Em sua primeira consulta no

Hemocentro Regional de Juiz de Fora (MG), o paciente relatava ser hipertenso, sem outras comorbidades. Negava etilismo e tabagismo e mencionava um irmão falecido por câncer de pâncreas. Apresentava exame físico sem particularidades. Exames laboratoriais: Hb 13,5 g/dL, LG 11.900/mm³, plaquetas 273.000/mm³, reticulócitos 9%, glicemia 98 mg/dL, creatinina 0,8 mg/dL, AST 46 U/L, ALT 41 U/L, fosfatase alcalina 52 U/L, ferritina 185 ng/mL, EAS sem alterações, proteinúria 55 mg/24h; anti-HIV, anti-HCV, HbsAg e anti-Hbc negativos; retinopatia falciforme (grau IV à direita e III à esquerda); ecocardiograma sem alterações; USG de abdome total: fígado e baço de dimensões normais e textura homogênea, rins de dimensões normais com relação corticomedular preservada. Após dois anos sem intercorrências, o paciente passou a queixar-se de dor lombar à direita sem outros sintomas. Novos exames resultaram em Hb 13 g/dL, LG 8.340/mm³, plaquetas 301.000/mm³, reticulócitos 11%, EAS sem alterações, urocultura negativa. A USG mostrou uma massa sólida, irregular, em polo inferior de rim direito, detalhada na tomografia como lesão heterogênea, de 6,8 x 6,6 cm. O paciente foi submetido à nefrectomia com boa evolução clínica. A histopatologia revelou carcinoma renal de células claras, grau nuclear de Fuhrman 2, com 6 cm no maior eixo; áreas de hemorragia e necrose; ausência de invasão vascular, capsular ou de gordura perirrenal; tecido renal não neoplásico com focos de infiltrado inflamatório crônico intersticial; glândula suprarrenal normal. Não foram identificados linfonodos no material. O estadiamento patológico foi pT1b, pNx, pMx. O paciente permanece há 18 meses em controle oncológico, sem evidências de recidiva. **Discussão:** Raros casos de câncer em portadores de doença falciforme têm sido descritos e pouco se sabe sobre os efeitos colaterais do tratamento quimioterápico nesses pacientes. Para o carcinoma renal, a terapia de escolha é cirúrgica e a quimioterapia adjuvante não se mostra eficaz. É necessário, portanto, um alto grau de suspeição para o diagnóstico precoce, uma vez que os principais sinais e sintomas da neoplasia (dor lombar e hematúria) são muito frequentes no curso clínico da doença falciforme.

Referências:

1. Dawkins FW, Kim KS, Squires RS, Chisholm R, Kark JA, Perlin E, et al. Cancer incidence rate and mortality rate in sickle cell disease patients at Howard University Hospital: 1986-1995. *Am J Hematol.* 1997;55(4):188-92.
2. Magalhães IQ. Alterações renais nas doenças falciformes. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2007;29(3):279-84.
3. Swede H, Andemariam B, Gregorio DL, Jones BA, Braithwaite D, Rohan TE, et al. Adverse events in cancer patients with sickle cell trait or disease: case reports. *Genet Med.* 2015;17(3):237-41.

23. SÍNDROME HEMOLÍTICO-URÊMICA ATÍPICA: RELATO DE CASO

Silvestre MB, Teixeira DFS, Silva JBCB

Liga Acadêmica de Hematologia e Hemoterapia, Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A síndrome hemolítico-urêmica (SHU) é uma microangiopatia trombótica caracterizada clinicamente por anemia hemolítica microangiopática, oclusão da microvasculatura, com envolvimento da circulação renal na maioria dos casos, e trombocitopenia. A forma "típica" da SHU, que ocorre em 95%, está associada a infecção gastrointestinal prévia. Já a SHU "atípica" acomete um grupo heterogêneo de pacientes e tem prognóstico ruim. Mais de 50% dos pacientes evoluem para insuficiência renal crônica ou dano cerebral irreversível; a mortalidade chega a 25% na fase aguda da doença. Estudos genéticos têm demonstrado que a SHU atípica está associada à deficiência de proteínas reguladoras do complemento, e o gatilho para a ativação e deposição plaquetária na microvasculatura varia desde infecções virais até uso de drogas. Os critérios diagnósticos para a SHU incluem anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia e disfunção orgânica (envolvimento renal ou neurológico) sem sinais de CIVD. O tratamento da SHU atípica consiste basicamente em diagnóstico precoce e infusão de plasma, que se iniciou em até 24 horas após o aparecimento dos sintomas, diminui a taxa de mortalidade da fase aguda. **Objetivo:** Descrever um caso de SHU atípica em paciente usuário de drogas. **Relato de caso:** M.F.N, 27 anos, masculino, etilista, tabagista, drogadicto (crack). Chegou ao PS com queixa de diminuição intensa do volume urinário havia seis dias. Além da queixa urinária, referia dor abdominal difusa havia um dia, com cinco episódios de fezes amolecidas e escurecidas. Apresentava-se em bom estado geral, porém descorado e desidratado. O hemograma mostrava anemia grave (Hb 4,3 g/dL), trombo-

citopenia (plaquetas 80 mil/uL), além de leucocitose com desvio até metamielócitos e presença de esquizócitos. Apresentou também valores de ureia (513 mg/dL) e creatinina (18,94 mg/dL) aumentados. Havia importante leucocitúria e hematúria, sorologia para HIV negativa e proteínas do complemento normais. Assim, foi admitido para internação, com indicação de hemodiálise. Apresentou diurese em pequena quantidade após hidratação venosa, e a contagem de Hb melhorou após receber três concentrados de hemácias. Permaneceu internado por 12 dias e durante esse período foi submetido sete vezes à hemodiálise e recebeu mais dois concentrados de hemácias para correção da anemia. A contagem de plaquetas já havia atingido níveis normais após o segundo dia de internação. Passou a apresentar diurese normal no 11º dia de internação, com normalização dos níveis de ureia e creatinina. Recebeu alta com recuperação completa da função renal e ausência de anemia. **Discussão e conclusão:** A SHU na sua forma atípica pode se manifestar com sintomas gastrointestinais, anúria e hipertensão maligna. No caso descrito, quando comparado com a literatura, observou-se semelhança nos achados clínicos. O paciente apresentava hemograma com anemia grave, com presença de esquizócitos que falava a favor de anemia hemolítica microangiopática. Os valores de ureia e creatinina estavam aumentados e, em conjunto com leucocitúria e hematúria, fica evidente o envolvimento renal. Por fim, a contagem de plaquetas completou a tríade característica da SHU. Podemos interpretar o fato de o paciente ser usuário de drogas como gatilho para o desenvolvimento da doença. O que nos surpreendeu foi a evolução benigna do quadro em poucos dias, em discordância com a literatura, até porque não houve a necessidade de transfusão de plasma.

24. PERFIL E MANEJO DOS PACIENTE COM DOENÇA FALCIFORME SC EM CENTROS DO RIO GRANDE DO NORTE

Serafim DS, Serafim ESS, Silva RC, Revoredo GLA, Bedaque HP, Diniz IG, Leite ELS

Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Rio Grande, RS, Brasil

Introdução: De acordo com o manual Doença Falciforme (2012), do Ministério da Saúde, a doença falciforme é um grupo de hemoglobinopatias hereditárias que se apresentam genotípica e fenotipicamente de forma heterogênea. Dentro do espectro dessa doença, a hemoglobinopatia SC é uma variante menos grave, apresenta complicações semelhantes à variante SS, só que em menor frequência e intensidade. Dessa forma, o curso clínico ameno torna mais simples o manejo do paciente, com menos transfusões, analgésicos mais simples e menor ocorrência de complicações. **Objetivo:** Analisar o perfil dos pacientes com doença falciforme variante SC acompanhados pelos serviços de referência em hematologia do Rio Grande do Norte (Hemocentro Dalton Cunha e Centro de Oncologia e Hematologia de Mossoró). **Material e métodos:** Foram estudados 250 prontuários de pacientes com doença falciforme de 1990 até 2015. Variáveis analisadas com o programa SPSS 2.0: prevalência dos pacientes SC, número de transfusões, nível de hemoglobina (Hb), medicações usadas e complicações. **Resultados:** Dos 250 prontuários, 33 (13,2%) eram SC, 14 (42,42%) do sexo masculino e 19 (57,58%) do feminino, de 1 a 33 anos. Sobre a etnia, quatro pacientes (12,12%) eram negros, 17 (51,51%) pardos, cinco (15,15%) brancos e sete (21,21%) sem dados. Durante o acompanhamento, 15 pacientes SC (45,45%) fizeram transfusão. Foram 28 transfusões, 0,84 por paciente SC em 25 anos. Sobre o nível de Hb, 26 tinham dados, 22 (84%) com valor superior a 10 g/dL. Sobre o uso de medicações, 63,3% já usaram dipirona; 58,1%, Tílex; 25,8%, morfina; 100%, ácido fólico; 7,4%, Exjade (Desferasirox); e 38,7%, Hydrea. Nas complicações, notam-se cinco casos de sequestro esplênico; dois casos de colestase; três casos de infecções, com apenas um caso de sepse; três casos de esplenectomia; um caso de osteoporose e osteonecrose em cabeça de fêmur. Apenas um paciente SC faleceu por sequestro esplênico. **Discussão:** O pequeno predomínio de heterozigotos SC dentre os doentes falciformes (13,2%) coincide com a esperada menor prevalência dessa patologia. A maior fração de negros e pardos (12,12% e 51,51%) com hemoglobinopatia SC em comparação com grupo de etnia branca (15,15%) vai de acordo com a ascendência africana dessa doença. O estudo constatou a menor severidade do genótipo SC, seja pelo menor uso de concentrado de hemácias (0,84 transfusão por paciente SC em 25 anos), seja pela maior proporção de pacientes com nível de Hb maior do que 10 g/L (84%), de acordo com a literatura vigente. No tocante aos medicamentos, apesar da ausência de consenso em relação ao uso de Hydrea, observa-se que 38,7% dos pacientes fizeram uso rotineiro. O uso de Exjade é de apenas 7,4% e relaciona-se com o menor número de transfusões por paciente, diferente-

mente do ácido fólico, usado por 100% dos enfermos a fim de prevenir anemia megaloblástica. Quanto às complicações, 11 pacientes apresentaram alguma (33,33%); sequestro esplênico foi a mais comum, com cinco casos (45,45%), que resultaram em duas esplenectomias e um óbito. Na homozigose SS, o sequestro esplênico apresenta mortalidade entre 10-15%, e é recomendada a esplenectomia após a primeira crise. **Conclusão:** A diminuta quantidade de casos neste trabalho não é suficiente para associar sequestro esplênico e mortalidade na hemoglobinopatia SC, que deve ser mais bem investigada em estudos maiores.

25. NITRIC OXIDE AND SLEEP DISORDERS IN SICKLE CELL DISEASE

Cabanas-Pedro AC^a, Matsuda SS^a, Roizenblatt S^b, Mouro MG^c, Biassi TP^a, Jr JRR^d, Higa EM^c, Tufik S^d, Figueiredo MS^a

- ^a *Discipline of Hematology and Hemotherapy, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil*
^b *Discipline of Internal Medicine, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil*
^c *Discipline of Nephrology, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil*
^d *Department of Psychobiology, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil*

Background: Sleep is a behavioral state, and its loss results in compromised cognitive performance, memory deficits, mood disturbances, and immune dysfunction. Endogenous sleep factors have been suggested as mediators of homeostatic sleep regulation, including nitric oxide (NO). Experimentally, increasing NO concentration in the basal forebrain induces sleep, while blocking its increase prevents induction of sleep. Previous studies have shown that sleep-disorders are prevalent in sickle cell disease (SCD) patients. **Aims:** As NO plays a significant role in the pathophysiology of this disease, this study aimed to analyze the relationship between NO concentrations and sleep disorders in a group of SCD patients. **Methods:** Steady-state adult patients with SCD followed at Escola Paulista de Medicina/UNIFESP were invited to this study. Exclusions criteria were: chronic blood transfusion, pregnancy, and vaso-occlusive episodes and transfusion in the last three months. Sleep disorders were evaluated by standard overnight multichannel polysomnography (Somnologia, Embla™). NO plasma samples were determined by chemiluminescence using Model 280 Nitric Oxide Analyzer (NOA™) from Sievers Instruments, Inc. (Boulder, CO, United States). This study was approved by the Research Ethics Committee, and all patients agreed to participate. **Results:** Sixty-four consecutive patients were enrolled, 33 (51.6%) males, with median (range) age of 28 (19–60) years. Forty-two (65.6%) were cases of sickle cell anemia using hydroxyurea (SS-HU), 13 (20.3%) SS without HU, and nine (14.1%) SCD. The NO concentration was 71.75 μM (40.5–243.5), with no difference among SS-HU, SS, and SC patients ($p = 0.40$). According with median level of NO, the patients were divided in two groups: G1 $\leq 71.75 \mu\text{M}$ and G2 $> 71.75 \mu\text{M}$. Among the sleep parameters analyzed, only two showed significant difference when comparing G1 to G2: apnea-hypopnea index (AHI): 3.1 (0–43.2) vs. 0.8 (0–10.4; $p = 0.008$), and desaturation index (DI): 5.1 (0–106.3) vs. 3.3 (0–29.9; $p = 0.011$). Considering the normal values of AHI and DI (≤ 5 and ≤ 10 , respectively), this study found association between lower levels of NO and AHI (OR = 5.05, 95% CI: 1.25–20.43, $p = 0.03$), and between lower levels of NO and DI (OR = 3.81, 95% CI: 1.04–13.95, $p = 0.07$). **Conclusion/summary:** Obstructive sleep apnea is probably the most known form of sleep-disordered breathing (SDB). It is a multifactorial process that leads not only to chronic intermittent hypoxia and sleep fragmentation, but also to increased cardiovascular morbidity. NO plays a contributory role in the pathophysiology of this process. Interestingly, SDB and SCD present many aspects in common, like chronic inflammatory status, endothelial dysfunction, and lower levels of NO. Moreover, SDB is prevalent in SCD, and there is a relationship between NO level and SCD manifestations. The AHI and DI are important indexes related to SDB and risk of cardiovascular morbidity. The fact that both indexes were found altered in SCD, especially in patients with lower levels of NO, confirms that SCD patients suffered from sleep disturbances, and implies that NO is probably associated. This is one of the first studies regarding sleep disorders in adult patients with SCD, reinforcing the need for more studies in this field. **Acknowledgements:** Grants from Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior/Sistema Único de Saúde (CAPES/SUS) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

26. POLIMORFISMOS GÊNICOS E ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL EM ADULTOS PORTADORES DE ANEMIA FALCIFORME

Biassi TP, Dutra VF, Almeida FC, Martins ACP, Mecabô G, Cabanas-Pedro AC, Figueiredo MS

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

Introdução: O acidente vascular cerebral (AVC) é uma importante complicação clínica da anemia falciforme (AF), e a identificação de fatores de risco é fundamental não só para o melhor entendimento dessa morbidade como também para planejamento de ações preventivas. Diversos estudos sugerem que a presença de determinados polimorfismos gênicos (SNPs) esteja associada a proteção ou risco de desenvolvimento de AVC. Porém, poucos desses estudos são conclusivos e, em sua maioria, foram feitos em crianças. **Objetivo:** Avaliar a associação entre a presença dos SNPs TGFBR3 (rs284875), ADCY9 (rs2238432) e IL-4R (rs1805015) em pacientes adultos com AF com e sem AVC acompanhados no Ambulatório de Anemias Hereditárias da Escola Paulista de Medicina/Universidade Federal de São Paulo. **Material e métodos:** Foram incluídos 24 indivíduos adultos com AF e diagnóstico prévio de AVC (grupo de estudo, GE). Como grupo controle (GC), foram selecionados 38 pacientes, sem antecedentes clínicos de AVC, pareados por gênero, idade e etnia. Foram excluídos parentes de primeiro grau tanto do GE como do GC. A genotipagem para os SNPs rs284875 do TGFBR3, rs2238432 do ADCY9 e rs1805015 IL-4R foi feita pela técnica de real-time PCR com o sistema TaqMan (Applied Biosystems®, EUA). Para análise estatística foram usados Fisher e qui-quadrado. **Resultados:** GE constituído por 41,6% homens; média de 28 \pm 8,16 anos; com 33,3% negros, 54,2% pardos e 12,5% brancos. GC composto por 44,7% homens; média de 30 \pm 7,29 anos; 42,1% negros, 47,4% pardos e 10,5% brancos. A análise desses grupos mostrou que eles são estatisticamente semelhantes quanto a idade, gênero e etnia. Em relação ao TGFBR3, não foi observado caso de homozigose para a mutação. A análise estatística desse SNP mostrou significância entre GE e GC ($p = 0,01$). Os indivíduos com heterozigose apresentaram maior frequência de AVC, com *odds ratio* de 12,3 (IC: 1,3-110,3). Quanto aos outros polimorfismos avaliados, não foi observada diferença na comparação entre os grupos (IL-4R: $p = 0,59$ e ADCY9: $p = 1,00$). **Discussão e conclusão:** Estudos prévios em crianças sugerem risco aumentado de AVC na presença da mutação rs284875 do TGFBR3. Nenhum paciente avaliado em nosso trabalho, tanto do GE quanto do GC, apresentou homozigose para essa mutação. O tamanho amostral pode ter contribuído para esse resultado. Apesar da ausência de homozigose, a presença de pelo menos um alelo mutado do TGFBR3 esteve relacionada à manifestação de AVC de modo significativo quando comparados pacientes com e sem AVC. Pesquisas publicadas sobre o ADCY9 sugerem um efeito protetor desse SNP, fato não observado em nosso trabalho. Não observamos associação do polimorfismo do IL-4R com a manifestação de AVC, o que corrobora alguns dos achados de literatura. Os diferentes estudos publicados sobre genes epistáticos na AF sugerem sua importância na modulação das manifestações clínicas sem, entretanto, resultar em dados definitivos. Nosso estudo demonstra a necessidade de mais pesquisas nessa área. **Financiamento:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior/Sistema Único de Saúde (CAPES/SUS); Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (12/19346-1).

27. HIPERTRABECULAÇÃO DO MIOCÁRDIO OU MIOCARDIOPATIA NÃO COMPACTADA? RELATO DE CASO EM ANEMIA FALCIFORME

Goncalves LM^a, Melo MDT^b, Silva AMF^a, Dutra VF^a, Figueiredo MS^a

- ^a *Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil*
^b *Instituto do Coração (INCOR), São Paulo, SP, Brasil*

Introdução: Complicações cardíacas são comuns na anemia falciforme (AF) com impacto na morbidade e mortalidade. Na anemia crônica ocorre aumento da pré-carga do ventrículo esquerdo (VE) e do débito cardíaco, que resulta em dilatação e hipertrofia excêntrica. Alguns indivíduos, entretanto, podem ter predisposição a formar criptas e recessos que resultam em trabeculação proeminente e podem ser compatíveis com miocárdio não compactado. Apesar de a trabeculação do VE ser um constituinte normal da cavidade ventricular, a diferenciação entre o fisiológico e o

patológico pode ser difícil. **Relato de caso:** Masculino, 19 anos, negro, com diagnóstico de AF desde a infância em acompanhamento ambulatorial regular. Fez ecocardiograma de rotina, sem queixas clínicas, que mostrou aumento de câmaras cardíacas e presença de trabeculações no VE (relação miocárdio não compactado/compactado aproximado de 2). Aos 21 anos, assintomático, fez ressonância magnética cardíaca com presença de aumento do trabeculado (relação miocárdio não compactado/compactado de 2,8) e das dimensões de ambos os ventrículos com função sistólica biventricular preservada compatíveis com miocárdio não compactado. Atualmente com 24 anos, persiste sem sinais de insuficiência cardíaca. Faz uso regular de hidroxiureia, losartana e ácido fólico. Como comorbidades, apresentou colecistopatia litíase, osteonecrose de cabeça de fêmur direito, microalbuminúria, úlceras em membros inferiores e priapismo. **Discussão:** Miocardiopatia não compactada isolada é doença rara e está relacionada à falência da compactação do VE durante a embriogênese. É caracterizada pela presença de trabeculações miocárdicas proeminentes e recessos profundos com fluxo em continuidade com a cavidade ventricular. Apesar de a patogênese envolver possível base genética, a relação entre o genótipo e o fenótipo não é clara. Portanto, as características clínicas são heterogêneas, desde ausência de sintomas até deterioração progressiva da função cardíaca, eventos tromboembólicos, arritmias e morte súbita. O diagnóstico *in vivo* depende da detecção dessas alterações por meio de exames de imagem, principalmente ecocardiograma. Apesar de rara, observa-se aumento de relato de casos, o que pode estar relacionado à melhoria das técnicas ecocardiográficas e ao aumento do uso da ressonância magnética cardíaca. Existem relatos de maior prevalência na população negra. Entretanto, nessa população é incerto se a morfologia miocárdica observada é representativa de miocardiopatia não compactada ou é epifenômeno associado ao aumento da pré-carga cardíaca. Estudo ecocardiográfico recente, com 99 pacientes com AF e 132 controles negros saudáveis, demonstrou maior prevalência de aumento da trabeculação nos indivíduos com AF (28,3% x 12,1%) e pelo menos 8% apresentavam critério para miocárdio não compactado. **Conclusão:** Estudos que levem em consideração a origem étnica podem contribuir para o estabelecimento de critérios mais adequados de miocardiopatia não compactada nessa população. Deve-se ter cautela na avaliação de pacientes com AF e aumento de trabeculações, pois os critérios diagnósticos parecem ser muito sensíveis. O seguimento adequado desses indivíduos é fundamental para melhor entendimento do significado clínico e pela possibilidade de ocorrer progressão mais acelerada para disfunção ventricular.

28. DEFICIÊNCIA DE VITAMINA D E DOENÇA FALCIFORME

Goncalves LM, Silva AMF, Mecabo G, Kase D, Figueiredo MS

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

Introdução: O metabolismo da vitamina D (vitD) é complexo e diversos fatores como etnia, idade, índice de massa corpórea, latitude, dieta, exposição solar e pigmentação da pele influenciam sua dosagem. Apesar de ampla variação na definição dos critérios de deficiência de vitD, alguns estudos controlados demonstraram maior prevalência em indivíduos com doença falciforme (DF) em relação à população geral. Um fato que pode estar associado a esse achado é que a síntese de vitD derivada da pele é muito variável e depende da pigmentação da pele, latitude, estação do ano, idade e uso de protetor solar. Por isso, indivíduos de pele escura tendem a ter menores níveis que indivíduos de pele clara. Como parte de um estudo mais amplo em pacientes com DF do sexo masculino, foi avaliada a prevalência de deficiência de vitD nesse grupo. **Material e métodos:** Foram avaliados pacientes em acompanhamento regular no Ambulatório de Anemias Hereditárias da UNIFESP. Critérios de inclusão: sexo masculino, diagnóstico de DF (anemia falciforme + S-beta-talassemia). Critério de exclusão: doença renal crônica ou uso de suplementação com vitD. Consideramos deficiência de vitD abaixo de 21 ng/mL, insuficiência entre 21 e 30 ng/mL e níveis normais acima de 30 ng/mL. **Resultados:** Foram avaliados 44 pacientes do sexo masculino, mediana de 29 anos (20-53). Quanto ao nível de vitD, foi observado: a) < 21 ng/mL: 27 (61,4%) pacientes; b) entre 21 e 30 ng/mL: 14 (31,8%) pacientes; c) ≥ 30 ng/mL: 3 (6,8%) pacientes. **Discussão:** Diversos estudos têm demonstrado alta prevalência de hipovitaminose D em diferentes regiões do mundo, incluindo o Brasil. Estudo feito em São Paulo (Unger, 2010) com 603 voluntários saudáveis (18-80 anos) demonstrou prevalência de 77% de hipovitaminose D (< 30 ng/mL) após o inverno. Estudo transversal con-

trolado sobre deficiência de vitD, feito na Arábia Saudita (Sadat, 2011), que avaliou 168 adultos com DF e 200 controles, demonstrou deficiência (< 20 ng/mL) em 92% das mulheres e 71% dos homens com DF e 11% das mulheres e 10% dos homens no grupo controle. Nosso estudo encontrou elevada prevalência (61,4%) de deficiência de vitD, que corroborou achados de revisão sistemática recente (Nolan, 2015) com estimativas de prevalência de deficiência de vitD (< 20 ng/mL) de 56,4% a 96,4% em populações com DF. Características como diminuição do apetite, dificuldade de absorção de nutrientes, coloração da pele e aumento do gasto metabólico basal podem contribuir para a alta prevalência de baixos níveis de vitD relatada nesses indivíduos. Dados do estudo Nhanes, feito em 2003-2006, mostraram maior prevalência de deficiência (< 20 ng/mL) em negros (81%) do que em brancos (28%). Por esse motivo, alguns pesquisadores sugerem que os níveis que definem deficiência de vitD usados em caucasianos não seriam adequados para pacientes com DF. **Conclusão:** Indivíduos com DF podem apresentar diversas condições associadas ou não à deficiência de vitD, como alterações ósseas, doença cardiovascular, nefropatia e dor crônica. A motivação para o melhor entendimento dessa deficiência na DF é a possibilidade de um tratamento de baixo custo com potencial de contribuir para a melhoria de comorbidades desta doença. Assim, novos estudos que avaliem relação causal entre a deficiência de vitD e desfechos clínicos são de grande importância para a instituição de recomendações adequadas de prevenção e tratamento. **Financiamento:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior/Sistema Único de Saúde (CAPES/SUS).

29. SÍNDROME DE EVANS COM PRESENÇA DE AUTOANTICORPOS CLASSE IGM COMO APRESENTAÇÃO INICIAL DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA: RELATO DE CASO

Alves GD, Cortez GSD, Welkovic B, Filho JR, Lima GG, Freitas BG, Acioli TML, Azevedo TCR, Filho TRLS, Lima MM

Hospital Metropolitano Sul Dom Helder Câmara, Cabo de Santo Agostinho, PE, Brasil

Introdução: A síndrome de Evans é uma doença caracterizada por anemia hemolítica e trombocitopenia imunes. Pode ter um curso clínico crônico, com múltiplas recidivas, muitas vezes refratário à terapêutica. A anemia hemolítica autoimune (AHA) pode ser causada por anticorpos IgG (AHA por anticorpos quentes) ou ainda ser devida aos anticorpos IgM (AHA por anticorpos frios). A AHA por anticorpos frios é uma condição rara, que afeta mais frequentemente pacientes do sexo feminino na sétima década de vida. A grande maioria dos casos é idiopática e é conhecida como doença da criação aglutinina. Entretanto, pode ser secundária. As infecções por *Mycoplasma pneumoniae* e mononucleose infecciosa são as causas mais comuns, embora possam ser responsáveis outros vírus, como CMV, HIV e Epstein-Barr. Doenças linfoproliferativas também são causas. Os sinais e sintomas dessa síndrome são decorrentes da gravidade da anemia e da aglutinação e incluem palidez, acrocianose, fenômeno de Raynaud, icterícia, fadiga, dispneia de espectro variável, hemoglobinúria. O diagnóstico é dado pelo teste de Coombs direto e pela pesquisa dos títulos séricos de criação aglutinina. O tratamento de escolha é o rituximabe, com boa resposta. Interferon, prednisona e fludarabina, combinados ao rituximabe, têm sido descritos porém necessitam de mais estudos. Agentes citotóxicos com ciclofosfamida e clorambucil têm sido usados com alguma resposta satisfatória, especialmente em combinação com corticosteroides. Glicocorticoides isolados, imunoglobulina humana e outros agentes também podem ser usados, embora apresentem melhor resultados em AHA por anticorpos quentes. **Relato de caso:** Paciente, 33 anos, feminino, admitida em um serviço de clínica médica, apresentava dispneia aos mínimos esforços, astenia, Hb 1,9 e 13 mil plaquetas. Apresentava Coombs direto positivo, DHL e bilirrubinas aumentadas e criação aglutinina positiva. Na pesquisa de causas secundárias da síndrome de Evans, o HIV veio positivo. Foi instituída terapia antirretroviral com efavirenz, tenofovir e lamivudina. Foi iniciado imediatamente pulsoterapia com metilprednisolona 1 g/dia por três dias e deixado em manutenção com prednisona 1 mg/kg. Primariamente refratária, foi instituído dapsona 0 mg/dia, obteve-se resposta completa das plaquetas, porém permanecia atividade autoimune eritrocitária. Pela gravidade da anemia, recebeu hemotransfusão e iniciou imunoglobulina humana, na dose padrão, com boa resposta, porém efêmera, com recaída após quatro semanas. Foi feito novo curso de imunoglobulina e associada ciclosporina, descontinuada após quatro semanas devido a episódio de trombose venosa profunda. O quadro de anemia autoimune por classe IgM lentamen-

te se reduziu, associado à redução da carga viral (após quatro meses de TARV, estava com CV: 45 cópias e CD4: 295 cél/mm³). **Conclusão:** AHAI é uma desordem na qual autoanticorpos se ligam à superfície das hemácias e as leva à destruição no sistema reticuloendotelial. Neste trabalho, relata-se um caso em que a manifestação inicial do HIV foi AHAI por classe IgM. Iniciado TARV, atingiu carga viral baixa e AHAI está em resposta parcial. A paciente não recebeu a terapia padrão com rituximabe pois há contraindicação do Ministério da Saúde para o uso em pacientes portadores de HIV.

30. LINFOMA DE HODGKIN COMO CAUSA DE ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE POR ANTICORPOS CLASSE IGG: RELATO DE CASO

Cortez GD, Alves GD, Acioli TML, Lima GG, Freitas BG, Azevedo TCR, Filho JR, Souza TRL, Lima MM

Hospital Metropolitan Sul Dom Helder Câmara, Cabo de Santo Agostinho, PE, Brasil

Introdução: Anemia hemolítica autoimune (AHAI) é uma patologia hematológica caracterizada por produção de autoanticorpos que se ligam à superfície da hemácia e diminuem seu tempo de sobrevivência. Pode ser primária, quando o único achado é a anemia, e secundária, quando tem uma doença de base como causa. É comum secundarismo por doença autoimune (lúpus, retocolite ulcerativa), infecções virais e bacterianas (citomegalovírus, HIV, *Mycoplasma*), neoplasias (linfomas, leucemias) e por drogas. O linfoma de Hodgkin, responsável por 10% dos linfomas, é uma neoplasia linfática com pico de incidência bimodal de 20 e 65 anos, que acomete mais homens, tem início em um único linfonodo e dissemina-se, inicialmente, por contiguidade. É muito comum se apresentar com linfonodomegalia cervical, e o diagnóstico é dado por biópsia excisional de um dos linfonodos acometidos. No presente estudo, discute-se um caso de AHAI secundária a linfoma de Hodgkin. **Relato de caso:** Paciente, 33 anos, admitido em um serviço de clínica médica, apresentava náuseas, vômitos, dispneia aos pequenos esforços, astenia e hemoglobina 4,8. Testes laboratoriais apresentaram Coombs direto positivo, com presença de autoanticorpos de classe IgG, crioaglutinina negativa e marcadores de hemólise aumentados (DHL, bilirrubinas), o que define AHAI por anticorpos quentes. Recebeu hemotransfusão e foi iniciada pulsoterapia com metilprednisolona 1 g/dia por três dias e deixado em manutenção com prednisona 1 mg/kg/dia. Apresentou boa resposta inicial, recebeu alta hospitalar, porém descontinuou corticoterapia por conta própria, retornando ao serviço com os mesmos sintomas iniciais após um mês e com a hemoglobina 3,1 g/dL. No segundo internamento, a anemia mostrou-se refratária ao corticoide; foi iniciada terapia com imunoglobulina humana padrão, com resposta adequada. Como manifestação clínica adicional, apresentava linfonodo palpável de cerca de 3 cm em cadeia cervical anterior e tomografia de tórax com vários linfonodos aumentados em mediastino. Linfonodo cervical foi biopsiado e o histopatológico foi compatível com linfoma de Hodgkin tipo celularidade mista, CD30 e CD1 positivos. Paciente segue em curso de terapia quimioterápica com remissão da AHAI. **Discussão:** A AHAI é uma desordem na qual autoanticorpos se ligam à superfície das hemácias e as leva à destruição no sistema reticuloendotelial. É classificada como quente quando a hemólise é mais intensa na temperatura corporal (37°C). Neste trabalho, relatou-se o caso de um paciente do sexo masculino, 33 anos, que apresentou, como manifestação inicial de linfoma de Hodgkin, AHAI com anticorpos de classe IgG. Os sintomas iniciais foram astenia, náusea, vômito e dispneia progressiva havia um mês. Durante investigação clínica, observaram-se linfonodomegalias em cadeia cervical anterior à direita e em mediastino (em imagem tomográfica). Linfonodo cervical foi biopsiado e histopatológico identificou linfoma de Hodgkin, que é causa comum, em adultos, de anemia hemolítica secundária, que pode se desenvolver em qualquer estágio da neoplasia, porém é mais comum em doença com estágio desfavorável.

31. ASSOCIAÇÃO ENTRE SÍNDROME DE EVANS, SÍNDROME DO ANTICORPO ANTIFOSFOLÍPIDE E RETOCOLITE ULCERATIVA: RELATO DE CASO

Menin MF, Paiva VMD, Avó HS, Silva JBCB

Liga Acadêmica de Hematologia e Hemoterapia, Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas, SP, Brasil

Introdução: Na síndrome do anticorpo antifosfolípide (SAAF) pode ocorrer trombocitopenia imune em 30% dos casos e anemia hemolítica autoimune em 10%. A apresentação simultânea ou sequencial dessas características define a síndrome de Evans (SE). É sabido que pacientes com doença inflamatória intestinal têm estado de hipercoagulabilidade que aumenta em três vezes o risco de eventos tromboembólicos. Quando a doença está em atividade, esse risco aumenta em até 16 vezes, e é importante fator na morbimortalidade desses pacientes. **Objetivo:** Descrever caso clínico com associação entre doenças autoimunes. **Relato de caso:** R.S.G., 24 anos, masculino, branco, procurou atendimento por dor na coxa esquerda, acompanhada de hiperemia local e formação de cordão endurecido medial até a raiz da coxa. Foi diagnosticada tromboflebite da veia safena magna e parva esquerdas e foi tratado com enoxaparina e varfarina. Após sete meses, vinha bem até que houve quadro semelhante no membro contralateral. Foi constatada tromboflebite da veia safena magna direita. Foi orientado a fazer uso de rivaroxabana e seguir acompanhamento ambulatorial. Na hematologia, fez alguns exames complementares cujos resultados foram: anemia, plaquetopenia, Coombs direto positivo. Também, em acompanhamento em conjunto com a reumatologia, confirmou-se SAAF, porém descartado lúpus sistêmico. Optou-se por manter rivaroxabana. Devido às alterações do hemograma supracitadas, diagnosticou-se SE e, para essa, foi administrada prednisona. Durante as consultas subsequentes, paciente queixou-se de diarreia, com fezes que variavam entre líquidas e pastosas e ausência de restos alimentares; por meio de colonoscopia com biópsia foi diagnosticada retocolite ulcerativa (RCU); em seguida, foi avaliado pela equipe de coloproctologia, que orientou mesalazina. **Discussão e conclusão:** Pacientes com plaquetopenia imune, um componente da SE, apresentam maior chance de desenvolver SAAF; na RCU, a frequência de anticorpos antifosfolípidos é significativamente maior do que nos controles. Para o diagnóstico de SAAF, usam-se os critérios de Sapporo. Para o de SE, é necessário encontrar trombocitopenia imune e anemia hemolítica, por meio do Coombs direto. Para o de RCU, os aspectos clínicos e laboratoriais são importantes. A associação das três doenças, como no caso relatado, é um evento raro, que pode ter ocorrido por alterações genéticas e mecanismos epigenéticos comuns às doenças autoimunes. Dentre as alterações genéticas, existem aquelas que envolvem a ativação de linfócitos, principalmente pela falha na seleção negativa tímica de linfócitos autorreativos. Em relação aos fatores epigenéticos relacionados à autoimunidade, existe a modificação das histonas, a metilação do DNA e a ação dos miRNAs. Todos esses mecanismos regulam a expressão dos genes, ativam ou suprimem a transcrição de determinados genes ou até mesmo suprimem um cromossomo inteiro. Não foi possível fazer testes que pudessem identificar alterações dessas vias no paciente em questão para que comprovássemos a relação existente entre as patologias autoimunes descritas no caso. A associação de SAAF, SE e RCU é extremamente rara, dificilmente encontrada na literatura; explica-se apenas pelo fator genético envolvido em doenças autoimunes. Portanto, tornam-se importantes a observação genética nos casos e uma futura pesquisa sobre profilaxia.

32. INFLUÊNCIA DO ONCOGENE BCL11A NA HEMOGLOBINA FETAL DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Cabanas-Pedro AC, Kimura MT, Mecabo G, Figueiredo MS

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

Introdução: A anemia falciforme (AF) apresenta variabilidade clínica considerável provavelmente determinada por fatores genéticos moduladores. Por essa razão, estudos de associação genótipo-fenótipo continuam a ser feitos. A hemoglobina fetal (HbF) é um dos principais fatores moduladores da gravidade da AF. Diversos polimorfismos gênicos (SNPs) vêm sendo associados aos níveis de HbF, em especial os localizados no gene BCL11A, que tem o potencial de impedir a inibição do gene da globina gama após o nascimento. **Objetivo:** Identificar a relação entre o SNP rs11886868 e a produção de HbF em portadores de AF e correlacionar esse SNP com os haplótipos do complexo do gene da globina β^S . **Material e métodos:** Foram analisadas 96 amostras de portadores de AF em acompanhamento regular no Ambulatório de Anemia Hereditária da EPM/UNIFESP. Foram determinados os haplótipos de complexo gênico β^S e foi identificado o polimorfismo rs11886868 do gene BCL11A, todos por PCR seguido de digestão enzimática (RFLP). As dosagens de HbF foram analisadas antes de os pacientes iniciarem o uso de hidroxureia. **Resultados:** A mediana de idade dos pacientes foi de 29 anos (18-51), 67% do gênero

feminino. Observada predominância do haplótipo CAR/BEN em 40,62% dos pacientes, CAR/CAR (37,50%) e BEN/BEN (8,33%). A análise estatística não evidenciou diferença significativa nos níveis de HbF dos diferentes haplótipos. Quanto aos resultados do polimorfismo rs11886868, foi observada maior frequência do genótipo TC (50,0%), seguido por TT (39,6%) e CC (10,4%). A mediana de HbF observada foi 5,9% (3,1-9,2) para o genótipo CC; 4,3% (2,6-6,9) para o TC; e 3,2% (2,3-4,7) para o TT, com diferença significativa entre os grupos CC x TT e CT x TT ($p = 0,0329$ e $p = 0,0473$, respectivamente). Não foi observada diferença na frequência desses genótipos em relação ao tipo de haplótipo. **Discussão e conclusões:** Nesta análise, não foi observada diferença dos níveis de HbF entre os haplótipos, provavelmente devido ao tamanho amostral. Embora o polimorfismo rs11886868 do BCL11A não seja considerado o mais importante fator determinante dos níveis de HbF associado a esse gene, observou-se aumento significativo da HbF nos indivíduos com pelo menos um alelo C. Esse resultado corrobora dados de literatura, nos quais a presença do alelo C do rs11886868 diminui a ação repressora do BCL11A no gene da globina gama. Apesar do nosso resultado, obtido com a avaliação de apenas um SNP, a análise combinada dos diferentes SNPs associados ao gene BCL11A é melhor indicador da variância fenotípica relacionada a esse gene. **Financiamento:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior/Sistema Único de Saúde (CAPES/SUS).

33. HEMOGLOBINA VAL DE MARNE (HBA:P.SER133ARG) NO BRASIL: RELATO DE CASO

Okumura JV^a, Shimauti ELT^b, Silva DGH^a, Torres LS^a, Belini-Junior E^a, Oliveira RG^a, Salvarani M^a, Patussi EV^b, Herrero JCM^b, Bonini-Domingos CR^a

^a Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas (LHGDH), Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBLCE), Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, SP, Brasil

^b Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (LEPAC), Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, PR, Brasil

Introdução: As hemoglobinas (Hb) variantes, mutantes de cadeias globínicas alfa, na população em geral, são menos frequentes do que as de cadeias beta. No Brasil, a Hb variante de cadeia alfa mais frequente é a Hb Hasharon. Neste trabalho descrevemos o primeiro caso de Hb Val de Marne (HbVM) no Brasil. A HbVM é originada por troca de citosina por adenina, no códon 34 do terceiro éxon, no gene da globina alfa 1 ou 2 (HBA1 ou HBA2), que resulta na substituição do aminoácido serina (AGC) por arginina (AGA) na posição 133 (HBA:p.Ser133Arg) da cadeia polipeptídica sintetizada. Foi denominada HbVM ou Hb Footscray, devido à região em que foi primeiramente descrita. É uma Hb variante raríssima, descrita somente em quatro famílias no mundo. A primeira descrição foi em 1993, na França, e as outras na Austrália, China e no Irã. **Relato de caso:** L.T.M., sexo feminino, 32 anos, brasileira, descendente de italianos e ucranianos, residente na região Sul do país e doadora de sangue no Hemocentro Regional de Maringá. **Métodos:** Eletroforese de hemoglobinas em pH 8,6 e pH 6,2; eletroforese de cadeias polipeptídicas em pH 8,6; quantificação das hemoglobinas por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) nos equipamentos automatizados Variant™ (BIO-RAD) com kit de análise beta-talassemia heterozigota e Ultra2 (Trinity Biotech) com o kit de análise Resolution. Os parâmetros hematológicos foram obtidos por meio de analisador hematológico, BC-300 PLUS (Mindray), e a análise da morfologia eritrocitária foi feita por meio do esfregaço sanguíneo corado em microscópio de luz. A amostra sanguínea foi submetida à eletroforese de hemoglobina para a triagem de hemoglobinopatias no Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá (LEPAC-UEM), e foi detectada uma Hb variante inconclusiva. A amostra sanguínea então foi enviada ao Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas da Universidade Estadual Paulista (LHGDH-UNESP), em fevereiro de 2014, a fim de elucidar a Hb variante. **Resultados e discussão:** Não foram observadas anormalidades nos parâmetros hematimétricos, exceto por uma discreta alteração em RDW-CV (15,5%), indicativa de anisocitose. O padrão de migração da HbVM na eletroforese em pH 8,6 foi entre a HbA e a HbS e em pH 6,2 um pouco abaixo da posição de migração da HbS. Na eletroforese de cadeias polipeptídicas em pH 8,6 observamos fração de cadeia alfa mutada (α^M). No sistema Ultra2 Resolution (Trinity Biotech), a HbVM eluiu no tempo de retenção relativo (RRT) de

HbS (0,98) com 13,4%. Foi observada também a forma híbrida da HbVM, denominada de Hb Val de Marne 2 (HbVM2), com RRT de HbS (1,07), com 0,6%. Esse padrão foi compatível com o cromatograma da biblioteca de variantes da Trinity Biotech. Pelo sistema Variant™ (BIO-RAD), a HbVM eluiu em janela de HbS com o tempo de retenção (RT) de 4,41 e 14,7%. A HbVM2 eluiu em janela desconhecida, com RT de 4,63 e com 0,9%. A combinação dos resultados dos testes laboratoriais e hematológicos permitiu a conclusão do perfil hemoglobínico. **Conclusão:** Este trabalho apresenta o primeiro relato da presença da HbVM na população brasileira e a descrição do padrão de migração dessa Hb variante encontrado nos principais testes para diagnóstico de Hb variantes disponíveis no Brasil.

34. HAPLÓTIPOS DA CADEIA S-GLOBINA E HEMOGLOBINA FETAL: ANÁLISE DOS PACIENTES COM DOENÇA FALCIFORME NO HEMOMINAS DE JUIZ DE FORA

Rodrigues DW^a, Júnior IOF^b, Ribeiro LC^c, Maciel BAR^b, Sudário LC^d, Pittella AMOL^e, Crispim RR^c, Faria DD^b, Cardoso LAB^c, Sana DEM^e

^a Hemocentro Regional, Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (HEMOMINAS), Juiz de Fora, MG, Brasil

^b Universidade Antônio Carlos (UNIPAC), Juiz de Fora, MG, Brasil

^c Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, MG, Brasil

^d Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (HEMOMINAS), Juiz de Fora, MG, Brasil

^e Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil

Introdução: A anemia falciforme é decorrente da presença de homozigose para a cadeia β^s e alguns fatores são determinantes na sua apresentação clínica, dentre os quais são citados: coexistência com talassemia, deficiência de glicose-6-fosfato, fatores socioeconômicos, os haplótipos da cadeia de beta-globina e o nível de hemoglobina fetal (HbF). Haplótipos são padrões de polimorfismos no DNA ao longo de um cromossomo. Cada haplótipo da cadeia β^s é classificado de acordo com a região em que foram originalmente encontrados, como: Senegal (haplótipo SEN), Benin (BEN), Bantu ou República da África Central (CAR), Camarões (CAM) e o haplótipo árabe-indiano (ARB). Os haplótipos que não se enquadram nesses comuns são denominados atípicos (ATP). O haplótipo CAR vem sendo ao longo dos anos relacionado a menores níveis de HbF, o que acarreta maior gravidade clínica, enquanto CAM e BEN apresentam níveis intermediários. Já os haplótipos SEN e ARB são relacionados a maiores concentrações de HbF, levando a uma evolução clínica menos severa. **Objetivo:** Verificar a relação existente entre o tipo de haplótipo e o nível de HbF apresentada pelos pacientes. **Material e métodos:** Foi feita a análise de dados de 108 pacientes diagnosticados com doença falciforme em Juiz de Fora (MG) por meio do programa SPSS® 14.0, na qual se estabeleceram análises de médias de HbF entre os haplótipos. Os pacientes que apresentavam pelo menos um haplótipo CAR foram agrupados no grupo CAR, e aqueles que não tinham, em não CAR. Em seguida foi estabelecida a média de HbF para cada um desses grupos. **Resultados e discussão:** No presente estudo, encontrou-se uma média de hemoglobina fetal de 11,5% nos pacientes portadores de haplótipo CAR, com desvio-padrão de 8,8, enquanto aqueles com haplótipos não CAR tiveram média de 5,6%, com desvio-padrão de 8,5 ($p = 0,043$). Esses valores discordam de estudos já feitos, nos quais o haplótipo CAR está correlacionado com pior prognóstico devido ao menor valor de HbF. **Conclusão:** Observou-se que os haplótipos CAR estiveram relacionados a maiores taxas de HbF (11,53) do que aqueles que não apresentavam haplótipos CAR. **Palavras-chave:** Anemia falciforme; Haplótipos; Hemoglobina fetal. **Financiamento:** Programa Pesquisa para o SUS (PPSUS)/Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

35. ALOIMUNIZAÇÃO EM CRIANÇAS COM DOENÇA FALCIFORME ATENDIDAS NA FUNDAÇÃO HEMOMINAS EM JUIZ DE FORA

Rodrigues DW^a, Cardoso LAB^b, Faria DD^c, Júnior IOF^c, Sudário LC^b, Pittella AMOL^d, Sana DEM^d, Maciel BAR^c, Crispim RR^c, Ribeiro LC^e

^a Hemocentro Regional, Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (HEMOMINAS), Juiz de Fora, MG, Brasil

- ^b Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (HEMOMINAS), Juiz de Fora, MG, Brasil
- ^c Universidade Antônio Carlos (UNIPAC), Juiz de Fora, MG, Brasil
- ^d Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Juiz de Fora, MG, Brasil
- ^e Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, MG, Brasil

Introdução: A transfusão de sangue representa um dos pilares da prática clínica na doença falciforme (DF), que visa à melhoria da perfusão tecidual, queda da proporção de drepanócitos circulantes e redução da morbimortalidade nesses pacientes. A aloimunização contra antígenos eritrocitários é o principal efeito adverso da terapia transfusional, um dos principais desafios no seguimento dessa população. Sua incidência pode estar relacionada à idade e à exposição a transfusões e, de forma ainda não clara, alguns pacientes não expostos podem vir a tornar-se aloimunizados, com expressão de autoanticorpos para o antígeno correspondente. Os principais fenótipos de anticorpos contra antígenos eritrocitários pertencem aos sistemas RH, Kell e, em menor frequência, Kidd, Duffy e MNS. Estima-se que, em Minas Gerais, a incidência de anemia falciforme é de 1:1.400 recém-nascidos. **Objetivo:** Correlacionar o número de transfusões de concentrado de hemácias (CHM) e o advento de aloimunização. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo da prevalência de aloimunização entre crianças nascidas com DF entre 1998 e 2007, com diagnóstico feito por meio da triagem neonatal e que são acompanhadas na HEMOMINAS de Juiz de Fora. Os prontuários e registros de todos os pacientes elegíveis foram analisados a fim de identificar o hemocomponente usado para transfusão daqueles que receberam unidades de CHM. **Resultados:** Os dados são compostos de 116 indivíduos, 51,7% do sexo feminino, média de 11,87 anos, 50% são SS e a média de transfusões de 7,63%; 50,7% receberam transfusão em alguma fase da vida, 23,3% politransfundidos; 7,8% se encontram em regime de hipertransfusão, 77,8% masculinos; e a taxa de 53,7 transfusões por paciente. A frequência de aloimunização foi de 6,9%, em que 88,9% eram SS, 37,5% O⁺ e 50% politransfundidos, com taxa de 17,75 transfusões por indivíduo. Desses aloimunizados, 25% receberam exclusivamente CHM deleucotizados e fenotipados e 12,5% não receberam transfusão; 25% expressaram o teste da antiglobulina direta positiva do tipo IgG e 33,15% dos fenótipos expressos pertencem ao sistema Rh. **Conclusão:** A transfusão de unidades fenotipadas não eliminou a incidência da aloimunização, frequente na população com anemia falciforme, principalmente em politransfundidos. Houve expressão de anticorpos de especificidade não determinada, bem como a presença de autoanticorpos. São necessárias novas estratégias de identificação dos aloanticorpos antieritrocitários e a criação de protocolos para orientar terapia transfusional e a prevenção da aloimunização pós-transfusional na DF. **Palavras-chave:** Doença falciforme; Transfusão; Aloimunização. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

36. FENÓTIPO CLÍNICO DE PACIENTES COM DOENÇA FALCIFORME ATENDIDOS EM AMBULATÓRIO DE HEMATOLOGIA DE PRESIDENTE PRUDENTE (SP)

Silveira MM^{a,b}, Uemura AS^a

^a Serviço de Hemoterapia, Hospital Regional de Presidente Prudente, Presidente Prudente, SP, Brasil

^b Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil

Introdução: A mutação falcêmica resulta da substituição de uma base, a adenina (A), por timina (T), no sexto códon (GAG para GTG) da cadeia β -globina; logo, o ácido glutâmico é substituído por valina na sexta posição da cadeia polipeptídica e forma a hemoglobina S. Doença falciforme compreende os indivíduos que têm a hemoglobina S em homozigose (anemia falciforme) e os que são heterozigotos compostos e herdam a hemoglobina S associada com outra hemoglobinopatia ou talassemia. Há grande heterogeneidade na evolução clínica de pacientes com doença falciforme. Os parâmetros hematológicos, os fatores ambientais e genéticos podem modificar a expressão da doença, mas alguns pacientes desenvolvem complicações clínicas graves e repetitivas ou morrem precocemente; outros são assintomáticos e há aqueles que têm fenótipo clínico intermediário. Para estabelecer o prognóstico individual da doença falciforme, torna-se essencial conhecer a relação entre parâmetros

clínicos e laboratoriais na expressão de sua gravidade. **Objetivos:** Estabelecer o fenótipo clínico individual de pacientes com doença falciforme por meio da aplicação de escore relacionado ao número de dias de hospitalização por ano, unidades de hemocomponentes transfundidas por ano, número de episódios de crise vaso-oclusiva grave por ano, doença de quadril, úlcera de perna, complicações hepatobiliares, eventos neurológicos e doença renal, e analisar também a concentração média de leucócitos, plaquetas e ferritina sérica. **Material e métodos:** O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Oeste Paulista e abrangeu 13 pacientes maiores de 18 anos com doença falciforme que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, permitiram a análise dos seus prontuários referentes ao período de junho de 2010 a agosto de 2012 e concordaram em participar de entrevista. O fenótipo clínico foi estabelecido segundo Mikobi et al. (2015) pelo registro de escores individuais. Foram considerados fenótipo clínico grave (escore maior do que 16 pontos), fenótipo clínico moderado (escore entre 6 e 15 pontos) e fenótipo clínico assintomático (escore menor ou igual a 5 pontos). **Resultados:** Nove (69%) pacientes apresentaram valores médios de leucócitos superiores a $10 \times 10^9/L$, e seis (46%), valores médios de plaquetas acima de $400 \times 10^9/L$. Dentre os nove pacientes transfundidos, oito tinham sobrecarga de ferro e a concentração de ferritina sérica variou de 1.019 ng/mL a 5.941 ng/mL em cinco pacientes. Verificou-se fenótipo clínico assintomático em quatro (31%) pacientes, fenótipo clínico grave em cinco (38%) e fenótipo clínico moderado em outros quatro (31%). **Conclusão:** Estabelecer o fenótipo clínico individual da doença falciforme por meio da aplicação de escore pode ser importante para planejar o tratamento e explorar a relação risco-benefício das diferentes opções terapêuticas, tais como transfusão sanguínea regular, hidroxiureia ou transplante de células-tronco. Os pacientes com doença falciforme devem ser atendidos por equipe multidisciplinar comprometida e qualificada para direcionar a investigação, fazer acompanhamento clínico e laboratorial e promover assistência humanizada e integral, com respeito à individualidade de cada pessoa como ser biopsicossocial na tentativa de melhorar sua qualidade de vida.

37. TALASSEMIA EM PACIENTES COM DOENÇA FALCIFORME: IMPACTO NA DOENÇA CEREBROVASCULAR

Rodrigues DW^a, Pittella AMOL^b, Ribeiro LC^c, Sana DEM^b, Sudário LC^d, Júnior IOF^e, Cardoso LAB^d, Crispim RR^c, Faria DD^e, Maciel BAR^e

^a Hemocentro Regional, Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (HEMOMINAS), Juiz de Fora, MG, Brasil

^b Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Juiz de Fora, MG, Brasil

^c Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, MG, Brasil

^d Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (HEMOMINAS), Juiz de Fora, MG, Brasil

^e Universidade Antônio Carlos (UNIPAC), Juiz de Fora, MG, Brasil

Introdução: A α -talassemia e a doença falciforme são hemoglobinopatias não raramente herdadas em concomitância. A literatura científica aponta que há melhoria do quadro clínico referente à doença falciforme quando ocorre a coexistência dessas condições, o que demonstra, entre outros fatores, maior potencial de deformabilidade das hemácias e menores taxas de hemólise, dados importantes no que diz respeito às complicações. Algumas evidências científicas vêm demonstrando, também, menor incidência de doença cerebrovascular (DCV) nesses pacientes. **Objetivo:** Avaliar, em uma população de pacientes portadores de doença falciforme, a frequência de deleções para genes da α -globina e se tal característica resultou numa incidência significativamente menor de doença cerebrovascular durante o período de avaliação. **Material e métodos:** Foram avaliados 116 prontuários de crianças nascidas entre 1998 e 2007, portadoras de doença falciforme e cadastradas na Fundação HEMOMINAS de Juiz de Fora (MG), de agosto de 2010 a março de 2015. Os critérios de inclusão para a análise foram pacientes em controle, teste de diagnóstico por meio da triagem neonatal padronizada pelo Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (NUPAD), da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), e os critérios de exclusão foram diagnóstico por meio de outra metodologia. As variáveis analisadas foram a presença ou ausência da deleção para α -talassemia e a presença ou não de DCV definida por alteração na velocidade dos vasos cerebrais ao doppler transcran-

niano, ressonância magnética ou tomografia computadorizada de encéfalo alterados, acidente vascular cerebral isquêmico ou hemorrágico e isquemia cerebral transitória documentada. **Resultados:** Na amostra total, 60,1% foram diagnosticados com genótipo HbSS, 28,3% HbSC, 7,2% HbSBbeta, 3,6% HbSJ e 0,7% HbSD; 55,8% não eram portadores de α -talassemia, 21,7% eram portadores de uma deleção e 3,6% de duas deleções; 88,6% dos pacientes acometidos por ambas hemoglobinopatias não eram portadores de DCV. Já no grupo de pacientes com ausência de α -talassemia foram observados 81,6% sem DCV e 18,4% com DCV. O p valor foi de 0,353. **Conclusão:** Como demonstrado pelo p valor, não houve diferença significativa na incidência de DCV na comparação do grupo dos pacientes portadores de α -talassemia e doença falciforme com o daqueles portadores apenas de doença falciforme. Isso demonstra que, nesse grupo, a α -talassemia não foi um fator protetor para tal, como demonstram alguns estudos. **Palavras-chave:** Acidente vascular; Alfa-talassemia; Doença falciforme. **Financiamento:** Programa Pesquisa para o SUS (PPSUS)/Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

38. REDUÇÃO DE INFECÇÕES EM USUÁRIOS DE HIDROXIUREIA

Freitas SLF, Araujo OMR, Ivo ML

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, MS, Brasil

Introdução: A anemia falciforme é uma alteração genética, causada pela homozigose do gene β^s que codifica a hemoglobina S, que decorre da substituição do ácido glutâmico pela valina, na posição 6 da cadeia β globina, resulta em polimerização, culmina em dois processos fisiopatológicos: hemólise e vaso-oclusão. A ocorrência de episódios vaso-oclusivos, principalmente em pequenos vasos, representa o evento fisiopatológico decisivo na origem da maioria dos sinais e sintomas no quadro clínico dos pacientes com anemia falciforme, especificamente as infecções. A hidroxiureia (HU) é o único fármaco aprovado para prevenir episódios dolorosos em adultos clinicamente graves com anemia falciforme desde 1998, pela Food and Drug Administration. **Objetivo:** Estimar a ocorrência de infecções em geral e pulmonares em pacientes internados com anemia falciforme, antes e após o uso de HU. **Material e métodos:** Coorte feita com dados retrospectivos, em prontuários de pacientes com anemia falciforme em hospitais públicos de ensino de Campo Grande (MS), período 1980 a 2010. Foram incluídos os internados no mínimo com 24 horas de permanência hospitalar, de todas as idades, com diagnóstico confirmado por eletroforese de hemoglobina e com indicação para tratamento com HU. A estatística descritiva foi usada. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS, sob protocolo n° 1.822/2010. **Resultados:** Os 32 pacientes internados com anemia falciforme foram analisados entre os momentos antes e depois do uso de HU. Esses apresentaram: média de idade 25,65 \pm 11,92, tempo médio de exposição ao fármaco 6,0 \pm 2,8 anos, média de idade no momento da instituição da HU 19,0 \pm 11,0 anos, dose média inicial de 17,00 \pm 5,3 mg/kg/dia e final de 22,10 \pm 5,3 mg/kg/dia. Em relação às infecções totais (outras infecções e pneumonias) e ao uso de antibióticos, tiveram uma redução significativa das médias, após uso de HU. **Conclusão:** Os efeitos da HU sobre os parâmetros hematológicos provocam um aumento significativo no nível de HbF, bem como reduzem leucócitos e infecções. Dentre as infecções totais, as pneumonias apresentam redução significativa.

39. ESTUDO DA QUALIDADE DE VIDA RELACIONADA À SAÚDE EM ADULTOS COM DOENÇA FALCIFORME NO BRASIL NOS ÚLTIMOS 10 ANOS

Freitas SLF^a, Figueiredo MS^b, Ivo ML^a, Monteiro FF^c, Gerk MAS^d, Nunes CB^d

^a Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, MS, Brasil

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

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

^d Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, MS, Brasil

Introdução: Doença falciforme (DF) é o nome dado a um grupo de afecções genéticas nas quais há predominância da hemoglobina S (HbS), e suas formas mais frequentes são: a anemia falciforme (HbSS), a hemoglobinopatia SC (HbSC) e a $S\beta$ -talassemia ($S\beta$ -tal), que apresenta os subtipos HbS β -tal ou HbS β -tal. As doenças crônicas têm poder de impactar a vida do paciente e reduzir sua qualidade de vida (QV), e a compreensão de como essa pessoa com doença crônica percebe sua QV pode contribuir para o planejamento das intervenções dos profissionais de saúde. O termo qualidade de vida relacionada à saúde (QVRS) descreve a QV de uma população específica e examina o impacto exercido pelas doenças ou intervenções em saúde. Para a avaliação da QVRS são usados instrumentos criados para esse fim, que podem ser genéricos ou específicos. **Objetivo:** Identificar os artigos científicos provenientes de estudos desenvolvidos no Brasil para avaliar a QVRS em adultos com DF, publicados de 2004 a 2014, nos idiomas inglês, português e espanhol. **Material e métodos:** Revisão integrativa da literatura. **Resultados:** Com as associações de palavras-chave obteve-se um universo de 407 publicações; dessas, foram selecionados cinco artigos, todos com nível de evidência VI. Foram excluídos da amostra os artigos que tinham outro objeto de estudo (48,4%), com texto completo indisponível (25,3%), publicados antes de 2004 (16,5%), publicados em outros idiomas (3,4%), repetidos na mesma base de dados (2,7%) e desenvolvidos em outros países (2,5%). A maioria dos participantes era do sexo feminino (61,4%), solteira (69,76%) e com escolaridade de até nove anos (45,4%). A idade média dos entrevistados era de 30,2 anos. Observou-se que a DF provoca limitações na vida do paciente; a dor e as diversas interações levam à desestabilização física e emocional. Os aspectos clínicos da doença e os sociais influenciam negativamente a QV de indivíduos com DF. Os instrumentos de avaliação da QVRS usados nos estudos incluídos na amostra foram os genéricos: WHOQOL-bref e o SF-36 (*Medical Outcomes 36-Item Short-Form Health Survey*). Não foram encontrados estudos desenvolvidos com adultos com DF, no Brasil, em que tenha sido usado instrumento específico de avaliação da QVRS. **Conclusão:** Este trabalho demonstrou que o conceito de QV tem crescido paralelamente às inovações tecnológicas da área de saúde e ao aumento da sobrevida. Dos 407 artigos encontrados, cinco foram incluídos na amostra por atender os critérios de inclusão. Constatou-se que, até o período investigado, nenhum instrumento específico para avaliar a QVRS de adultos com DF havia sido traduzido para o português e adaptado à cultura brasileira. A DF causa limitações físicas e emocionais na vida do paciente e influencia negativamente na sua QVRS. Com isso, faz-se necessário que os profissionais de saúde estejam atentos às necessidades desses indivíduos, identifiquem essas limitações, para que possam planejar intervenções específicas que visem à melhoria de sua QVRS. **Agradecimento:** Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT).

40. CARACTERIZAÇÃO DE LIPOPROTEÍNAS E HEME CIRCULANTES EM DOENÇAS FALCIFORMES

Vendrame F^a, Saad STO^a, Costa FF^a, Fertrin KY^{a,b}

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

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

Nas anemias hemolíticas, a hemoglobina (Hb) é liberada na corrente sanguínea e sua oxidação forma heme livre, que pode ativar receptores tipo-toll 4 (TLR4) endoteliais e causar vaso-oclusão nas doenças falciformes (DF). Também já foi descrita intensa depleção de glicoproteínas especializadas na depuração de Hb e heme, a haptoglobina e hemopexina, no plasma de pacientes com DF. As lipoproteínas de alta densidade (HDL) e baixa densidade (LDL) também podem se ligar ao heme e agem como primeira linha de defesa contra a sua toxicidade. Ao interagir com LDL, o heme gera LDL oxidada (LDLox), que também é capaz de ativar TLR4. Nosso objetivo foi avaliar a importância das lipoproteínas como depuradores de heme, comparar pacientes com anemia falciforme (SS) e hemoglobinopatia SC (SC), tipos de DF com ritmo de hemólise diferentes. Foram coletadas amostras de sangue venoso de 83 pacientes (idade 18-68 anos, 44 do sexo feminino), 43 SS (12 sem tratamento com hidroxiureia - HU) e 40 SC, em estado estável, sem histórico de crise dolorosa, transfusão de sangue ou uso de hipolipemiantes nos últimos três meses anteriores à coleta. Sangue anticoagulado com EDTA foi usado para hemograma, e soro foi separado para medida de lactato desidrogenase

(LDH), colesterol total e HDL por métodos enzimáticos colorimétricos convencionais em sistema de automação modular Hitachi (Roche, Alemanha). LDL foi quantificada pela equação de Friedewald. LDLox, heme total e livre foram determinados por ensaios de ELISA comerciais. A análise estatística foi feita com programa SPSS v.21. Observamos níveis significativamente maiores de LDH e contagem de reticulócitos e menores de Hb em pacientes SS do que em SC ($p = 0,001$). A dosagem de heme total em pacientes SS em uso de HU (SSHU) foi maior do que em SC ($90 \pm 59 \mu\text{M}$ vs. $66 \pm 18 \mu\text{M}$, respectivamente, $p = 0,01$). Os níveis de colesterol total foram maiores nos pacientes SC do que em SS, 141 ± 28 vs. $107 \pm 20 \text{ mg/dL}$, respectivamente, $p = 0,01$. Não foram encontradas diferenças significativas nas medidas de LDL ($p = 0,10$), HDL ($p = 0,10$) ou LDLox ($p = 0,50$). Houve correlação negativa do colesterol total ($R = -0,33$; $p = 0,04$) e do HDL ($R = -0,49$; $p = 0,001$) com heme total em toda a população estudada, mas não com o heme livre. Os grupos também não diferiram nos níveis de heme livre ($p = 0,19$) e não houve correlação com os níveis de lipoproteínas. A correlação inversa entre heme e colesterol total, em especial ao HDL, sugere que as lipoproteínas podem contribuir para proteger o organismo contra a toxicidade do heme. É possível que a hipocolesterolemia nos pacientes SS seja explicada por um mecanismo em que a hemólise causa maior produção de heme capaz de oxidar as lipoproteínas, as quais são rapidamente fagocitadas por macrófagos. O heme livre foi semelhante entre grupos. Isso sugere que, fora de crise vaso-oclusiva, a concentração é relativamente constante e independente do ritmo de hemólise. Nossos dados apoiam a possibilidade de que a ativação do TLR4 por heme ligado a proteínas seja um determinante maior das diferenças na gravidade entre SS e SC do que os níveis de heme livre ou LDLox.

41. ANEMIA FALCIFORME E RETINOPATIA PROLIFERATIVA GRAVE COM EVOLUÇÃO FAVORÁVEL: RELATO DE CASO

Rodrigues DW^a, Pedreira FA^b, Martins LOM^c, Sudario LC^d, Júnior IOF^e, Cardoso LAB^d, Pittella AMOL^f, Costa MA^e, Oliveira CM^e

^a Hemocentro Regional, Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (HEMOMINAS), Juiz de Fora, MG, Brasil

^b Hospital de Olhos HCOE, Feira de Santana, BA, Brasil

^c Centro Especializado em Exames e Terapia Ocular (CEO), Juiz de Fora, MG, Brasil

^d Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (HEMOMINAS), Juiz de Fora, MG, Brasil

^e Universidade Antônio Carlos (UNIPAC), Juiz de Fora, MG, Brasil

^f Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Juiz de Fora, MG, Brasil

Introdução: A anemia falciforme (AF) é a desordem hematológica de caráter hereditário mais frequente no Brasil. As manifestações clínicas oculares da AF podem afetar conjuntiva, veia, retina, coróide, região periorbitária e câmara anterior do olho. As alterações oculares da AF são mais prevalentes na retina, que se caracterizam pela tortuosidade e dilatação das vênulas. A retinopatia falciforme pode ser dividida em não proliferativa e proliferativa. **Objetivo:** Analisar a importância da avaliação oftalmológica periódica nos pacientes com AF, as opções terapêuticas disponíveis e o uso da hidroxiureia (HU) e relatar caso de paciente com retinopatia proliferativa falciforme severa e baixa acuidade visual que evoluiu com resposta favorável após intervenção terapêutica. **Relato de caso:** Paciente de 46 anos, sexo feminino, negra, sabidamente portadora de AF e hipertensão arterial sistêmica, com controle no Serviço de Hemoglobinopatia da Fundação HEMOMINAS desde 1996. Evoluiu com queixas de borramento visual, dor aguda retrocular à esquerda e escotomas visuais com diminuição da acuidade. Foi encaminhada com urgência à oftalmologia, quando foi feito mapeamento de retina que evidenciou área de hemorragia vítrea em olho esquerdo; feita fotocoagulação e indicado angiofluoresceinografia. Apresentou deslocamento incompleto posterior do vítreo e hemorragia vítrea ténue no olho esquerdo, evoluiu com amaurose e confirmou o diagnóstico de retinopatia proliferativa falciforme. A paciente foi submetida a sessões de fotocoagulação/laserterapia com melhoria da acuidade visual e redução da dor. Foi decidido manter controle rigoroso com a oftalmologia e a introdução da HU conforme preconizado pelo protocolo do Ministério da Saúde. **Conclusão:** A integração entre a hematologia e oftalmologia é muito importante para os cui-

dados de prevenção, promoção e reabilitação dos pacientes com AF considerando que as complicações podem culminar com a redução da acuidade visual, muitas vezes irreversível. Por meio deste relato de caso é possível mostrar a efetividade do tratamento conjunto com laserterapia e HU em um paciente com AF que culminou com a recuperação importante das lesões retinianas. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)/Centro Especializado em Exames e Terapia Ocular (CEO).

42. HIDROXIUREIA: AVALIAÇÃO DA ADESÃO NA FUNDAÇÃO HEMOMINAS JUIZ DE FORA

Rodrigues DW^a, Sudário LC^b, Crispim RR^c, Ribeiro LC^c, Júnior IOF^d, Cardoso LAB^b, Maciel BAR^d, Sana DEM^e, Faria DD^e, Pittella AMOL^e

^a Hemocentro Regional, Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia (HEMOMINAS), Juiz de Fora, MG, Brasil

^b Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia (HEMOMINAS), Juiz de Fora, MG, Brasil

^c Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, MG, Brasil

^d Universidade Antonio Carlos (UNIPAC), Juiz de Fora, MG, Brasil

^e Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, Juiz de Fora, MG, Brasil

Introdução: A anemia falciforme (AF) é uma doença autossômica recessiva que resulta da mudança estrutural na molécula de hemoglobina, derivada da substituição do ácido glutâmico por valina na posição 6 do cromossomo 11 no gene da β -globina, e culmina na formação da hemoglobina S e consequente falcização frente à desoxigenação. Há aumento da viscosidade e adesão das células, o que leva à ocorrência de eventos vaso-oclusivos que aumentam a morbidade infantil. Diante desse quadro, a hidroxiureia (HU) apresenta-se como terapêutica farmacológica em ascensão. Um dos principais mecanismos de atuação consiste no aumento dos níveis de hemoglobina fetal, que auxiliam na redução da sintomatologia da doença. **Objetivo:** Caracterizar o perfil dos pacientes da Fundação HEMOMINAS em Juiz de Fora (JFO) e correlacionar a adesão à HU aos fatores socioeconômicos como renda familiar e nível de escolaridade paterna e materna. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo em 116 pacientes nascidos em Minas Gerais de 1998 a 2007 diagnosticados com doença falciforme por meio do Programa Estadual de Triagem Neonatal do Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico da Universidade Federal de Minas Gerais (PETN-NUPAD/UFMG) e que estão em acompanhamento na JFO. Foram incluídos os pacientes com diagnóstico pelo PETN-NUPAD-UFMG e que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Foram excluídos os pacientes com diagnóstico tardio e não definido por meio da triagem neonatal e aqueles em que houve falta de informações clínicas e laboratoriais. As informações foram retiradas dos prontuários médicos arquivados no ambulatório da JFO e lançadas no programa Excel (Microsoft Corporation®, USA). Para a análise estatística, foi feito o teste qui-quadrado, por meio do programa SPSS Statistics 14® (IBM, USA). **Resultados:** A análise dos 116 pacientes da JFO mostrou que 50,9% dos pacientes eram do sexo masculino; a média de idade ao fim do acompanhamento foi de 11,4 anos. A adesão à HU foi de 30,2%; 3,4% dos pacientes ainda estavam em programação para iniciar o uso e 3,4% não a usavam devido à recusa familiar. Não houve relato de indicação para terapia com HU em 62,9% dos pacientes. Os fatores socioeconômicos são moduladores da doença e podem exercer influência sobre a adesão à terapêutica da AF. Em relação ao uso da HU, observou-se que a escolaridade e a renda contribuíram para maior adesão: nas famílias em que o pai estudou cinco anos ou mais, a adesão foi de 55,9%, e nas famílias em que a mãe teve escolaridade alta, foi de 76,5%, enquanto nas famílias de escolaridade baixa, com anos ou menos de estudo, a adesão foi de 35,3% em relação à escolaridade paterna e de 20,6% quanto à escolaridade materna. Dos pacientes que usavam HU, 41,2% tinham renda familiar entre um e dois salários mínimos e 32,4% tinham renda de até um salário mínimo. **Conclusão:** O maior nível de informação dos pais pode colaborar para maior adesão, na medida em que facilita o entendimento das condições clínicas e terapêuticas desses pacientes. O Termo de Consentimento para o uso do HU foi um fator importante para a não assinatura e início do medicamento. Há necessidade de maior uso da HU, considerando os efeitos benéficos da droga que modulam a gravidade da doença. **Palavras-chave:** Anemia falciforme; Hidroxiureia; Fatores socioeconômicos; Terapêutica.

43. AVALIAÇÃO DOS BIOMARCADORES DE HEMÓLISE EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME EM ESTADO ESTACIONÁRIO: IMPACTO DO USO DA HIDROXIUREIA E DOS HAPLÓTIPOS DA BETA-GLOBINA S

Giffony PS, Machado CMG, Arruda ABL, Souza IP, Lemes RGP

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

A anemia falciforme (AF) é uma doença genética hematológica causada por uma mutação ocasional na cadeia beta, que gera uma hemoglobina anormal, a hemoglobina S (HbS), em homozigose. No estado desoxigenado, a HbS sofre polimerização, altera a forma da hemácia, compromete sua deformabilidade e função. A doença apresenta uma variabilidade clínica de causa multifatorial. A hemoglobina fetal (HbF) é considerada o principal modular clínico, também associado ao haplótipo do gene da beta-globina S (Bantu, Benin, Senegal, Camarões e Árabe-indiano). O haplótipo Bantu está associado ao pior prognóstico em relação aos demais haplótipos. O objetivo do estudo foi avaliar os marcadores de hemólise, reticulócitos, lactato desidrogenase (LDH), bilirrubinas, ácido úrico e metemoglobina (MetHb) nos pacientes com AF e verificar a influência do uso da hidroxiureia (HU) e dos haplótipos do gene da beta-globina S. O estudo foi do tipo transversal e analítico, composto por 74 pacientes adultos, 17 sem uso de HU e 57 em uso de HU, média de 20 mg/kg de peso corporal, com diagnóstico clínico e molecular de AF, acompanhados no ambulatório de Hematologia do Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC). Um grupo de 31 indivíduos saudáveis (HbAA) foi usado como controle. A dosagem de MetHb foi feita por método espectrofotométrico, LDH por método cinético e bilirrubina direta e indireta e ácido úrico por método colorimétrico e enzimático, respectivamente. Os dados do hemograma, as concentrações de HbF e da HbS foram obtidos dos prontuários médicos. A análise dos dados foi feita por meio do programa estatístico GraphPad Prism 5.0 com os testes de Kruskal-Wallis, Mann-Whitney e t pareado para a comparação das médias entre os grupos analisados. Foi considerado significativo $p < 0,05$. Pacientes com AF apresentaram aumento significativo de MetHb, LDH, bilirrubinas e reticulócitos quando comparados com indivíduos saudáveis. Pacientes com AF em uso de HU apresentaram uma diminuição significativa nos níveis de MetHb e LDH. Não foi observada associação entre os parâmetros de hemólise com os haplótipos da beta-globina S. Os resultados comprovam que a HU tem uma ação protetora no processo hemolítico crônico nos pacientes com AF. **Palavras-chave:** Anemia falciforme; Hemólise; Haplótipos; Hidroxiureia.

44. RECIDIVA APÓS REMISSÃO ESPONTÂNEA DE PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA TROMBÓTICA CONGÊNITA EM PRIMIGESTA NO SEGUNDO TRIMESTRE DE GESTAÇÃO

Lúcio DS, Cliquet MG, Pignatari JF, Korkes HA, Massucatto RM, Firmano IC

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

Introdução: Púrpura trombótica trombocitopênica (PTT), síndrome hemolítico-urêmica (SHU) ou síndromes de microangiopatia trombótica (SMT) descrevem doenças diversas com clínica e achados patológicos comuns, como anemia hemolítica microangiopática (esquízocitos no sangue) e trombocitopenia – com ou sem alterações neurológicas e renais – sem outra causa aparente. As SMT podem ser precipitadas por infecções, cirurgias ou gestação. Na gestação, a PTT congênita é a manifestação mais frequente. É causada por mutações no gene que codifica uma protease que cliva o fator von Willebrand (fVW) a ADAMTS13. **Relato de caso:** Primigesta, 18 anos, idade gestacional de 15 semanas e cinco dias, apresentava-se com fraqueza intensa havia 15 dias e diarreia não sangüinolenta havia seis dias. História de plaquetopenia desde a infância. Sem sangramentos, exantema, cefaleia, convulsões, dispneia ou uso de medicações. Investigação laboratorial revelou hemoglobina de 4,2 g/dL, com esquízocitos e reticulocitose, 13.000 plaquetas/mm³, DHL 2.014 U/L, PCR 62,4 mg/L, Coombs direto negativo. Foram feitas transfusões de hemácias e plaquetas e foi solicitada atividade da ADAMTS13. Apresentou elevação das plaquetas e normalização dos demais valores hematimétricos espontaneamente. Um mês após a alta hospitalar, retornou com quadro de fraqueza e edema de face e membros inferiores. Solicitada avaliação da hematologia, que acabou de receber resultado da atividade da ADAMTS13 que se revelou menor do que 5%, sem presença de autoanticorpos

anti-ADAMTS13. Confirmada a hipótese de PTT congênita. Indicada plasmáfereze e infusão de plasma na dose de 10 mL/kg a cada oito horas até feitura da plasmáfereze. Enquanto aguardava a feitura da plasmáfereze, protelada devido a plaquetopenia que dificultaria a passagem de cateter venoso central, a paciente evoluiu com parestesia em face e periferia de membros, fadiga, e os batimentos cardíacos fetais tornaram-se inaudíveis. O óbito fetal foi confirmado em ultrassonografia. Em relatos de internações anteriores, constam mais dois episódios de anemia hemolítica microangiopática e trombocitopenia – um aos 9 e outro aos 16 anos – com quadros semelhantes aos apresentados na gestação. Na primeira internação houve remissão espontânea, na segunda após a suspeita de PTT fez-se plasmáfereze, porém não foi solicitada a pesquisa da atividade da ADAMTS13. **Discussão:** Os principais fatores que contribuem para a ocorrência, ou recorrência, da PTT na gestação são o estado de hipercoagulabilidade e a deficiência progressiva de ADAMTS13 com o curso da gestação. A maior coorte prospectiva de casos de PTT na gestação concluiu que a gestação é um fator precipitante de PTT com risco de recorrências em novas gestações. A PTT congênita ocorre mais frequentemente nas gestações que a adquirida. O tratamento com reposição de ADAMTS13 e agentes antitrombóticos resultou, nas gestações subsequentes, em melhoria no crescimento fetal e histologia placentária, com ausência de novas perdas fetais. A espera pela pênitade clássica, para a suspeição do diagnóstico e introdução do tratamento, é imprudente e pode selar o prognóstico. A profilaxia com AAS em baixa dose e a terapêutica com infusão de plasma nas gestações futuras é recomendada e está associada a menor risco de recorrência e a melhor evolução da gestação.

45. SÍNDROME HEMOLÍTICO-URÊMICA ATÍPICA (SHUA): DESECHO CLÍNICO FAVORÁVEL COM A ASSOCIAÇÃO DE DIAGNÓSTICO PRECOCE E RÁPIDO ACESSO AO TRATAMENTO COM ECULIZUMABE

Vecina AFC^a, Goncalves MA^b, Assis JR^a, Santos EAD^b, Cliquet MG^a

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

^b Conjunto Hospitalar de Sorocaba (CHS), Sorocaba, SP, Brasil

Introdução: A síndrome hemolítico-urêmica atípica (SHUa) é uma doença rara, em que mutações genéticas causam a ativação crônica do sistema complemento, com manifestações de anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia e comprometimento renal. A atividade de ADAMTS13 acima de 5% a diferencia da púrpura trombocitopênica trombótica (PTT). O desfecho clínico é desfavorável, com até 50% dos casos que evoluem para insuficiência renal terminal (IRT) e 25% que vão a óbito durante a fase aguda. **Objetivo:** Relatar caso de paciente com diagnóstico de SHUa que evoluiu favoravelmente, graças à precocidade no diagnóstico e na introdução do tratamento com eculizumabe (anticorpo monoclonal direcionado contra a fração C5 do complemento). **Relato do caso:** Paciente de 16 anos, internada na UTI do Conjunto Hospitalar de Sorocaba (CHS) em 19/07/2014, no período puerperal, com quadro de anemia hemolítica microangiopática (Hb = 5,7 g/dL, esquízocitos = 9% e DHL = 3.620 U/L), plaquetopenia (plaquetas = 48.000/mm³) e insuficiência renal aguda (ureia = 236 mg/dL, creatinina = 10,2 mg/dL); iniciada hemodiálise e feita uma sessão de plasmáfereze. A atividade de ADAMTS13 (feita na Mayo Clinic), com resultado de 88%, confirmou o diagnóstico de SHUa e o tratamento com eculizumabe foi iniciado em 24/07. A paciente evoluiu com melhoria gradativa, obteve alta hospitalar, livre de diálise em 21/08. Seu último retorno ao ambulatório de hematologia do CHS foi em 15/06/15, assintomática, em uso quinzenal de eculizumabe, além de anti-hipertensivos, e exibiu Hb = 13,7 g/dL, plaquetas = 359.000/mm³, DHL = 124 U/L e creatinina = 0,7 mg/dL. **Conclusão:** A SHUa trata-se de microangiopatia trombótica crônica mediada pelo complemento que pode ter suas consequências catastróficas reduzidas e evitadas em longo prazo com o uso contínuo do eculizumabe.

46. ASSOCIAÇÃO DOS HAPLÓTIPOS S COM A OCORRÊNCIA DE COMPLICAÇÕES CLÍNICAS E CARACTERÍSTICAS LABORATORIAIS DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME PROVENIENTES DO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE

Fernandes TAAM^a, Bezerra CM^b, Alves JJP^b, Nascimento ANC^b, Serafim ESS^c, Lopes DR^d, Medeiros TMD^b, Sonati MF^e

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

- ^b Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN, Brasil
^c Hemocentro Dalton Barbosa Cunha (HEMONORTE), Natal, RN, Brasil
^d Laboratório Tércio Rosado, Natal, RN, Brasil
^e Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

A anemia falciforme apresenta uma heterogeneidade fenotípica substancial, e vários fatores, tanto genéticos quanto ambientais, contribuem para essa variabilidade. Dentre os fatores genéticos, os haplótipos β^s têm sido descritos como um dos mais importantes moduladores genéticos da doença. Diante disso, este estudo objetivou avaliar a associação dos haplótipos β^s com as características laboratoriais e ocorrência de complicações clínicas em pacientes com anemia falciforme provenientes do estado do Rio Grande do Norte. Foram analisados 109 indivíduos com anemia falciforme, não aparentados e acompanhados ambulatorialmente nos principais centros de referência para o tratamento de doenças hematológicas do Rio Grande do Norte. Cada indivíduo ou seu responsável legal foi previamente esclarecido quanto aos objetivos e procedimentos a serem adotados, e aos que aceitaram participar do estudo foi solicitada a assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Posteriormente, foi aplicado um questionário padronizado, destinado à obtenção de dados sociodemográficos e histórico clínico, e coletaram-se alíquotas de sangue periférico para a realização de análises hematológicas, bioquímicas e moleculares. No fim, foram analisados os prontuários arquivados nos centros nos quais esses pacientes eram acompanhados ambulatorialmente. As informações obtidas foram tabuladas em bancos de dados nos softwares Microsoft Excel (versão 2010) e SPSS (versão 20.0), de acesso exclusivo aos membros da pesquisa, seguidas pelas análises estatísticas adequadas. A análise dos haplótipos β^s revelou maior frequência do haplótipo República da África Central (CAR, 77%), seguido dos haplótipos Benin (BEN, 12%) e Camarões (CAM, 6%). Já as combinações de haplótipos mais comuns foram a CAR-CAR (61,5%), CAR-BEN (17,4%) e CAR-CAM (7,3%). A homozigose do haplótipo CAR esteve associada a maior incidência de retardo no crescimento ($p = 0,037$) e a menores valores de hemoglobina ($p = 0,021$) e hemácias ($p = 0,029$), quando comparados com as demais combinações de haplótipos. Nossos resultados sugerem que os haplótipos β^s parecem influenciar em algum grau a evolução clínica e/ou perfis laboratoriais do grupo de pacientes com anemia falciforme analisados. A ausência de associação significativa com a maioria das complicações clínicas investigadas pode ser reflexo da natureza multifatorial da doença e/ou da necessidade de análise de um número maior de pacientes. **Financiamento:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

47. FREQUÊNCIA DAS PRINCIPAIS COMPLICAÇÕES CLÍNICAS DE PACIENTES COM DOENÇAS FALCIFORMES PROVENIENTES DO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE

Fernandes TAAM^a, Bezerra CM^b, Alves JJP^b, Serafim ESS^c, Braga EES^c, Fernandes MZ^{b,d}, Medeiros TMD^b, Sonati MF^e

- ^a Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN), Natal, RN, Brasil
^b Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN, Brasil
^c Hemocentro Dalton Barbosa Cunha (HEMONORTE), Natal, RN, Brasil
^d Hospital Infantil Varela Santiago, Natal, RN, Brasil
^e Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

A doença falciforme é uma doença crônica, degenerativa e autointoxicante, afetando o paciente de um modo intenso e permanente. Suas complicações clínicas são numerosas e variam consideravelmente entre diferentes pacientes e, no mesmo paciente, ao longo do tempo, tanto em frequência quanto em gravidade. No entanto, poucos estudos foram feitos no Brasil sobre a incidência das manifestações clínicas da doença em diferentes faixas etárias. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo determinar a frequência das principais complicações clínicas apresentadas pelos pacientes com doenças falciformes provenientes do Estado do Rio Grande do Norte, de acordo com a faixa etária em que elas ocorreram. Foram analisados 155 indivíduos com doença falciforme, não aparentados e acompanhados ambulatorialmente nos principais centros de referência para o tratamento de doenças hematológicas do Rio Grande do Norte. Cada indivíduo ou seu responsável legal foi previamente esclarecido quanto aos objetivos e procedimentos a serem adotados, e aos que aceitaram participar do estudo foi solicitada a

assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Posteriormente, foi aplicado um questionário padronizado, destinado à obtenção de dados sociodemográficos e histórico clínico, e feita a análise dos prontuários arquivados nos centros nos quais esses pacientes eram acompanhados ambulatorialmente. As informações obtidas foram tabuladas em bancos de dados nos programas Microsoft Excel (versão 2010) e SPSS (versão 20.0), de acesso exclusivo aos membros da pesquisa. No fim, foram feitas as análises estatísticas adequadas. As complicações clínicas mais frequentemente relatadas durante a primeira infância (0-5 anos) dos pacientes analisados foram as infecções bacterianas graves (43,2%), a síndrome torácica aguda (17,0%) e o sequestro esplênico (16%). Após os 5 anos, a colelitíase apareceu como uma das complicações mais comuns (17,7% na faixa etária de 6-10 anos), com um aumento da sua incidência nas faixas etárias subsequentes. As outras complicações que se destacaram dos 6 aos 10 anos foram o déficit ponderal (10,1%) e o retardo no crescimento (7,6%). A partir dos 11 anos, as alterações cardiovasculares e o priapismo despontaram como eventos clínicos comuns, principalmente nas faixas etárias mais avançadas. A úlcera de perna começou a ganhar maior importância no grupo dos 16 aos 20 anos (8,0%) e se constituiu na complicação clínica mais frequente após os 30 anos (46,7%). Por sua vez, as alterações renais (20,0%) e a necrose óssea (20%) só aparecem entre os eventos mais comuns a partir dos 31 anos. Conclui-se, portanto, que a incidência das diferentes complicações clínicas variou significativamente entre as diferentes faixas etárias consideradas e seguiu o padrão geral descrito na literatura. **Financiamento:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

48. FENÓTIPOS DE HEMOGLOBINA ENCONTRADOS EM PACIENTES COM CONCENTRAÇÕES ELEVADAS DE HEMOGLOBINA FETAL NOS MUNICÍPIOS DE BARUERI E REGISTRO

Fernandes KR, Silva MMR, Araujo LJT, Santos RTM

Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A hemoglobina fetal (HbF) tem sua produção restrita às células F e ocorre predominantemente durante a gestação. Sua síntese decai drasticamente ao longo dos primeiros 6 meses de vida. Indivíduos adultos com concentração de HbF acima de 5% apresentam uma condição benigna conhecida como persistência hereditária de hemoglobina fetal (PHHF). **Objetivo:** Estudar os fenótipos de hemoglobina nos pacientes com aumento de HbF atendidos pelo Sistema Único de Saúde nos municípios de Barueri e Registro (SP) entre 2012 e 2013. **Material e métodos:** Foram selecionados 84 pacientes cuja amostra de sangue total foi destinada ao laboratório de hemoglobinopatias do Núcleo de Hematologia e Bioquímica do Instituto Adolfo Lutz, de janeiro de 2012 a dezembro de 2013, e que apresentaram concentração de HbF > 5% (métodos de Betcke e Singer). O diagnóstico de hemoglobinas variantes foi feito por meio de eletroforese de hemoglobinas em pH alcalino e ácido e testes complementares (falcização, resistência osmótica e pesquisa de HbH). **Resultados e discussão:** Dos 84 casos de pacientes com concentração de HbF > 5%, a maioria ($n = 64$) era maior de 1 ano, enquanto apenas 20 tinham idade inferior a 1 ano. Dentre os pacientes menores de 1 ano, o fenótipo AA foi o mais incidente – representou 50% dos fenótipos encontrados. Esse perfil pode ser fisiologicamente explicado, já que nos primeiros meses de vida a concentração elevada de HbF é normal e deve decair gradativamente. Outras hemoglobinas variantes também foram encontradas: AF (25%), AS (15%), AFS (5%) e SC (5%). As maiores concentrações de hemoglobina foram encontradas no fenótipo AFS (36,9%), seguida por AF (32,5%), AA (7,11%), SC (6,6%) e AS (5,9%). Com relação aos pacientes maiores de 1 ano, o fenótipo AA também foi o mais incidente, com 52%. A concentração de HbF nesse grupo foi baixa em relação aos demais fenótipos, o que sugere que apesar de mais incidente, provavelmente não determina sintomatologia. Outras hemoglobinas variantes encontradas nesse grupo foram SS (27%), AS (11%), AF (6%), SC (2%) e AFS (2%). As concentrações de HbF encontradas nos diferentes fenótipos de hemoglobinas variantes foram: AFS (17,5%), AF (12,7%), SS (10,68%), AS (8,48%), AA (7,87%) e SC (5,1%). Todos os fenótipos com HbS somam 42%. O aumento da HbF em pacientes homocigóticos ou heterocigóticos para HbS já é esclarecido, uma vez que a HbF é um importante fator de proteção contra fenômenos de falcização, devido à sua maior afinidade pelo oxigênio. Nesses casos, esses pacientes cursam com PHHF, caracterizada pela sín-

tese contínua da HbF em concentrações relativamente elevadas durante a vida adulta e ausência de alterações hematológicas. Além disso, deve-se levar em consideração que a concentração de HbF também pode ser regulada por genes e outros fatores, como leucemias, transplantes de medula óssea e induções químicas. **Conclusão:** O aumento da concentração de HbF em adultos pode estar associado à presença de hemoglobinas variantes clinicamente significativas como a HbS. Entretanto, quando encontrada isolada em fenótipos AA, torna-se relevante a investigação de outros fatores junto ao paciente.

49. INCIDÊNCIA DE HEMOGLOBINOPATIAS ENTRE PACIENTES ANÊMICOS NOS MUNICÍPIOS DE BARUERI E REGISTRO

Silva MMR, Fernandes KR, Araujo LJT, Santos RTM

Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Hemoglobinopatias são causadas por alterações das hemoglobinas, que ocorrem por distúrbios hereditários recessivos e com alta taxa de morbidade no mundo. Estão entre as doenças genéticas mais frequentes na população a hemoglobina falciforme (HbS), a hemoglobina C (HbC) e as talassemias, que representam um importante problema na saúde pública. Aproximadamente 15% da população é portadora assintomática de formas de anemias hereditárias. Milhões de pessoas em todo o mundo carregam hemoglobinas anormais que têm consequências que variam de quase imperceptíveis a letais. **Objetivo:** Avaliar a incidência de hemoglobinopatias em pacientes atendidos pelo Sistema Único de Saúde nos municípios de Barueri e Registro (SP) com quadro clínico de anemia a esclarecer. **Material e métodos:** Foram selecionados 685 pacientes entre 1 e 80 anos de ambos os gêneros, com quadro clínico de anemia a esclarecer, cuja amostra de sangue foi encaminhada para o Laboratório de Hemoglobinopatias do Núcleo de Hematologia e Bioquímica do Instituto Adolfo Lutz, de janeiro de 2012 a abril de 2015. O diagnóstico de hemoglobinas variantes foi feito por meio de eletroforese de hemoglobinas em pH alcalino e ácido e testes complementares (falcização, resistência osmótica e pesquisa de HbH). **Resultados e discussão:** Dos 685 casos de anemia a esclarecer, 131 (19%) foram diagnosticados como portadores de hemoglobinas variantes. A maioria dos pacientes (76%) era heterozigoto para hemoglobina S (n = 99), enquanto 11% tinham o fenótipo SS (n = 14). Esse achado corrobora os resultados de outros estudos epidemiológicos e mostra que a HbS é a hemoglobina variante mais incidente no Brasil. Sua presença dentre os fenótipos encontrados somou 89% e provou a importância do seu diagnóstico mesmo em portadores assintomáticos. Sua alta incidência aumenta o risco de casais heterozigóticos gerarem indivíduos homozigóticos, com a doença falciforme, que eventualmente cursa com drepanócitos, aumento da viscosidade sanguínea, crise vaso-oclusiva dolorosa, formação de trombos e infarto. A HbC apareceu em 10% (n = 14) dos resultados, 8% (n = 10) em heterozigose (HbAC), que normalmente cursa assintomática. A homozigose (HbCC) causa anemia de leve a moderada e representou apenas 1% dos casos (n = 2). O fenótipo HbSC, que, apesar de menos incidente, pode causar anemia de moderada a grave, foi também identificado em 1% dos casos (n = 2). A persistência hereditária de hemoglobina fetal apareceu em 3% dos casos (n = 4). Essa condição é caracterizada pela síntese contínua da hemoglobina fetal (HbF) na vida adulta, porém não apresenta malefício para o portador. **Conclusão:** Diante da expressiva incidência de hemoglobinas variantes, seu diagnóstico precoce tem um papel essencial na abordagem dessas doenças. Portadores, mesmo sintomáticos, podem gerar prole homozigótica ou com combinações de hemoglobinas variantes, de grande impacto clínico. Dessa forma, o diagnóstico de hemoglobinas variantes é importante também no aconselhamento genético, cujo objetivo básico é o de permitir às famílias a tomada de decisões conscientes.

50. ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE POR ANTICORPOS IGG E IGM EM ADOLESCENTE

Alves CP^a, Bueno ACC^a, Alves LV^a, Machado LC^b, Souza M^b

^a Universidade Federal do Amapá (UFAP), Macapá, AP, Brasil

^b Instituto de Hematologia e Hemoterapia do Amapá (HEMOAP), Macapá, AP, Brasil

Introdução: A anemia hemolítica autoimune (AHA) consiste na destruição precoce das hemácias, devido à fixação de complemento ou imunoglobulinas em sua superfície. É rara em crianças e adolescentes. Os pacientes geralmente apresentam reações sorológicas positivas, porém sem repercussão clínica de AHA. **Objetivo:** Relatar o caso de uma paciente com AHA por anticorpos IgM e IgG responsiva a corticoide. **Relato de caso:** Paciente M.J.S.C, 15 anos, sexo feminino, parda, estudante, procedente de Afuá (PA). Há dois anos de entrada no Hospital de Emergências (HE) de Macapá com quadro de anemia hemolítica grave a esclarecer e descompensação hemodinâmica caracterizada por cansaço, colúria, dispneia e câibras. Ao exame físico, apresentava esplenomegalia, palidez súbita e icterícia, e foi encaminhada à consulta com hematologista. O hemograma evidenciou anemia macrocítica e aumento do RDW (20%). Foi descartada a presença de doença autoimune por meio de pesquisa de anticorpos monoclonais. Eletroforese de hemoglobina com proporções normais; DHL: 369 U/L; haptoglobina: 7,3 mg/dL; ferritina: 8,0 ng/mL, ferro sérico: 78,2 µg/dL, saturação transferrina: 24%. A positividade dos testes de Coombs direto (1/512) e indireto (1/16) e DC-Screening com a presença de IgM, IgG, C3c e C3D, por meio de pesquisa com classes de anticorpos por geocentrifugação em cartão de geotest, confirmaram o diagnóstico. Então, iniciou-se tratamento com prednisona oral 50 mg/dia, ácido fólico e vitamina B12, com importante melhora clínica e laboratorial após oito semanas, quando a prednisona foi suspensa. Persistiu palidez cutânea e hemoglobina abaixo de 10 mg/dL. Necessitou reintrodução do corticoide após dois meses devido a intensa palidez e icterícia associadas à reticulocitose e ao aumento de bilirrubina indireta, e apresentou bom resultado. Entretanto, evoluiu em abril de 2015 com quadro persistente de colúria, palidez, icterícia e adinamia com duração de um mês, e recebeu novo tratamento com metilprednisolona, com dose máxima de corticoide de 70 mg/dia. Atualmente, está em processo pré-operatório para feitura de esplenectomia. **Conclusão:** Além dos achados clínicos, os resultados laboratoriais exercem papel importante na suspeição e no diagnóstico da AHA. Geralmente, encontram-se níveis aumentados de DHL, hiperbilirrubinemia indireta, níveis diminuídos de haptoglobina e reticulocitose. De modo geral, devem-se evitar transfusões sanguíneas, pelo risco de formação de aloanticorpos e exarcebação da hemólise, e a anemia deve ser tratada apenas se for sintomática.

51. PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA TROMBÓTICA: UMA ABORDAGEM TERAPÊUTICA

Pacheco G, Oliveira AP, Costa ACB, Araújo S, Alencar MS, Lima EBS, Moita LA, Pacífico DM, Silva FRP, Souza LKM

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

Introdução: A púrpura trombocitopênica trombótica (PTT) é uma forma rara e potencialmente letal de microangiopatia trombótica. O seu diagnóstico e tratamento devem ser feitos de forma precoce, a fim de se obter um melhor prognóstico para o portador. A PTT caracteriza-se por anemia hemolítica e trombocitopenia. A doença geralmente é decorrente de alterações na enzima ADAMTS13, uma metaloprotease que é responsável pela clivagem do fator von Willebrand. Sem a clivagem desse fator, ocorre agregação plaquetária com formação de trombos de fibrina intravascular, que resulta na isquemia de vários órgãos. Quando não tratada precocemente, a PTT pode apresentar taxa de mortalidade superior a 90% e é quatro vezes mais frequente em mulheres, predominantemente jovens. **Objetivo:** Abordar os principais métodos terapêuticos usados no tratamento da PTT, assim como elucidar a importância do diagnóstico precoce para o bom prognóstico do paciente. **Material e métodos:** Foi feita uma revisão bibliográfica com acesso nas bases de dados LILACS, PubMed e MEDLINE, de 2010 a 2015, com o uso dos descritores “Thrombotic Thrombocytopenic Purpura”, “Von Willebrand Factor” e “Thrombotic Microangiopathy”. **Resultados:** De acordo com a literatura, as principais manifestações clínicas da PTT incluem: distúrbios neurológicos flutuantes (> 70%) e febre (30-40%), raramente insuficiência renal. Nesse sentido, o diagnóstico precoce da doença é de fundamental importância para reduzir a morbidade, a quantidade de processos invasivos e para melhorar a longevidade dos seus portadores. No caso de suspeita clínica, pela presença de sintomas neurológicos e púrpura, mais ainda se houver febre, o médico deve solicitar o hemograma com pesquisa de eritrócitos fragmentados. A depender da gravidade das crises, o tratamento pode variar desde o uso de medicamentos – como rituximabe – à feitura de plasmáfereze e esplenectomia preventiva. Observou-se que o tratamento de início imediato, com plasmáfereze intensiva, reduziu a mortalidade de > 90% para

< 10%. Entretanto, existe uma série de dificuldades relacionadas ao diagnóstico precoce da PTT. Os exames laboratoriais de rotina são de fundamental importância para a detecção da PTT. No entanto, essa patologia pode ser facilmente confundida com a síndrome hemolítico-urêmica, e torna-se necessário o diagnóstico diferencial. **Conclusão:** É importante que os profissionais da saúde saibam reconhecer rapidamente os sintomas da doença, especialmente em casos de emergência, para diferenciá-la de enfermidades com sintomatologia semelhante, uma vez que essa patologia tem elevada mortalidade quando não é devidamente tratada.

52. RELAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO 1772C/T (HIF1A) E OS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE HIF1 EM PESSOAS COM ANEMIA FALCIFORME E HAPLÓTIPO BANTU

Torres LS^a, Okumura JV^a, Belini-Júnior E^a, Mímura KKO^b, Oliveira RG^a, Nascimento PP^a, Oliani SM^b, Lobo CLC^c, Bonini-Domingos CR^a

^a Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas, Departamento de Biologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, SP, Brasil

^b Laboratório de Imunomorfologia, Departamento de Biologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, SP, Brasil

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

Introdução: A concentração basal de hemoglobina fetal (HbF) e a herança de haplótipos da beta-globina são fatores moduladores da expressão fenotípica da anemia falciforme (AF). Nesse contexto, o haplótipo Bantu é o que apresenta pior prognóstico, está relacionado com baixas concentrações de HbF e pode agravar os processos clínicos da doença, como inflamação e hipóxia tecidual. O fator de transcrição 1-alfa induzido por hipóxia (HIF1 α) controla processos fisiológicos relacionados à homeostase do oxigênio e é um potencial marcador de hipóxia. Seus níveis plasmáticos podem ser influenciados por polimorfismos genéticos, como o 1772C/T (rs11549465), em que o alelo T aumenta a transcrição gênica e proporciona maiores níveis do fator circulante. **Objetivo:** Analisar os níveis plasmáticos do HIF1 α em pessoas com AF e haplótipo Bantu e a influência do polimorfismo 1772C/T sobre esses valores. **Material e métodos:** Foram avaliadas 54 amostras de sangue periférico de pessoas com AF com haplótipo Bantu, entre 11 e 52 anos e média de 26,0 \pm 11,8 anos, de ambos os sexos. O grupo controle foi composto por 58 indivíduos sem hemoglobinopatias (HbAA), de ambos os sexos, entre 18 e 62 anos e média de 28,9 \pm 10,3 anos. O genótipo HbSS foi investigado por eletroforese de hemoglobinas em pH alcalino e ácido e quantificação das frações de hemoglobinas por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). A confirmação genotípica foi feita por PCR-RFLP. O haplótipo foi definido pela análise molecular de seis sítios polimórficos no cluster da beta-globina 5' γ^c (Xmn I), γ^c (Hind III), γ^a (Hind III), $\psi\beta$ (Hinc II), 3' $\psi\beta$ (Hinc II) e 5' β (Hinf I). As dosagens de HIF1 α plasmático foram feitas por imunensaio ELISA e o polimorfismo 1772C/T no gene HIF1A foi rastreado por PCR-RFLP. **Resultados:** Das 54 amostras com AF avaliadas, 16 (29,6%) apresentaram a combinação para o haplótipo Bantu em um dos cromossomos (Bantu/-) e 38 (70,4%) apresentaram o haplótipo Bantu nos dois cromossomos (Bantu/Bantu). Os valores de HbF (%) diferiram entre os dois grupos: foram maiores em Bantu/- (9,1 \pm 1,4) do que em Bantu/Bantu (6,3 \pm 0,7) (p = 0,04). No grupo controle, os valores médios de HbF (%) foram de 0,3 \pm 0,3. Os níveis plasmáticos de HIF1 α foram mais elevados no grupo com AF (341,5 \pm 15,4 pg/mL) do que no grupo controle (293,2 \pm 12,6 pg/mL) (p = 0,01), mas não diferiram entre os indivíduos Bantu/- (340,6 \pm 24,2 pg/mL) e Bantu/Bantu (341,9 \pm 19,6 pg/mL) (p = 0,86). Com relação à influência do polimorfismo 1772C/T, observamos elevação nos níveis plasmáticos de HIF1 α na presença do alelo mutante T, em relação ao genótipo selvagem, no grupo controle (344,5 \pm 20,6 pg/mL para CT+TT e 274,2 \pm 14,6 pg/mL para CC) (p = 0,01). No entanto, não observamos essa relação nos indivíduos com HbSS (p = 0,80), fossem eles Bantu/- (p = 0,25) ou Bantu/Bantu (p = 0,40). **Conclusão:** Os níveis plasmáticos elevados de HIF1 α na AF indicam hipóxia tecidual, mas não estão relacionados à herança do polimorfismo 1772C/T, como no grupo controle. A ausência de influência de variantes genéticas isoladas nos níveis de HIF1 α circulantes reflete a complexidade da doença e de vias envolvidas na sua fisiopatologia. **Palavras-chave:** Doença falciforme; Hipóxia; HIF1A; Beta-globina. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) n°2012/19653-1; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de

Nível Superior (CAPES); Fundação Pró-Instituto de Hematologia (FUNDARJ) n°408/10.

53. SÍNDROME HEMOLÍTICO-URÊMICA: SINTOMAS E TRATAMENTO – UMA ABORDAGEM ATUAL

Moita LA, Costa ACB, Oliveira AP, Araújo S, Pacheco G, Lima EBS, Alencar MS, Silva FRP, Pacifico DM, Souza LKM

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

Introdução: A síndrome hemolítico-urêmica (SHU) é uma das formas mais comuns de manifestação fenotípica das microangiopatias trombóticas. É caracterizada por falência renal, anemia hemolítica e trombocitopenia. A forma mais comum apresenta sintomas característicos associados à diarreia e é causada por uma infecção anterior por *Escherichia coli* produtora de Shigatoxina ou por *Shigella dysenteriae*, que têm múltiplos fatores de virulência suficientes para romper a inércia da mucosa intestinal e penetrar na corrente sanguínea. Quando não diagnosticada e tratada precocemente, a doença pode acarretar problemas renais graves. Além disso, é responsável por cerca de 12% de óbitos nos casos diagnosticados e prevalentemente mais grave em crianças. **Objetivo:** Esclarecer a importância de reconhecer precocemente a SHU causada por *E. coli* e *S. dysenteriae* para que o tratamento se faça antes do estabelecimento de sequelas renais graves. **Material e métodos:** Estudo feito a partir da revisão de artigos retirados das bases de dados PubMed, LILACS e MEDLINE, publicados de 2005 a 2015, que abordavam o tema. Fez-se a análise desses e a avaliação do conceito, descrição dos sintomas mais relatados, diagnóstico clínico e tratamentos mais usados na atualidade. **Resultados:** A SHU pode ser causada por infecções bacterianas e virais, mas também pode ser desencadeada por doenças autoimunes, por drogas ou por alterações genéticas. Além disso, a doença também pode ocorrer durante a gravidez ou no pós-parto. Os sintomas iniciais da doença são oligúria ou anúria, edema generalizado e palidez. A existência ou não de sequelas varia de acordo com a gravidade do quadro renal na fase aguda da SHU, que é representada pela duração da anúria. O diagnóstico da SHU se dá inicialmente pela identificação das toxinas associadas na superfície de leucócitos polimorfonucleares, uma vez que normalmente não são encontradas toxinas livres no sangue dos pacientes. Além disso, são feitas coletas de fezes, testadas especificamente para *E. coli*, pelo teste da reação em cadeia da polimerase (PCR). Dessa forma, o tratamento precoce é de extrema importância para garantir a redução da morbidade do paciente. Atualmente, o tratamento da SHU associada à diarreia consiste na reposição de água e eletrólitos, além do uso de hemodialise, responsável por minimizar as taxas de mortalidade. **Conclusão:** Os profissionais da saúde devem ser capazes de diagnosticar de forma precoce a SHU, visto que as taxas de mortalidade e de morbidade e a existência de sequelas estão diretamente associadas à rapidez do diagnóstico e ao tratamento adequado.

54. HYDROXYUREA EFFECT ON THE PRODUCTION OF HIF-ALPHA BY HUVEC CELLS STIMULATED WITH HEME

Guarda CC^{a,b}, Santiago RP^{a,b}, Pitanga TN^a, Fiuza LM^b, Santana SS^{a,b}, Zanette DL^a, Borges VM^{a,b}, Goncalves MS^{a,b}

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

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

Sickle cell anemia (SCA) is a hemolytic disease where large amounts of heme are released, and often the heme-scavenger mechanisms are overwhelmed. Heme is a pro-inflammatory and immunomodulatory molecule capable of activate different cell types, and contributes to SCA pathophysiology. Hypoxia-inducible factors (HIF) are transcriptional factors present in endothelial cells responsible for the control of genes involved in glucose metabolism, iron transport, and angiogenesis, and can participate in the endothelial dysfunction of SCD. The aim of this study was evaluate the production of HIF-alpha by endothelial cells challenged with heme and treated with hydroxyurea (HU), the only approved pharmacological treatment for sickle cell anemia, for better understanding of vasculopathy mechanisms. The HUVEC cells received stimuli with increasing concentrations of heme (30, 50, and 70 μ M) and were treated with increasing concentrations of HU (50, 100, and 200 μ M). HIF-alpha production was evaluated by ELFA. HUVEC cells were incubated with

stimuli and/or treatment overnight. The results show that heme alone increases the production of HIF-alpha by HUVEC cells when higher concentrations were used (50 μ M and 70 μ M induced $2,775.5 \pm 192.5$ and $4,351 \pm 1,109$ RFU, respectively) compared with the cells only in culture medium ($1,082 \pm 170$ RFU, $p < 0.01$). HU alone decreases the HIF-alpha production by HUVEC cells compared with the cells only in culture medium ($p < 0.05$). When cells were stimulated with heme and treated with HU, the higher concentrations of HU (100 μ M and 200 μ M) decrease the HIF-alpha production by the cells ($1,877 \pm 15$ and $2,505 \pm 234$ RFU, respectively; $p < 0.01$ and $p < 0.05$, respectively). This result is in agreement with another study of inhibitory effect of HU in angiogenesis. However, further studies are necessary regarding inflammation in SCA.

55. EVALUATION OF SIMVASTATIN EFFECT ON IN VITRO ENDOTHELIAL DYSFUNCTION OF SICKLE CELL DISEASE

Guarda CC^{a,b}, Santiago RP^{a,b}, Pitanga TN^a, Fiuza LM^b, Santana SS^{a,b}, Zanette DL^a, Borges VM^{a,b}, Goncalves MS^{a,b}

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

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

Vascular complications are frequent in sickle cell disease (SCD), and one of the main pathophysiological features is chronic endothelial activation with endothelial dysfunction. Decrease of nitric oxide (NO) bioavailability is caused by hemolytic events, which disrupt in the vasoconstrictor/vasodilator balance, with release of hemoglobin, arginase, and heme from the red blood cells. Endothelial cells produce NO from endothelial-nitric oxide synthase (eNOS). The physiopathology of the vascular complications in SCD is similar to that of atherosclerosis, when constant endothelial activation, proliferative vasculopathy, and hypoxia-reperfusion injury are present. The principal pharmacological approach to treat atherosclerosis is to promote the reduction of plasmatic cholesterol by using statins that have anti-inflammatory properties, reducing the expression of adhesion molecules and leukocyte chemotaxis. Thus, this study investigated the effect of simvastatin in the production of eNOS enzyme in HUVEC cells stimulated with heme and treated with the lipid-lowering drug. The cells were stimulated with high concentrations of heme and treated with increasing concentrations of simvastatin. Production of eNOS was evaluated with Quantikine Human eNOS from R&D Systems, according to the manufacturer's protocol. The enzyme production was increased by all heme concentrations alone (30 μ M, 50 μ M, and 70 μ M), inducing 355.07 ± 26.01 , 518.31 ± 126.04 , and 251.07 ± 54.23 pg/mL, respectively ($p < 0.01$, $p < 0.01$, $p < 0.05$, respectively). When the cells were stimulated with heme and treated with simvastatin, eNOS production was reduced by the lowest concentrations of simvastatin used (0.1 μ M), which induced 21.89 ± 1.84 and 34.86 ± 23.05 pg/mL, and 1 μ M of simvastatin induced 140.31 ± 26.50 pg/mL ($p < 0.01$). The highest simvastatin concentration tested did not decrease eNOS production. It is suggested that simvastatin may have inhibitory effects on endothelial cells, and does not contribute to improvement in endothelial dysfunction by upregulating eNOS production. Its anti-inflammatory effect on vascular endothelial cells may be due to a different pathway.

56. COMPARAÇÃO DO PERFIL HEMOLÍTICO NA ANEMIA FALCIFORME, ESFEROCITOSE HEREDITÁRIA E HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA

Fabris FCZ, Leonardo FC, Silveira AA, Teles LI, Junior WAF, Fertrin KY, Saad STO, Costa FF, Zorzetto NC, Almeida CB

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

Introdução: Anemia falciforme (AF), esferocitose hereditária (EH) e hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) apresentam recorrentes eventos hemolíticos. Em situações de hemólise, a hemoglobina (Hb) e o grupamento heme são liberados no plasma e resultam em depleção do óxido nítrico, com consequente modificação da homeostase vascular. Embora essas doenças apresentem sintomas particulares, há indícios de que compartilhem complicações geradas pela hemólise. Todavia, são escassos os estudos que investigam características do perfil hemolítico nessas doenças. **Objetivo:** Comparar o perfil hemolítico em pacientes com AF e AF em uso de hidroxiureia (AFHU), EH e EH esplenectomizados (EH es-

plen) e HPN, por meio da quantificação de biomarcadores hemolíticos. **Material e métodos:** Os níveis plasmáticos de Hb livre (HbL) e heme foram quantificados por ensaio colorimétrico. O número de reticulócitos e o hemograma foram feitos com a contagem automatizada de células, e os níveis de bilirrubina total (BT) e indireta (BI) por método colorimétrico em sistema de automação modular. Foram coletadas amostras de pacientes e indivíduos saudáveis (CONT) do Centro de Hematologia e Hemoterapia da UNICAMP. **Resultados:** O hemograma indica valores significativamente reduzidos de células vermelhas em pacientes com AF ($2,7 \pm 3,0 \times 10^6/\mu\text{L}$; $n = 17$; $p < 0,01$) e AFHU ($2,4 \pm 2,6 \times 10^6/\mu\text{L}$; $n = 12$; $p < 0,001$) em relação ao grupo CONT ($5,0 \pm 5,1 \times 10^6/\mu\text{L}$; $n = 12$); esses mesmos grupos apresentaram níveis reduzidos de Hb em relação ao grupo CONT (dados não apresentados). A contagem de reticulócitos apresentou-se significativamente elevada nos grupos AF ($16,4 \pm 18,0\%$; $n = 8$; $p < 0,001$), AFHU ($11,9 \pm 12,0\%$; $n = 17$; $p < 0,001$) e EH ($7,6 \pm 8,0\%$; $n = 11$, $p < 0,01$) comparados ao CONT ($2,0 \pm 2,0\%$; $n = 11$). Além disso, pacientes com AF ($2,9 \pm 3,8$ mg/dL; $n = 6$; $p < 0,001$), AFHU ($2,0 \pm 2,2$ mg/dL; $n = 17$; $p < 0,001$) e EH ($2,3 \pm 3,0$ mg/dL; $n = 8$; $p < 0,001$) apresentaram níveis elevados de BT quando comparados com o grupo CONT ($0,4 \pm 0,4$ mg/dL; $n = 9$). Dados semelhantes foram encontrados nos níveis de BI (dados não apresentados). Pacientes AF ($57,5 \pm 68,0$ μM ; $n = 8$; $p < 0,05$) e AFHU ($47,8 \pm 50$ μM ; $n = 17$; $p < 0,05$) demonstram níveis elevados de heme em relação ao grupo CONT ($24,4 \pm 26,0$ μM ; $n = 12$). Nos grupos AF e AFHU também apresentaram níveis elevados de HbL (AF $0,28 \pm 0,33$ g/dL; $n = 8$; AFHU $0,3 \pm 0,36$ g/dL; $n = 17$), quando comparados com o grupo CONT ($0,2 \pm 0,21$ g/dL; $n = 12$); porém, apenas o aumento no grupo AFHU foi estatisticamente significativo ($p < 0,05$). **Conclusão:** Situações de hemólise intensa resultam em eritropoiese ineficaz e acúmulo de reticulócitos no sangue periférico. Em nosso estudo, os níveis elevados de heme e HbL nos grupos AF e AFHU reforçam a hipótese da presença da hemólise intravascular na AF. O aumento do catabolismo do grupo heme, gerado pela hemólise, resulta no aumento dos níveis de bilirrubina, presente nos grupos AF, AFHU e EH. Tal fato pode ser uma evidência da gravidade do processo hemolítico nessas doenças. Interessantemente, não foi encontrado um aumento significativo do nível de bilirrubina no grupo EH esplen. Isso sugere que a esplenectomia possa ser uma estratégia para diminuir a hemólise na EH. Acredita-se que a HPN apresenta eventos frequentes de hemólise intravascular. No entanto, nossos resultados apontam para processos inflamatórios mais brandos em nossa população de pacientes, com índices plasmáticos de marcadores de hemólise semelhantes aos do CONT.

57. INTERAÇÃO ENTRE HEMOGLOBINA S EM HETEROZIGOSE E MUTANTE DE CADEIA ALFA, MIGRANDO NA POSIÇÃO DE HEMOGLOBINA C: RELATO DE CASO

Chaves NA^a, Nascimento PP^a, Oliveira RG^a, Torres LS^a, Silva DGH^a, Belini-Junior E^a, Pimentel H^b, Amorim T^b, Andrade P^b, Bonini-Domingos CR^a

^a Departamento de Biologia, Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas (LHGDH), Universidade Estadual Paulista (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brasil

^b Serviço de Referência em Triagem Neonatal, Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE), Campo Grande, MS, Brasil

As hemoglobinas (Hb) variantes são resultantes de mudanças na sequência de aminoácidos das cadeias alfa, beta, delta ou gama e conferem características eletroforéticas e cromatográficas próprias a essa molécula formada. Essas alterações podem ser consequências de deleções, inserções e/ou mutações de ponto. Devido ao processo de miscigenação na população brasileira, comumente são encontradas interações entre Hb variantes em um mesmo núcleo familiar. A HbS é a variante mais frequente na população brasileira, resultado de uma mutação ocasional, responsável por modificações na estabilidade e solubilidade da molécula de Hb. Essas modificações na estrutura da molécula levam à falcização do eritrócito, quando há baixa tensão de oxigênio, acidose e desidratação. Nosso objetivo foi relatar a associação entre a dupla heterozigose de HbS e mutante de cadeia alfa em um núcleo familiar, por meio de informações da triagem neonatal. Avaliamos o perfil hemoglobínico de três indivíduos de uma mesma família – mãe (20 anos), pai (21 anos) e filho (1 ano) – a partir do diagnóstico inconclusivo da criança feito pela triagem neonatal, provenientes de Salvador (BA). Para avaliação do perfil de Hb, foram feitos testes clássicos de diagnóstico laboratorial: eletroforese de Hb em pH alcalino (pH 8,6) e ácido (pH 6,2), eletroforese de cadeias glóbi-

nicas (pH 8,6) e análise cromatográfica (HPLC) pelo equipamento automatizado Ultra 2 (Trinity Biotech) com o kit de análise Resolution. Posteriormente, fizeram-se testes moleculares para identificação do genótipo. A mãe apresentou perfil de HbAA em todos os testes. Nas eletroforeses de Hb em pH alcalino e ácido, a amostra do pai apresentou migração eletroforética nas posições de HbS, HbA e HbC e assumiu um perfil de HbASC. Considerando que as HbS e HbC são mutantes de cadeia beta, esse perfil apresentado seria incompatível com herança de dois alelos beta-globina. A eletroforese de globina em pH alcalino mostrou a presença de duas cadeias mutantes, uma alfa e outra beta ($\alpha^A\alpha^M/\beta^A\beta^M$). O cromatograma exibiu um perfil de HbA (35,8%), uma fração em RRT/S 0,95 com 32,6% sinalizada como HbD Los Angeles e duas outras frações, RRT/S 0,99 com 10,7% e RRT/S 1,12 com 14,7%. O filho apresentou perfil de Hb similar ao paterno para todos os testes feitos. A partir das suspeitas de HbS, HbC e HbD nas amostras do pai e do filho, fizemos análise molecular para identificação dessas Hb. A pesquisa das mutações PCR/RFLP mostrou ausência das mutações para HbS e HbC e presença, em heterozigose, para HbS. Esses resultados indicam que as amostras avaliadas apresentam um alelo beta para HbS e outro para HbA. Com a presença da cadeia alfa mutante pela eletroforese de globinas, sugerimos a interação de HbS em heterozigose associada a mutante de cadeia alfa com migração similar a HbC em eletroforese de Hb. O perfil eletroforético apresentado por essa variante é desconhecido, devendo esse mutante ser investigado por sequenciamento genômico dos genes alfa 1 e alfa 2. A elucidação do diagnóstico só foi possível devido à análise conjunta do trio – pai, mãe, criança –, que permitiu o raciocínio para essa co-herança. **Palavras-chave:** Alfa-globina; Hemoglobinopatia; Diagnóstico laboratorial.

58. IDENTIFICAÇÃO DA HEMOGLOBINA YAIZU (BETA79(EF3) ASP->ASN) EM HETEROZIGOSE: RELATO DE CASO

Tambones IL^a, Belini-Junior E^a, Nascimento PP^a, Oliveira RG^a, Okumura JV^a, Salvarani M^a, Zanchin S^b, Bonini-Domingos CR^a

^a Universidade Estadual Paulista (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brasil

^b Instituto de Pesquisas, Ensino e Diagnósticos (IPED), Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE), Campo Grande, MS, Brasil

As hemoglobinas variantes são originadas, em sua maioria, por mutações ocasionais nos genes responsáveis pela codificação das cadeias globínicas e podem resultar em alteração estrutural e bioquímica da proteína. Existem aproximadamente 1.220 hemoglobinas variantes descritas, e suas frequências e distribuições variam de acordo com as populações estudadas. No Brasil, as variantes mais encontradas são HbS e HbC. Entretanto, variantes raras são encontradas em amplos estudos populacionais, como a triagem neonatal, e evidenciam a miscigenação que ocorreu ao longo da estruturação da população brasileira. Este trabalho teve o objetivo de descrever a Hb Yaizu por métodos clássicos de análise. As amostras avaliadas neste estudo foram de dois indivíduos do sexo feminino de um mesmo núcleo familiar, mãe e filha, provenientes de Campo Grande (MS). Foram usados métodos clássicos de identificação de hemoglobinas: resistência globular em solução de cloreto de sódio a 0,36%, morfologia eritrocitária, eletroforeses em pH 8,6 e pH 6,2, cromatografia líquida de alta performance (HPLC) com os equipamentos automatizados Variant (Biorad) e Ultra 2 (Trinity Biotech) e eletroforese de cadeias em pH alcalino. E.A.S. foi encaminhada para análises de hemoglobinas variantes em 2012, apresentou perfil eletroforético e cromatográfico compatível com HbAS, microcitose e hipocromia discretas, com presença de cadeia beta mutante. No entanto, a HbS sugerida não foi confirmada por PCR/RFLP. Em 2014, foram enviadas amostras de E.A.S e de sua filha M.C.S., com 4 meses, após identificação pela triagem neonatal de Hb variante não confirmada. No estudo comparativo com os métodos de análise clássicos, incluindo a HPLC pelo equipamento Ultra 2, foi possível identificar uma Hb variante, mutante de cadeia beta (beta79(EF3)Asp->Asn) com tempo de retenção relativo (TRR) em C, com 35,3%, compatível com a Hb Yaizu, pelos registros na biblioteca que acompanha o kit de análises Resolution do equipamento Ultra 2. A filha apresentou perfil de hemoglobina semelhante ao da mãe, mas com HbF de 11,3% (TRR em F de 1,04) e a fração variante de 32,6% (TRR em S de 1,17). Devido à presença da HbF na criança, o tempo de retenção da Hb variante apresentou um atraso e, por isso, eluíu no tempo diferente do esperado. Em ambos os casos a HbA estava acima de 50% e caracterizava herança em heterozigose. A associação de metodologias de análise laboratorial em estudos populacionais contribui para o conhecimento de variantes estruturais na composição de populações multiétnicas

como a brasileira. **Palavras-chave:** Hemoglobina variante; Hemoglobinopatia; Diagnóstico laboratorial.

59. HEMOGLOBINA HOPKINS-2 EM HETEROZIGOSE: ESTUDO DE CASO

Santos MR^a, Nascimento PP^a, Okumura JV^a, Belini-Junior E^a, Hadachi SM^b, Balieiro C^b, Martins HH^b, Regina L^b, Garcia RG^b, Bonini-Domingos CR^a

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

^b Laboratório do Serviço de Referência em Triagem Neonatal, Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE), Campo Grande, MS, Brasil

As hemoglobinas (Hb) variantes são resultado de mutações nos genes das globinas, que promovem alterações na estrutura das cadeias polipeptídicas e originam Hb com características bioquímicas diferentes das normais, o que pode alterar seu comportamento ou a estabilidade em sistemas de identificação. Essas alterações podem ser por substituição de um aminoácido por outro de característica diferente na cadeia polipeptídica, como ocorre nas HbS e HbC; deleção de um ou mais resíduos de aminoácidos com encurtamento da cadeia, como a Hb Niterói; *crossing-over* desigual, cujo resultado da permuta são cadeias de comprimentos desiguais, como ocorre na Hb Lepore, dentre outras. Com a miscigenação da população brasileira, frequentemente são encontradas, em estudos populacionais, Hb variantes raras. O presente estudo teve o objetivo de descrever a presença de Hb Hopkins-2, com base no padrão de migração dessa variante nos principais testes de diagnóstico de Hb em uso no Brasil e ressaltar a importância dos testes clássicos e complementares de triagem para o diagnóstico de hemoglobinopatias. Foi analisada em 2015 uma amostra de sangue periférico de indivíduo, V.M.R., sexo feminino, 36 anos, proveniente da cidade de São Paulo, colhida em tubo contendo EDTA. A amostra foi submetida aos testes de resistência globular osmótica em solução de NaCl 0,36%, análise da morfologia eritrocitária, eletroforese em pH alcalino (8,6) e pH ácido (6,2), quantificação e perfil das frações de Hb por cromatografia líquida de alta performance (HPLC), com o equipamento automatizado Ultra2 (Trinity Biotech), com o kit de análise Resolution, e eletroforese de cadeias polipeptídicas em pH 8,6. Os resultados mostraram que a resistência osmótica foi negativa. Na morfologia, observamos discreta microcitose e hipocromia. O perfil hemoglobínico encontrado na eletroforese em pH alcalino foi HbAA2 diminuída e HbF e na eletroforese em pH ácido HbAA e HbF. No cromatograma foi verificada a presença de uma fração anômala de 9,2%, em tempo de retenção relativo de HbF (RRT/F) de 1,44, o que sugeriu um mutante de cadeia alfa em heterozigose, confirmado pela eletroforese de cadeias polipeptídicas. Com o auxílio da biblioteca de variantes da Trinity Biotech e dos resultados obtidos pelos testes laboratoriais em conjunto, o perfil hemoglobínico encontrado sugeriu a presença de Hb Hopkins-2. Essa Hb foi primeiramente descrita, em 1958, como uma variante de cadeia alfa, resultado da substituição de uma histidina por um ácido aspártico na posição 112 e, até onde sabemos, não há relatos dessa Hb variante no Brasil. **Palavras-chave:** Hemoglobinopatias; Hemoglobina variante; Diagnóstico laboratorial.

60. COMPLICAÇÕES INTERCORRENTES NAS GESTAÇÕES E RESULTADOS PERINATAIS DE MULHERES COM HEMOGLOBINOPATIAS

Freitas SLF^a, Ivo ML^a, Figueiredo MS^b, Salazar EAVM^c, Gerck MAS^d, Nunes CB^d, Santos-Neto AT^e

^a Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro-Oeste, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, MS, Brasil

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

^c Curso de Graduação em Enfermagem, Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), Campo Grande, MS, Brasil

^d Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, MS, Brasil

° *Curso de Graduação em Enfermagem, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, MS, Brasil*

Introdução: As hemoglobinopatias, doenças monogênicas mais frequentes na população, caracterizam-se por mutações ou deleções nos genes que codificam as cadeias das globínicas alfa (α) e beta (β) da molécula de hemoglobina (Hb) humana e dão origem às Hb variantes. No Brasil, as hemoglobinopatias mais comuns são a doença falciforme (DF) e a talassemia. As gestantes com hemoglobinopatias e os seus recém-nascidos estão mais sujeitos a complicações. **Objetivo:** Estimar a prevalência das complicações nas gestações e nos resultados perinatais de mulheres com e sem hemoglobinopatias, acompanhadas em centro de referência para gestantes. **Material e métodos:** Estudo transversal, com coleta de dados retrospectiva em prontuários. Todas as gestantes incluídas no estudo haviam feito acompanhamento pré-natal no Ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia de um hospital universitário, em Campo Grande (MS), de novembro de 2010 a agosto de 2011. O estudo envolveu 110 gestações divididas em dois grupos: o principal, constituído por gestações de mulheres com hemoglobinopatias ($n = 32$) e o controle, sem hemoglobinopatias ($n = 78$). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP/PROPP/UFMS) com o Protocolo nº1781/2010. **Resultados:** As variáveis que tiveram associação com hemoglobinopatias, com teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher com nível de significância de 5% foram: 1) Clínicas: insuficiência cardíaca (RP = 12 vezes maior no grupo das gestações com hemoglobinopatias), anemia grave (RP = 10 vezes maior) e infecção do trato urinário (RP = três vezes maior); 2) Obstétricas: trabalho de parto pré-termo (RP = 17,06 vezes maior), pré-eclâmpsia (RP = 12 vezes maior) e tempo de bolsa rota maior que seis horas (RP = 4,0 vezes maior), tipo de parto operatório (RP = 1,5 vezes maior) e 3) Perinatais: infecção neonatal (RP = 38 vezes maior), óbito fetal (RP = 12 vezes maior) e natimorto (RP = 10 vezes maior no grupo das gestações com hemoglobinopatias do que no grupo controle). **Conclusão:** As associações encontradas em variáveis clínicas, obstétricas e perinatais pesquisadas demonstraram que as mulheres com hemoglobinopatias e seus recém-nascidos apresentaram maior prevalência de complicações quando comparadas com o grupo controle. As complicações identificadas neste estudo em gestantes com hemoglobinopatias e recém-nascidos apontam para uma necessidade de estabelecimento de um protocolo de triagem para o diagnóstico laboratorial de hemoglobinopatias em gestantes no serviço de ginecologia e obstetrícia e implantação do Programa de Atenção à Gestação em Mulheres com Doença Falciforme.

61. DIAGNÓSTICO CLÁSSICO DE HEMOGLOBINAS ANORMAIS EM INDIVÍDUOS COM MALÁRIA VIVAX: RESULTADOS PRELIMINARES

Nascimento PPD^a, Oliveira RC^a, Junior EB^a, Torres LS^a, Okumura JV^a, Monte CRSD^b, Ventura AMRS^b, Machado RLD^b, Bonini-Domingos CR^a

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

^b *Instituto Evandro Chagas, Belém, PA, Brasil*

A malária, doença parasitária relacionada com as maiores causas de morbidade e mortalidade em países tropicais e subtropicais, merece lugar de destaque no quadro das anemias hemolíticas de caráter adquirido e se caracteriza como um problema de saúde pública no Brasil em áreas endêmicas. O *Plasmodium vivax* tem sido responsável por 25% a 40% dos casos de malária em todo o mundo e representa aproximadamente 85% dos casos no Brasil. As complicações clínicas e o aumento na taxa de mortalidade nos casos de infecção por *P. vivax*, em especial entre os indivíduos que apresentam comorbidades, têm recebido atenção em estudos da área. As hemoglobinas (Hb) anormais, alterações de origem genética, têm prevalência aumentada nas populações de áreas endêmicas de malária. Embora existam evidências do papel protetor da HbS e da alfa-talassemia nesses indivíduos, o mecanismo de ação não é ainda completamente compreendido, em especial para a malária vivax. Este estudo teve como objetivo o diagnóstico clássico de Hb anormais em indivíduos com malária vivax, residentes no município de Itaituba, estado do Pará, região Norte do Brasil. Foram avaliados 36 indivíduos (27 homens e 10 mulheres) entre 19 e 49 anos (média de 30,5 \pm 8,4). O diagnóstico de Hb foi feito a partir de análises eletroforéticas (pH 8,6 e pH 6,2) e por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) com equipamento automatizado Ultra 2 (Trinity Biotech) com o kit de análise Resolution. Os testes revelaram 34 indivíduos com perfil de hemoglobina normal (HbAA); um indivíduo com

perfil de HbAF confirmado como heterozigoto para persistência hereditária de hemoglobina fetal do tipo 1 (PHHF-1) por GAP/PCR; e um indivíduo com perfil heterozigoto para hemoglobina S (HbAS) confirmado por PCR/RFLP. A heterogeneidade de fenótipos clínicos nos indivíduos com malária pode ser reflexo de interações genotípicas devido à co-herança de doenças hematológicas como as hemoglobinopatias. Os indivíduos deste estudo, com alterações no perfil de Hb e malária vivax, não mostraram diferença nos parâmetros hematológicos gerais (Hb, GV, VCM, HCM, CHCM) quando comparados com os indivíduos com perfil de HbAA. O agravamento clínico, que muitas vezes é consequência do tratamento usado para a malária vivax na Amazônia brasileira (cloroquina + primaquina), reflete a importância do conhecimento de fatores que influenciam no curso da doença, como, por exemplo, o perfil genético dos indivíduos que pode caracterizar outra anemia hemolítica co-herdada. Sendo assim, a investigação das Hb e melhor caracterização da população infectada poderão auxiliar na conduta clínica, a fim de favorecer o prognóstico e a melhor escolha para o tratamento.

62. MARCADORES HEMOLÍTICOS NA ÚLCERA DE PERNA EM PESSOAS COM ANEMIA FALCIFORME

Oliveira RG^a, Torres LS^a, Nascimento PPD^a, Carrocini GCS^a, Silva DHG^a, Okumura JV^a, Lobo CLC^b, Lorenzetti A^c, Júnior OR^c, Domingos CRB^a

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

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

^c *Hemocentro de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, SP, Brasil*

Introdução: A anemia falciforme (AF) é uma anemia hereditária causada pela mutação em um único nucleotídeo no gene da beta-globina (HBB; glu6val), que resulta na produção de uma hemoglobina anormal, denominada hemoglobina S (HbS). Em condições de hipóxia, essas hemoglobinas se polimerizam dentro do eritrócito, ocasionam alteração em sua estrutura e resultam na formação de eritrócitos falciformes. Essas alterações, por sua vez, resultam nos dois principais eventos fisiopatológicos da anemia falciforme, a hemólise e a vaso-oclusão, que dirigem os processos envolvidos nos diferentes tipos de manifestações clínicas nesses indivíduos. A úlcera de perna é uma condição clínica frequente nesses indivíduos. A etiologia dessa complicação ainda não é muito clara. No entanto, sabe-se que pode estar relacionada a eventos hemolíticos, trombóticos e vasculares. **Objetivo:** Avaliar a relação de marcadores hemolíticos com a úlcera de perna em pessoas com anemia falciforme. **Material e métodos:** Foram avaliadas 55 amostras de sangue de indivíduos com anemia falciforme, entre 11 e 56 anos e média de 31 \pm 14, provenientes do Hemocentro de São José do Rio Preto e do HEMORIO. Todas as amostras foram submetidas a eletroforese de hemoglobinas em pH alcalino e ácido, além da quantificação das frações de hemoglobinas por HPLC pelo equipamento Ultra 2 (Trinity Biotech), para investigar a presença de HbS. A confirmação do diagnóstico para anemia falciforme foi feita por meio de PCR-RFLP. Os dados clínicos e laboratoriais, como a ocorrência de úlcera de perna e a avaliação dos marcadores hemolíticos (Hb, LDH, contagem de reticulócitos, bilirrubina indireta e TGO), foram coletados por consulta aos prontuários médicos e dos exames laboratoriais feitos pelos hemocentros. Após a obtenção desses dados, os pacientes foram separados em dois grupos, para a feita das análises, G1 composto por indivíduos com AF e úlcera de perna e G2 composto por pacientes com anemia falciforme que não apresentavam essa característica clínica. **Resultados:** Os valores médios de Hb, entre os dois grupos, diferiram estatisticamente. Em G1, os valores de Hb foram de 7,36 \pm 0,25, enquanto em G2 foram de 8,11 \pm 0,17 ($p = 0,0115$). Outro marcador que mostrou diferença estatística entre os grupos foi TGO ($p = 0,017$), em que G1 apresentou valores médios de 30,06 \pm 2,54 e G2 de 42,38 \pm 3,42. A avaliação de bilirrubina indireta também mostrou diferença estatística entre os grupos ($p = 0,016$) e G1 (1,45 \pm 0,22) apresentou valores médios menores do que G2 (2,73 \pm 0,27). Para os valores de LDH, não houve diferença estatística significativa entre G1 (421,8 \pm 32,23) e G2 (632,9 \pm 77,49). Os valores obtidos pela contagem de reticulócitos também não evidenciaram diferença estatística entre os grupos G1 (9,96 \pm 0,95) e G2 (10,70 \pm 1,7). **Conclusão:** Os valores de Hb mais baixo entre os pacientes com úlcera de perna indicam que a gravidade da anemia pode ser um fator de risco para tal complicação. No entanto, a contagem de reticulócitos, que não mostrou diferença entre os dois grupos, e os valores dos demais marcadores hemolíticos avaliados evidenciam que a anemia observada, provavelmente, não foi decorrente de hemólise intra-

vascular. São necessários mais estudos para melhor caracterizar essa complicação clínica.

63. STUDY OF 43 PATIENTS WITH TRANSFUSION-DEPENDENT BETA THALASSEMIA – A SINGLE-CENTER 15-YEAR EXPERIENCE

Angulo IL, Silva-Pinto AC, Bassi SC, Santis GC, Favarin MDC, Santos FLS, Dotoli GM, Gonalves LAL, Sisdeli MG, Covas DT

Hemocentro de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brazil

Introduction: β -thalassemia, a chronic anemia of Mediterranean heritage in the Brazilian population, is a rare disease dependent on chronic transfusions. This reference center had 43 patients until December 2013. **Methods:** This was a cross-sectional study with emphasis on complications of the disease itself, or by iron accumulation, blood transfusions, and chelation treatment. The aim of this study was to optimize preventive and therapeutic measures, and to provide more efficient control of complications. **Results:** The median of age was 24 years (3-62), mean \pm SD pre-transfusion hemoglobin was 9.3 g/dL \pm 0.51, and the consumption of erythrocytes was 117.7 \pm 24.8 mL/kg/year. The CD39 mutation was homozygous in 25.7%. All patients had iron-overload, with mean ferritin of 2.355 \pm 1.955 mg/L, above 1.000 mg/L in 74.5%. The most frequent complication was increase in hepatic iron in 94% of patients, above 7 mg/g in 57%. Endocrine diseases were present in 72%, manifested predominantly by short stature and hypogonadism, with unusual high rates of diabetes and osteopenia/osteoporosis. The prevalence of alloimmunization to blood group antigens was 60.4%, with predominance of anti-Dia and Kpa antibodies. Cardiac hemosiderotic disease was diagnosed in 36% (T_2^* less than 20 ms) but cardiac mortality was 5.2% in the last ten years. 30.2% had serological markers against HCV. Splenectomy was performed in 32.5% and cholecystectomy in 18.6%. The average of transfusion reactions during the study period was 2.8, or 0.18/patient/year. Thirty-eight used chelating monotherapy, and five with association of drugs. The three binders (deferrioxamine, deferiprone, and deferasirox) had few serious side effects. **Discussion:** Most complications were due to iron accumulation. There is an unusual pattern of alloimmunization due to Diego antigens. Fewer complications were due to transfusions, the disease itself, and side effects of chelators. Tips for preventing complications should emphasize more cost-effective chelation and treatment of HCV resistant strains. Diabetes and osteoporosis also are causes of concern, and preventive measures should be taken.

64. POLIMORFISMO DO GENE DA HEMOPEXINA (HPX) EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME DO ESTADO DE PERNAMBUCO

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

- ^a Departamento de Patologia Clínica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil
^b Centro de Hematologia e Hemoterapia (HEMOCENTRO), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil
^c Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil
^d Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE), Recife, PE, Brasil

A hemopexina (Hpx) é uma glicoproteína plasmática, sintetizada principalmente pelos hepatócitos, cuja função primordial é a de se ligar ao grupo heme livre no plasma e atenuar sua toxicidade sobre o endotélio vascular. O complexo Heme-Hpx assegura, assim, uma proteção contra os processos oxidativos mediados pelo heme nos vasos. Esse complexo é transportado ao fígado para degradação e reuso do ferro, após endocitose com a participação do receptor LRP1. Até o momento, pouco se sabe sobre as mutações que afetam o gene da HPX e a importância biológica dessa variabilidade em portadores de doenças hemolíticas, como a anemia falciforme (AF), cuja heterogeneidade clínica resulta, provavelmente, do efeito acumulado de múltiplos moduladores genéticos e ambientais. O objetivo do presente estudo foi investigar o polimorfismo do gene HPX em pacientes com AF acompanhados no HEMOPE. Foram estudados 92 pa-

cientes entre 18-54 anos (com mediana de 27), 51 deles do sexo masculino (55,4%) e 41 do feminino (44,6%). Encontravam-se em fase estável da doença, na ausência de infecções ou de processos inflamatórios. Os critérios de exclusão foram a transfusão sanguínea nos últimos três meses antecedentes à avaliação e/ou terapia com hidroxíureia. Os sítios polimórficos já identificados nas regiões codificantes desse gene foram obtidos junto ao GenBank/NCBI – National Center for Biotechnology Information; as análises incluíram a amplificação, por PCR, e o sequenciamento direto de três regiões do DNA genômico dos pacientes, que englobou as mutações de interesse. Foram observadas alterações simples de nucleotídeos em 42 amostras (46%). Na primeira região sequenciada, foi encontrada a alteração GGC>GGT no códon 38 do éxon 2, em uma única amostra (1,08%), em heterozigose; a alteração A CC>G CC no códon 40 do éxon 2 foi detectada em cinco amostras (5,43%), quatro em heterozigose e uma em homozigose. Na segunda região, observou-se a alteração AAG>AAA no códon 178 do éxon 6, em sete pacientes (7,60%), todas em heterozigose. Na última região analisada, foram observadas duas alterações, ambas localizadas no éxon 10: no códon 349 (GTC>GTT), em 12 pacientes (13,04%), nove em heterozigose e três em homozigose; e no códon 371 (C GG>T GG), em dez pacientes (10,87%), nove heterozigotos e um homozigoto. A alteração C>T no intron I, nucleotídeo 24 (IVS-I-24), foi observada em cinco amostras (5,43%), todas em heterozigose, e a alteração A GG>C GG no códon 219 do éxon 6, em duas amostras (2,17%), também em heterozigose. De nosso conhecimento, as alterações no IVS-I-24 e no códon 219 do éxon 6 não haviam sido descritas até o momento. Este é o primeiro estudo que visa caracterizar o polimorfismo do gene HPX em uma amostra de pacientes brasileiros com AF. Os resultados aqui apresentados são parciais. Ampliação amostral e estudos de dinâmica molecular poderão permitir maior compreensão e previsão das consequências dessas alterações na estrutura molecular da Hpx e, consequentemente, em sua importante função de prevenir os efeitos oxidativos do heme livre no plasma. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), 2014/00984-3, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

65. POLIMORFISMO I/D NO GENE ECA1 E PRESENÇA DE ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO E SÍNDROME TORÁCICA AGUDA EM PESSOAS COM ANEMIA FALCIFORME

Salvarani M^a, Okumura JV^a, Belini-Junior E^a, Teixeira VU^a, Lobo CLC^b, Bonini-Domingos CR^a

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

A enzima conversora de angiotensina 1 (ECA1) é a principal enzima do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) que atua na regulação da vasodilatação e vasoconstrição, e é capaz de clivar a angiotensina I (Ang I) em angiotensina II (Ang II), um potente vasoconstritor. O polimorfismo de inserção ou deleção (I/D 287pb) no gene ECA1 é amplamente estudado por sua importância clínica; o alelo D está relacionado ao aumento da atividade da enzima e, portanto, a maior ação vasoconstritora. Esse polimorfismo pode ser um modulador de manifestações clínicas associadas a vaso-oclusão em pessoas com anemia falciforme, como a síndrome torácica aguda (STA) e acidente vascular encefálico (AVE). Verificamos se a presença do polimorfismo (I/D 287pb) no gene ECA1 oferece risco para a ocorrência de STA e AVE em pessoas com anemia falciforme. Foram analisadas amostras de sangue periférico de 392 pessoas com anemia falciforme provenientes do HEMORIO (RJ). As amostras foram submetidas aos testes de triagem para hemoglobinopatias e genotipadas por PCR-RFLP para confirmação da homozigose para a HbS e para o polimorfismo no gene ECA1. Encontramos 75 (19,1%) pessoas com genótipo I/I, 185 (47,2%) com genótipo I/D e 132 (33,7%) com genótipo D/D. Dentre esses, 235 apresentaram STA, 31 (18,7%) com genótipo I/I, 75 (46,8%) com I/D e 51 (34,4%) homozigotos para o alelo D. Dentre os 76 que tiveram AVE, foram encontrados 16 (21%) com genótipo I/I e 30 (39,5%) com os genótipos I/D e D/D. A frequência alélica encontrada foi 0,4 para o alelo I e 0,6 para o alelo D em ambos os grupos com a presença das manifestações clínicas. Não foram encontrados valores significativos na análise de *odds ratio* (OR). A análise da presença de pelo menos um alelo dele-

tério (D/D e I/D) versus o alelo I/I apresentou OR 1,068 ($p = 0,9037$; IC 95% = 0,6402-1,7816) para o grupo com STA e OR 0,8609 ($p = 0,7554$; IC 95% = 0,4632-1,6001) para o grupo com AVE. A análise da presença do alelo deletério em homozigose (DD) versus os demais genótipos (I/D e I/I) apresentou OR 1,0932 ($p = 0,7655$; IC 95% = 0,7119-1,6787) para o grupo com STA e OR 1,3683 ($p = 0,2907$; IC 95% = 0,8160-2,2944) para o grupo com AVE. Mesmo não apresentando valor de OR significativo, o valor do risco de ter o genótipo DD e a presença de AVE foi o maior encontrado (OR 1,3). Os resultados encontrados indicam que, embora o alelo D seja fator de risco para doenças cardiovasculares, sendo considerado deletério, não observamos neste estudo riscos significativos com relação à herança do polimorfismo e à presença de STA e AVE em pessoas com anemia falciforme.

66. ESTUDO DE POLIMORFISMO EM GENE RELACIONADO AO METABOLISMO LIPÍDICO E SUA ASSOCIAÇÃO COM INFLAMAÇÃO E VASO-OCCLUSÃO NA DOENÇA FALCIFORME

Figueiredo CVB^{a,b}, Carvalho MOS^b, Santiago RP^{a,b}, Oliveira RM^{a,b}, Guarda CC^{a,b}, Fiuza LM^{a,b}, Santana SS^{a,b}, Santos ICA^{a,b}, Santana JM^{a,b}, Goncalves MS^{a,b}

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

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

O termo doença falciforme (DF) designa o grupo de doenças que têm como característica comum a presença da hemoglobina S (HbS) e são caracterizadas pela variedade ampla de fenótipos clínicos. A leptina é uma proteína com papel regulador em vários sistemas do organismo, como sistema imune e balanço energético. Tendo em vista que pacientes com DF apresentam alterações na imunidade celular e no metabolismo lipídico, é importante a realização de investigações voltadas para a compreensão do papel da leptina na fisiopatologia da DF. Foi feito um estudo composto por 103 indivíduos com DF atendidos na Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia (HEMOBA) e 91 indivíduos saudáveis atendidos no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia (LACTFAR) da Universidade Federal da Bahia (UFBA). As dosagens do fator de crescimento e transformação beta (TGF- β) foram feitas pela técnica de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), e a investigação do polimorfismo 2548 G>A no gene da leptina foi feita pelas técnicas de PCR/RFLP. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CEP-CPqGM) da FIOCRUZ (BA). A investigação do polimorfismo -2548 G>A no gene da leptina nos indivíduos com DF mostrou 60,20% (62/103) para o genótipo selvagem (GG); 34,95% (36/103) para o genótipo heterozigoto (GA) e 4,85% (5/103) para o genótipo homozigoto variante (AA). No grupo de indivíduos saudáveis, a investigação do mesmo polimorfismo indicou a frequência de 58,24% (53/91) para o genótipo GG; 37,36% (34/91) para o genótipo GA e 4,40% (4/91) para o genótipo AA. As frequências encontradas estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg. A análise estatística dos resultados apresentou significância estatística quando se comparou a presença do genótipo AA e os níveis séricos de lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL) ($p = 0,0035$) e triglicérides ($p = 0,0036$). Isso demonstra que o genótipo AA está associado a níveis mais elevados dessas variáveis. A dosagem de TGF- β foi feita em 38 pacientes com DF. Foi encontrada significância estatística que mostrou que a presença do alelo A está associada a níveis mais elevados dessa citocina ($p = 0,0299$). Os resultados encontrados reforçam a importância da investigação de marcadores novos de prognóstico na DF, uma vez que a investigação do polimorfismo -2548 G>A no gene da leptina mostrou associação entre o genótipo AA e níveis aumentados de triglicérides e VLDL, que são marcadores comumente investigados na rotina laboratorial, de acesso fácil para o acompanhamento e estimativa de gravidade da doença, bem como a associação entre a presença do alelo A e níveis mais elevados de TGF- β , que é uma citocina envolvida em processos inflamatórios e também no remodelamento endotelial.

67. UMA NOVA E EXTENSA DELEÇÃO EM PACIENTE COM DOENÇA DA HBH

Mota NO^a, Kimura EM^a, Ferreira RD^a, Albuquerque DM^b, Ribeiro DM^a, Santos MNN^a, Costa FF^b, Sonati MF^a

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

^b Centro de Hematologia e Hemoterapia (HEMOCENTRO),

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

As talassemias α constituem o grupo de distúrbios hereditários da hemoglobina mais comuns em todo o mundo. Deleções que envolvem os genes das globinas α , em 16p13.3, são suas causas mais comuns. Encontramos uma nova deleção α^0 , associada à deleção $-\alpha^{3,7}$, em um paciente brasileiro (3 meses de idade, sexo feminino e cor parda) com doença da HbH (GV: 4,55 $10^6/\text{mm}^3$; Hb: 7,75 g/dL; HCM: 17 pg e VCM: 54,1 fL). A deleção foi identificada por meio da técnica de Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) com o emprego do kit Salsa MLPA P140 C1 HBA (MRC Holland, Amsterdã, Holanda). Uma região de cerca de 360 kb de DNA, da região telomérica do braço curto do cromossomo 16 até o gene DECR2, foi analisada e os fragmentos gerados foram comparados por meio do programa Coffalyser. Além da deleção $\alpha^{3,7}$, uma extensa deleção que compreendeu entre 70 e 105 kb de DNA e envolveu os genes α_2 e α_1 e os genes contínuos LUC7L e ITFG3 foi detectada, em trans. A região 5' de *breakpoint* dessa deleção encontra-se entre o $\psi\alpha_1$ e o gene α_2 , enquanto a região 3' de *breakpoint* situa-se entre os genes ITFG3 e RGS11. Análise familiar revelou que o pai do paciente é heterozigoto da deleção $-\alpha^{3,7}$, enquanto sua mãe e a irmã mais velha são heterozigotas da deleção α^0 , e a irmã mais nova também tem doença da HbH. Um polimorfismo na região de ligação da sonda 220 no gene híbrido ($\alpha_2\alpha_1$) da deleção $-\alpha^{3,7}$ (C > T) também foi detectado, no paciente e em seu pai, o que levou essa sonda a apresentar um padrão diferente do esperado no MLPA. De nosso conhecimento, essa deleção não apresenta semelhança, com relação às suas regiões de *breakpoints*, com outras previamente descritas na literatura. Ela foi denominada $-\alpha^{ATB}$ em função da cidade de origem dessa família (Atibaia, no estado de São Paulo, região Sudeste do Brasil). A caracterização molecular de deleções α -talassêmicas é de fundamental importância tanto para o correto diagnóstico de seus portadores quanto para fins de aconselhamento genético e prevenção de novos casos de doença da HbH ou de hidropisia fetal por Hb Bart's. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), 2014/00984-3, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

68. PESQUISA DE TRAÇO FALCIFORME EM ESTUDANTES DO CURSO DE FARMÁCIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ (UFC)

Silva MRE^a, Lemes RPG^a, Arruda ABL^a, Barros AEC^b, Santos FM^a, Coelho RMV^b, Lima MFB^b, Silva DMA^a, Pereira PSG^a, Souza IP^a

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

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

O traço falciforme constitui uma condição relativamente comum e clinicamente benigna, em que o indivíduo herda de um dos pais o gene para a hemoglobina A, e do outro, o gene para a hemoglobina S. Ocorre então a presença da hemoglobina S em heterozigose com a hemoglobina A (HbAS). Os portadores do traço falciforme são geralmente assintomáticos, a sobrevivência das hemácias é normal, não há hemólise ou nenhuma outra alteração laboratorial e a expectativa de vida é semelhante à da população em geral. O objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de traço falciforme em estudantes do curso de Farmácia da Universidade Federal do Ceará (UFC). Foram avaliados 41 alunos, de ambos os sexos, entre 19 e 30 anos. Para a pesquisa do traço foi feita a coleta de 4 mL de sangue, com o anticoagulante EDTA, e em seguida foram submetidos à eletroforese de hemoglobina no Laboratório de Hemoglobinopatias, no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE). Em caso positivo, foi feito o teste confirmatório pelo HPLC. Das 41 amostras analisadas, 61% ($n = 25$) eram do sexo feminino e 39% ($n = 16$) do masculino. Nenhum estudante do sexo feminino apresentou traço falciforme, e apenas um (6,25%) do masculino apresentou o traço. Podemos concluir que apenas um estudante apresentou o traço falciforme. O exame laboratorial precoce é muito importante, visto que existe 25% de risco de um casal formado por dois heterozigotos gerar uma criança homozigota portadora de anemia falciforme. É importante orientar os portadores do traço sobre os riscos e sintomas associados à anemia, para que possam optar ou não por uma gestação.

69. FATORES DETERMINANTES DA HEMÓLISE EM OPERAÇÃO CARDÍACA COM USO DE CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA

Perdozo KNRS, Moraes RB, Antunes N, Menegati SFP

Centro Universitário Nossa Senhora do Patrocínio (CEUNSP), Itu, SP, Brasil

A circulação extracorpórea (CEC) possibilitou um grande avanço da cirurgia cardíaca e permitiu ao cirurgião parar o coração e, ao mesmo tempo, corrigir seus defeitos funcionais ou anatômicos, além de manter o metabolismo dos órgãos e do sistema. Porém, a CEC traz significativas alterações na hemostasia e pode causar um grau acentuado de hemólise. Todos os pacientes expostos à CEC vão apresentar uma resposta de agressão. Em alguns casos, podem ser alterações gravíssimas, que consequentemente levam a um quadro de disfunção pulmonar e renal. Este trabalho tem como objetivo descrever a hemólise que ocorre em pacientes submetidos a operações cardíacas, devido aos componentes que constituem a CEC. Foi feita uma pesquisa teórica, transversal, de metodologia qualitativa, por meio de revisão bibliográfica que discorre sobre operação cardíaca com uso de CEC e os efeitos determinantes da hemólise gerada pela CEC. Durante a operação cardíaca com CEC é possível identificar o aumento nos níveis de hemoglobina livre no plasma e a diminuição da haptoglobina, devido às células sanguíneas estarem sujeitas à ação de diversas forças, que diferem das forças que ocorrem fisiologicamente. Esse fato leva à diminuição das células sanguíneas, principalmente as hemácias, que podem ou não se romper e gerar deformações permanentes em sua membrana e comprometer a função de transporte de gases. O trauma ocasionado às células vermelhas do sangue pode ocorrer por diversos fatores. Dentre eles, estão as tensões de cisalhamento, em que a hemácia é submetida pelas bombas de roletes; aspiradores e cânulas que levam a diferentes pressões de fluxo; resistência imposta pelo circuito e resistência sistêmica do paciente e exposição a diferentes superfícies em diferentes velocidades. A calibração para a bomba de roletes tornou-se o método mais estudado para a diminuição da hemólise na CEC. Quando o rolete está excessivamente ocluído, aumenta o dano às hemácias e leva a um esmagamento e a uma deformação da célula, conduzindo a uma hemólise acentuada. Contudo, qualquer que seja a pressão das bombas, haverá valores de hemoglobina livre no plasma decorrente da hemólise. A hemólise em cirurgias cardíacas com o uso de CEC é um problema não solucionado, mas minimizado. Atualmente, estudos buscam continuamente a melhoria de equipamentos e dispositivos em procedimentos usados na CEC, para alcançar da melhor forma o aperfeiçoamento da máquina, a fim de manter a integridade celular e garantir a minimização da incidência e da gravidade da hemólise. **Palavras-chave:** Circulação extracorpórea; Hemólise; Perfusão.

70. POLIMORFISMO NO GENE IFN-GAMA E SUA ASSOCIAÇÃO COM O PERFIL HEMOLÍTICO NA ANEMIA FALCIFORME

Fiuza LM^{a,b}, Guarda CC^{a,b}, Santiago RP^{a,b}, Santana SS^{a,b}, Figueiredo CVB^{a,b}, Almeida I^{a,b}, Machado J^{a,b}, Aleluia MM^{a,b}, Carvalho MS^b, Gonçalves MS^{a,b}

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

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

A anemia falciforme (AF) é uma doença de caráter inflamatório crônico, na qual diversos metabólitos pró-inflamatórios permanecem sistemicamente elevados. A AF pode ser modulada pelo perfil genético dos pacientes, como a associação com outras hemoglobinopatias, bem como pelo perfil imunológico. A produção de citocinas na resposta inflamatória pode ser modulada também por SNPs (*single nucleotide polymorphism*), embora nem sempre o genótipo e a influência no fenótipo sejam claros. Dessa forma, a pesquisa por polimorfismos que definam subfenótipos associados à forma clínica da AF é importante para traçar tratamentos mais eficientes. O objetivo do presente trabalho foi verificar a presença do polimorfismo +874 T/A do gene do interferon-gama (IFN-gama) e suas associações com os marcadores laboratoriais na AF. Foram investigados 28 pacientes com AF, dos quais foram feitas as análises do perfil hematológico, bioquímico e imunológico. Amostras de

sangue total dos pacientes foram coletadas em EDTA, e o DNA molde, extraído para as análises moleculares pela técnica de PCR. Para as análises estatísticas foi considerado significativo $p < 0,05$. Foi encontrada significância estatística nas associações entre a presença do alelo variante e o volume corpuscular médio (VCM) ($p = 0,011$) e a hemoglobina corpuscular média (HCM) ($p = 0,017$). Além disso, foi encontrada associação significativa entre bilirrubina indireta ($p = 0,047$), bilirrubina total ($p = 0,035$), aspartato aminotransferase ($p = 0,007$), HCM ($p = 0,009$), VCM ($p = 0,008$) e os genótipos do polimorfismo investigado. A partir dos nossos resultados, podemos sugerir que o alelo variante do polimorfismo em questão pode estar associado à modulação sistêmica do subfenótipo hemolítico nesses pacientes. Dessa forma, é necessário investigar os mecanismos pelo qual o polimorfismo no gene do IFN-gama, responsável por alterar as suas concentrações plasmáticas, pode estar associados a alterações nos eventos de hemolíticos e inflamatórios presentes na AF.

71. CRISE HEMOLÍTICA AGUDA NA DOENÇA DE WILSON: RELATO DE CASO

Fonsêca ARBM^a, Arrais C^a, Marques FM^a, Moraes ANR^b, Campos AC^b, Pietrobon IG^b, Lins PRG^b, Bernardes TP^b

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

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

Introdução: A doença de Wilson é um distúrbio do metabolismo do cobre que leva ao seu acúmulo nos tecidos e acarreta toxicidade e lesão, principalmente, hepática. As manifestações clínicas mais comuns são resultado da degeneração hepatocelular causada pelo aumento do cobre, além de distúrbios neurológicos e psiquiátricos. A anemia hemolítica é um achado incomum, acomete 10-15% dos pacientes, e pode apresentar-se de forma crônica ou aguda. Trata-se de anemia intravascular Coombs-negativo de fisiopatologia incerta; as hipóteses mais aceitas são de inibição da enzima glico-6-fosfatase desidrogenase dos eritrócitos e dano oxidativo direto a essas células, causado pela alta concentração sérica de cobre. Relatamos o caso de uma paciente portadora de doença de Wilson que evoluiu com crise hemolítica aguda com desfecho fatal. **Relato de caso:** Paciente sexo feminino, 42 anos, com diagnóstico de doença de Wilson havia 15 anos. Deu entrada no pronto-socorro com febre diária, náuseas e vômitos havia uma semana. Três semanas antes, recebera curso de sete dias de azitromicina devido à infecção de vias aéreas superiores, e relatava que desde então apresentava escurecimento da urina. À admissão, encontrava-se em bom estado geral, icterícia, fígado a 4 cm do rebordo costal, sem sinais de encefalopatia hepática, sem ascite ou outras alterações ao exame físico. Os exames laboratoriais evidenciavam hemograma com hemoglobina (Hb) de 12,9 g/dL, 12.600 leucócitos/uL (sem desvio) e 226.000 plaquetas/uL. DHL: 256 U/L; bilirrubina total 5,61 mg/dL (direta: 4,65 mg/dL). Os valores calculados para MELD e Child-Pugh eram, respectivamente, 24 e 10. Inicialmente, foram aventadas as hipóteses de descompensação infecciosa ou agudização da doença de base e hepatotoxicidade por azitromicina. Com manutenção da febre, optou-se por introduzir antibioticoterapia com ceftriaxone no segundo dia de internação. No entanto, evoluiu com pioria clínica e apresentou vômitos incoercíveis associados à lesão renal aguda. Observaram-se queda nos níveis hematimétricos (Hb 10,1 g/dL), prolongamento do tempo de protrombina (RNI 3,66), elevação da leucometria (34.100/uL, com 11% de bastões), aumento da proteína C-reativa, da bilirrubinemia (bilirrubina total 34,33 mg/dL) e das escórias nitrogenadas (creatinina 1,74 mg/dL). A piora foi atribuída à causa infecciosa, e foram adotadas medidas para sepse, sem sucesso. Os últimos exames laboratoriais chamavam atenção por demonstrar Hb 7,6; 37.300 leucócitos (16% bastões); 273.000 reticulócitos, bilirrubina total 37 mg/dL; DHL 2.065 U/L e TAD negativo. **Conclusão:** O diagnóstico da crise hemolítica em pacientes com doença de Wilson pode ser dificultado por diferentes eventos concomitantes, tais como infecções, descompensações de cirrose hepática ou efeitos adversos a medicamentos. Faz-se necessária elevada suspeição clínica para um diagnóstico precoce, já que o paciente pode beneficiar-se de plasmáfereze enquanto aguarda o transplante hepático.

72. POLIMORFISMO -463G>A DO GENE DA MIELOPEROXIDASE EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME E TRATADOS COM HIDROXIUREIA

Yahouédéhou SCMA^{a,b}, Carvalho MS^c, Santiago RP^b, Figueiredo CVB^{a,b}, Ferreira JRD^{a,b}, Nascimento VML^d, Adorno EV^a, Goncalves MS^{a,b}

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

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

^c Hospital Universitário Professor Edgard Santos (HUPES), Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil

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

Introdução: A anemia falciforme (AF) é a expressão da forma homozigota do alelo beta S, responsável pela formação da hemoglobina variante S (HbS). Entre os tratamentos disponíveis para a AF, a hidroxiureia (HU) tem sido o tratamento de escolha, uma vez que aumenta a hemoglobina fetal (HbF) e melhora o quadro clínico dos pacientes. Alguns polimorfismos são descritos para o gene mieloperoxidase (MPO), enzima responsável pela metabolização de drogas. Um desses polimorfismos é a mutação G/A na posição -463 da região promotora do gene, que afeta sua transcrição e diminui a expressão da enzima MPO na célula. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi o de investigar a associação entre a presença do alelo variante A e o perfil renal e hepático dos pacientes com AF com e sem uso da HU. **Material e métodos:** Foram avaliados 35 pacientes, atendidos na Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia (HEMOBA) com AF e em uso de HU; 67 pacientes com AF que não faziam uso de HU foram usados como grupo controle. O polimorfismo MPO -463G>A foi investigado pela técnica de PCR-RFLP. As determinações laboratoriais (perfil hepático e renal) foram feitas por métodos automatizados. A análise dos dados foi feita pelos programas Epi-info V. 7.0 e GraphPad Prism versão 5. **Resultados:** O alelo variante A (genótipos GA e AA) foi encontrado em 71,43% dos pacientes que usavam a HU e 48,48% dos controles (χ^2 , $p = 0,04$). Entre os indivíduos portadores do alelo variante A, a análise dos biomarcadores para lesão renal mostrou concentrações médias mais elevadas de creatinina ($0,48 \pm 0,17$ mg/dL) entre os pacientes com AF que usavam HU, quando comparado com o grupo controle ($0,44 \pm 0,30$ mg/dL) (Mann-Whitney, $p = 0,036$). A análise dos biomarcadores para lesão hepática demonstrou valores médios menores de bilirrubina total ($2,12 \pm 1,03$ mg/dL) e de alanina aminotransferase ($48,60 \pm 19,94$ U/L) entre os pacientes em uso de HU em comparação com o grupo controle ($2,99 \pm 1,66$ mg/dL) e ($63,66 \pm 33,53$ U/L) (Mann-Whitney, $p = 0,021$ e $0,041$, respectivamente). **Conclusão:** Esses resultados sugerem a existência de uma associação entre a presença do alelo variante A no gene MPO e alterações nos perfis renal e hepático de pacientes com AF e em uso de HU, uma vez que essa enzima, presente em neutrófilos e monócitos, pode estar envolvida no metabolismo e na ativação de várias drogas, assim como pode influenciar na resposta desses pacientes ao tratamento com HU. **Palavras-chave:** Anemia falciforme; Hidroxiureia; Mieloperoxidase; Polimorfismo.

73. PERFIL DOS PACIENTES COM DOENÇA FALCIFORME EM ACOMPANHAMENTO NO HEMOCENTRO REGIONAL DE SOBRAL (CE)

Vasconcelos RMMP^a, Carlos LMB^b, Gomes FVBF^b, Deolindo AR^a, Almeida JMMF^a, Cunha MSP^a, Oliveira MA^a, Parente JGM^a, Parente YDM^a, Parente MTDM^a

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

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

Introdução: A doença falciforme (DF) é uma das enfermidades genéticas e hereditárias mais comuns no mundo. Sua causa é uma mutação no gene que produz a hemoglobina A e origina outra mutante, denominada HbS, uma herança recessiva. Existem outras hemoglobinas mutantes, como C, D, E etc. Essas, em par com a HbS, constituem um grupo denominado de DF: anemia falciforme (HbSS), de maior significado clínico, S/Beta-Talassemia (S/Tal.), as doenças SC, SD, SE e outras mais raras. Apesar das particularidades que distinguem as DFs, todas têm manifestações

clínicas e hematológicas semelhantes. A mutação que configura as DFs teve origem no continente africano e pode ser encontrada em várias populações de diferentes partes do mundo. No Brasil, devido ao grande contingente da população africana desenraizada de seus países e aqui trazidas para o trabalho escravo, a DF expandiu-se e hoje faz parte de um grupo de doenças e agravos relevantes que afetam majoritariamente a população negra (pardos e pretos). A incidência das hemoglobinopatias é de 4,5% na população mundial e, devido à sua alta prevalência, elas passaram a representar grave problema de saúde pública em muitos países da África. No Brasil, têm presença significativa. Dados dos Programas Estaduais de Triagem Neonatal (PETNs) apresentam a magnitude da questão a ser enfrentada no Brasil pela proporção de nascidos vivos diagnosticados com doença falciforme. O diagnóstico precoce, no PETN, poderá causar mudança na história natural da doença, que é de morte para 80% de crianças com menos de 5 anos que não recebem os cuidados de saúde necessários. Historicamente, os hemocentros têm sido referência para o tratamento das doenças hematológicas, o que inclui as pessoas com DF. **Objetivo:** Fazer uma análise descritiva da população de pacientes com doença falciforme (DF) em acompanhamento no ambulatório de hematologia do Hemocentro Regional de Sobral (HRS) e revisão de prontuário desses pacientes. **Resultados:** Foram analisados os casos de 68 pacientes com DF. A idade variou de 6 meses a 60 anos, distribuída da seguinte forma: até 9 anos: 15 (22%); 10 a 19: 22 (32,4%); 20 a 29: 17 (25%); 30 a 39: seis (8,8%); 40 a 49: três (4,4%); 50 a 59: quatro (5,9%); 60 a 69: um (1,5%); 36 (52,9%) do sexo masculino e 32 (47,1%) do feminino. Quanto à procedência, 12 (17,6%) eram de Sobral, e os demais vinham de 28 municípios da região de abrangência do HRS, que atinge 59 municípios da região Norte do estado do Ceará. Os diagnósticos mais frequentes foram 63 (92,7%) de anemia falciforme, três (4,4%) de S/Beta-Talassemia e 2 (2,9%) de S/C. **Conclusão:** O perfil dos pacientes com doença falciforme atendidos nesse Hemocentro Regional aponta um predomínio do sexo masculino, a maioria na faixa de 10 a 19 anos. A anemia falciforme (homozigose SS) representa a maior prevalência: 92,7.

74. HEMOGLOBINA DEER LODGE (HBB:C.8A>G) EM HETEROZIGOSE: RELATO DE CASO

Sybuia LS^a, Salvarani M^a, Okumura JV^a, Belini-Junior E^a, Nascimento PPD^a, Oliveira RG^a, Zanchin S^b, Bonini-Domingos CR^a

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

^b Instituto de Pesquisas, Ensino e Diagnósticos (IPED), Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE), Campo Grande, MS, Brasil

As hemoglobinas (Hb) variantes são resultantes de mutações nos genes das globinas que promovem alterações na molécula e dão origem a Hb com características diferentes das normais. Grande parte das variantes estruturais é decorrente de simples substituições de aminoácidos, resultantes de mudanças nas sequências de nucleotídeos. A maioria das Hb variantes não apresenta efeito clínico significativo. No entanto, a depender da extensão do processo mutacional e dos locais em que ocorrem, pode haver consequências nas atividades físico-químicas da molécula que alteram sua conformação, estabilidade ou afinidade pelo oxigênio. Foram analisadas amostras de sangue periférico de dois indivíduos, uma mulher de 28 anos e seu recém-nascido (RN) de 3 semanas, provenientes de Campo Grande (MS), a partir de resultados da triagem neonatal. As amostras foram submetidas aos testes de triagem clássica para diagnóstico de hemoglobinopatias: resistência globular osmótica em NaCl 36%, morfologia eritrocitária e eletroforeses em pH alcalino e pH ácido. Como testes complementares, foram feitos: quantificação das Hb por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) Ultra2 (Trinity Biotech) com o kit de análise Resolution e eletroforeses de cadeias polipeptídicas em pH alcalino. A mãe E.C.S. apresentou em eletroforese pH alcalino perfil de HbA e uma fração próxima a HbS e em eletroforese pH ácido, HbA e uma fração difusa em HbS. Na análise da cromatografia foi identificada fração de HbA de 47,5% e uma fração de Hb não identificada de 43% com tempo de retenção (RRT/S) de 0,99. A eletroforese de cadeias polipeptídicas revelou mutação de cadeia beta. O recém-nascido apresentou perfil de HbF e HbA na eletroforese pH alcalino e pH ácido. Na análise cromatográfica foi identificada fração de HbF de 68,5%, HbA de 15% e Hb similar a S não identificada de 13,5% pelo equipamento, o

que sugere uma hemoglobina variante. Na eletroforese de cadeias polipeptídicas em pH alcalino foi verificada a mesma mutação de cadeia beta. Por se tratar de um recém-nascido, é esperada a presença de altas porcentagens de HbF, como observamos, o que dificulta o estabelecimento de resultados definitivos, uma vez que a troca das cadeias globínicas para o estabelecimento do perfil hemoglobínico adulto está ocorrendo. Entretanto, a fração de Hb variante no RN tem tempo de retenção similar ao encontrado na mãe, além da similaridade entre os resultados das outras análises feitas, o que nos permitiu sugerir a presença da mesma variante identificada na amostra de sua mãe. A partir das informações da biblioteca de variantes da Trinity Biotech e com os resultados obtidos nas análises laboratoriais, concluímos que a Hb Deer Lodge é a variante encontrada. A Hb Deer Lodge é uma Hb variante, resultante da substituição de arginina por histidina na posição 2 da beta-globina, com alta afinidade ao oxigênio, mas é uma de muitas Hb variantes que não causam alterações clínicas. Como é uma variante rara, de baixa frequência, é importante sua identificação na população brasileira, altamente miscigenada, por meio de análise laboratorial. A combinação dos resultados dos vários testes feitos, não apenas os de rotina, mas também os complementares, e os relatos encontrados na literatura permitiram a confirmação dessa Hb variante.

75. PROGNOSTIC IMPACT OF ANXA2 IN THE DEVELOPMENT OF OSTEO NECROSIS IN SICKLE CELL ANEMIA

Martins DAP^a, Souza MBS^a, Araújo AS^b, Callado FMRA^b, Lucena-Araujo AR^{a,b}, Bezerra MAC^{a,b}

^a Department of Genetics, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil

^b Department of Internal Medicine, Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE), Recife, PE, Brazil

Introduction: Some evidence shows that vascular complications play an important role in the pathophysiology of sickle cell anemia (SCA). In this regard, the gene ANXA2 shows a promising molecular target in the search for markers involved in the clinical heterogeneity of the disease. **Objective:** The present work carried out clinical and molecular characterization of 467 patients with SCA, taking into account two single nucleotide polymorphisms in the ANXA2 gene (ANXA2 *5681 G>A and IVS-14-1046 C>T) using TaqMan[®] probes for real-time PCR. **Results:** No association was observed between the presence of IVS-14-1046 C>T polymorphism and clinical and laboratory variables of patients. However, 6%, 9%, and 24% of patients with wild type genotype (GG), heterozygous (GA), and mutated homozygote (AA) for ANXA2 *5681 G>A polymorphism developed osteonecrosis ($p < 0.001$). With a 35-year median follow-up (95% CI: 28-41 years), homozygous (AA) sickle mutated patients with ANXA2 *5681 G>A polymorphism exhibited a higher growth rate osteonecrosis (47%) than heterozygous and wild homozygous patients (GA and GG, 18%) ($p < 0.001$). Moreover, this polymorphism was independently associated with higher rate of development of osteonecrosis (hazard ratio [HR]: 2.24; 95% CI: 1.46-3.46; $p < 0.001$), considering haplotypes β s and co-inheritance with alpha-thalassemia as confounding elements. **Conclusions:** In summary, these results show that ANXA2 *5681 G>A polymorphism is independently associated with the development of osteonecrosis in this population of patients with SCA, pointing to a possible involvement of ANXA2 in the molecular pathophysiology of osteonecrosis. **Funding:** Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE)/Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

76. ASSOCIAÇÃO DE MARCADORES HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS NA OCORRÊNCIA DE COLELITÍASE EM INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME

Aleluia MM^a, Santiago RP^a, Fonseca TCC^b, Neves FI^b, Souza RQ^b, Farias LA^c, Cerqueira BAV^{a,d}, Gonçalves MS^a

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

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

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

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

A colelitíase é uma complicação comum em crianças e adolescentes com doença falciforme (DF). Sua incidência aumenta proporcionalmente com a faixa etária. Essa complicação é desencadeada pela hemólise crônica, importante fator de risco na doença. A presença de cálculos de colesterol e/ou pigmentares formados e retidos no interior da vesícula biliar contribui para o processo inflamatório crônico. O cálculo mais comum é o composto por colesterol (aproximadamente 80% do total), formado pela secreção biliar aumentada de colesterol; porém, em indivíduos com DF, ocorre a formação de cálculos biliares pigmentados pela destruição prematura dos eritrócitos falcizados, acúmulo de seus precursores e precipitação dos sais biliares (bilirrubinato de cálcio). Foi feito um estudo transversal de 2013 a 2014, com inclusão de 141 indivíduos com anemia falciforme (AF) com mediana de 15 anos, 71 do sexo feminino, acompanhados no Centro de Referência de Doença Falciforme de Itabuna (BA), em estado estável da doença e sem uso de terapia transfusional. Os pacientes e seus responsáveis responderam ao questionário de inquérito epidemiológico para obtenção dos dados clínicos demográficos e assinaram o termo de assentimento livre e esclarecido. Dos 141 indivíduos com AF, 38 tiveram colelitíase, 20 desses fizeram a colecistectomia. Associado a esse quadro, foi registrada a ocorrência de eventos vaso-oclusivos em 36. O perfil hepático foi avaliado a partir das dosagens de bilirrubina total, direta e indireta e foi comparado entre os pacientes que fizeram ou não a colecistectomia, sem diferenças significativas, apesar de os valores estarem elevados; a concentração de fosfatase alcalina, que é indicativa de obstrução biliar, apresentou aumento expressivo ($p < 0,008$). Quanto ao perfil lipídico, a fração VLDL-colesterol (lipoproteína de baixa densidade) e as frações triglicérides estavam elevadas ($p < 0,043$; $p < 0,043$, respectivamente). Foi observada leucopenia ($p < 0,000$) e concentrações normais de VCM ($p < 0,000$), HCM ($p < 0,000$) e CHCM ($p < 0,014$). Isso evidenciou que esses indivíduos não se encontravam em fase aguda da doença. Dessa forma, chamamos a atenção para a detecção precoce da colelitíase nos indivíduos falciformes, visto que já apresentam um distúrbio hemolítico que agrava o quadro.

77. ASSOCIAÇÃO ENTRE NÍVEIS DE HbF EM INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME COM E SEM USO DE HIDROXIUREIA

Aleluia MM^a, Santiago RP^a, Fonseca TCC^b, Neves FI^b, Souza RQ^b, Farias LA^c, Cerqueira BAV^{a,d}, Gonçalves MS^a

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

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

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

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

A hemoglobina fetal (HbF) é produzida pelos genes da globina γ e está restrita a um pequeno contingente de eritrócitos. O aumento na concentração de HbF está associado à redução da morbidade e mortalidade da doença falciforme (DF). Atualmente, diversos agentes têm sido amplamente usados no tratamento da DF, uma vez que estimulam a síntese de HbF, como a hidroxiureia (HU). Estudos têm demonstrado eficácia da HU na DF, que melhora a clínica, com redução de eventos vaso-oclusivos (VO), diminuição na contagem de leucócitos, redução do perfil hemolítico e aumento nas concentrações intraeritrocitárias de HbF. No presente estudo foram incluídos 141 indivíduos com anemia falciforme (AF) em estado estável, sem uso de transfusão, com mediana de 15 anos, 71 do sexo feminino, acompanhados no Centro de Referência de Doença Falciforme de Itabuna. Entre os 141 indivíduos do estudo, 99 não usavam HU e 42 usavam HU (dosagem de 500 mg/kg ao dia). Os indivíduos com AF responderam ao questionário para coleta de dados demográficos e epidemiológicos e assinaram, juntamente com seus responsáveis legais, o termo de assentimento livre e esclarecido. Dos 99 indivíduos com AF sem uso de HU, 90 apresentaram crises VO. Dos 42 com AF em uso de HU, 40 apresentaram crises VO. Foi observado que os indivíduos em uso de HU tiveram aumento de HbF em relação ao grupo sem uso de HU ($p < 0,013$). Dessa forma, o perfil hematológico acompanha o aumento na concentração de hemoglobina (Hb) e no volume corpuscular médio (VCM), evidenciado nos grupos com AF com uso e sem uso de HU, respectivamente, Hb – 7,8/8,1; VCM – 86,3/97,1, o que melhora a função endotelial com diminuição da viscosidade sanguínea. A contagem de reticulócitos foi menor

no grupo em uso de HU em comparação com o grupo sem uso de HU ($p < 0,004$); isso evidencia importante redução, visto que essas células se aderem ao endotélio vascular e favorecem o surgimento das crises VO. O uso de HU reduziu a contagem de leucócitos e do número de internações hospitalares ($p < 0,001$). Assim, as crises VO tendem a se reduzir, bem como o quadro de hemólise, com aumento da sobrevida dos indivíduos com AF. O uso de HU tem proporcionado menor morbimortalidade, além da melhoria na qualidade de vida dos indivíduos com DF, e reduziu o número de infecções e o período no ambiente hospitalar.

78. HEMOGLOBINA FETAL E ALTERAÇÕES NA REGIÃO INTERGÊNICA HBS1L-MYB EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA FALCIFORME SC

Aleluia MM^a, Santiago RP^a, Fonseca TCC^b, Neves Fl^b, Souza RQ^b, Farias LA^c, Cerqueira BAV^{a,d}, Gonçalves MS^a

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

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

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

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

A doença falciforme (DF) é uma doença com heterogeneidade clínica, que pode ser influenciada por diferentes moduladores genéticos. A produção da hemoglobina fetal (HbF) pelas células de linhagem eritroide é um fator modulador significativo no quadro clínico desses indivíduos, já que sua presença nas células vermelhas pode inibir a polimerização da hemoglobina S (HbS). A HbF em indivíduos adultos é regulada de maneira multigênica, com identificação de três loci de características quantitativas (QTLs) na modulação da sua síntese: o polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) C/T no gene *HBB2* localizado na região cromossômica 11p15; o polimorfismo *BCL11A* (B cell CLL/lymphoma 11A) na região cromossômica 2p16; e o polimorfismo intergênico *HBS1L-MYB* na região cromossômica 6q23. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi o de investigar a presença desses polimorfismos em indivíduos com a doença falciforme SC (HbSC). A casuística do estudo incluiu 52 indivíduos HbSC, com mediana de 13 anos (média 17; desvio-padrão 13,38), 30 do sexo feminino, acompanhados no Centro de Referência de Doença Falciforme de Itabuna (BA); todos os indivíduos incluídos no estudo encontravam-se em estado estável, fora de terapia transfusional e sem uso de hidroxiureia. Os indivíduos com HbSC foram submetidos a um questionário para obtenção de dados clínicos, demográficos e epidemiológicos e foi feita a assinatura dos termos de assentimento livre e esclarecido e do termos de consentimento livre e esclarecido pelos representantes legais. Foram estudados dois SNPs rs766432 e rs6732518 na região intergênica *HBS1L-MYB* do gene *BCL11A*. A presença dos alelos variantes dos polimorfismos [rs766432 ($p < 0,000$) e rs6732518 ($p < 0,025$)] se mostrou associada a concentrações elevadas de HbF nos indivíduos estudados. Polimorfismos desse gene estão associados ao aumento da HbF. Com isso, é observada uma diminuição da hemólise e, consequentemente, quadro de crise vaso-oclusiva. Com relação ao perfil hematológico, foi encontrada diferença com relação ao volume corpuscular médio, que esteve aumentado ($p < 0,035$), marcador que é indicativo de auxílio na fluidez sanguínea e melhoria do fluxo endotelial. Com base na prevalência elevada da DF e no papel modulador exercido pela HbF, torna-se essencial a elucidação de mecanismos que possam favorecer o desenvolvimento de estratégias indutoras da HbF, bem como estudos relacionados a esses polimorfismos genéticos moduladores da HbF.

79. FREQUÊNCIA DE HEMOGLOBINAS ANORMAIS EM UNIDADES DE SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL E PLACENTÁRIO DA FUNDAÇÃO CENTRO DE HEMOTERAPIA E HEMATOLOGIA DO PARÁ

Barbosa SR, Meireles ALLP, Silva ELME, Paiva JAP, Cunha MC, Oliveira AF, Freitas LG, Santos MITD, Cruz MA

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

Introdução: As hemoglobinopatias são grupos heterogêneos de distúrbios herdados recessivamente que incluem as talassemias e as doenças falciformes. No Brasil, as duas hemoglobinas mais frequentes variantes são a hemoglobina S (HbS) e a hemoglobina C (HbC), ambas de origem africana, o que demonstra a grande miscigenação da população brasileira. Segundo a RDC nº 56/2010, que é a legislação vigente para Bancos de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário, a presença de hemoglobinopatia congênita é considerada um critério de desqualificação da unidade de sangue de cordão umbilical e placentário (SCUP) para uso alógeno não aparentado. **Objetivo:** O presente estudo objetiva avaliar a presença de hemoglobinas anormais em unidades de SCUP de recém-nascidos coletadas na Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará. **Material e métodos:** Foram analisados retrospectivamente os resultados de testes de eletroforese, feitos em acetato de celulose com pH alcalino, em alíquotas das unidades de SCUP separadas antes da criopreservação, de dezembro de 2011 a junho de 2015. **Resultados:** Das 553 unidades de SCUP processadas e criopreservadas, foi detectada a presença de hemoglobinas anormais em 15 (2,80%) amostras, 13 (2,40%) do tipo HbS e duas (0,40%) do tipo HbC. Apresentaram-se como inconclusivos quatro (0,70%) resultados. Foi observado que 40% (6/15) das unidades de SCUP de recém-nascidos com hemoglobinas anormais exibiram suas respectivas mães doadoras também com hemoglobinas alteradas. **Conclusão:** As frequências de hemoglobinas anormais estão de acordo com as descritas na literatura e a mais frequente é a HbS. É importante oferecer para as mães doadoras um aconselhamento genético quanto a possível manifestação de uma hemoglobinopatia em seus descendentes.

80. FREQUÊNCIA DE HEMOGLOBINA S EM DOADORES DE SANGUE DO HEMONÚCLEO DO HOSPITAL DE BASE DE BAURU-FAMESP

Catto MA, Cardoso MT, Lima PSP, Frigo TMC, Cantão NM, Maciel ACE, Garcia MN, Freitas TC

Hemonúcleo do Hospital de Base de Bauru, Fundação para o Desenvolvimento Médico e Hospitalar (FAMESP), Bauru, SP, Brasil

Introdução: As hemoglobinopatias constituem um grupo de doenças hereditárias que se caracterizam por apresentar distúrbios na síntese das cadeias polipeptídicas da hemoglobina. Dentre as principais hemoglobinopatias, a anemia falciforme (HbSS) é a forma mais frequente no Brasil. O país apresenta alta prevalência de hemoglobina S (HbS), com nítidas diferenças regionais marcadas pelo processo de miscigenação da população. O traço falciforme (heterozigose para HbS – HbAS) constitui uma condição relativamente comum, na qual o indivíduo herda de um dos pais o gene para HbA e do outro, o gene para HbS. No Brasil, a HbS está presente na forma de traço (HbAS) em cerca de 4% da população geral e em até 10% dos negros, e estima-se o nascimento de 3.500 crianças com HbSS ao ano no país. Dessa maneira, este trabalho visa determinar a frequência de doadores de sangue portadores de HbAS atendidos pelo Hemonúcleo de abril de 2012 a abril de 2014. **Material e métodos:** A triagem de pesquisa de HbS foi feita por meio do teste de solubilidade (PHbS) com posterior confirmação por eletroforese de hemoglobina. Foi feito um estudo retrospectivo dos doadores de sangue aptos do Hemonúcleo de Bauru de abril de 2012 a abril de 2014 sobre o número total de doadores com PHbS positivo e suas respectivas idades, sexo e etnias extraídas do sistema informatizado Hemote Plus. **Resultados:** No período estudado, foram triados 29.322 doadores de sangue. Desses, 135 (0,46%) apresentaram resultado positivo para PHbS. A prevalência quanto à faixa etária foi entre 16 e 26 anos, com 55 (41%) doadores. Na etnia, observou-se maior frequência na população branca, com 77 (57%) dos doadores, a maioria do masculino (89 – 66%). **Conclusão:** Com base nos resultados obtidos, nota-se a importância da triagem em centros de hemoterapia para HbS na identificação dos portadores do HbAS. Na população de doadores do Hemonúcleo, verificou-se uma frequência relativamente baixa (0,46%) de portadores da HbS se comparado a outros estudos regionais, o que se deve provavelmente às características da colonização local. Esses resultados podem auxiliar no desenvolvimento de programas educativos e preventivos para essa população-alvo (HbAS) que desconhecem ser portadores dessa mutação e, assim, diminuir o risco de nascimentos de indivíduos homocigotos (HbSS) portadores da anemia falciforme.

81. ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE ASSOCIADA A TERATOMA DE OVÁRIO: RELATO DE CASO

Marques LA, Santos MFDD, Almeida MSS, Simoes AA, Battaglini RP, Fernandes PA, Mosquim SAR, Villa PR, Macedo MCMA, Silva RL

Instituto Brasileiro de Controle do Câncer (IBCC), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Anemia hemolítica autoimune (AHAI) é uma doença rara que em aproximadamente 50% dos casos vem acompanhada de uma condição secundária. A associação de AHAI e teratoma de ovário já foi previamente relatada em raros casos na literatura; é descrita como uma condição refratária à corticoterapia e agentes imunossuppressores, e a principal terapêutica curativa é a ressecção do tumor. **Relato de caso:** Mulher de 34 anos, previamente hígida, em investigação de cansaço e fraqueza havia três meses com necessidade transfusional de hemácias por duas vezes no período. Exames laboratoriais evidenciaram Hb: 6,4 g/dL, VCM 87 fL, anisocitose, sem outras alterações no hemograma, DHL 430 U/L, reticulócitos 0,4%, teste de antiglobulina direto (TAD) positivo para auto IgG e C3d, haptoglobina discretamente diminuída. Devido à reticulocitopenia, optou-se por prosseguir investigação com avaliação medular e tomografias para rastreamento de neoplasia. Após a feitura dos exames de imagem foi evidenciada formação expansiva de 4 cm, heterogênea, em região anexial esquerda, com focos de calcificação e áreas de gordura, sugestiva de teratoma de ovário. Após aproximadamente 10 dias de investigação, a paciente evoluiu com deterioração clínica e laboratorial importante, com queda rápida de hemoglobina para 3,8 g/dL, aumento de reticulócitos para 3,8% e elevação de DHL para 929 U/L. Foi então iniciada imunoglobulina humana endovenosa 1 g/kg/dia por dois dias e metilprednisolona 1 g/dia por três dias para tratamento de AHAI. No terceiro dia de tratamento clínico, a paciente mantinha provas de hemólise em ascensão e necessidade transfusional. Optou-se por ressecção do teratoma de ovário. O procedimento ocorreu sem intercorrências, houve estabilidade dos níveis de hemoglobina, a paciente evoluiu sem nova necessidade transfusional após o ato cirúrgico. **Conclusão:** A AHAI associada ao teratoma de ovário é uma condição rara e deve fazer parte do diagnóstico diferencial em AHAI refratárias à corticoterapia, pois a ressecção cirúrgica faz parte do tratamento do tumor e da manifestação imune. Tendo em vista a má resposta ao tratamento imunossupressor e os potenciais efeitos deletérios dessa terapêutica, mais relatos e séries de casos são necessários para averiguar se a ressecção cirúrgica precoce do teratoma poderia evitar o uso da imunossupressão em altas doses e reduzir, assim, os riscos associados à terapêutica.

82. ESTUDO DE NOVOS BIOMARCADORES DE FUNÇÃO RENAL DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME: CORRELAÇÃO COM MODULADORES MOLECULARES

Santos TEJD, Lemes RPG, Queiroz MGR, Barbosa MC, Machado CMG, Machado RPG, Daher EF, Souza IP, Júior GBS, Arruda ABL

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

Introdução: A anemia falciforme (AF) é uma doença hereditária da síntese de hemoglobina determinada pela homozigose da hemoglobina S (HbSS). Caracteriza-se pela elevada taxa de morbimortalidade devido à frequência de episódios vaso-oclusivos (CVO) e gera danos a múltiplos órgãos. Alterações na função renal são frequentes na AF, uma das morbidades mais frequentes principalmente na fase adulta. Vários são os fatores identificados como moduladores da clínica na AF, entre eles: concentração de hemoglobina fetal (HbF) e haplótipos da beta-globina. Novos biomarcadores da função renal estão sendo estudados, com o propósito de detectar precocemente alterações renais em portadores de AF, como molécula de lesão renal 1 (KIM-1), proteína quimiotática de monócitos (MCP-1) e outros (N-GAL e NAG). Diversos polimorfismos genéticos têm sido associados às manifestações clínicas na AF. Além dos haplótipos da beta-globina, os polimorfismos presentes no gene BCL11A têm sido bastante relacionados com a concentração de HbF e podem estar envolvidos nos mecanismos que levam à disfunção renal na AF. **Objetivo:** Avaliar o uso de novos biomarcadores de lesão renal precoce e associá-los com polimorfismos do gene BCL11A. **Material e métodos:** Estudo transversal, observacional e analítico com 80 pacientes adultos com diagnóstico molecular de AF, em acompanhamento ambulatorial no Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC) em Fortaleza, Ceará, de junho de 2015 a junho de 2017. Foi aplicado o termo de consentimento livre e esclarecido aos grupos controle e paciente. Foi colhida uma amostra de

sangue e uma de urina para quantificação dos diversos biomarcadores e análise genética feitas no Laboratório de Hemoglobinopatias e Genética das Doenças Hematológicas. O projeto está em processo de submissão ao Comitê de Ética da UFC. Algumas análises foram feitas em pacientes já participantes da pesquisa nessa temática. Os níveis urinários do biomarcador MCP-1 de 24 pacientes foram analisados de acordo com os haplótipos da S-beta-globina. Houve uma diferença significativa entre os pacientes que apresentaram o padrão Bantu/Bantu e os demais, como Bantu/Benin e outros (Bantu/Atípico, Benin/Benin), $p = 0,011$. Os polimorfismos do gene BCL11A foram identificados em 15 pacientes. Não foi possível ainda fazer a análise estatística. Os resultados parciais sugerem uma influência dos haplótipos da beta-globina na função renal dos pacientes com AF. Os futuros dados obtidos contribuirão para identificação das variantes genéticas e para elucidação dos mecanismos envolvidos no desenvolvimento das síndromes renais nesses pacientes.

83. PREVALÊNCIA DE HEMOGLOBINAS VARIANTES NA ROTINA DO LABORATÓRIO FLEURY MEDICINA E SAÚDE

Wachtler J, Bezerra MGT, Kamei CY, Sumita NM

Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Hemoglobinas variantes são moléculas que têm modificações estruturais em suas cadeias de globina (α e/ou β) que podem causar alterações funcionais, a depender do tipo da modificação. Muitas dessas não têm significado clínico relevante. No entanto, podem vir a interferir na análise de exames como a dosagem de hemoglobina glicada. O conhecimento de sua presença e prevalência e a sua correta identificação são fundamentais para a adequada interpretação dos resultados de HbA1c. **Objetivo:** a) Mensurar a ocorrência de hemoglobinas variantes em amostras analisadas em rotina laboratorial pela metodologia de cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC); b) Determinar quais as variantes mais frequentes, quando possível. **Material e métodos:** Foram avaliados os resultados dos exames eletroforese de hemoglobina e hemoglobina glicada analisadas por HPLC entre janeiro de 2012 e julho de 2015, de pacientes de ambos os sexos e sem restrição de idade, quanto à ocorrência de hemoglobinas variantes. Em alguns casos, foi possível a identificação de tais hemoglobinas variantes. **Resultados:** No período descrito, foram feitos 1.151.083 exames; distinguiram-se em 1.098.125 hemoglobinas glicadas e 52.958 eletroforeses de hemoglobina. Das hemoglobinas glicadas, 5.213 pacientes (0,47%) apresentaram alguma hemoglobina variante. Já para os pacientes que fizeram eletroforese de hemoglobina, 2.743 (5,2%) apresentaram variação em suas cadeias de hemoglobina, e a hemoglobina S em heterozigose foi a variante mais predominante, com 1.948 casos. **Conclusão:** A ocorrência de hemoglobinas variantes em eletroforese de hemoglobina foi de 5,2% e 0,47% na dosagem de hemoglobina glicada das amostras avaliadas no período. Nos casos de hemoglobina variante detectada no teste de hemoglobina glicada, não foi possível identificar a hemoglobina variante presente em cada caso, o que impossibilita descrever a variante mais predominante para esse teste. Já para os casos de eletroforese de hemoglobina, a variante predominante foi a hemoglobina S em heterozigose, diferentemente do que está descrito na literatura.

84. ALFA-TALASSEMIA E A DOSAGEM DE HEMOGLOBINA GLICADA: RELATO DE CASO

Lavelle NC, Kamei CY, Zillig SAM, Frana NDG, Souza EMR, Pintão MCT, Rizzatti EG

Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

As talassemias são caracterizadas por alterações moleculares no ritmo de síntese, com a supressão parcial ou total da produção de uma ou mais cadeias globínicas. Se os genes α são afetados, as talassemias são denominadas alfa-talasseмии. Os portadores podem ser assintomáticos ou apresentar anemia grave, com intensa microcitose e hipocromia. A dosagem da hemoglobina glicada (HbA1c) é útil para diagnóstico e avaliação do controle glicêmico de indivíduos com diabetes mellitus (DM). Os valores de HbA1c refletem a média da glicose plasmática nos últimos três meses e estão relacionados com risco de complicações do DM. A HbA1c é resultado da glicação não enzimática e irreversível nos resíduos de valina na porção amino-terminal da cadeia beta da Hb. Métodos laboratoriais disponíveis para dosagem de HbA1c incluem cromatografia líquida de alta

performance (HPLC) e imunoenensaio de inibição turbidimétrica. Hb anômalas podem interferir na dosagem de HbA1c. Entretanto, a interferência devido à alfa-talassemia é raramente reportada pelo laboratório clínico. O objetivo deste trabalho é relatar um caso que ilustra essa complexidade diagnóstica. A amostra era de um paciente do sexo masculino, 59 anos, que deu entrada no laboratório clínico para fazer hemograma e dosagem de HbA1c. A quantificação da HbA1c foi feita por HPLC no programa Variant (Tosoh G8[®], Scenika) e turbidimetria (Cobas[®], Roche). O valor obtido no HPLC foi de 4,2% (VR \leq 6,5%). O gráfico apresentou corrida irregular e o pico de HbA1c sobreposto por algum interferente. O método turbidimétrico não foi capaz de fazer a dosagem de HbA1c (A1-W3 = 0,134 mmol/L). O hemograma revelou Hb 10,6 g/dL (VR: 13,5 a 17,5); VCM 69,4 fL (VR: 81,0 a 95,0); e RDW 22,9% (VR: 11,8 a 15,6), o que evidencia uma anemia microcítica de grau moderado. A critério de investigação, a amostra foi submetida à eletroforese de Hbs por capilar (Capillarys[®], Sebia) e HPLC dedicada à pesquisa de Hb variantes, programa Beta-Tal (Variant II – BioRad[®]). Nessas duas metodologias foram constatadas a presença de HbH (9,8% do total de Hb) e diminuição de HbA2 (0,8%), o que caracteriza alfa-talassemia. A HbH em HPLC elui com tempo de retenção de 0,5 segundo, mesmo tempo de retenção da HbA1c. Por esse motivo, a dosagem de HbA1c em HPLC pode sofrer interferência na presença de alfa-talassemia. Os poucos dados publicados revelam que a interferência pode resultar em falsa elevação ou diminuição da HbA1c, a depender da análise feita pelo programa e da forma de cálculo da área no gráfico. Situações que reduzem a meia-vida das hemácias irão reduzir a exposição dos eritrócitos à glicose e podem provocar redução dos valores de HbA1c. Esse fato pode ser observado na alfa-talassemia, que está associada à hemólise. No Cobas[®], o resultado de HbA1c em porcentagem é obtido após cálculo, que usa o parâmetro A1-W3, cujo limite de detecção é 0,186-1,61 mmol/L. Neste caso reportado, o valor obtido foi menor do que a linearidade do equipamento e impossibilitou a dosagem de HbA1c. Este relato chama a atenção para os casos de alfa-talassemia, com concentrações elevadas de HbH que entram no laboratório para fazer dosagem de HbA1c. Os resultados desses pacientes devem ser interpretados de forma criteriosa. Vale ressaltar a importância da interação entre os setores do laboratório, a fim de avaliar os potenciais interferentes na dosagem de HbA1c, principalmente as hemoglobinopatias.

85. SUCESSO NO TRATAMENTO DE ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE SECUNDÁRIA À LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA COM BAIXA DOSE DE RITUXIMABE

Oliveira FF, Gomes IBR, Soares IR, Tavares CM, Velano CEE, Nascimento SC

Irmandade do Hospital da Santa Casa de Poços de Caldas, Poços de Caldas, MG, Brasil

Introdução: Leucemia linfocítica crônica (LLC) é uma doença linfoproliferativa crônica de linfócitos B clonais que acomete sangue periférico, medula óssea e tecidos nodais. Frequentemente associa-se a fenômenos autoimunes, especialmente anemia hemolítica autoimune (AHA) em até 10% dos casos, o que aumenta a gravidade do caso e a urgência no tratamento. O anticorpo monoclonal anti-CD20 – rituximabe – é amplamente usado tanto no tratamento de LLC quanto no de AHA isolado ou em combinação com outros quimioterápicos, geralmente na dose de 375 mg/m². Descrevemos o caso de uma AHA secundária à LLC pós-primeiro ciclo de fludarabina + ciclofosfamida, sem sucesso com corticosteroide, que respondeu brilhantemente ao rituximabe 100 mg dose única. **Material e métodos:** Consulta de prontuário médico e à base de dados PubMed/MEDLINE. **Relato de caso:** Homem, 60 anos, com LLC (Hb 14,7; Ht 38,8; linfócitos clonais pela imunofenotipagem 127.000/mm³; plaquetas 134.000; linfadenomegalias de todas as cadeias, esplenomegalia 15 cm), ECOG 1, prurido generalizado, sem sintomas B. O diagnóstico foi fechado em fevereiro de 2015, com início de fludarabina (25 mg/m² D1 a D3) e ciclofosfamida (250 mg/m²); rituximabe não disponível na rede pública e solicitado via judicial. Teve neutropenia febril de foco pulmonar no nadir do primeiro ciclo, com internação e uso de cefepime (2 g IV 8/8h). Hb do fim da internação de 8,3 g/dL. Quarenta e cinco dias após o primeiro ciclo, já recuperado da neutropenia febril, retornou ao consultório com astenia aos mínimos esforços, vertigem, hipotensão postural; palpitações e dispneia aos moderados esforços. Ao exame, hipocorado 3+ e icterício 2+. Sem sopros ou alterações respiratórias. Hb 5,8 g/dL; Ht 17; VCM 84; leucócitos 3.700/mm³; segmentados 1.813; plaquetas 120.000/mm³; DHL 1.101 U/L; reticulócitos 20.000/mm³; bilirrubina indireta 1,3 mg/dL;

haptoglobina não disponível, TAD positivo em gel Liss/Coombs monoespecífico. Pelos sintomas e pelo grau da Hb, optamos por pulsoterapia com metilprednisolona 1 g IV por três dias. No terceiro dia, mesmo sem pioria clínica, Hb caiu para 3,9 g/dL. Feito rituximabe dose única e fixa de 100 mg, seguida de prednisona 1 mg/kg com melhoria gradual da clínica e da Hb (4,1; 5,0; 7,5; 10,5 g/dL); Hb 13,4 g/dL em 30 dias. Atualmente, o paciente encontra-se estável, com Hb 14,5 g/dL, TAD e provas de hemólise negativas, aguarda liberação judicial de rituximabe para continuidade do tratamento da LLC. **Discussão:** A ocorrência de AHA relacionada à fludarabina (4,5% a 11%) tem sido cada vez mais equivalente à frequência com outros esquemas com ciclofosfamida ou clorambucil isolado, por exemplo. Uso de rituximabe é vastamente empregado no tratamento da LLC, em doses que variam de 375 mg/m² a 500 mg/m² a depender do esquema quimioterápico empregado. Doses fixas de 100 mg foram descritas para o tratamento de AHA idiopática, com total de quatro ciclos semanais e resposta global de 82,6%, mas não para AHA secundária à LLC. Usar rituximabe 100 mg dose única no caso supracitado foi uma tentativa heroica de cessar a hemólise com os poucos recursos medicamentosos que o Sistema Único de Saúde oferece. Felizmente, obtivemos êxito. **Conclusão:** Apesar de baixas doses de rituximabe terem sido descritas para tratamento de AHA idiopática em adultos, conseguimos cessar a hemólise desse paciente com AHA secundária à LLC.

86. PROFILE OF HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN DIFFERENTIATION OF MICROCYTIC ANEMIA IN THE BLOOD DONORS

Carlos AM^a, Souza RAV^a, Souza BMB^a, Resende GAD^a, Moraes-Souza H^{a,b}

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

^b Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Uberaba (HEMOMINAS), Uberaba, MG, Brazil

Introduction: The microcytic anemia results from defective synthesis of hemoglobin (Hb) by erythrocyte, causing a reduction in the mean corpuscular volume (MCV) of red blood cells. The most common causes of microcytosis, without the increase in Hb_{A₂} levels, are iron deficiency anemia and α -thalassemia (α -thal). Other diagnoses to consider include anemia due to chronic disease and sideroblastic anemia. The lack of α -thal identification in blood donors may lead to confusion in the diagnosis, and subsequently to unnecessary or erroneous treatment of these individuals. The aim of this study was to compare the hematological parameters of donors unable to donate due low hematocrit (Ht) levels, related to α -thal or iron deficiency. **Materials and methods:** Between September 2011 and December 2014, 215 blood donors unable to donate due to low Ht levels at the Uberaba Regional Blood Center were studied. Genomic DNA was submitted to multiplex PCR for the diagnosis of the most common allele deletions of α -thal [$-\alpha^{3,7}$, $-\alpha^{4,2}$, $-\alpha_{SEA}$, $-\alpha_{FIL}$, $-\alpha_{THAI}$, $-(\alpha)^{20,5}$, and $-\alpha_{MED}$] and erythrograms were performed to verify hematological parameters. Iron deficiency was determined through the measurement of serum ferritin (\leq 20.0 ng/dL). The data were submitted to descriptive analysis. Comparison of the hematological parameters of different types of anemia was performed with one-way ANOVA (for three groups) and Student's t-test (for two groups). A p-value of 0.05 was considered significant. **Results:** Of the 215 blood donors unable to donate due low hematocrit levels, the incidence of α -thal was 16.3% (35) in all with the $-\alpha^{3,7}$ deletion, of whom 34 (15.8%) were heterozygous ($-\alpha^{3,7}/\alpha\alpha$) and one (0.5%) was homozygous ($-\alpha^{3,7}/-\alpha^{3,7}$). In 136 of the 215 samples, a complete blood count, ferritin levels, and HbA₂ measurements were performed, in addition to the investigation of α -thal, in order to determine the real cause of the anemia. Of these 136 samples, 35 (25.7%) had iron deficiency, 24 (17.7%) had α -thal, 11 (8.1%) had iron deficiency associated with α -thal, and nine (6.6%) had the beta thalassemia trait. The cause of anemia was not identified by the tests employed in 57 samples (41.9%). In the α -thal group with iron deficiency, Ht, Hb, MCV, and MCH values were significantly lower compared to the α -thal group without iron deficiency. Similarly, in the group with iron deficiency, Ht and Hb values were significantly lower compared to the α -thal group without iron deficiency. Regarding the differentiation between the α -thal group with iron deficiency and iron deficiency anemia, the only parameter with a significant difference was the MCV (70.73 vs. 76.91, p = 0.0154). With relation to the indices of anisocytosis, the value of RDW was significant higher in those donors with iron deficiency, either alone or associated with α -thal. **Conclusion:** This study showed that hematological parameters – mainly Ht, Hb, MCV, MCH, and RDW – could be useful to discriminate between the different

types of microcytic anemia in blood donors. **Funding:** Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFMT), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

87. MODULAÇÃO GENÉTICA DO BCL11A NO PERFIL INFLAMATÓRIO, HEMOLÍTICO, ESTRESSE OXIDATIVO E NOS NÍVEIS DE HEMOGLOBINA FETAL EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Machado RPG^a, Lemes RPG^b, Queiroz MGR^b, Martins AMC^b, Perdigo CB^c, Araújo FMC^c, Laurentino MR^b, Barbosa MC^b, Arruda ABL^b, Souza IP^b

^a Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC), Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brasil

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

^c Laboratório Central de Saúde Pública do Ceará (LACEN/CE), Fortaleza, CE, Brasil

A anemia falciforme (AF) é uma hemoglobinopatia hereditária autossômica causada por uma mutação ocasional no gene da beta-globina que gera uma hemoglobina anormal denominada de hemoglobina S (HbS), em homozigose. A doença se caracteriza por apresentar uma variabilidade do quadro clínico, que se deve a múltiplos fatores, dentre eles a hemoglobina fetal (HbF). A pesquisa se propôs a determinar a modulação genética dos polimorfismos do gene BCL11A (rs4671393, rs7557939 e rs1186868) sobre o perfil inflamatório, hemolítico, no estresse oxidativo e nas concentrações das HbF, HbS nos pacientes portadores de AF, em estado estacionário. O estudo foi do tipo transversal e analítico, com 42 pacientes adultos, em acompanhamento ambulatorial no Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC), com diagnóstico molecular e haplótipos do gene da S-beta-globina previamente feitos. Os pacientes estavam em uso de hidroxiureia (HU), em média, 20 mg/kg de peso corporal. Amostras biológicas de sangue periférico foram obtidas para a feitura dos exames laboratoriais: dosagens das citocinas pró-inflamatórias IL-6, IL-17, TNF-alfa e das anti-inflamatórias IL-10 e TGF-beta, por ELISA; contagem de reticulócitos por metodologia manual, dosagem de MetHb e LDH por espectrofotometria; do NOx, MDA séricos, as enzimas antioxidantes eritrocitárias, CAT e da GPx por kits e espectrofotometria. Os polimorfismos genéticos do gene BCL11A nas regiões rs4671393, rs7557939 e rs1186868 foram determinados por real time PCR. As dosagens da HbF e HbS foram feitas por HPLC. Os dados idade, sexo e eventos clínicos foram obtidos dos prontuários. Toda a análise estatística foi feita com o programa livre R, na versão 3.1.2. Foi considerado significativo no nível de 5%. A maioria dos pacientes (57,14%) era do sexo feminino. A idade dos pacientes incluídos foi de 18 a 65 anos, com valor médio e mediano de 35,1 e 33 anos, respectivamente. Somente na rs7557939 do BCL11A, o genótipo A/G foi o mais prevalente. A prevalência do genótipo A/G foi maior nas mulheres, enquanto nos homens a prevalência maior foi do genótipo A/A. No entanto, na rs1186868 do BCL11A, a maioria (56,52%) das mulheres apresentou o genótipo C/T e a metade dos homens apresentou o genótipo T/T. Nenhuma região do gene BCL11A apresentou associação significativa com os haplótipos do gene da S-beta-globina. Em relação à modulação do gene BCL11A com os níveis de HbS e HbF, verificou-se que na rs1186868 houve resultado significativo do genótipo mutante T/T, que apresentou maiores níveis de HbS e menores níveis de HbF. Na rs7557939 houve uma diminuição significativa de HbF no alelo mutante A/A, porém não houve relação com a HbS. Não houve associação entre os SNPs, nas três regiões estudadas, com relação ao número médio/mediano dos moduladores inflamatórios, marcadores de hemólise, do estresse oxidativo e dos eventos clínicos, no nível de 5%. Os achados reforçam a hipótese da modulação genética dos polimorfismos do gene BCL11A em relação aos níveis de HbF, na qual os alelos selvagens, nas regiões rs7557939 e rs1186868, apresentaram um caráter protetor no prognóstico em decorrência de terem apresentado aumento dos níveis de HbF nos pacientes com AF do estudo.

88. BETA-S GLOBIN HAPLOTYPE CLUSTER: NEW INSIGHT OF CLASSICAL CLINICAL MODULATOR OF SICKLE CELL DISEASE

Carvalho MOS^{a,b}, Khouri R^c, Souza ALCS^d, Figueiredo CVB^{d,e}, Carvalho MB^d, Lopes VM^f, Rocha LC^{b,e,f}, Santiago RP^{d,e}, Borges VM^c, Goncalves MS^{b,d,e}

^a Hospital Universitário Professor Edgard Santos, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brazil

^b Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^c Laboratory of Immunoregulation, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brazil

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

^e Laboratory of Hematology, Genetics and Computational Biology, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brazil

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

The beta-S gene cluster haplotypes are recognized by the pattern of single nucleotide polymorphisms, related to the geographical origin of the mutation that leads to occurrence of b allele S. Haplotypes linked to the group of beta-globin genes have also been described as exerting influence on the clinical course of patients with sickle cell disease (SCD; Steinberg, 2009). Haplotypes are associated with different concentrations of fetal hemoglobin (HbF) and clinical modulation of SCD. The aim of the study was to evaluate the possible association between the beta-S gene cluster haplotypes with clinical and laboratory data in patients with SCD. A total of 108 SCD children in a steady state were included in the study, followed at the HEMOBA Foundation. Laboratorial data were determined by automated methods and clinical data was collected from medical records. This study used Bayesian networks based upon observation of the attributes. In this graph, each node corresponds to an attribute, and a direct arc between nodes represents a direct influence. In this non-linear model, the conditional dependency was assessed with a nonparametric bootstrap, 100x replicates (Friedman et al., 1999). In this study, 72 (66.7%) of the SCD patients were CAR haplotype carriers, which is associated with lower level of HbF and clinical severity. Analyses of the association between haplotypes and laboratory markers revealed high strength of association with serum levels of total cholesterol, urea, creatinine, hemoglobin, and leukotriene B4 (LTB₄); the haplotypes show strong association with cardiac alteration as well as clinical and pain crisis. The association between total and indirect bilirubin were used to validate the data network. **Keywords:** Sickle cell disease; Beta-S gene cluster haplotypes; Prognosis.

89. CYTOKINE PROFILE OF SICKLE CELL DISEASE PATIENTS IN STEADY STATE AND CRISIS

Carvalho MOS^{a,b,c}, Araujo T^d, Lopes VM^e, Reis JHO^{a,c}, Cerqueira BAV^{a,c}, Rocha LC^{a,c}, Carvalho MB^f, Luz N^d, Santiago RP^{a,f}, Borges VM^d, Goncalves MS^{a,c,f}

^a Laboratory of Hematology, Genetics and Computational Biology, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brazil

^b Hospital Universitário Professor Edgard Santos, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brazil

^c Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^d Laboratory of Immunoregulation, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brazil

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

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

Introduction: Sickle cell disease (SCD) is a hereditary anemia characterized by heterogeneous clinical outcome compound by hemolysis, chronic inflammation, and vaso-occlusive and painful crisis. **Aim:** To investigate the associations between hematological and biochemistry biomarkers and cytokine levels (TNF α , IL-12, IL-10, IL-1 β , IL-6 and IL-8), between groups of SCD patients (in crisis and in steady-state), identifying the molecules related to hemolysis, inflammation, hepatic dysfunction, renal, and lipid metabolism. **Methods:** The study included 72 SCD steady-state patients (SP) and 23 cases of SCD in crisis (CP), who were age- and sex-matched. Hematological analysis was performed by automatic cell counter; hemoglobin profile, by HPLC; and biochemistry analyses of inflammation and infection markers and lipid, hepatic, and kidney metabolism markers were conducted by immunochemistry assays.

Plasma levels of TNF α , IFN γ , IL-10, IL-1 β , IL-6, and IL-8 were measured using cytometric bead array (CBA; BD Biosciences Pharmingen, United States), according to the manufacturer's protocol. **Results:** Statistical analysis showed that SCD steady-state patients groups had the highest IL-12 concentration ($p < 0.0001$) and there were a decrease in TNF α , IL-10, IL-1 β , and IL-6 levels ($p < 0.0001$) when compared with the CP group. However, a significant difference in IL-8 levels was not found in the comparison between SP and CP. Biomarkers analyses of SP showed a negative correlation between IL-8 with alpha 1 antitrypsin (AAT; $r = -0.25$; $p = 0.03$) and C-reactive protein (CRP; $r = -0.24$; $p = 0.04$), and a positive correlation with lactate dehydrogenase (LDH; $r = 0.25$; $p = 0.03$). IL-6 showed a positive correlation with leukocyte count ($r = 0.52$; $p < 0.0001$), ferritin ($r = 0.30$; $p = 0.001$), and CRP ($r = 0.42$; $p = 0.0002$). TNF-alpha showed a positive correlation with leukocyte count ($r = 0.28$; $p = 0.02$) and AAT ($r = 0.29$; $p = 0.01$). Finally, IL-10 showed a positive correlation with platelets count ($r = 0.30$; $p = 0.01$) and AAT ($r = 0.29$; $p = 0.01$) levels. **Conclusions:** The immunological aspects of SCD are being increasingly studied. The high levels of Th2 cytokines (IL-6 and IL-10) and pro-inflammatory cytokines (TNF-alpha and IL-1 beta) in SCD crisis is possibly related to the severity of clinical manifestations, although the fundamental role of these cytokines in the pathophysiology of the disease is not yet completely clear. The correlation between these cytokines and biomarkers associated with important clinical manifestations in SCD (such as leukocytes, platelet count, and CRP) highlights the important role of inflammatory mediators in SCD and their possible association with increased expression or activation of adhesion molecules in neutrophils and vascular endothelium. **Keywords:** Sickle cell disease; Cytokine; Inflammation. **Funding:** This study was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)/306524/2004-0 (MSG); Contract grant sponsor: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB)/ 1431040053063; MCD/CNPq/MS-SCTIE-DECIT.

90. ESTUDO DA FREQUÊNCIA DE HEMOGLOBINAS VARIANTES EM UM LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS EM SALVADOR (BA)

Neta RGS, Souza ICL, Vivas WLP

Universidade Tiradentes (UNIT), Aracaju, SE, Brasil

As hemoglobinopatias correspondem a um grupo heterogêneo de distúrbios caracterizados por alterações, qualitativas ou quantitativas, que envolvem a síntese de genes estruturais e promovem a formação de moléculas de hemoglobinas com variações polimórficas características. Essas alterações, denominadas de variantes, têm frequência variada, de acordo com distribuição geográfica e/ou étnica. A população do Brasil é considerada uma das mais heterogêneas. Essa heterogeneidade tem implicações importantes no perfil proteico herdado, que inclui as hemoglobinas humanas e pode explicar discrepâncias na frequência de algumas formas de hemoglobinopatias. Essas hemoglobinas variantes já foram descritas em mais de 800 casos até o momento e estima-se que haja 270 milhões de portadores de hemoglobinopatias pelo mundo. Dados como esses têm demonstrado essa patologia como um problema de saúde pública. Antigamente, o diagnóstico difícil ou tardio das hemoglobinopatias contribuía para o alto índice de mortalidade e a baixa expectativa de vida dos portadores, em decorrência das complicações da sua sintomatologia, como a anemia, na maioria das vezes hemolítica. Entretanto, nos dias atuais, o diagnóstico dessas hemoglobinopatias foi facilitado pelos métodos de biologia molecular, que possibilitaram os estudos dos genes que codificam as cadeias de globina, além de identificar facilmente a mutação. Existem vários métodos para a identificação, porém a eletroforese de potencial hidrogeniônico (pH) alcalino, o método de separação por eletroforese capilar (EC) e a de cromatografia de alta performance (HPLC) são mais eficazes. A HPLC é um método automatizado que permite quantificar com precisão a HbA2 (com algumas exceções), mas também é muito eficaz na detecção de hemoglobinas variantes e hemoglobinas raras. O objetivo deste estudo foi identificar a frequência e distribuição de hemoglobinas variantes em um laboratório de análises clínicas da cidade de Salvador (BA), de agosto de 2012 até agosto de 2014. Trata-se de um estudo transversal e descritivo para a avaliação da frequência de hemoglobinas variantes. Os dados foram obtidos em um laboratório de análises clínicas da cidade de Salvador, por meio do sistema de informatização Smart versão 2.1.133.105 da Medic Ware, de agosto de 2012 a agosto de 2014. No estu-

do da frequência das hemoglobinas variantes, os dados deste trabalho foram analisados em três faixas etárias: entre 6 meses a 18 anos; 19 anos a 59 anos; e ≥ 60 anos. A exclusão dos resultados para menores de 6 meses fez-se necessária para garantir maior fidedignidade aos dados. Foram analisados 2.516 resultados de eletroforese por HPLC. Do total de resultados analisados, 85,30% (2.146) apresentaram hemoglobinas normais (AA), enquanto 14,70% (370) apresentaram alterações. Os resultados gerais deste trabalho fazem concluir que mais estudos da frequência de hemoglobinas variantes por faixa etária se tornam importantes para o acompanhamento do crescimento de tipos raros de hemoglobinas, associado ao possível impacto de novos perfis de miscigenação. **Palavras-chave:** Hemoglobinas variantes; HPLC; Faixa etária.

91. ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE TAD-NEGATIVO APÓS TRATAMENTO COM IMUNOGLOBULINA HUMANA PARA SÍNDROME DE GUILLAIN-BARRÉ

Fonsêca AR, Jacomini A, Arrais C, Marques FM, Gomes IBR, Santos JS, Junior MJFS, Barros MMO, Yamakawa P, Bordin JO

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

Introdução: A síndrome de Guillain-Barré é a causa mais comum de paralisia arreflexa, caracterizada por dissociação albuminocitológica no líquido. Um dos seus tratamentos mais efetivos é o uso de imunoglobulina humana intravenosa (IgIV) em dose alta. Um efeito adverso relacionado ao uso de IgH, principalmente em altas doses, é a ocorrência de anemia hemolítica (AH). Esse evento, se presente, costuma aparecer duas semanas após o uso da IgH. O mecanismo provável da hemólise tem sido atribuído à imunização passiva por anticorpos contra antígenos do sistema ABO, mais frequente em indivíduos A, B e AB. O TAD costuma ser positivo nos primeiros dias da AH, e na maioria dos casos, há remissão espontânea da anemia no decorrer de semanas. **Objetivo:** Relatar o caso de uma paciente jovem, com diagnóstico de síndrome de Guillain-Barré avaliada pela hematologia devido a AH após uso de IgIV. **Caso clínico:** Paciente de 20 anos, sexo feminino, admitida no pronto-socorro com quadro de tetraparesia flácida arreflexa, ascendente, associada à retenção urinária e disfagia, iniciada três dias antes admissão. Suspeitou-se de síndrome de Guillain-Barré após achado característico no líquido. Foram feitos dois ciclos de IgIV (2 g/kg de peso). Oito dias após a IgIV, evoluiu com anemia (hemoglobina caiu de 14 g/dL para 8,8 g/dL, com VCM normal, reticulocitose de 28.7000/mm³, DHL 586 UI/L (VR: 240 UI/L) e hiperbilirrubinemia (bilirrubina total 1,03 mg/dL e bilirrubina indireta 0,75 mg/dL), com TAD negativo e eluato positivo. Tipagem sanguínea: A positivo. O esfregaço de sangue periférico evidenciava anisopoiquilocitose. Iniciada prednisona 1 mg/kg/dia, com melhora dos níveis hematimétricos após seis dias de tratamento. Segue em acompanhamento no serviço, em desmame de corticoterapia. **Conclusão:** A anemia hemolítica relacionada ao uso de imunoglobulina deve ser considerada como potencial efeito adverso da IgIV e pode até limitar a dose da mesma. Caso seja confirmada a AH, o uso de prednisona tem se mostrado tratamento efetivo, como observado no presente caso.

92. AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL E FUNÇÃO RENAL EM UM MODELO ANIMAL DE ANEMIA FALCIFORME

Brito PL^a, Leonardo FC^a, Penteadó CFF^a, Silveira AA^a, Oliveira MG^b, Jr WAF^a, Chweih H^a, Antunes E^b, Costa FF^a, Conran N^a

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

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

Introdução: Com o avanço da idade muitos pacientes com AF desenvolvem insuficiência renal crônica. Os rins são responsáveis pela homeostasia e modulação da pressão arterial (PA) por meio do sistema renina-angiotensina (SRA). Em um trabalho prévio, demonstramos (Santos et al., 2014) que camundongos com anemia falciforme (AF) apresentam concentrações plasmáticas de angiotensina II diminuídas, quando comparados com camundongos sem AF. Assim, partimos da hipótese de que alterações na SRA contribuam para a diminuição da PA que é observada com frequência em pacientes com AF (Ataga et al., 2014). **Objetivo:** Padronizar

a metodologia necessária para avaliar a PA e os aspectos de função renal em camundongos com AF. **Material e métodos:** Após aprovação do comitê de ética animal (CEUA, UNICAMP), camundongos da linhagem C57BL6 machos (n = 13; idade, 8 semanas) e um camundongo transgênico Berkeley com AF foram obtidos no Biotério Central (CEMIB) da UNICAMP. Para aumentar o tamanho da colônia de animais com AF, as células da medula óssea do camundongo AF foram transplantadas em quatro animais C57BL6 irradiados para formar um grupo de camundongos quiméricos com AF (camundongos AF, n = 4). Da mesma forma, as células da medula óssea de um camundongo C57BL6 foram transplantadas em três animais C57BL6 irradiados para formar um grupo de camundongos quiméricos controle (CON, n = 3). Camundongos C57BL6 também foram usados como controle de camundongos não transplantados (n = 5). Oito semanas após os protocolos de transplante, o fenótipo dos camundongos AF foi verificado por gel de eletroforese. Com 5 meses de idade, a PA da cauda dos camundongos foi aferida por meio de um sistema acoplado ao transdutor de pressão (PowerLab e NIBP System - AD instruments) três vezes em três ocasiões durante uma semana. Após aferição da PA, os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas por 24 horas para a coleta de urina e posterior determinação do volume, pH e proteinúria da urina. **Resultados:** Dos quatro camundongos quiméricos AF, dois sobreviveram até o fim do experimento, o que ilustra a sensibilidade desse modelo animal. As medidas de PA dos grupos controle foram similares ($122,1 \pm 5,8$ mmHg e $114,9 \pm 7,0$ mmHg para C57BL6 e CON, respectivamente). A PA do grupo AF foi de $94,3 \pm 5,1$ mmHg ($p < 0,05$, comparado com o grupo C57BL6). A diurese não foi significativamente diferente entre os grupos ($2,4 \pm 0,3$; $1,5 \pm 0,5$ e $1,5 \pm 0,0$ mL/24h para os grupos C57BL6, CON e AF, respectivamente; $p > 0,05$). Da mesma forma, não foram observadas diferenças significativas no pH ou no conteúdo de proteína na urina entre os grupos (pH: $7,0 \pm 0,0$; $6,8 \pm 0,2$ e $7,0 \pm 0,0$; proteinúria: $1,4 \pm 0,4$; $1,67 \pm 1,7$; $0,3 \pm 0,0$ g/mL proteína para os grupos C57BL6, CON e AF, respectivamente). Hematúria foi negativa para todos os grupos. **Conclusão:** Dados deste estudo piloto indicam que a PA de camundongos com AF pode estar diminuída quando comparada com a de camundongos sem AF, como observado com frequência em pacientes com AF. Essa alteração não foi associada a qualquer alteração significativa de função renal nos animais nessa idade. Os dados apresentados aqui são preliminares e estão no processo de aumentar o tamanho amostral dos grupos a fim de apoiá-los. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

93. TRIAGEM DE HEMOGLOBINAS VARIANTES (HEMOGLOBINOPATIAS) EM HEMOCENTRO DE TERESINA (PI)

Silva NG^a, Campos RC^a, Silva HJN^b, Sabino CKB^b, Sabino EB^b, Lopes LS^b

^a Faculdade Integral Diferencial (Facid/DeVry), Teresina, PI, Brasil

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

Hemoglobina é a proteína responsável pelo transporte dos gases sanguíneos por todo o organismo e está contida no interior dos eritrócitos. Os distúrbios da hemoglobina humana ocorrem com frequência significativa em todos os continentes. Milhões de pessoas carregam genes para hemoglobinas anormais em várias combinações. São mais frequentes no Brasil os tipos variantes S, C e talassemias alfa e beta, com consequências que variam de quase imperceptíveis a letais. O trabalho teve por objetivo avaliar incidências de padrões de alterações hemoglobínicas de doadores de sangue em um hemocentro de Teresina (PI). Trata-se de uma pesquisa quantitativa de hemoglobinas variantes encontradas em um hemocentro de Teresina. O universo da pesquisa foram 3.884 registros de amostras de sangue submetidos à triagem de hemoglobinas por meio de separação por cromatografia líquida de alta eficiência, de 2012 a 2014, distinguidos por idade e sexo. Foram analisados 3.884 registros, 39,4% referentes aos sexo feminino e 60,6% ao masculino, entre 16 e 66 anos. Os tipos de variantes de hemoglobina são diretamente relacionados com a origem étnica da população estudada e seu grau de miscigenação. A ocorrência das hemoglobinas S e C está diretamente relacionada à ascendência negra na população brasileira, assim como o traço talassêmico beta é mais prevalente em indivíduos que descendem de povos originários de regiões banhadas pelo Mediterrâneo. No presente trabalho observou-se uma incidência relevante referente aos padrões de anormalidades hemoglobínicas AS e AC, encontrados 0,56% e 0,28% respectivamente, coerentes com dados publicados por outros autores no Brasil. Os resultados obtidos demonstram a importância da triagem para detecção de hemoglobinas anor-

mais, pois permite um levantamento epidemiológico, além de possibilitar o tratamento de doadores acometidos e melhorar a qualidade de vida.

94. MICROANGIOPATIA TROMBÓTICA NO CICLO GRAVÍDICO-PUERPERAL: RELATO DE CASO

Marques FM^a, Evangelista PD^b, Marques OM^c, Benevides FLN^b, Sousa ARO^a, Cavalcante RM^d, Silva HF^b, Barbosa SAT^b, Lima TG^b, Barbosa OA^b

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

^b Hospital Geral Dr. César Cals (HGCC), Fortaleza, CE, Brasil

^c Faculdade de Medicina Nova Esperança (FAMENE), João Pessoa, PB, Brasil

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

Introdução: As microangiopatias trombóticas (MAT) no ciclo gravídico-puerperal permanecem uma importante causa de mortalidade e morbidade fetal e materna. A gestação pode ser um fator precipitante, porém ainda não se conhece claramente tal mecanismo. O diagnóstico diferencial envolve pré-eclâmpsia, vasculite lúpica, púrpura trombocitopênica trombótica (PTT) e síndrome hemolítico-urêmica (SHU). A SHU é uma microangiopatia trombótica que se manifesta principalmente com anemia hemolítica, trombocitopenia e comprometimento renal. A causa mais comum de SHU é a ação da toxina Shiga, produzida principalmente por *Escherichia coli* (Stec). Pesquisas feitas durante os últimos 20 anos mostraram que a maioria dos casos de SHU relacionados à Stec é resultantes de alterações no sistema complemento. Essa forma, descrita como SHU atípica (SHUa), é responsável por 10% dos casos e tem um mau prognóstico. **Relato de caso:** Paciente de 18 anos, sexo feminino, G1P0, 37 semanas de gestação, previamente hígida, apresentou-se à maternidade com picos pressóricos, edema de membros inferiores e relato de convulsões. Feito o parto por via abdominal, pelo diagnóstico de eclâmpsia, com recém-nascido que apresentou boa vitalidade. No segundo dia pós-operatório, a paciente recebeu alta com melhora do quadro clínico. Três dias depois, a paciente procurou atendimento médico com quadro de palidez, adinamia, dispneia e rebaixamento do nível de consciência. A paciente apresentava ainda picos pressóricos, cefaleia, náuseas, vômitos, sudorese intensa, diminuição da diurese e confusão mental. Os exames revelaram anemia, plaquetopenia e elevação da desidrogenase láctica (LDH). Foi então transferida para a UTI, onde foi levada a hipótese de PTT e foi solicitada a dosagem da ADAMTS13 e iniciada a plasmaférese. A paciente evoluiu com melhora da plaquetopenia, anemia e dos níveis de LDH, porém não houve melhora significativa da função renal; manteve-se oligúrica e dependente de diálise por hipervolemia e com níveis elevados de excretas nitrogenadas. Após a estabilização do quadro, recebeu alta da UTI e foi levada para a enfermaria de clínica médica a fim de prosseguir investigação diagnóstica. O resultado do ADAMTS13 foi de 85% (que afastou a hipótese de PTT); a ultrassonografia do aparelho urinário revelou discreta elevação da ecogenicidade parenquimatosa e o ecocardiograma descartou alteração morfofuncional cardíaca. Pesquisa para lúpus, síndrome do anticorpo antifosfolípide e infecções virais foi negativa. A biópsia renal foi então indicada. Observaram-se duplicação da membrana basal, ausência de sinais de trombose, fibrose intersticial leve e focal com necrose tubular aguda, compatível com SHUa. Iniciou-se ecilizumabe (anticorpo monoclonal anti-C5) para a paciente, que evoluiu com melhora da função renal e da diurese e foi descontinuada a hemodiálise. **Conclusão:** A ocorrência de MAT no ciclo gravídico-puerperal é subdiagnosticada ou tem seu diagnóstico retardado devido à similaridade com doenças mais comuns, próprias desse período, como doença hipertensiva específica ou síndrome HELLP. O caso relatado trata de uma entidade recentemente descrita e rara que, ao ser reconhecida e tratada, modificou radicalmente o prognóstico da paciente.

95. HEMOGLOBINOPATIA H EM UM PACIENTE DA AMAZÔNIA: RELATO DE CASO

Junior ABDS, Corrêa PLS, Borges KOR, Costa DL, Martins M, Silva WM, Silva ACS, Rodrigues GCS, Sampaio JCO, Trindade L

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

Introdução: A alfa-talassemia consiste em um grupo de doenças hereditárias de distribuição universal. A hemoglobinopatia é a mais comum de

todas e a mais costumeiramente negligenciada. Sua etiopatologia se alicerça na diminuição ou ausência de síntese de uma ou mais cadeias alfa de hemoglobina, o que origina um desequilíbrio quantitativo entre cadeias alfa e cadeias não alfa, no qual o excesso de cadeias não alfa é responsável pela formação de hemoglobinas instáveis como a HbH, um tetrâmero de cadeias beta (β_4). O quadro clínico da alfa-talassemia é marcado por quatro condições clínicas e hematológicas, que tem como fator limitante a quantidade de genes alfa que sofreram deleção. As formas assintomáticas, como o portador silencioso e o traço alfa-talassêmico, causadas pela deleção de 1 e 2 genes alfa, respectivamente, constituem a maior prevalência dos pacientes com alfa-talassemia e seu diagnóstico é circunstancial. A doença HbH é causada pela deleção de três genes alfa; o quadro clínico e hematológico é marcado por uma anemia hipocrômica, microcítica e esplenomegalia; comumente são desnecessárias transfusões de concentrados de hemácias. A hidropsia fetal por Hb Bart's, situação marcada pela deleção dos quatro genes alfa, é uma condição devastadora e incompatível com a vida. É a hemoglobinopatia mais grave de todas, na qual o quadro clínico é marcado por um bebê prematuro, edemaciado e com palidez; se não natimorto, morre logo após o nascimento. **Objetivo:** Relatar o caso de um paciente com a doença da HbH. **Relato de caso:** Paciente do sexo masculino, estudante, 13 anos, pardo, morador de Santarém (PA) e que tinha o diagnóstico de HbH desde 2011. Em 2008, o paciente iniciou um quadro de dor abdominal associado a um adenomegalia febril; foi diagnosticada toxoplasmose. Na internação, notou-se que tinha uma anemia microcítica e hipocrômica. Com a persistência do quadro anêmico, o paciente foi encaminhado para o serviço especializado, em Manaus, no qual foi diagnosticada doença da HbH em 2011; desde então, fazia uso de ácido fólico. Foi encaminhado para o serviço de hematologia em Santarém, com os principais exames na admissão (03/2014): Hb: 8,1; Ht: 21,40; VCM: 76,97; HCM: 29,13; CHCM: 31,85; GB: 6.300 (S = 63%; L = 33% e M = 4%); P: 175.000; HbH presente; eletroforese de HbA1 = 95,5%; HbA2 = 2,7; HbF = 1,8%. À ultrassonografia de abdome: esplenomegalia moderada homogênea. Ao exame físico, apresentava ectoscopia hipocromia cutâneo-mucosa, icterícia +/4+, com linfonodomegalia e esplenomegalia. Ao exame do abdome, apresentava dor no quadrante inferior esquerdo e esplenomegalia. Não apresentava outras alterações em outros sistemas. No momento atual, faz acompanhamento no setor de hematologia do Hospital Regional do Baixo Amazonas, em Santarém. **Conclusão:** A importância deste relato se justifica pela raridade do encontro dessa forma de hemoglobinopatia na Amazônia brasileira, no qual o reconhecimento da doença e o diagnóstico precoce são interessantes para coibir iatrogenias e para oferecimento de melhores terapêuticas com menor morbidade para os portadores de alfa-talassemia.

96. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE TRAÇO FALCIFORME E DE ANEMIA FALCIFORME NAS IDOSAS DA INSTITUIÇÃO CASA DE NAZARÉ, EM FORTALEZA (CE)

Gomes JO, Lemos RPG, Machado RPG, Arruda ABL, Souza IP, Machado CMG, Santos TEJD

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

A anemia falciforme é uma doença genética causada por uma mutação no gene β , produz alteração estrutural na molécula da hemoglobina (Hb). Em baixas concentrações de oxigênio, os eritrócitos passam a apresentar a forma de foice, causam vaso-oclusão e danos aos órgãos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o diagnóstico laboratorial de anemia falciforme das idosas da Instituição Casa de Nazaré. Trata-se de um estudo descritivo com 40 idosas residentes na instituição filantrópica, em Fortaleza (CE). Foram feitas as dosagens da hB por metodologia automatizada, hemoglobina fetal (HbF) pelo método de Betke, teste de falcização, teste de solubilidade, a análise morfológica eritrocitária por metodologia manual e a eletroforese da hB qualitativa em acetato de celulose pH 8,0. Todas as amostras de sangue foram colhidas com anticoagulante EDTA. A faixa de idade das idosas foi de 59-111 anos, com uma média de 79,16 por idosa. Todas apresentaram resultado negativo para os testes de falcização e de solubilidade. A eletroforese da hB apresentou-se normal em toda a população estudada. A média da Hb foi de 12,5 g/dL e da HbF = 0,3%. A análise morfológica eritrocitária apresentou-se normal em todas as amostras, sem alterações na distribuição das hemácias, no tamanho, na coloração, forma e presença de inclusões eritrocitárias ou de células imaturas da

linhagem eritroide. Os dados demonstram que não houve caso de traço falciforme ou de anemia falciforme nas idosas estudadas.

97. DIFICULDADES PARA O DIAGNÓSTICO DA TALASSEMIA INTERMEDIÁRIA EM RELAÇÃO À ANEMIA FERROPRIVA

Leme JB

Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas, São Paulo, SP, Brasil

As talassemias constituem um grupo heterogêneo de mutações genéticas originadas entre os povos do Mediterrâneo que resultam no desenvolvimento de uma anemia hemolítica. Essa hemoglobinopatia é caracterizada pela redução parcial ou total da síntese de cadeias globínicas; alfa e beta-talassemia são as mais prevalentes. A beta-talassemia intermediária tem uma grande variedade de genótipos e seu diagnóstico não é feito com facilidade. É frequentemente confundida com a anemia ferropriva, uma vez que os índices hematimétricos apresentam-se de formas semelhantes, induzem a um diagnóstico errôneo com graves consequências para o paciente, o que motivou a elaboração deste estudo, que visa a entender as dificuldades para o diagnóstico da beta-talassemia intermediária em relação à anemia ferropriva. Com base nessa lacuna, foi feito o levantamento bibliográfico para entender as principais semelhanças e diferenças entre a beta-talassemia intermediária e a anemia ferropriva, bem como sua importância para um tratamento eficaz. **Palavras-chave:** Beta-talassemia intermediária; Anemia ferropriva; Hemoglobinopatia; Anemia hemolítica; Anemia carencial.

98. ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS EM KLOTHO COM O DESENVOLVIMENTO DE PRIAPISMO EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Batista JVG^a, Martins DAP^a, Domingos IF^a, Falcão DA^a, Hatzlhofer BLD^a, Araújo AS^b, Anjos ACD^b, Callado FMRA^b, Araújo ARL^{a,b}, Bezerra MAC^{a,b}

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

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

Introdução: O priapismo é uma das complicações mais frequentes na anemia falciforme (AF), tem uma incidência em torno de 23% nos adultos e 63% nos pacientes pediátricos e o subtipo isquêmico, de maior gravidade, é o mais comum. Algumas evidências mostram que complicações vasculares exercem um importante papel na fisiopatologia do priapismo na AF e, nesse sentido, o gene *Klotho* (*KL*), que codifica a proteína *aKlotho*, mostra-se um alvo molecular promissor na busca de marcadores envolvidos na heterogeneidade clínica da doença. Estudos recentes mostram que a *aKlotho* atua na supressão da via de sinalização Wnt, inibe o estresse oxidativo endotelial e modula a síntese de óxido nítrico (NO). Participa, assim, da manutenção da homeostase vascular, e desse modo, polimorfismos genéticos podem modular a sua expressão e comprometer a sua função. **Objetivo:** Fazer a caracterização clínica e molecular de 200 pacientes do sexo masculino com AF. Levaram-se em consideração dois polimorfismos de nucleotídeo único no gene *KL* (rs211239 C>T e rs685417 G>A) e investigou-se a sua associação com o desenvolvimento de priapismo nesses indivíduos. **Material e métodos:** Os pacientes foram divididos em dois grupos, caso (n = 96; pacientes com relato clínico de priapismo) e controle (n = 104; pacientes acima de 18 anos que não apresentaram relato clínico-laboratorial de outras manifestações crônicas) e os polimorfismos foram avaliados por PCR em tempo real com o uso do sistema TaqMan[®]. **Resultados:** Nenhuma associação foi observada entre a presença do polimorfismo intrônico rs211239 e variáveis clínicas e laboratoriais dos pacientes. Em contrapartida, 12,9%, 52,7% e 34,4% dos pacientes com genótipo selvagem (GG), heterozigoto (GA) e homozigoto mutado (AA) para o polimorfismo rs685417 G>A desenvolveram priapismo (p = 0,02). Com uma mediana de 18 anos (intervalo: 3 a 41 anos) para o desenvolvimento do primeiro priapismo, os pacientes falciformes heterozigotos (GA) para o rs685417 G>A apresentaram uma taxa de desenvolvimento de priapismo mais alta (49%) do que os pacientes homozigotos selvagens (GG, 19%) e mutados (AA, 32%) (p = 0,03). Ademais, embora o polimorfismo rs211239 C>T não tenha mostrado associação com o desenvolvimento de priapismo (p = 0,08), nossos dados apontam para um envolvimento do gene *KL* no surgimento de complicações vasculares

como o priapismo, o que reforça o papel de polimorfismos genéticos na modulação gênica e, assim, seu uso como ferramenta de triagem molecular das complicações na AF. **Conclusão:** Polimorfismos no KL são frequentes em pacientes com AF, e estudos de associação em diferentes coortes são importantes para definir a incidência desses polimorfismos, auxiliar na estratificação de risco dos pacientes e contribuir para um melhor acompanhamento em longo prazo desses indivíduos. **Financiamento:** Departamento de Genética/Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)/Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

99. DELEÇÃO DO GENE DA GLUTATIONA S TRANSFERASE EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME TRATADOS COM HIDROXIUREIA

Yahouédéhóu SCMA^{a,b}, Oliveira RM^a, Carvalho MS^{ac}, Carvalho SP^a, Adorno EV^a, Gonçalves MS^{a,b}

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

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

^c Hospital Universitário Professor Edgard Santos (HUPES), Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil

Introdução: As variações observadas na resposta de pacientes com anemia falciforme (AF) ao tratamento pela hidroxiureia (HU) podem ser decorrentes de vários fatores. Entre outros, os fatores genéticos, tais como as deleções gênicas, as quais podem determinar a eficácia e a toxicidade de um medicamento, pois essas deleções podem afetar a farmacocinética ou a farmacodinâmica e influenciar no metabolismo e na biodisponibilidade do medicamento. Tem sido sugerido que indivíduos com o genótipo nulo da glutathione S-transferase (*GSTM1*⁻/*GSTT1*⁻) apresentam alteração na desintoxicação de genotoxinas ambientais e quimioterapia, bem como complicações relacionadas ao tratamento. **Objetivo:** Investigar a associação entre a deleção do gene *GSTT1* e o perfil hepático e hemolítico de indivíduos com AF em uso de HU. **Material e métodos:** Foram avaliados 35 indivíduos com AF, atendidos na Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia (HEMOBA) e em uso de HU. A deleção do gene *GSTT1* foi investigada pela técnica de PCR-Multiplex. As determinações laboratoriais (perfil hepático e hematológico) foram feitas por métodos automatizados. A análise dos dados foi feita pelos programas Epi-info v. 7.0 e GraphPad Prism v. 5, e as análises foram consideradas significativas quando o valor de *p* foi < 0,05. **Resultados:** Foram encontrados 25,71% de indivíduos com genótipo nulo. A análise dos biomarcadores para disfunção hepática nos indivíduos com AF em uso de HU com e sem deleção do gene *GSTT1* demonstrou valores médios mais elevados para a bilirrubina total (2,97 ± 1,17 mg/dL), bilirrubina indireta (2,35 ± 1,21 mg/dL), alanina aminotransferase (61,67 ± 21,37 U/L) e albumina (4,70 ± 0,48 g/dL) entre os pacientes com deleção de *GSTT1* em comparação com os sem deleção (1,78 ± 0,67 mg/dL), (1,26 ± 0,61 mg/dL), (46,00 ± 15,66 U/L) e (4,23 ± 0,44 g/dL), respectivamente (*p* < 0,05). Os pacientes em uso de HU e com a deleção de *GSTT1* apresentaram concentração maior (1.640,89 ± 980,12 U/L) de desidrogenase láctica quando comparados com os pacientes sem a deleção do gene (930,54 ± 402,83 U/L) (*p* < 0,05). **Conclusão:** Os resultados sugerem que existe resposta diferenciada quanto aos perfis hemolítico e hepático em indivíduos com AF em uso de HU com e sem deleção no gene *GSTT1*, uma vez que a ausência dessa enzima pode estar envolvida no metabolismo e na ativação da droga, assim como pode influenciar na resposta desses pacientes ao tratamento com HU. **Palavras-chave:** Glutathione S transferase; Deleção gênica; Anemia falciforme; Hidroxiureia.

100. CARACTERÍSTICAS DAS MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS E ASPECTOS SOCIAIS DA ASSOCIAÇÃO GENÉTICA RARA ENTRE ANEMIA FALCIFORME E BETA-TALASSEMIA, DIAGNOSTICADA DE MANEIRA PRECOCE: RELATO DE CASO

Muzel L, Campanha SNS, Araújo T, Menegati SFP

Centro Universitário Nossa Senhora do Patrocínio (CEUNSP), Itu, SP, Brasil

A anemia é a redução de taxa de hemoglobina e dos glóbulos vermelhos na circulação sanguínea. Dentre as diferentes causas, temos a anemia em decorrência da doença falciforme, que é uma patologia muito comum no Brasil devido à miscigenação. Trata-se de uma hemoglobinopa-

tia distinguida pela mutação no gene beta-globina devido à substituição de uma base nitrogenada que promove a produção de hemoglobina S (HbS), e traz como consequência a falcização dos eritrócitos no processo de desoxigenação, que pode levar a graves comprometimentos do organismo, pois obtém-se um quadro anêmico mais severo devido à hemólise como fator determinante. Outra patologia que também traz como consequência um quadro anêmico é a talassemia. Na verdade, essa outra hemoglobinopatia pode se apresentar de várias formas, por isso chamadas de talassemias. São patologias genéticas caracterizadas pela ausência ou redução da síntese da globina e classificadas em alfa-talassemia ou beta-talassemia. Essa síntese desequilibrada de hemoglobina causa a redução ou supressão completa da síntese de uma ou mais cadeias e provoca manifestações clínicas e hematológicas. A associação entre anemia falciforme e beta-talassemia é uma patologia genética rara e provoca manifestações clínicas de moderada a grave, de acordo com o desenvolvimento fisiopatológico de cada indivíduo. O objetivo desta pesquisa é evidenciar a associação genética da anemia falciforme com a beta-talassemia e suas consequências clínicas e sociais com base em um relato de caso sobre um sujeito do sexo masculino, de 2 anos, que apresenta anemia falciforme com traço talassêmico diagnosticado precocemente. Trata-se de uma pesquisa acadêmica, do tipo qualitativa, retroativa e longitudinal, feita a partir de coleta de dados obtidos por meio de um questionário pré-estabelecido, na abordagem de um relato de caso de um sujeito, portador de anemia falciforme com traço talassêmico. Os pais do paciente assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido e concordaram com os termos da pesquisa. Em contradição com os relatos literários nos quais os portadores de anemia falciforme com traço talassêmico apresentam comumente crises vaso-oclusivas, entre outras complicações a partir da infância, o sujeito em estudo não apresentou quaisquer sintomas relacionados ao quadro usual de crises da doença, exceto uma ligeira esplenomegalia, que é normal nos portadores dessa patologia. Até então, ainda que diagnosticada essa esplenomegalia, o sujeito apresenta-se sadio. No entanto, segue orientações do tratamento indicado aos portadores da anemia falciforme com traço talassêmico e sofre inúmeras restrições acompanhadas de perto pelos pais. Com este estudo de caso, foi possível observar que a anemia falciforme associada à beta-talassemia tem alta taxa de mortalidade. Entretanto, quando o diagnóstico é feito precocemente e há comprometimento dos responsáveis na execução do tratamento que deve ser constante e correto, é possível estimar uma melhor qualidade de vida do portador. **Palavras-chave:** Anemia falciforme; Talassemias; Hemoglobinopatias; Hemólise.

101. ALFA-TALASSEMIA EM PACIENTES COM DOENÇA FALCIFORME DE MANAUS (AM)

Carneiro JS^a, Brito RS^a, Oliveira MAA^b, Bacha TJ^c, Santiago RP^d, Souza TSE^b, Neto JPM^b

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

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

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

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

A presença de alfa-talassemia (α -tal) nos indivíduos com doença falciforme (DF) está associada a alterações nos parâmetros hematológicos e bioquímicos, que, por sua vez, também levam a mudanças nas manifestações clínicas. O objetivo deste estudo foi identificar os genótipos da α -tal e correlacionar com a clínica em pacientes portadores do perfil SS e SC atendidos na Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM). A população de estudo foi de 150 pacientes, 139 (92,7%) portadores do perfil SS e 11 (7,3%) do perfil SC. Setenta e nove (52,7%) portadores do perfil SS e oito (5,3%) do perfil SC eram do gênero feminino. A idade média foi 19,69 (\pm 13,48) anos. Os dados laboratoriais e clínicos foram obtidos por meio de consulta ao prontuário médico, e as análises moleculares pela técnica da PCR multiplex. A análise estatística foi feita no programa SPSS versão 22. Para as análises moleculares, todos os indivíduos SC foram do genótipo selvagem, enquanto para os SS, 19 (12,7%) foram heterozigotos e quatro (2,7%) homozigotos. Quando correlacionamos os eventos clínicos entre os genótipos da α -tal, verificamos frequências significativas para pneumonia (33,3% nos selvagens e 6,25% portadores – *p* = 0,027); lombalgia (62,5% portadores e 30,6% selvagens – *p* = 0,016); transfusão sanguínea (65,3% selvagens e 16,7% portadores –

$p = 0,022$); esplenectomizados (40% portadores e 2,8% selvagens – $p = 0,003$); dor torácica (42,8% portadores e 3,8% selvagens – $p = 0,005$); vaso-oclusão (100% portadores e 40% selvagens – $p = 0,012$); hospitalizações (38,6% selvagens e nenhum portador – $p = 0,032$). Quando discriminamos os valores quantitativos dos dados hematológicos e bioquímicos com os genótipos da α -tal, valores significativos foram demonstrados para concentração de hemácias < 4 ou $> 5,5 \times 10^6/\text{mm}^3$ (75% portadores e nenhum selvagem – $p = 0,003$); volume corpuscular médio < 74 ou > 94 fL (62,6% selvagens e 36,8% portadores – $p = 0,037$); número de leucócitos $\leq 15,0 \times 10^6/\text{L}$ (63% selvagens e 30,7% portadores – $p = 0,030$); valores de creatinina de 0,30-1,10 mg/dL (63,6% selvagens e 27,3% portadores – $p = 0,026$). Em consonância com outros estudos, as análises dos parâmetros laboratoriais e algumas características clínicas em pacientes com DF demonstraram diversas correlações com a α -tal. As transfusões são menos frequentes na presença de α -tal, pois demonstram menor grau de hemólise e, portanto, menor anemia. Em contrapartida, o aumento da viscosidade sanguínea pode prejudicar o fluxo vascular e levar a crises dolorosas mais intensas. Apesar de ser considerada um modulador clínico da DF, a α -tal investigada isoladamente não permite determinar as características clínicas da doença. Faz-se necessária a investigação de outros fatores moduladores que possam ser usados em conjunto para contribuir no manejo adequado dos pacientes.

102. STATUS FÉRRICO DE β -TALASSÊMICOS EM RIBEIRÃO PRETO (SP)

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

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

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

A β -talassemia é uma hemoglobinopatia caracterizada como um distúrbio hereditário monogênico na qual a síntese das cadeias globínicas β está alterada. O desequilíbrio na relação entre as cadeias α e β produzidas, com consequente excesso de cadeias α livres, é determinante da fisiopatologia da doença. Clinicamente, classifica-se como β -talassemia major (BTM) a forma mais grave da doença, devido à ausência de cadeias β (β^0) ou redução acentuada (β^+) que acarreta dependência de transfusões sanguíneas periódicas para sobrevivência. O traço β -talassêmico (BTT) antes visto como assintomático também apresenta alterações, inclusive acúmulo de ferro e eritropoese ineficaz, mas não é dependente de transfusão e tampouco passa por acompanhamento médico. Extremamente heterogênea, a β -talassemia apresenta diversos fenótipos e mais de 300 alterações moleculares no gene beta (*HBB*) já foram identificadas e descritas em todo mundo. O objetivo deste estudo foi avaliar o status férrico e correlacionar os achados apresentados por β -talassêmicos (BTM e BTT) com diferentes polimorfismos, na tentativa de estabelecer uma relação genótipo-fenótipo. Para tanto, 27 BTM, 23 BTT e 28 controles foram recrutados no Ambulatório de Hemoglobinopatias do HC/FMRP-USP. Por meio de PCR-alelo específico, foram pesquisadas as quatro mutações mais comuns no Brasil: CD39 (CAG>TAG), IVS1-110 (G>A), IVS1-6 (T>C) e IVS1-1 (G>A). O ferro sérico, a capacidade total de ligação de ferro e a saturação de transferrina foram determinados pelo método colorimétrico. Os receptores de transferrina solúveis (sTfR) foram quantificados por ensaio imunoenzimático (ELISA) e a ferritina por ensaio imunoluminescente. Além disso, o índice sTfR/log ferritina foi calculado. Todos esses parâmetros supracitados foram usados para a avaliação do status férrico. A distribuição das mutações foi de 64% CD39, 26% IVS1-110 e 4% IVS1-6. A análise de covariância e comparação múltiplas, entre os grupos formados e o controle, revelou alterações no status férrico. Os pacientes BTM com a mutação CD39, em sua forma heterozigota ou homozigota, e heterozigotos para a IVS1-110, revelaram intensa sobrecarga de ferro. Os BTT heterozigotos para CD39 demonstraram comprometimento do metabolismo ferro. A adoção de medidas paliativas e de monitoramento aos BTT faz-se necessária, uma vez que alterações apresentadas associam-se a desordens graves, mas quando não negligenciadas podem ser facilmente prevenidas. Apesar da observação de uma relação genótipo-fenótipo, um estudo multicêntrico da população brasileira proporcionará a identificação de mais relações, principalmente nos fenótipos menos prevalentes em nossa região, e contribuirá para a compreensão da heterogeneidade da β -talassemia.

103. INVESTIGAÇÃO DOS POLIMORFISMOS EM GENES DA VIA DO TGF NA OCORRÊNCIA DE ÚLCERAS MALEOLARES EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Prado LPL^a, Martins D^a, Falcão DA^a, Farias I^a, Domingos I^a, Medeiros RLB^a, Callado FMRA^b, Araújo AS^b, Araújo ARL^a, Bezerra MAC^a

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

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

As úlceras de membros inferiores ou úlceras maleolares (UM) são as manifestações cutâneas mais frequentes na anemia falciforme (AF). Cursam com alta taxa de recorrência, retardo na cicatrização e maior probabilidade de tornarem-se crônicas. Frequentemente, as UM surgem espontaneamente, seguidas de um quadro inflamatório agudo. O início desse processo pode envolver fenômenos próprios da patologia. Entretanto, o desequilíbrio em vias da cicatrização e angiogênese pode elucidar esse quadro. Uma das principais vias de atuação nesses processos é ativada pela citocina TGF β . Proteínas regulatórias SMADs e MAPK, e inibitórias SMURFs estão estritamente interligadas na regulação das funções do TGF β , exercem um *feedback* positivo e negativo que servirá de controle na expressão dos genes envolvidos no microambiente celular. Polimorfismos nos genes dessas proteínas vêm sendo estudados com a finalidade de elucidar motivos desconhecidos do agravamento e surgimento espontâneo das úlceras. Diante da hipótese apontada, nosso objetivo foi investigar a relação de polimorfismos nos genes da via do TGF β com a presença das UM nos pacientes com AF do estado de Pernambuco. A amostra em estudo foi composta por indivíduos de ambos os gêneros, diagnosticados com AF. O grupo caso consistiu de 101 pacientes que apresentavam histórico prévio de UM (ativas ou cicatrizadas) e o grupo controle com 190 pacientes maiores de 18 anos sem a manifestação clínica. Foram avaliados polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) dos genes SMAD7 (*rs786839* TC), SMURF1 (*rs219825* CG) e MAP3K7 (*rs157702* TC), por meio de PCR em tempo real com o uso do sistema TaqMan[®]. Dos resultados obtidos, o SNP no SMAD7 (*rs786839* TC) apresentou resultados promissores e exerceu um efeito protetor na modulação do processo ulcerativo (OR = 0,23; IC 95% = 0,12-0,44; $p < 0,001$) e avaliou o modelo recessivo para estudos de associação (CC x TT + TC). Com a presença do alelo G resultante do SNP na SMURF1 (*rs219825* CG) também foi possível encontrar o efeito protetor (OR = 0,68; IC 95% = 0,48-0,96; $p = 0,036$), enquanto para o MAP3K7 (*rs157702* TC) não foi possível encontrar associação ($p = 0,899$). Nossos resultados preliminares mostram que a via de cicatrização parece, sim, estar "desequilibrada", o que reforça a hipótese de que polimorfismos possam atuar como moduladores da expressão da SMAD7 e SMURF1 e, assim, exercer um efeito protetor para a ocorrência da UM.

104. PERFIL LABORATORIAL E MOLECULAR DOS PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME QUE DESENVOLVERAM ÚLCERAS DE MEMBROS INFERIORES, DO ESTADO DE PERNAMBUCO

Prado LPL^a, Falcão DA^a, Martins D^a, Farias I^a, Medeiros RLB^a, Hatzlhofer BLD^a, Araújo AS^b, Araújo ARL^a, Bezerra MAC^a

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

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

A úlcera de membros inferiores ou úlcera maleolar (UM) é a principal manifestação dérmica na anemia falciforme (AF). Desenvolve-se em áreas com redução do tecido subcutâneo e com diminuição do fluxo sanguíneo. O curso patológico evolui paralelamente aos fenômenos crônicos de hemólise intravascular, que podem ser acompanhados com dosagens bioquímicas da lactato desidrogenase (LDH), bilirrubinas e contagem de reticulócitos. A variabilidade na ocorrência das UM pode sofrer influência do meio ambiente, das condições sociais e por diferenças genéticas. Marcadores moleculares clássicos da doença com os haplótipos b^s e a co-herança com a alfa-talassemia, que são responsáveis por regular diferentes níveis de HbF e alterações na viscosidade sanguínea, respectivamente, já estão estabelecidos na literatura e nos fornecem informações acerca do prognóstico clínico do paciente. Diante do exposto e da escassez de dados, nosso objetivo foi avaliar o perfil laboratorial e molecular que caracteriza os pacientes com AF acometidos com as UM, acompanhados na Fundação HEMOPE, em Recife. A amostra consistiu de pacientes com AF de ambos os gêneros, a partir de 337 prontuários médicos de

pacientes aptos para a pesquisa. O grupo caso foi formado por 101 indivíduos que apresentavam histórico prévio de UM (ativas ou cicatrizadas) e 190 pacientes controles, maiores de 18 anos, sem a manifestação clínica. Caracterizamos os pacientes quanto aos marcadores moleculares clássicos da doença (haplótipos b^c e co-herança com a alfa-talassemia), marcadores hemolíticos (LDH, bilirrubinas e contagem de reticulócitos) e em relação aos índices hematimétricos (níveis de hemoglobinas S, fetal, A₂ e hematócrito). Dos resultados obtidos, a frequência da ocorrência das UM foi de 30%, mais frequente no gênero masculino (58,4%), com mediana de 24 anos. Observamos resultados significativos quando comparamos grupo caso e controle, para os níveis de Hb (p = 0,002), HbS (p = 0,04), HbF (p = 0,003), hematócrito (p = 0,004) e concentrações de LDH (p = 0,024), contrariamente aos resultados para reticulócitos (p = 0,678), HbA₂ (p = 0,177), bilirrubinas total (p = 0,409) e indireta (p = 0,648). Quanto aos marcadores moleculares clássicos, a alfa-talassemia não esteve associada com a ocorrência das lesões (p = 0,205); o haplótipo mais frequente, em ambos os grupos, foi CAR/CAR (p = 0,711); ambos não estão relacionados com a presença de UM. A partir das informações apresentadas, podemos inferir o perfil molecular e laboratorial dos pacientes com AF na nossa população que estão predispostos a desenvolver as UM e fornecer dados que auxiliem o manejo clínico da doença.

105. INCIDÊNCIA DE INCOMPATIBILIDADE E DOENÇA HEMOLÍTICA DO RECÉM-NASCIDO ABO/RHD NO HOSPITAL DA CLÍNICAS DE PERNAMBUCO

Silva AMME^a, Andrade SB^a, Leite LAC^{b,c}

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

^b Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^c Hospital Universitário Gaffrée e Guinle (HUGG), Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

A doença hemolítica do recém-nascido (DHRN) foi historicamente uma importante causa de morbimortalidade neonatal. Ocorre devido à incompatibilidade sanguínea materno-fetal, que possibilita a passagem de anticorpos maternos para a circulação do feto que se ligam a antígenos de origem paterna presentes nas hemácias fetais e causam hemólise no feto e no recém-nascido. A gravidade clínica é variável, pode seguir com anemia e icterícia, que pode levar a kernicterus. A DHRN devida ao anti-D apresenta em geral os casos mais graves. Contudo, após a introdução da imunoprofilaxia RhD houve uma diminuição considerável da incidência dessa doença. Porém, no Brasil, estudos indicam que há falhas na imunoprofilaxia RhD e a DHRN-RhD ainda é uma causa significativa de morbimortalidade na população neonatal. Os objetivos deste estudo foram fazer a análise da frequência de incompatibilidade ABO/RhD entre puérperas e seus recém-nascidos e definir a incidência da DHRN. Nesta pesquisa, foi feito um estudo do tipo coorte retrospectivo que analisou 5.731 relações entre puérperas e seus recém-nascidos, de 1 de janeiro de 2012 a 31 de dezembro de 2014, no Hospital das Clínicas de Pernambuco. As variáveis maternas foram: grupo sanguíneo ABO/RhD e teste de Coombs indireto; e dos recém-nascidos foram: adsorvente ABO/RhD, Coombs direto, teste do eluato, anticorpos adsorvidos das hemácias, hematócrito, hemoglobina e bilirrubina. As informações foram coletadas por meio de banco de dados e, por conseguinte, analisadas por meio de estatística descritiva e teste exato de Fisher com significância de 5%. Verificou-se incompatibilidade ABO em 21,3% (1.196) das relações entre puérperas e seus recém-nascidos e, desses, 11% (654) foram sensibilizados, 70,8% (463) com anti-A e 29,2% (191) com anti-B. Em relação à incompatibilidade RhD, 4,9% (282) foram incompatíveis, representaram 70,9% da população materna RhD-negativa. Desses, 3,2% (9) foram sensibilizados. As incidências da DHRN-ABO e da DHRN-RhD foram respectivamente de 34,5% (226) e 66,7% (seis) dentre os recém-nascidos sensibilizados, dos quais 11,5% (26) e 100% (seis) necessitaram de transfusão, respectivamente. A frequência de incompatibilidade ABO foi superior a RhD, o que se deve ao padrão de distribuição dos grupos sanguíneos nas populações. A prevalência vista para o anti-D na população ainda foi elevada e um fator de risco para o desenvolvimento da DHRN sugere a necessidade do aumento da atenção dada à aplicação do protocolo da imunoprofilaxia RhD no pré-natal. Cabe destacar a grande porcentagem de recém-nascidos sensibilizados por anticorpos do sistema ABO. Isso indica que seja primordial um melhor rastreamento desses anticorpos no período pré-natal, uma vez que não é possível fazer profilaxia para anticorpos do

sistema ABO. **Palavras-chave:** Doença hemolítica do recém-nascido; Incompatibilidade; Recém-nascido.

106. INFECÇÃO ATÍPICA ASSOCIADA A CATETER VENOSO CENTRAL EM PACIENTE FALCIFORME

Simões CM, Sousa MLVE, Neffa PP, Junior WFS, Fonseca GHH, Barbosa MV

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

Introdução: Cateteres venosos centrais (CVC) de longa permanência são amplamente usados na prática clínica nos pacientes com anemia falciforme. As principais indicações nesses pacientes são necessidade de infusão de múltiplas medicações, produtos sanguíneos, narcóticos e terapia de quelação. Complicações incluem trombose venosa, oclusão do lúmen, mau funcionamento e infecção de corrente sanguínea associada ao cateter, essa a mais frequente e de pior morbidade. **Objetivo:** Relato um caso de infecção disseminada por microorganismo incomum em paciente falciforme portador de cateter *perm a cath*. **Material e métodos:** Revisão de prontuário. **Resultados:** Paciente do sexo feminino, 26 anos, portadora de anemia falciforme, havia três anos em uso de cateter de longa permanência tipo *port a cath* para programa transfusional e de quelação de ferro devido a dois acidentes vasculares cerebrais prévios. Após infusão de desferal em CVC, apresentou mal-estar e febre, evoluiu em minutos com critérios para sepsis grave. Iniciados vancomicina e cefepime. Relato de duas semanas antes ter tido pico febril após transfusão de concentrado de hemácias. Fez tomografia computadorizada de tórax que revelou presença de múltiplos nódulos pulmonares de predomínio periférico. Ecocardiograma transesofágico descartou presença de vegetações e trombos intracavitários. Persistia com critérios para sepsis, necessidade de suporte de oxigênio; foi modificado antibiótico para meropenem cinco dias após o início do tratamento. Houve crescimento de bacilos gram-positivos ramificados em hemoculturas pareadas de *porth a cath* e sangue periférico. Por meio de técnica de Maldi-TOF foi identificada *Gordonia spp.*, na amostra. O gênero *Gordonia* compreende um grupo de bacilos gram-positivos aeróbicos raramente causador de doença em humanos. Os relatos da literatura de infecções são poucos e heterogêneos, geralmente associados a uso de CVC de longa permanência e a indivíduos imunodeprimidos. O tratamento é baseado na extensão do comprometimento orgânico e no antibiograma da espécie, que nem sempre é factível. Dessa forma, optamos por tomografia com emissão de pósitrons, que evidenciou hiper-captação em pulmão, nódulos subcutâneos, local de inserção do cateter e área suspeita em hemisfério cerebral direito; foi descartada infecção por ressonância magnética de crânio. O tratamento empregado foi baseado em medicações sem descrição de resistência na maioria dos relatos de literatura. Recebeu alta após quatro semanas de monoterapia com meropenem e programação de término de tratamento ambulatorial com amoxicilina e clavulanato por mais seis meses com reavaliações a cada três meses. Fará nova tomografia com emissão de pósitrons pós-finalização do tratamento antimicrobiano. **Conclusão:** Infecções são a principal causa de mortalidade nos pacientes com anemia falciforme. Isso se deve a predisposições como autoesplenectomia e alteração fagocítica devido à sobrecarga de ferro. O emprego de cateter de longa permanência implica fator de risco para episódios de infecções de corrente sanguínea. Buscamos com esse relato raro enfatizar a importância do diagnóstico e tratamento agressivo das infecções nos pacientes com anemia falciforme.

107. DIAGNÓSTICO MOLECULAR DAS DELEÇÕES -3.7 E -4.2 EM PACIENTES COM SUSPEITA CLÍNICA DE ALFA-TALLASSEMIA

Leonardo KS^a, Filho JTDS^b, Medina-Acosta E^a

^a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UNEF), Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

^b Hospital Geral de Guarus (HGG), Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

Introdução: A alfa-talassemia é uma hemoglobinopatia autossômica, recessiva, caracterizada pela destruição dos eritrócitos. A frequência global de portadores de alfa-talassemia é de 5-20%, e no Brasil, 10-20%. As alterações gênicas que causam alfa-talassemia são resultantes da deficiência de um, dois, três ou quatro genes alfa-globina, sintéticos no cromos-

somo 16, causada principalmente por deleção ou raramente por mutação pontual. **Justificativa:** Alfa-talassemia deve ser considerada no diagnóstico diferencial de anemia. O diagnóstico molecular da alfa-talassemia é importante para garantir que o paciente talassêmico não seja tratado inadequadamente com ferro para evitar danos aos tecidos, disfunção de órgãos e até morte. O diagnóstico precoce dessa hemoglobinopatia aumenta a sobrevida e qualidade de vida dos acometidos e atenua as complicações clínicas. **Objetivo:** Investigar a ocorrência de possíveis deleções dos genes alfa-globina em pacientes com suspeita clínica de alfa-talassemia atendidos no Ambulatório de Hematologia do Hospital Geral de Guarus, Campos dos Goytacazes (RJ). **Material e métodos:** Estudo observacional em coorte de 70 voluntários, sob termo de consentimento, que apresentavam achados hematológicos indicativos de alfa-talassemia. Dados secundários foram coletados retrospectivamente. DNA genômico de amostras de sangue foram genotipados para as deleções pela técnica de Gap-PCR. O perfil genético foi estabelecido por eletroforese em gel de agarose. **Resultados:** Dos 70 casos analisados, 30 (42,8%) foram diagnosticados como indivíduos que não apresentaram deleções entre os genes HBA2 e HBA1 e foram considerados indivíduos sem a alfa-talassemia; 40 (57,1%) foram identificados como portadores da deleção que elimina 3.700 pb entre os genes HBA2 e HBA1, conhecida como deleção $-\alpha^{3,7}$ da alfa-talassemia. Desses, 17 (24,3%) são indivíduos heterozigotos ($-\alpha/\alpha$) e 23 (32,8%) homozigotos ($-\alpha/-\alpha$). **Conclusão:** O estudo revelou uma alta frequência de indivíduos talassêmicos (deleção $-\alpha^{3,7}$) na coorte estudada. Cada paciente dos núcleos familiares aqui investigados herdou a deleção $-\alpha^{3,7}$. Uma paciente com deleção $-\alpha^{3,7}$ em homozigose apresentou diagnóstico clínico de retardo mental. Nesse caso, afastou-se a possibilidade de o retardo mental estar associado com a síndrome ATR-16. As deleções $-\alpha^{4,2}$ e α^0 não foram encontradas.

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

108. DESIDROGENASE LÁCTICA COMO MARCADOR DE GRAVIDADE NA HEMOGLOBINOPATIA SC

Bastos SO^{a,b}, Benites BD^b, Zulli R^b, Costa FF^b, Saad STO^b, Gilli SCO^b

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

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

As doenças falciformes compreendem um grupo de doenças em que há presença de hemoglobina S, hemólise crônica e crises vaso-oclusivas. Os portadores de hemoglobinopatia SC são duplos heterozigotos, produzem tanto hemoglobina S como hemoglobina C. Clinicamente, a doença SC apresenta-se com uma gravidade inferior à dos pacientes SS homozigotos. Nos últimos anos, foi notado um aumento na prevalência de hemoglobinopatia SC na população brasileira. Isso se deve a alguns fatores: à maior sobrevida de indivíduos afetados pela doença, em relação aos portadores de doença SS grave, juntamente com o envelhecimento da população; ao diagnóstico de pacientes adultos, já com complicações graves; e à identificação, por triagem neonatal, de recém-nascidos portadores dessa patologia, bem como à identificação da presença da doença nos pais da criança, desde que eles se submetam à triagem para fins de aconselhamento familiar. Num estudo retrospectivo de 103 pacientes com HbSC, entre 16 e 70 anos (mediana de 38), vimos que o nível de DHL era um bom preditor de complicações. Demonstramos associações estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre o nível desse marcador, retinopatia e tromboembolismo venoso e que uma evolução mais grave, associada a retinopatia, úlceras de membros inferiores, acidente vascular cerebral e tromboembolismo venoso, poderia ocorrer quando níveis de DHL eram acima de 535 UI/L. Notavelmente, esse simples biomarcador estava associado a um subfenótipo clínico de complicações em pacientes com doença HbSC. Em conclusão, a elevação de DHL identifica pacientes mais graves, o que pode estar relacionado com maior grau de hemólise, resistência ao óxido nítrico, disfunção endotelial e vasculopatia de órgãos-alvo.

109. ANÁLISE CLÍNICA E LABORATORIAL DE S-TALASSÊMICOS DE CAMPINAS EVIDENCIA MAIOR OCORRÊNCIA DE SÍNDROME TORÁCICA AGUDA EM S+

Bastos SO^{a,b}, Benites BD^b, Zulli R^a, Costa FF^a, Saad STO^a, Gilli SCO^a

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

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

Devido à diversidade étnica, existe uma alta prevalência de mutações para doença falciforme e β -talassemia na população brasileira. Embora a fisiopatologia de ambas as doenças esteja sendo extensivamente estudada, os conhecimentos sobre o impacto sistêmico desses fenótipos permanece escasso. Fizemos um estudo retrospectivo de 46 pacientes portadores de S β -talassemia (29 pacientes S β^0 e 15 pacientes S β^+), entre 15 e 75 anos (mediana de 35), e traçamos um perfil de parâmetros hematológicos e lesão de órgãos-alvo nesses pacientes. Sabe-se que o genótipo S β^0 , ao contrário do S β^+ , tem curso clínico mais grave, similar à doença SS. Foi possível observar que pacientes com genótipo S β^0 tinham menores valores de hemoglobina total e também níveis significativamente mais elevados de HbS e HbF, em comparação com os S β^+ . Também foi observado que o grupo S β^0 apresentava níveis mais elevados de ferro sérico e saturação de transferrina, bem como um número maior de plaquetas. Quando analisadas as repercussões sistêmicas, observou-se que os pacientes S β^+ apresentavam maiores valores de densidade mineral óssea e índice de massa corpórea e, clinicamente, eram mais propensos a evoluir com síndrome torácica aguda (STA). É interessante ressaltar que os pacientes S β^+ tinham 4,9 vezes mais chance de desenvolver STA que os S β^0 ($p = 0,035$). A ocorrência de STA em pacientes SS tem sido correlacionada com níveis mais altos de hemoglobina basais. Desse modo, podemos extrapolar que a maior incidência de STA nos pacientes S β^+ observada em nosso estudo pode estar correlacionada com os maiores níveis de hemoglobina encontrados nesse grupo, com consequente maior viscosidade sanguínea, o que facilitaria a ocorrência desse evento.

110. USO DE ECULIZUMABE NO TRATAMENTO DA HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA NO HOSPITAL DO CÂNCER DO ACRE

Scharff IC^a, Moreno AL^a, Silva SA^a, Pinheiro TCP^b, Lomonaco LA^c

^a Hospital das Clínicas do Acre, Rio Branco, AC, Brasil

^b Centro de Hematologia e Hemoterapia do Acre (HEMOACRE), Rio Branco, AC, Brasil

^c Hospital do Câncer do Acre, Rio Branco, AC, Brasil

Introdução: A hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) é um distúrbio adquirido raro, caracterizado por desordem das células-tronco hematopoietica (*stem cell*), que cursa com anemia hemolítica, eventos trombóticos e frequentemente pancitopenia. Ocorrem mutações genéticas específicas, que deixam as células hematológicas susceptíveis à lise pelo sistema complemento. **Objetivo:** Descrever a experiência clínica e o manejo de pacientes diagnosticados com HPN no estado do Acre. **Material e métodos:** Os dados foram coletados no Hospital de Câncer do Acre, dos pacientes diagnosticados com HPN no estado do Acre. **Resultados:** Foram identificados cinco pacientes com clone HPN por meio da citometria de fluxo e apenas dois apresentavam evidências clínicas de HPN clássica. Os outros três apresentavam clones mínimos de HPN em vigência de aplasia de medula óssea, sem evidências clínicas de HPN. Todos eram do sexo masculino, quatro abaixo de 40 anos e um com acima de 70 anos. Os pacientes com HPN clássica apresentavam anemia hemolítica, com hiperbilirrubinemia e hemoglobinúria. Semiologia da lâmina de sangue periférico mostrava anisopoiquilocitose e policromatofilia; níveis séricos da enzima desidrogenase láctica (DHL) estavam elevados. Tanto a biópsia de medula óssea quanto o aspirado de medula óssea evidenciavam hiperplasia eritróide, sem outras alterações. Um paciente evoluiu com pioria de função renal e necessitou de terapia dialítica temporariamente. Foram submetidos a tratamento imunossupressor (ciclosporina e corticoterapia), sem resposta adequada e com dependência transfusional. Receberam tratamento específico com eculizumabe, e apresentaram boa resposta clínica ao tratamento instituído, comprovada pelo aumento dos níveis de hemoglobina e pela queda da enzima DHL. **Discussão:** HPN é

uma anemia hemolítica crônica adquirida rara, caracterizada por mutações somáticas no gene PIG – A (fosfatidil inositol glicano A), localizada no cromossomo X. Resulta no bloqueio da síntese de “âncoras” de GPI (glicosil – fosfatidilinositol), responsáveis por adesão de várias proteínas na membrana celular. Dentre elas estão CD55 e CD59, que controlam a ativação da cascata do complemento. Sem essas proteínas o sistema complemento age descontroladamente sobre a membrana das células sanguíneas, provoca hemólise intravascular, citopenias e risco acentuado de eventos trombóticos, eventos esses com íntima relação na mortalidade e morbidade desses pacientes. O diagnóstico é feito por meio da citometria de fluxo, após suspeição clínica da doença. O tratamento da HPN varia desde suporte hemoterápico e uso de imunossuppressores até transplante de medula óssea. O eculizumabe, um anticorpo monoclonal que inibe a fração C5 do sistema complemento, é usado para o controle do quadro clínico da HPN, atua no controle das citopenias e na diminuição do risco de trombose desses pacientes. Os pacientes com HPN clássica em tratamento no Acre responderam bem ao tratamento com eculizumabe, com diminuição da atividade da doença evidenciada pela melhoria dos níveis de hemoglobina, independência transfusional e diminuição marcante dos níveis de DHL e, também, da função renal do paciente em terapia dialítica.

111. SCREENING OF TELOMERE BIOLOGY GENES REVEALED NOVEL MUTATIONS IN PATIENTS WITH DYSKERATOSIS CONGENITA AND APLASTIC ANEMIA

Gutierrez-Rodrigues F^{a,b}, Borges G^{a,b}, Alves-Paiva RM^{a,b}, Santana-Lemos BA^{a,b}, Nichele S^c, Ribeiro L^c, Oliveira MM^c, Medeiros LA^c, Loth G^c, Pasquini R^c, Bonfim C^c, Calado RT^{a,b}

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

^b Center for Cell-based Therapy, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), São Paulo, SP, Brazil

^c Bone Marrow Transplantation Unit, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brazil

Telomere length has been investigated for its involvement in several diseases, such as acquired and congenital bone marrow failure (BMF). Aplastic anemia (AA) and dyskeratosis congenita (DC) were linked to the referred syndromes of telomere shortening. DC is an inherited BMF known as the prototype of telomere disease, being characterized by the clinical triad and very short telomeres (below the first percentile). However, in some cases, AA alone can be a presentation of a telomeropathy. Mutations in telomere biology genes can affect telomere maintenance, leading to telomere shortening that may clinically manifest as BMF. In this study, the authors mapped TERT, TERC, DKC1, and TINF2 genes for mutations in patients with short telomeres and DC (n = 15) or AA (n = 24), in order to identify cases with telomere dysfunction and to classify them in a molecular level. Telomere length was measured in nucleated blood cells by flow-FISH, and mutational screening was performed on genomic DNA extracted from peripheral blood cells by direct sequencing. In total, found pathogenic mutations were observed in ten patients with DC (66%) and in one patient with AA (4%). Seven non-synonymous mutations were identified in TINF2, two in DKC1, one in TERT, and one in TERC. The heterozygous variant R282H (c.845 G>A) in TINF2 was found in four unrelated patients with DC. The heterozygous mutation in TINF2 R282C (c.844 C>T) was found in one patient with DC and in one patient with severe AA. Although both patients had the same mutation, their clinical phenotypes were different. The pathogenic variants T66A (c.196A>G) and A353V (c.1058C>T) in DKC1 were found in two different male DC patients. Moreover, three novel mutations were identified in this cohort, r.94 C>T in TERC, F290C in TINF2, and R696C in TERT. The heterozygous mutation (r.94 C>T) in TERC and F290C (c.859 T>G) was found in two distinct patients who presented severe aplastic anemia and a DC phenotype. The homozygous mutation R696C (c.2086 C>T) in TERT was found in one patient and also in his two brothers, all of whom presented reduced blood cell count, clinical features of DC, and severe aplastic anemia. The family screening identified the father and sister as heterozygous for the same mutation, but both asymptomatic. *In silico* analysis by SIFT and Polyphen 2.0 predicted that the R696C and F290C mutations were not tolerant and possible damaging to telomerase activity. Consistently with previously studies, telomere length in patients with TINF2 mutations was the shortest among the

other telomeres genes mapped in this study. However, the phenotype and severity of the disease do not appear to change according to the mutated gene. Flow-FISH was able to identify patients with very short telomeres, validating telomere length measurement as a diagnostic tool for DC. This method was also able to accurately measure telomere length in AA patients, whom, differently from DC, presented more cases with short telomeres than with identified mutations. Direct sequencing of the most commonly mutated genes in DC in patients with telomeres below the first percentile was able to characterize the genetic cause of this disease in over 60% of the cases. The identification of a genetic defect in BMF can aid clinical decisions and is essential to genetic counseling prior to bone marrow transplant.

112. CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E IMUNOFENOTÍPICA DOS PACIENTES COM HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA ATENDIDOS EM HOSPITAL TERCIÁRIO EM PORTO ALEGRE

Bosi GR, Weber CS, Daudt LE, Soares TB, Burin MM, Paiva MF, Zaltron RF, Teixeira BB, Pereira MP, Pedrazzani FS, Alegretti AP, Farias MG

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: A hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) é uma rara desordem clonal adquirida de células-tronco hematopoiéticas. A fisiopatogênese dessa doença está correlacionada com a mutação do gene PIGA que resulta na deficiência da GPI, a qual participa da regulação do complemento, incluindo CD55 e CD59 presente na superfície das células sanguíneas. A ausência dessas proteínas torna as células suscetíveis à ocorrência das principais manifestações da doença, hemólise e tromboembolismo, situação responsável pela grande maioria dos óbitos nesses pacientes. A apresentação e o curso clínico dessa doença são extremamente variáveis. A sobrevida média é de aproximadamente 10 anos. A associação da HPN com a anemia aplásica (AA) já é conhecida e estima-se que 40-50% dos portadores de AA expressem um clone de HPN. Possivelmente, o tamanho do clone HPN correlaciona-se com a apresentação clínica. Dados sugerem que clones maiores podem estar associados a uma apresentação típica da doença e eventos tromboembólicos, enquanto clones menores são expressos em pacientes com AA. **Objetivo:** Analisar se o tamanho do clone de pacientes portadores de HPN correlaciona-se com a forma clínica apresentada, assim como traçar o perfil epidemiológico dessa população atendida em hospital terciário do Sul do Brasil. **Métodos:** Estudo retrospectivo observacional por meio de revisão de prontuário com todos os casos de HPN que fizeram acompanhamento no Hospital de Clínicas de Porto Alegre a partir de 1999. Foram analisados os tamanhos do clone HPN conforme imunofenotipagem do momento do diagnóstico, além de hemoglobina, reticulócitos, lactato desidrogenase (LDH). A apresentação clínica da doença também foi avaliada. Para cálculo da correlação foi usado o teste de Pearson e para análise de sobrevida usou-se o teste de Kaplan-Meier. **Resultados:** A amostra foi composta por 16 pacientes, 12 (75%) mulheres, com média de 43,5 anos (\pm 14,8). A idade média dos pacientes ao diagnóstico foi de 37,2 anos (\pm 15,8). A apresentação clínica típica com hemólise foi a mais frequente (75%), enquanto 31,3% da amostra apresentaram aplasia durante o curso clínico e 18,8% apresentaram trombose venosa. Dos pacientes, 25% evoluíram para óbito. Sete (43,8%) apresentaram clone > 50% e 31,3% fizeram uso de eculizumabe ao longo da evolução clínica. Houve correlação entre o tamanho do clone ao diagnóstico e o LDH (R 0,76; p = 0,002). Todos os pacientes com clone superior a 50% apresentaram hemólise. A sobrevida global da amostra foi de 61,5% em 15 anos. **Conclusão:** É possível inferir que o tamanho do clone pode relacionar-se com a apresentação clínica típica da doença, visto que todos os pacientes portadores de clones > 50% apresentaram hemólise, além do maior valor de LDH no momento do diagnóstico. A HPN é uma doença de curso clínico extremamente variável, pode apresentar-se de modo distinto entre duas populações. Até o momento, existem poucos estudos brasileiros que caracterizaram esses pacientes. Diante disso, faz-se fundamental conhecer melhor o perfil clínico e imunofenotípico da população brasileira portadora de HPN com vistas a auxiliar o posterior desenvolvimento de novas terapêuticas que possam melhorar a qualidade de vida desses pacientes, bem como diminuir a incidência das suas complicações.

113. TERAPIA COMBINADA DE ALENTUZUMABE E CICLOSPORINA NO TRATAMENTO DE ANEMIA APLÁSICA ADQUIRIDA IDIOPÁTICA EM ADULTOS

Yamakawa PE, Rabelo IB, Guedes NR, Carvalho APV, Lacerda MP, Barros MMO, Arrais C

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

Introdução: Anemia aplásica adquirida (AA) é uma doença rara e heterogênea caracterizada por hipoplasia medular das três linhagens celulares, idiopática na maioria dos casos. Ocorre agressão autoimune aos progenitores mediada pelo desequilíbrio entre linfócitos T regulatórios e T efetores com lipossustituição. Pacientes com mais de 40 anos e/ou sem doadores aparentados de células-tronco são candidatos à imunossupressão com timoglobulina seguida de ciclosporina. O alemtuzumabe, anticorpo monoclonal anti-CD 52, é um potente imunossupressor com eficácia comprovada no tratamento da AA com taxas de resposta semelhantes à timoglobulina de coelho. Entretanto, existe pouca experiência com o uso desse medicamento na população brasileira e uma preocupação com sua toxicidade, em especial com o risco de infecções. Descrevemos a experiência bem-sucedida de um serviço público brasileiro no tratamento da AA com alemtuzumabe. **Objetivo:** Descrever os resultados do tratamento de pacientes adultos com AA grave ou muito grave com o uso de alemtuzumabe em combinação com ciclosporina. **Material e métodos:** Análise descritiva de sete pacientes tratados na Disciplina de Hematologia e Hemoterapia da UNIFESP de janeiro de 2013 a julho de 2015. **Resultados:** Sete pacientes com AA receberam imunossupressão com o uso combinado de alemtuzumabe por via subcutânea (dose total de 103 mg, divididas em cinco aplicações com dose progressiva de 3, 10, 30, 30, 30 mg) e ciclosporina (com o objetivo de manter ciclosporinemia entre 200-400 ng/mL). Desses, um paciente tinha anemia aplásica muito grave e os demais anemia aplásica grave. A mediana de idade ao tratamento foi de 55 anos (variação de 23 a 71) e quatro pacientes (57%) eram do gênero feminino. A mediana da hemoglobina ao diagnóstico era de 8,9 g/dL (variação de 7 a 12 g/dL), dos neutrófilos de $0,52 \times 10^9/L$ (variação de 170 a $1.292 \times 10^9/L$) e das plaquetas de $13 \times 10^9/L$ (variação de 8 a $57 \times 10^9/L$). A mediana de celularidade de medula óssea era de 5% (variação de 1% a 10%). Clone HPN estava presente em quatro pacientes [nas hemácias com mediana de 0,6% (variação de 0,01% a 49%), nos monócitos com mediana de 2,5% (0,03% a 21,9%) e nos granulócitos com mediana de 1,7% (0,03% a 19%)], em todos os casos sem hemólise ou outra significância clínica. O seguimento mediano após tratamento foi de 15 meses. Seis pacientes apresentaram resposta parcial (85%) com independência transfusional entre dois e cinco meses após o início do tratamento. Houve um óbito antes da resposta clínica, causado por acidente vascular cerebral hemorrágico em uma paciente idosa com trombocitopenia grave. Um paciente apresentou recaída da doença dois anos após o tratamento. Optou-se por repetir a imunossupressão com alemtuzumabe e ciclosporina, recentemente feita. **Discussão e conclusão:** Alemtuzumabe está descrito no tratamento de anemia aplásica como terapêutica inicial ou em pacientes refratários à timoglobulina. As taxas de resposta giram em torno de 35-58% com dose escalonada de 90 a 103 mg, seguida de ciclosporina. Nossos resultados superam os achados atuais já reportados e nos proporcionam uma opção segura e eficaz no tratamento dos pacientes não elegíveis ao transplante alogênico aparentado.

114. DETERMINATION OF NORMALITY RANGES OF GPI MARKERS FOR HIGH-SENSITIVITY DETECTION OF NOCTURNAL PAROXISMAL HEMOGLOBINURIA (PNH) CLONES

Penitenti M^a, Bertolucci CM^a, Conte JE^a, Simioni AJ^b, Ikoma MRV^a

^a Laboratório de Citometria de Fluxo, Fundação Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil

^b Serviço de Transplante de Medula Óssea, Fundação Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil

The request for PNH clones detection has been increasing in clinical practice, due to the current knowledge of their presence in clinical entities other than PNH, such as myelodysplastic syndromes and aplastic anemia. The significance of PNH clones without clinical alterations is still unknown. Furthermore, the clinical implication of the detection of very

little PNH clones is controversial. Nonetheless, the technical efforts to develop high-sensitivity flow cytometry tests for the detection of PNH clones are increasing. To implement this new technology in this laboratory, one of the various steps was to determine the normality standards for the markers used in the tests. **Objective:** To determine the normal positivity ranges for the most relevant markers of PIG deficiency for PNH diagnosis, and to create a reference database for patient samples. **Material and methods:** 63 samples of normal donor peripheral blood (PB) were used, prepared as previous described.¹ Flow cytometry: 1,000,000 events of PB samples were acquired using the FACSDiva(BD)TM software in a FACSCanto II (BD)TM. The PNH markers used for each population evaluation were: FLAER (Alexa 488, liquid form, CedarlaneTM) for granulocytes and monocytes; CD 24 PE (clone ALB9, Beckman CoulterTM) for granulocytes; CD14PE (clone RMO52, Beckman CoulterTM) for monocytes, CD59 PE (clone MEM43, InvitrogenTM) for red blood cells (RBC). For gate purposes, the following were used: CD45 PECy7 (clone J33, Beckman CoulterTM), CD15 PC5 (clone 80H5, Beckman CoulterTM), CD64 PC5 (clone 22, Beckman CoulterTM), and CD235a FITC (clone KC16, Beckman CoulterTM). Data were analyzed using Infinicyt software (CytognosTM). The results of median fluorescence intensity (MFI) of FLAER, CD24, CD14, and CD59 were used to calculate the mean and standard deviation (SD) for each of them. The mean MFI \pm 1 SD was considered as the range of normality. Database and reference images were constructed using Infinicyt software (CytognosTM). **Results:** The following mean MFI and SD were: FLAER in granulocytes (3,696.60 \pm 2,146.70), CD24 (1,832.28 \pm 1,303.48), FLAER in monocytes (2,873.79 \pm 1,422.24), CD 14 (13,992.74 \pm 7,817.28), and CD 59 in RBC (8,680.37 \pm 1,494.04). **Conclusion:** The obtained data allowed for the determination of MFI normal positivity ranges for PNH clones markers in this laboratory. Reference image created by Infinicyt software is also an auxiliary tool for the diagnosis of PNH clones.

Reference:

- Sutherland DR, Keeney M, Illingworth A. Practical guidelines for the high-sensitivity detection and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom.* 2012;82(4):195-208.

115. ANEMIA SIDEROBLÁSTICA INDUZIDA POR LINEZOLIDA: RELATO DE CASO

Gabe C, Fonseca GHH, Sukanuma LM, Gualandro SFM, Silveira PA

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

Introdução: As anemias sideroblásticas reversíveis podem ocorrer devido ao abuso de álcool, medicamentos, toxinas, deficiências nutricionais ou hipotermia. O antibiótico linezolida é raramente implicado nessa condição, com somente sete casos relatados na literatura. Relatamos o caso de uma paciente com xerocitose hereditária (XH) que desenvolveu essa complicação após o uso de linezolida para tratamento de infecção de corrente sanguínea. **Relato de caso:** MC5M, 46 anos, sexo feminino, parda, natural e procedente de São Paulo, funcionária de metalúrgica, tem diagnóstico de XH efetuado em 2003, com acompanhamento desde então no Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FM-USP). Seu tratamento consiste em quelação de ferro com deferasirox e flebotomias terapêuticas quando o nível de hemoglobina permite o procedimento. Como antecedente, tinha história de transfusão de concentrado de hemácias em 1994. Foi internada pelo serviço de emergência com quadro de dor abdominal em hipocôndrio direito, febre e exacerbação da icterícia. Apesar de inicialmente ter sido tratada como calcúloze biliar, tomografia computadorizada de abdome revelou a presença de apendicite aguda, com necessidade de apendicectomia. No pós-operatório, a paciente evoluiu com exacerbação da anemia e necessidade de transfusões, que foram complicadas por hemólise tardia decorrente de aloimunização prévia. Após 15 dias de internação, apresentou febre com bacteremia, sendo identificada a presença de *Enterococcus* resistente a vancomicina em hemocultura. Nesse momento, a paciente passou a fazer uso de linezolida. A despeito do uso de prednisona e eritropoetina, controle adequado da infecção e eventuais transfusões, o valor de hemoglobina permaneceu em torno de 5 g/dL, bem abaixo dos valores típicos da paciente. O padrão da anemia, normocítica/normocrômica e com contagem baixa de reticulócitos contrastava com o observado em quadros prévios de exacerbação da XH. Optou-se pela punção de medula óssea, que revelou a presença de hiperplasia da série eritróide com 47% de sideroblastos em anel. Após suspen-

são da linezolid, paciente evoluiu sem intercorrências, com retorno da hemoglobina para os valores basais. **Conclusão:** A linezolid, desde o seu lançamento comercial, vem sendo implicada com leucopenia, plaquetopenia e supressão medular. Estudos pré-clínicos em animais demonstraram a presença de sideroblastos em anel associada ao uso de linezolid, assim como mielogramas de pacientes em uso dessa medicação apontam uma incidência aproximada de 15% dessa complicação. No caso da paciente relatada, observamos valores de Hb mais baixos do que o esperado, o que pode ser decorrente da associação com XH. Dessa forma, ressaltamos a importância de considerar essa complicação em indivíduos em uso prolongado de linezolid e sempre revisar a história medicamentosa em pacientes com anemia sideroblástica.

116. HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA: ANÁLISE CLÍNICO-LABORATORIAL DOS PACIENTES ATENDIDOS NO SERVIÇO DE HEMATOLOGIA DA FCMS-PUC-SP/CHS

Cliquet MG, Almenara J, Camargo A, Santos EAD, Vecina AFC

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

Introdução: A hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) é uma desordem hematológica rara causada por mutações somáticas adquiridas por células-tronco hematopoiéticas no gene *PIG-A*, que levam à deficiência na síntese de âncoras de GPI, responsáveis pela adesão à membrana plasmática de proteínas como CD55 e CD59 de importante papel na ativação do sistema complemento. A ausência dessas proteínas na membrana dos eritrócitos advindos do clone HPN faz com que esses se tornem suscetíveis à lise mediada pelo complemento, que leva a tríade caracterizada por anemia hemolítica, pancitopenia e trombose. **Objetivo:** Caracterizar a população portadora de HPN atendida no Serviço de Hematologia da FCMS-PUCSP/CHS. **Metodologia:** Foi feito um estudo observacional retrospectivo dos pacientes portadores de HPN diagnosticados por meio de citometria de fluxo atendidos no Serviço de Hematologia da FCMS-PUC-SP/CHS entre junho de 2006 e junho de 2015, e os dados coletados foram submetidos a análise estatística. **Resultados:** A mediana de idade dos pacientes ($n = 7$) ao diagnóstico foi de 49 anos, com um discreto predomínio do sexo masculino (1,3:1). Em relação ao quadro clínico, 100% queixavam-se de sintomas relacionados à anemia, aproximadamente 40% apresentavam hematuria e 30% trombose. Quase 90% da população já havia recebido concentrado de hemácias, e metade era dependente de transfusão. A Hb variou de 2,9 a 9,5 g/dL (mediana de 6,5 g/dL). A mediana de leucócitos foi de 2.900/mm³ e de plaquetas 84.000/mm³. O valor do DHL estava elevado em 67% dos pacientes, com mediana de 738 U/L, enquanto a BT apresentou mediana de 0,65 mg/dL. **Conclusões:** Nossa pequena população de pacientes com HPN apresenta distribuição etária comparável com a da literatura. Todos apresentavam-se não só anêmicos, mas também leucopênicos e plaquetopênicos. O principal marcador de hemólise foi o DHL.

117. HIGH-SENSITIVITY DETECTION OF PAROXYSMAL NOCTURNAL HEMOGLOBINURIA CLONES BY FLOW CYTOMETRY

Ikoma MRV^a, Penitenti M^a, Bertolucci CM^a, Conte JE^a, Souza MP^b, Mattos ER^c, Francheschi FLS^c, Joaquim AP^c, Colturato VAR^b

^a Laboratório de Citometria de Fluxo, Fundação Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil

^b Serviço de Transplante de Medula Óssea, Fundação Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil

^c Serviço de Hematologia, Fundação Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil

Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) is a rare and life-threatening disease, whose diagnosis is based in clinical findings and confirmed by the detection of PNH clones by flow cytometry (FC), which is the method of choice for this purpose. PNH clones are also observed in other diseases, such as myelodysplastic syndromes (MDS) and aplastic anemia (AA). Nowadays, a novel agent has shown efficacy for the treatment of PNH, but an accurate diagnosis is necessary. Therefore, methods for the detection and monitoring of PNH clones are increasingly being implemented in FC laboratory practice. **Objective:** To demonstrate the applicability of FC high-sensitivity test for the detection of PNH clones in sam-

ples of patients from this hospital and from hospitals in this geographic region. **Material and methods:** The study included 58 peripheral blood samples of 55 patients, aged 7 to 72 years old, 18 of whom were males and 37 were females. They were evaluated in the period from April of 2014 to June of 2015. The diagnoses informed to the laboratory were: PNH (one), AA (17), MDS (seven), thrombocytopenia (four), unexplained anemia (nine), unexplained cytopenias (two), unexplained thrombosis (one), and not informed (17). Samples were prepared, acquired, and analyzed according to ICCS Guidelines¹ and also to previously described high-sensitivity detection of PNH clones approach.² A 4-color panel was used: FLAER (Alexa 488, liquid form, Cedarlane™) for granulocytes and monocytes; CD 24 PE (clone ALB9, Beckman Coulter™) for granulocytes; CD14PE (clone RMO52, Beckman Coulter™) for monocytes, CD 59 PE (clone MEM43, Invitrogen™) for red blood cells (RBC). For gate purposes, the following were used: CD45 PECy7 (clone J33, Beckman Coulter™), CD15 PC5 (clone 80H5, Beckman Coulter™), CD64 PC5 (clone 22, Beckman Coulter™) and CD235a FITC (clone KC16, Beckman Coulter™). Samples were acquired in a FACSCanto II (BD™) using the FACSDiva software (BD™). Data analysis was done by Infinicyt software (Cytognos™). **Results:** PNH clones were detected in 27 samples: PNH (one), AA (11), MDS (three), thrombocytopenia (three), not informed (10). The percentage of PNH clones observed in each diagnosis group for granulocytes, monocytes, and red blood cells were, respectively: PNH (83.39%, 78.7%, 32.79%); AA (0.09% to 99%, 0.01% to 98.3%, 0.01% to 8.9%); MDS (0.01%, 0.01% to 0.1%, 0.01%); not informed (0.09% to 95%, 0.37% to 96%, 0.03% to 95%). **Conclusion:** The strategy to detect PNH clones using FC high-sensitivity test allowed for the detection of clones at a level of 0.01% sensitivity.

References:

- Borowitz MJ, Craig FE, Digiuseppe JA, Illingworth AJ, Rosse W, Sutherland DR, et al. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom.* 2010;78(4):211-30.
- Sutherland DR, Keeney M, Illingworth A. Practical guidelines for the high-sensitivity detection and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom.* 2012;82(4):195-208.

118. PERFIL DAS HEMOGLOBINOPATIAS TRIADAS PELO LACEN/PE: UM ESTUDO RETROSPECTIVO DE DEZ ANOS

Firmino GO^a, Silva GV^a, Coutinho IMP^a, Fernandes LCL^a, Macêdo DS^a, Oliveira RD^a, Oliveira FSF^a, Neto AGL^a, Cauás EMC^a, Albuquerque TCC^b

^a Laboratório Central de Saúde Pública de Pernambuco Dr. Milton Bezerra Sobral (LACEN/PE), Recife, PE, Brasil

^b Secretaria Estadual de Saúde do Estado de Pernambuco (SES/PE), Recife, PE, Brasil

As hemoglobinopatias ocupam um lugar de destaque entre as patologias genéticas mais prevalentes no mundo. Cerca de 270 milhões de pessoas são portadoras de hemoglobinas anormais em diferentes combinações e quadros que variam de assintomáticos a letais. A anemia falciforme é provavelmente a doença hematológica hereditária mais prevalente na população brasileira. Originou-se na África e foi trazida à América pelo tráfico de escravos. Distribuída heterogeneamente em virtude da miscigenação étnica, essa doença representa um problema de saúde pública e está associada a uma alta morbidade e à necessidade de cuidados médicos regulares, diminui a qualidade de vida e provoca incapacitações e internações frequentes em hospitais para tratamentos e procedimentos cirúrgicos. Atualmente, a triagem neonatal permite a identificação precoce de diversas doenças congênitas que não apresentam sintomas ao nascimento. Em 2001, o Ministério da Saúde instituiu o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) por meio da resolução GM/MS nº. 822/01 e permitiu o diagnóstico precoce e o acompanhamento das hemoglobinopatias. Diante disso, o objetivo do presente estudo foi avaliar, ao longo de 10 anos, o perfil hemoglobínico das amostras de recém-nascidos alteradas triadas no setor de Triagem Neonatal do Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN). Foi feito um estudo retrospectivo-descritivo no qual foram analisadas as amostras triadas no LACEN pelo Programa Estadual de Triagem Neonatal (PETN), de 1º de janeiro de 2004 a 31 de dezembro de 2014. As amostras foram analisadas por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) com o kit Sickle Cell Short Program no equipamento Variant Hemoglobin Testing System (Bio-Rad) a partir de

amostras de sangue total de recém-nascidos, colhidas por punção do calcanhar em papel filtro. Nesse período foram triados 960.139 recém-nascidos, dos quais 453 apresentaram resultados alterados para hemoglobopatias nas seguintes proporções: HbFS (302), HbFSC (101), HbFC (21), HbFSA (23), HbFCA (2), HbFSD (2). Esse resultado demonstra que a doença falciforme é o tipo de hemoglobinopatia mais prevalente na população triada no estado de Pernambuco. Além disso, o grande número de crianças triadas com hemoglobina S associada a outras hemoglobinas anormais se deve à alta frequência dessa hemoglobina em heterozigose na população. Com isso, ressalta-se a importância da triagem neonatal não só como uma ferramenta de diagnóstico precoce, mas como forma de possibilitar o aconselhamento genético da população e proporcionar informações necessárias ao planejamento familiar e à reprodução consciente.

119. HEMOGLOBINA VARIANTE RARA – HEMOGLOBINA HIMEJI (HBB:C.422 C>A) PRIMEIRA DESCRICÃO NO BRASIL

Viviani NM^a, D'agostini TL^a, Ferreira SC^b, Levi JE^b, Castellón EPF^a, Duarte NJC^a, Mendes ME^a, Sumita NM^a

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

^b Fundação Pró-Sangue, Hemocentro de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Hemoglobinas variantes são originadas por simples substituições de aminoácidos, resultantes de mudanças nas sequências de nucleotídeos que levam a alterações estruturais e a consequências nas atividades físico-químicas da molécula. A gravidade da mutação depende da extensão do processo mutacional e dos locais em que esses ocorrem. A presença de qualquer hemoglobina variante pode interferir nos resultados de exames laboratoriais nos quais a metodologia usada se baseia na troca iônica, pois a troca do aminoácido altera também sua carga. Um exemplo de interferência é a dosagem da hemoglobina glicada (HbA1C), que tem algumas limitações e tem sido questionada como teste de escolha para o diagnóstico de diabetes mellitus (DM) devido a fatores que afetam a sua interpretação, como a presença de uma hemoglobina variante.

Relato de caso: Jovem de 17 anos deu entrada no serviço de cardiologia com um resultado de HbA1C de 9%, não compatível com o quadro clínico. Uma segunda análise de HbA1C foi feita pelo método de cromatografia líquida de alta performance por troca iônica (HPLC), D 10 (Bio-Rad Laboratories, Inc., California, EUA). Foi observada uma fração P3 de 34%, que caracterizou a presença de uma hemoglobina variante desconhecida. Fez-se um estudo familiar de pai, mãe e irmão. **Objetivo:** Identificar a hemoglobina variante que interferiu no resultado da HbA1C. **Material e métodos:** As amostras de sangue periférico foram coletadas em tubos com EDTA a 5%. Para o hemograma foram usados o analisador Sysmex - XE-5000 e corador Sysmex - SP.1000i (Roche's Diagnostics Division, Basel, Switzerland). A eletroforese de hemoglobina alcalina e ácida foi feita no Spife/REP (Helena Laboratories Beaumont, Texas, USA). Para os testes moleculares, o DNA foi isolado pelo kit QIAamp DNA Blood cat. nº 51.106, o sequenciamento do DNA dos éxon 1, 2 e 3, íntron 1 e 2, da região da beta-hemoglobina pelo método de Sanger (ABI -DNA sequence, model 3130 Genetic Analyser, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Os dados foram analisados no programa Sequencer. **Resultados:** A eletroforese em gel de agarose pH alcalino mostrou uma fração de hemoglobina rápida, indicou a presença de um aminoácido com carga mais negativa do que a hemoglobina A, e em pH ácido a fração aparece próxima à posição da Hb fetal. Para o pai e o filho portadores da mutação, no HPLC a fração alterada aparece no tempo de retenção de P3 com aproximadamente 35%. O valor da HbA1C é de aproximadamente 3,5% para ambos, o que caracteriza a interferência da hemoglobina variante. Os eritogramas não apresentaram alterações. No éxon 3 encontramos uma mutação na qual há uma troca de C>A, posição 140 com troca do aminoácido alanina, que é um aminoácido neutro, pelo ácido aspártico, um aminoácido negativo (HBB:c.422 C>A). A mutação estava presente apenas no paciente em questão e no pai. **Conclusão:** Por meio de uma análise no Database of Human Hemoglobin Variants and Thalassemia, a hemoglobina em questão é a hemoglobina Himeji, descrita pela primeira vez por Ohba et al., em 1986 no Japão, e pela primeira vez descrita no Brasil. Maiores estudos para a identificação de hemoglobinas variantes se fazem necessários, uma vez que a dosagem de A1C é usada para diagnóstico e acompanhamento de DM, e tais hemoglobinas interferem no resultado e na conduta clínica.

120. ESTUDO DOS DOADORES DE SANGUE PORTADORES DO TRAÇO FALCIFORME QUE RECEBERAM ORIENTAÇÃO GENÉTICA NO CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO PIAUÍ (HEMOPI)

Souza AS^a, Araújo MDC^a, Lima ACG^b, Rocha FDC^b

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

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

Introdução: A doença falciforme constitui uma das mais comuns doenças genéticas e hereditárias no Brasil. Ocorre em indivíduos portadores do gene beta-globina mutante, com produção de hemoglobina (Hb) alterada S, associada ou não com outras Hb mutantes, como C, D e E. O indivíduo caracterizado por ter genótipo em heterozigose, com um gene para a hemoglobina A e outro mutante (HbAS, HbAC, HbAD etc.), é denominado portador do traço falciforme (TF). O TF é o perfil genotípico mais comum (HbAS), e estima-se que haja mais de dois milhões de portadores dessa característica. A orientação genética, de caráter assistencial e preventivo, deve ser assegurada ao portador do traço e seus parentes. **Objetivos:** Estudar o perfil dos doadores de sangue com TF sob a ótica da orientação genética em 2014. **Material e métodos:** Usou-se o banco de dados de doadores do HEMOPI, o Hemovida, para identificação dos doadores de sangue portadores de TF, diagnosticados por meio do exame de eletroforese de Hb feitos pelo laboratório, e foram enviadas cartas a todos os doadores. Neste estudo constam os doadores que compareceram ao aconselhamento genético em 2014: 250. Usou-se como base para orientação o Manual de Informação e Orientação Genética em Herança Falciforme do Ministério da Saúde/2011. Nessa conjuntura, usaram-se as seguintes abordagens: herança genética, hemoglobina e suas alterações, transmissão e probabilidades e explicações sobre o TF. Ofereceu-se pesquisa em parentes. **Resultados:** Dos 250 doadores de sangue portadores de TF orientados, 143 (57,2%) eram do sexo masculino e 107 do feminino (42,8%). Os resultados obtidos mostram que entre os doadores de sangue a maior prevalência do TF ocorreu na etnia parda, com proporção de 65,3% (n = 167) na faixa etária de 21 a 40 anos, com 63,2% (n = 158). Releva-se que, dentre doadores de sangue prevaleceu a HbS, com 91,2% (n = 228). A grande maioria dos doadores 86% (n = 215) era procedente do Piauí, e 8% (n = 24) do Maranhão; 74% (n = 185) residem em Teresina, 14% (n = 35) no Piauí e 12% (n = 30) no Maranhão. Quanto ao grau de escolaridade, 54,8% (n = 137) têm ensino médio, 28% (n = 70) ensino superior, 16,4% (n = 41) ensino fundamental e apenas 0,8% (n = 2) não alfabetizado. Dentre as profissões destacam-se 20,8% (n = 52) estudantes, 4,8% (n = 12) do lar e 7,5% (n = 186) outras profissões. Observou-se que 64% (n = 160) dos doadores eram solteiros, enquanto 34,4% (n = 86) eram casados, e apenas 1,6% (n = 04) eram divorciados. De todos os doadores orientados, 95,2% (n = 238) afirmaram nunca ter ouvido falar no TF, enquanto 4,8% (n = 12) afirmaram conhecer a presença de casos na família, fato que corrobora a necessidade de políticas de esclarecimento sobre a doença falciforme, dada sua tão elevada prevalência. **Conclusão:** Depreendeu-se que a orientação genética em doadores de sangue portadores do TF, além de possibilitar a pesquisa em parentes, constitui uma importante ferramenta no esclarecimento dos doadores quanto ao seu diagnóstico e possibilita a tomada de decisões conscientes a respeito da procriação.

121. GATA2 GENE MUTATIONS IN PATIENTS WITH BONE MARROW FAILURE

Borges G^{a,b}, Calado RT^{a,b}

^a Center for Cell-Based Therapy, Ribeirão Preto, SP, Brazil

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

The GATA2 gene is known to regulate pathways that are involved in the maintenance and proliferation of hematopoietic stem cells. Mutations in this gene are related to susceptibility to infections of bacteria, fungi, viruses, and malignancies (Vinh et al., 2010). A novel disease linked to genetic defects in GATA2 gene is the immunodeficiency MonoMAC, characterized by a profoundly decreased or absence of monocytes, natural killer (NK) cells, and B cells (Hsu et al., 2011). In addition, patients with MonoMAC can develop myelodysplasia (MDS) and eventually evolve to acute myeloid leukemia (Hsu et al., 2011). Bone marrow hypocellularity

and dysplasia of at least one lineage are found in most patients, as well karyotypic abnormalities (Calvo et al., 2011). The clinical features of this recently described syndrome might overlap the symptoms presented by patients with bone marrow failure, especially aplastic anemia (AA; Calvo et al., 2012). The diagnosis of both diseases is not simple and requires medical and family histories, physical evaluation, and appropriated exams. In this study, the GATA2 gene was sequenced in 31 patients with acquired or constitutional AA, without mutations in TERT, TERC, DKC1, and TPO genes. The genomic DNA was extracted from peripheral blood samples in order to amplify the sequences of the GATA2 gene through conventional polymerase chain reaction using a specific set of primers. In this cohort, ten different variants in the GATA2 were found: three alterations within the 5' region (rs73862208, rs2335237, and rs1806462); two redundant mutations (P5P and T188T); three intronic variants (rs2713603, rs2713604 and rs11708606); one missense mutation (A164T); and one nonsense mutation at the codon 72 (Y72stop). *In silico* analysis (PROVEAN) predicted that only the nonsense mutation may be deleterious for protein activity. This heterozygous mutation substitutes a tyrosine for a premature stop codon, which promotes an interruption in the protein translation and a decreased level of GATA2 protein. The patient with the Y72stop variant was a male, 24 years old, who died in 2012 with an uncertain diagnosis of constitutional AA. He presented pancytopenia at the first medical visit and further analysis revealed that he had a decreased number of monocytes ($0.1 \times 10^3/\mu\text{L}$), with low levels of serum immunoglobulins IgG2 and IgG4 (1,170 mg/L and 23 mg/L, respectively), which was compatible with his history of successive Gram-negative bacterial infections. Considering the clinical features and the mutational status, the data suggests that this patient presented a GATA2 disease. The screening performed in this cohort of AA patients was able to identify a patient with GATA2 disease, which was essential for the correct diagnosis and genetic counseling of his family. To the best of the authors' knowledge, this is the first report of a Brazilian patient with GATA2 disease. The management of these patients in a specialized center appeared to be important to distinguish GATA2 patients from those with AA, and critical for selecting appropriate therapy. Moreover, this recent finding reinforces the necessity of not only well-trained physicians but also appropriated laboratory tools for the precise diagnosis of AA and GATA2 diseases.

122. PREVALÊNCIA DE HEMOGLOBINOPATIAS EM PACIENTES ATENDIDOS EM HOSPITAL PÚBLICO UNIVERSITÁRIO

Garcia KC, Muzio VD, Oliveira DMP, Tanizawa RSS, Rotondi EMA

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

Introdução: As anemias hereditárias estão entre as doenças genéticas mais comuns e representam grupo de bastante complexidade. As hemoglobinas anômalas, seja em caráter homo ou heterozigótico, têm prevalência variável em nosso meio, de acordo com fatores locais de miscigenação, entre outros. Os defeitos moleculares associados às hemoglobinas anômalas causam repercussão clínica, justificam seu diagnóstico o mais precocemente possível. **Objetivos:** Observar a prevalência de hemoglobinopatias S e C, em pacientes atendidos em hospital público universitário, no período de um ano. **Material e métodos:** De maio de 2014 a junho de 2015, foram analisadas 1.145 amostras de sangue total, oriundas de pacientes internados ou ambulatoriais, encaminhadas para eletroforese de hemoglobina. Quanto ao sexo, 634 amostras eram do feminino e 511 do masculino. O material foi processado e analisado pelo equipamento Interlab G26, por meio de eletroforese em gel de agarose em pH alcalino. As amostras que apresentam corrida eletrofética sugestiva de hemoglobina C foram submetidas a eletroforese em pH ácido para confirmação. **Resultados:** Observou-se predomínio de hemoglobinopatia S (57,82% das amostras), à custa de padrões heterozigóticos. Hemoglobina S em homozigose foi encontrada em menos de 1% das amostras. A seguir, hemoglobina C, no padrão SC (8,30%). Hemoglobina C pura foi observada em menos de 1% das amostras. Não se observaram hemoglobinopatias em 32,66% das amostras analisadas. **Conclusões:** A população brasileira se caracteriza por apresentar grande heterogeneidade genética e nível de miscigenação significativo. Os resultados apresentados demonstram que as hemoglobinopatias são muito frequentes em nosso meio, com mobilidade mais rápida do que a HbA. 21,31. Com as técnicas usadas neste trabalho, pode-se diagnosticar e acompanhar portadores de anemias hereditárias e diminuir a incidência das complicações associadas a esse grupo de doenças.

123. DIAGNÓSTICO DE HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA POR CITOMETRIA DE FLUXO DE ALTA SENSIBILIDADE – COMPARAÇÃO COM METODOLOGIA TRADICIONAL, DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DOS CLONES E AVALIAÇÃO DE MUDANÇA DO TAMANHO DOS CLONES DURANTE SEGUIMENTO

Maekawa YH, Sousa FA, Tamashiro N, Takao TT, Silva ACT, Pfister V, Gonalves MV, Rizzatti EG, Sandes AF

Setor de Hematologia e Citometria de Fluxo, Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) é uma doença clonal adquirida da stem cell em decorrência de mutação somática no gene *PIG-A*, e causa inabilidade de proteção dos eritrócitos contra lise por complemento. Tradicionalmente, a pesquisa de HPN é feita pela quantificação dos antígenos CD55 e CD59 em hemácias e leucócitos, embora essa técnica apresente limitações na detecção de pequenos clones. Recentemente, a Sociedade Internacional de Citometria de Fluxo recomenda os testes de HPN de alta sensibilidade, com pesquisa de CD24 (granulócitos), CD14 (monócitos), Flaer (toxina bacteriana que se liga diretamente à âncora de GPI) e CD59 (hemácias). Com esse novo método, é possível identificar até uma célula derivada de um clone HPN dentre 10.000 células normais (0,01%), enquanto os testes convencionais têm um limite de sensibilidade de, no máximo, 1%. **Objetivo:** (1) comparar a eficiência na detecção de clones HPN pelo método imunofenotípico tradicional e de alta sensibilidade; (2) determinar a distribuição do tamanho dos clones HPN detectados por CFM de alta sensibilidade; e (3) acompanhar a evolução de casos com presença de pequenos clones (inferior a 1%), que repetiram o estudo imunofenotípico dentro o período de 3-6 meses. **Material e métodos:** Foram analisadas retrospectivamente 4.083 amostras de sangue periférico provenientes de casos novos, submetidas à pesquisa de clone HPN por citometria de fluxo; 1.111 foram analisadas pelo método convencional (período de 1999-2011) e 2.972 pela técnica de alta sensibilidade (2011-2014). **Resultados:** O teste convencional detectou clones HPN em 36 (3,2%) de 1.111 amostras, enquanto o teste de alta sensibilidade detectou clone HPN em 388 (13,05%) de 2.972 amostras. O tamanho do clone HPN nos testes de alta sensibilidade foi distribuído como se segue: 0,01-0,1% (n = 30, 7,7%); 0,1-1% (n = 77, 19,8%); 1,1-5% (n = 56, 14,4%); 5,1-10% (n = 13, 3,4%); 10,1-20% (n = 21, 5,4%); 20,1-30% (n = 15, 3,9%); 30,1-40% (n = 7, 1,8%); 40,1-50% (n = 10, 2,6%); 50,1-60% (n = 17, 4,4%); 60,1-70% (n = 12, 3,1%); 70,1-80% (n = 18, 4,6%); 80,1-90% (n = 27, 7%); e 90,1-100% (n = 85, 21,9%). Clone HPN superior a 1% foi observado em 72,4% dos casos; pequenos clones (0,1-1%) foram observados em 19,8% dos casos; e raras células com fenótipo HPN (< 0,1%) foram observadas em 7,7% dos casos. Dentre os pacientes com clone HPN < 1%, 18 casos repetiram a pesquisa de HPN entre 3-12 meses após o diagnóstico, com manutenção do tamanho do clone em todos os casos. **Discussão:** Verificou-se que o novo método imunofenotípico aumentou de forma contundente a sensibilidade da citometria de fluxo para a detecção de clones HPN. Além disso, nossos resultados mostram um aumento importante na solicitação de exames para pesquisa de HPN após 2010, o que pode ser explicado pela introdução de terapia específica para doença. O real significado da detecção de pequenos clones HPN ainda necessita ser determinado, embora alguns estudos mostrem que pacientes com anemia aplástica e SMD podem se beneficiar de tratamento imunossupressor. Pacientes com pequenos clones HPN devem ser monitorados periodicamente para avaliar alteração do tamanho do clone com o tempo.

124. HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA E GESTAÇÃO: RELATO DE CASO

Weber D, Tagliari G, Fassina K, Fenili AC, Vidor S, Moreno FL, Pithan CF, Catelli DH, Capra MEZ, Shuh H, Vilella LP

Hospital Nossa Senhora da Conceição de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: A hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) é uma doença adquirida rara do sistema hematopoiético, mais comum em adultos, na terceira década de vida, em ambos os sexos. A apresentação clínica é muito variável, pode cursar com anemia hemolítica ou citopenias inexplicadas, trombozes em sítios atípicos ou sintomas inespecíficos, como dor abdominal, disfgia, fadiga, dispneia, disfunção erétil, dor torácica, insuficiência renal, entre outros. Achados laboratoriais incluem anemia com alteração

das provas de hemólise (desidrogenase láctica [DHL], reticulócitos e bilirrubina indireta elevados), Coombs direto negativo, hemoglobínúria, ADAMTS13 normal e haptoglobina reduzida. O diagnóstico é feito pela citometria de fluxo com Flaer (fluorescent aerolysin), que mostra redução dos níveis de proteínas de ancoragem da GPI (glicofosfatidilinositol). Quadros infecciosos ou gestação podem precipitar ou descompensar a doença já instituída. O tratamento deve ser administrado para os pacientes sintomáticos com vistas ao controle da doença e evitar complicações. Tem como base a inibição do complemento com o uso da medicação eculizumabe, capaz de controlar o sistema imunológico que desencadeia a doença. **Objetivo:** Relatar um caso de HPN com diversas manifestações trombóticas e diagnóstico tardio, com bom controle da doença após início de tratamento específico, porém perda de resposta durante a gestação. **Relato de caso:** LSS, sexo feminino, branca, 31 anos, história de anemia hemolítica microangiopática durante a gestação, em 2007, submetida a mais de 50 sessões de plasmaférese sem melhoria total do quadro, culminou com perda fetal no segundo trimestre e melhoria parcial dos exames posteriormente. Abandonou acompanhamento em 2009. Nova gestação em 2011, com nova perda fetal com 22 semanas de gestação, quando retomou acompanhamento na hematologia, manteve anemia e níveis de DHL elevados. Em 2012, internação por dor abdominal e diagnóstico de síndrome de Budd Chiari, foi indicada anticoagulação. Manteve anemia, DHL bastante elevado e hiperbilirrubinemia indireta. Dosagem de ADAMTS13 normal. Feita citometria de fluxo para HPN, que confirmou o diagnóstico. Iniciou tratamento com eculizumabe na dose de 1.200 mg intravenoso (IV) por cinco semanas, com normalização das provas de hemólise. Seguiu em infusões quinzenais de 900 mg IV, com bom controle da doença. Em janeiro de 2015, nova gestação. Indicado uso concomitante de enoxaparina para prevenção de eventos trombóticos. Paciente evoluiu com pioria da hemólise e descompensação da doença. A dose de eculizumabe foi aumentada para 1.200 mg a cada 15 dias, porém sem resposta. Houve perda fetal com 30 semanas de gestação por trombose placentária, confirmada por necropsia. Cerca de 30 dias após o parto, houve melhoria clínica e laboratorial, com retorno às doses de eculizumabe pré-gestacionais e suspensão de enoxaparina. **Conclusão:** A HPN é uma doença rara, com quadro clínico inespecífico e diagnóstico muitas vezes tardio. Incluir a doença no diagnóstico diferencial das microangiopatias, perdas fetais ou quadros de trombozes em sítios atípicos é muito importante, tendo em vista que o diagnóstico precoce e a pronta instituição de tratamento específico podem melhorar os desfechos nesse grupo de pacientes, reduzir a morbimortalidade e evitar complicações. São necessários novos estudos para melhor compreensão e tratamento da doença na gestação.

125. HEMOFILIA: UMA ABORDAGEM TERAPÊUTICA ATUALIZADA

Moita LA, Alencar MS, Oliveira AP, Pacheco G, Araújo S, Costa ACB, Pacifico DM, Lima EBS, Silva FRP, Júnior JLP

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

Introdução: A hemofilia é uma coagulopatia hereditária caracterizada pela deficiência dos fatores VIII (hemofilia A) ou IX (hemofilia B). Tem padrão de herança autossômico recessivo ligado ao sexo e uma prevalência de 1:10.000 e 1:40.000 nascidos vivos do sexo masculino, respectivamente. Os portadores da doença dependem de terapia de infusão via endovenosa ou terapia de substituição de fator VIII ou IX para fornecer ao organismo a proteína em falta. A reposição do fator deficiente deve ocorrer durante toda a vida, já que não existe cura para essa condição patológica. O tratamento é baseado na infusão de concentrado de fator deficiente, que pode ser de origem plasmática ou recombinante. **Objetivo:** Analisar e fornecer informações acerca das medidas terapêuticas atuais existentes para os pacientes hemofílicos. **Material e métodos:** Para isso, uma pesquisa literária foi feita em maio e junho de 2015, nas bases de dados LILACS, MEDLINE e PubMed. Foram selecionados estudos publicados entre 2004 e 2014 e que fossem pertinentes ao tema. **Resultados e discussão:** Atualmente existem duas modalidades de tratamento para a hemofilia, ambas baseadas em concentrados de fatores da coagulação. Assim, a infusão do concentrado pode ser feita após o episódio hemorrágico, ou de maneira profilática, nos casos de hemofilia grave. Além disso, esses concentrados apresentam quantidades padronizadas do fator coagulante e vantagens sobre o crioprecipitado ou o plasma. Porém, o uso prolongado de fator VIII por pacientes hemofílicos pode levar ao desenvolvimento de inibidores do fator, que são anticorpos policlonais da classe IgG direcionados contra ele. Desse modo, aumentam os desafios terapêuticos no tratamento de he-

morragias ocasionadas pela hemofilia A. Na busca de reduzir as complicações provenientes dessas reações autoimunes, opções terapêuticas foram desenvolvidas, como o uso do concentrado protrombínico (PCCs) ou complexo protrombínico ativado (APCCs), que estimulam a formação de coágulo, subsequente parada da hemorragia e o requerimento de FVIII. Várias terapias, que incluem corticosteroide, ciclofosfamida, ciclosporina, vincristina, imunoglobulina, interferon e plasmaférese, têm sido usadas na redução e eliminação de inibidores do fator VIII. Além das terapias já citadas, outro estudo demonstrou como terapia adjuvante o uso de fármacos como analgésicos, agentes anti-inflamatórios e antifibrinolíticos. Porém, os medicamentos devem ser analisados pelo médico com vistas a não causar riscos aos pacientes hemofílicos. **Conclusão:** A hemofilia é, sem dúvida, uma das desordens hematológicas que apresentam complexidade quanto ao tratamento. Observa-se que os complexos protrombínico ou concentrado de complexo protrombínico ativado podem estimular a formação de um coágulo, parar a hemorragia e superar o requerimento do FVIII. Além disso, concluiu-se que drogas adjuvantes, tais como analgésicos e anti-inflamatórios, podem ser usadas no tratamento de ambos os tipos de hemofilia.

126. ANEMIA APLÁSTICA SEVERA EM GESTANTE: RELATO DE CASO

Ramirez IKZ, Steinbaum DS, Koike CA, Pires L

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, MS, Brasil

Introdução: Anemia aplástica é um distúrbio hematológico idiopático caracterizado por marcada redução do tecido hematopoiético na medula óssea, com resultante pancitopenia. A doença pode ocorrer em qualquer idade, é mais comum em adultos jovens (15 a 30 anos), e incide igualmente em homens e mulheres. Encontram-se associadas sintomatologias secundárias às citopenias: febre, hemorragia, infecções de repetição e síndrome anêmica. Sua incidência na gravidez é rara – o primeiro relato de caso foi feito em 1888, por Ehrlich – e, desde então, foram relatados poucos casos na literatura. **Relato de caso:** R.P.C., 25 anos, sexo feminino, branca, gestante primigesta. Admitida no hospital universitário, cursava com quadro de astenia de caráter progressivo havia três meses, acompanhado de cefaleia, hipotensão e diminuição da acuidade visual. Negou dispnéia, hemoptise ou outros sintomas associados durante a anamnese; não tinha hospitalizações prévias ou histórico familiar de doenças hematológicas. Ao exame físico, apresentou-se em bom estado geral, pálida (3+/4+), eupneica e afebril. Havia ausência de linfonodos cervicais palpáveis, as auscultações respiratória e cardíaca se mostravam sem alterações, o abdome era inocente e não havia presença de sangramentos em mucosas. O hemograma, na admissão, mostrou pancitopenia com reticulocitopenia: Hb 4,6 g/dL, Ht 13,70%, VCM 106,2 fL, HCM 35,6 pg, CHCM 33,57 g/dL, RDW 15,7%, leucócitos 1.580/mm³, neutrófilos 338/mm³, eosinófilos 20,54/mm³, linfócitos 1.170/mm³, monócitos 50,56/mm³, plaquetas 13.000/mm³, reticulócitos 19.100/mm³. Demais provas bioquímicas, sorologias para hepatites, sífilis e HIV, restaram todas negativas. Paciente fez US transvaginal que confirmou gestação tópica com idade gestacional de 12 semanas; posteriormente, procedeu-se ao aspirado e à biópsia de medula, cujos resultados mostraram medula óssea acentuadamente hipocelular com celularidade inferior a 2% para a idade e ausência de fibrose, o que confirmou o diagnóstico de anemia aplástica. A partir disso, foi feita a pesquisa do clone para hemoglobínúria paroxística noturna; não foi encontrada evidência fenotípica da doença. Ademais, investigou-se a compatibilidade de medula entre as irmãs, e os resultados foram desfavoráveis. Discutidas as opções de tratamento da doença, a paciente optou por continuar com a gestação, fez acompanhamento como pré-natal de alto risco e iniciou o uso de ciclosporina e prednisona. Ao completar as 33 semanas de gestação, entrou em trabalho de parto prematuro, com parto normal, sem intercorrências, recebendo alta hospitalar após 48 horas. **Conclusão:** A anemia aplástica associada à gravidez é uma condição muito rara, com elevada morbimortalidade de matema e fetal. Os quadros hemorrágicos e infecciosos são responsáveis por mais de 90% da mortalidade materna, além da restrição do crescimento fetal, corioamnionite, prematuridade e óbito fetal – o qual acontece em cerca de um terço dos casos. O transplante de medula óssea e a terapia com andrógenos estão contraindicados na gravidez. Portanto, foi escolhida a terapia imunossupressora com ciclosporina e corticoide como tratamento. Foram obtidos resultados favoráveis durante a gestação, com notável melhoria da contagem de neutrófilos no puerpério, sem eventos hemorrágicos, esporádica necessidade de transfusão de hemoderivados e sem danos ou complicações fetais.

127. USO DO ECULIZUMABE EM HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA E TUMOR NEUROENDÓCRINO DE PÂNCREAS: RELATO DE CASO

Figueredo SSLV^a, Etto LY^a, Freire VMM^b, Barbosa CVB^b, Honfi SR^c, Garvalho CG^b, Oliveira VTC^b, Galiza ES^d

^a Hemocentro da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil

^b Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba (FCMPB), João Pessoa, PB, Brasil

^c Faculdade de Medicina Nova Esperança (FAMENE), João Pessoa, PB, Brasil

^d Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB, Brasil

Introdução: A hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) é uma anemia hemolítica crônica adquirida, causada por um distúrbio clonal de células-tronco hematopoiéticas. A HPN ocorre igualmente em ambos os sexos, estimam-se 1-5 casos por milhão de habitantes/ano. A mutação no gene PIG-A gera a falência da síntese de GPI madura, responsável por manter várias proteínas aderidas à membrana, como CD55 e CD59, que têm papel fundamental na ativação da cascata do complemento. Eritrócitos, leucócitos e plaquetas tornam-se, assim, incapazes de se proteger contra lise mediada pelo sistema complemento, acarretam quadros de hemólise, trombozes, falência medular, neoplasias e consequente redução da sobrevivência. Uma opção de tratamento é o uso do eculizumabe, que bloqueia o sistema complemento a nível de C5. Relatamos o sucesso terapêutico do eculizumabe em paciente com HPN e tumor neuroendócrino de pâncreas. **Relato de caso:** M.C.L., sexo feminino, 53 anos, branca, atendida no Hemocentro da Paraíba em maio de 2004 com quadro de palidez e dores nos membros inferiores. Exames iniciais mostraram pancitopenia periférica (Hb 7 g/dL; leucócitos 1.900/mm³; plaquetas 10.000/mm³); reticulócitos 4,4%; ferritina 37,2 ng/mL; CD negativo e DHL aumentada. A BMO evidenciou hiperplasia eritroide. A paciente manteve pancitopenia, DHL elevada e evoluiu com ITU de repetição. Foi mantido suporte transfusional (concentrado de hemácias) e iniciada terapia com corticoide e ácido fólico, sem resultados. Em maio de 2007, foi encaminhada ao HC-FMU-SP, onde, por meio de citometria de fluxo, verificou-se a presença de clone HPN elevado em hemácias, neutrófilos e monócitos (95% das hemácias com perda total da expressão de CD59 – população HPN III; 90% dos neutrófilos com perda de CD24 e aerolisina; e 96% dos monócitos com perda de CD14 e aerolisina). Diante do diagnóstico, foi prescrito eculizumabe, que só se tornou acessível para infusão em 2014. Concomitantemente, durante a investigação de quadro de dores abdominais, uma TC de abdome evidenciou lesão expansiva na cabeça do pâncreas, com necessidade cirúrgica e estudo histopatológico. Para que o processo hemolítico durante a cirurgia não se agravasse, e devido ao risco trombótico, iniciou-se eculizumabe com urgência, na dose de 600 mg EV, uma semana antes do procedimento. O estudo histopatológico diagnosticou tumor neuroendócrino de pâncreas. A paciente continua em uso regular de eculizumabe até os dias de hoje. Exames atuais ainda evidenciam pancitopenia periférica e DHL discretamente elevada, porém não houve mais necessidade transfusional; a paciente encontra-se bem e assintomática, sem nunca ter apresentado quadro trombótico. **Discussão:** O eculizumabe é um anticorpo monoclonal que bloqueia a ativação do complemento terminal no nível C5, impede a formação de canais que causam a lise dos eritrócitos. Vários estudos mostram que essa droga estabiliza os níveis de hemoglobina, reduz as necessidades transfusionais e os níveis de DHL, além de aumentar a qualidade de vida. Iniciamos com doses de 600 mg semanais e, posteriormente, 900 mg quinzenais, que podem ser alteradas de acordo com a evolução do paciente. A droga é usada por tempo indefinido. **Conclusão:** No presente caso, o uso de eculizumabe trouxe boa resposta à paciente e possibilitou o procedimento cirúrgico com segurança e a melhoria de sua qualidade de vida.

128. IN VITRO REDUCTION OF INFLAMMATORY MEDIATORS AND REVERSAL OF SICKLE CELL MORPHOLOGY (UNSICKLING) BY GAS TRANSFER MEDIATED BY SANGUINATE™

Phd HM, Jubin R, Buontempo P, Bountempo C, Yglesias R, Chen Y, Abuchowski A

Prolong Pharmaceuticals, South Plainfield, United States

Background: Sickled red blood cells (RBCs) undergo morphological changes that restrict their passage through the microvasculature. Sickling is a direct consequence of the HbS polymerization that occurs when RBCs encounter low oxygen environments. Sickling and inflammation are key events in sickle cell disease (SCD) pathology. SANGUINATE™ (PEGylated

bovine carboxyhemoglobin; SG) is designed to release carbon monoxide (CO) to reduce inflammation, inhibit vasoconstriction, as well as deliver the second. Studies were performed to determine the unsickling and anti-inflammatory effects of SG. **Methods:** SG treatment effects were evaluated under controlled conditions to determine its capacity for gas exchange with RBCs from healthy volunteers and SCD patients. Carboxyhemoglobin and oxyhemoglobin levels were monitored to determine dose and time effects, as well as the repetitive capacity of SG to facilitate gas transfer processes. Light microscopy and image capture flow cytometry were used to visualize and quantify unsickling. Anti-inflammatory activity on LPS activated samples was quantified by qualitative polymerase chain reaction and flow cytometry. PEG bovine serum albumin (PBSA) was used as a control. **Results:** Kinetic analysis revealed SG rapidly transferred its CO component to oxygenated RBCs with concomitant the second loading of SG. SG addition to normal oxygenated RBC resulted in CO and O₂ exchange between RBCs and SG that followed mass balance and equilibrium reached in a closed system. Using experimentally loaded RBCs with CO and SG with the O₂ gas produced similar reciprocal exchange results. Additionally, the primary RBC/SG reaction products were isolated and cycled, demonstrating the ability of SG to continually facilitate gas transfer through multiple exposure events. Similar experiments using SG, oxygenated SG (produced by an exchange reaction RBC), and PBSA control were conducted with SCD RBCs. Sickling was induced by incubation of RBCs in a hypoxic chamber for 3 hours prior to SG or control treatments. After 2 hours of treatment, cells were fixed by addition of glutaraldehyde. Photomicroscopy showed a marked reduction in the sickled RBC population with SG both or oxygenated SG treatments, but not with the PBSA control. Results from imaging flow cytometry further supported the findings; microscopy revealed a significant quantitative reduction in the percentage of sickled RBC levels. SG pre-treatment of normal and SCD whole blood decreased inflammatory cytokine RNA and protein levels. **Summary:** RBCs are negatively impacted by repetitive HbS polymerization/de-polymerization cycles, and treatments that reverse RBC sickling during an acute SCD event, such as acute chest syndrome or vaso-occlusion, may provide clinical benefits. SG was designed to promote CO and O₂ transfer in order provide physiological supplementation of O₂ transport/delivery in conditions of hemolytic or ischemic anemia. Early intervention with SG could limit the crisis event and reduce pain severity, while providing a timely resolution. These *ex vivo* data demonstrated that, under controlled conditions, the therapeutic agent serves to an active gas transport agent providing either CO or O₂ to sickled RBCs, prompting a rapid and significant decrease in unsickling inflammation markers.

129. A PHASE 2 CLINICAL TRIAL DESIGN FOR THE ASSESSMENT OF SANGUINATE™ IN THE TREATMENT OF VASO-OCCLUSIVE CRISIS

Misra H, Parmar D, Byczkowski D, Abuchowski A

Prolong Pharmaceuticals, South Plainfield, United States

Background: Vaso-occlusion and hemolysis are the clinical hallmarks of sickle cell disease (SCD). Patients are often hospitalized for painful vaso-occlusive crisis (VOC) that can be severe, disabling, and require treatment with opioid medications and hydration with fluids. There are multiple processes that underlie the pathology of VOC, but the sickling event and inflammation appear to be the key elements. SANGUINATE™ is a novel biological therapeutic agent that acts both as a carbon monoxide-releasing molecule and as an oxygen transfer agent. It has been designed to provide a low-level therapeutic release of carbon monoxide that inhibits vasoconstriction and reduces inflammation and then preferentially transports oxygen to hypoxic cells and tissues. Studies have shown its ability to both unsickle cells and reduce inflammatory mediators. The authors report on a clinical trial design for VOC that includes the presence of other comorbidities, such as acute chest syndrome (ACS) and priapism. **Methods:** This is a Phase II, multicenter, double-blinded, randomized study in adult SCD patients admitted with VOC, to evaluate the effectiveness of SANGUINATE™ on reducing the duration of VOC pain. Unlike other protocols, this study is open to patients with VOC that may be experiencing other SCD comorbidities, such as priapism, ACS, and leg ulcers. This design uses the time to readiness for discharge from in-hospital stay following treatment as the primary endpoint. Time to readiness for discharge (TRD) is defined as the patient's response that their pain episode has improved enough for discharge from the hospital, or the in-

investigator's assessment that the patient is ready for discharge from the hospital. Primary assessment of TRD will use intention-to-treat analysis, while median TRD will be estimated using the Kaplan-Meier method. The secondary objectives include length of stay and reductions in total pain medication required and pain score. The pain score will be evaluated using a visual analog scale. Additionally, the effect of SANGUINATE™ on the incidence of acute chest syndrome and re-hospitalization rate will also be assessed, and the safety of repeated doses of SANGUINATE™ will be determined. The trial was designed to evaluate 30 patients who will receive either 320 mg/kg of SANGUINATE™ or normal saline solution upon entry into study and 24 hours later as a second dose. Vital signs, electrocardiogram, echocardiogram, and blood samples for laboratory assessment will be obtained for analysis. A patient pain questionnaire will be used to assess pain levels and the Physician Global Assessment will be used to indicate the patient's overall vaso-occlusive crisis status. **Summary:** The sickling of SCD red blood cells underlies the complex pathobiology of SCD comorbidities, such as VOC. The ensuing hypoxia and hemolysis causes acidosis, inflammation, and coagulopathy, which damage tissues and organs. SANGUINATE™, through its anti-inflammatory and oxygen delivery capabilities, may interrupt the sickle cycle and may alleviate the painful symptoms, avoiding or reducing the extensive damage caused by the disease. This clinical trial is designed to determine the efficacy of SANGUINATE™ to treat VOC and reduce pain, and may be implemented in Central and Latin American countries.

130. MUDANÇA DA FORMA APLÁSTICA PARA HEMOLÍTICA EM UM CASO DE HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA SEM TRATAMENTO

Costa AJDNG, Oliveira CKM, Bessa EVM, Gois ITP, Soares RDA, Rogério DB

Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN, Brasil

Introdução: Hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) é um distúrbio adquirido de células-tronco hematopoiéticas, causado por uma mutação somática que inativa o gene PIG-A, ligado ao cromossomo X. Esse gene é responsável pela produção de uma proteína envolvida na formação do glicosilfosfatidilinositol (GPI). Na HPN existe uma deficiência da síntese do GPI nas células hematopoiéticas clones da HPN, que leva essas células a se tornarem mais sensíveis à ação do sistema complemento, acarretam hemólise intravascular, trombose e aplasia medular. Apresentamos aqui um caso em que a dificuldade no diagnóstico da HPN deveu-se a uma mudança no padrão predominante da doença, da forma aplásica para a forma hemolítica. **Relato de caso:** Descrevemos o caso de um paciente do sexo masculino, 48 anos, sem queixas, que em abril de 2012, após exames de rotina, apresentou um quadro inicial de plaquetopenia. Foram feitos mielograma e biópsia de medula óssea em novembro de 2012, que diagnosticou uma aplasia medular. Após dois anos, nos quais o paciente sentia-se bem e não voltou para acompanhamento, apresentou síndrome anêmica com necessidade de hemotransfusão. O quadro progrediu para pancitopenia e perda ponderal de 16 kg em três meses. Diante de maior investigação, exames laboratoriais evidenciaram um grande aumento dos níveis de lactato desidrogenase (LDH), sugeriram quadro de hemólise e foi suspensa a conduta de transplante. Após fazer uma segunda biópsia de medula óssea em 2015, apresentou mudança de hipocelularidade (2012) para hiperplasticidade. Dessa forma, foi feita a imunofenotipagem e finalmente diagnosticada HPN. **Conclusão:** O presente caso evidencia a necessidade da avaliação cuidadosa dos quadros de aplasia medular, considerando-se a hipótese diagnóstica de HPN mesmo quando não há quadro hemolítico ou ocorrência de eventos tromboembólicos. Também mostra a possibilidade de alteração da forma predominante da HPN, uma vez que nosso paciente iniciou a doença com uma forma aplásica e posteriormente se resolveu a aplasia medular e se iniciou um padrão hemolítico.

131. HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA: PACIENTES EM TRATAMENTO COM ECUUZUMABE NO SERVIÇO DE HEMATOLOGIA DA FCMS-PUC-SP/CHS

Vecina AFC, Camargo ATS, Almenara JVR, Cliquet MG

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

Introdução: A hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) é uma desordem hematológica rara causada por mutações somáticas adquiridas

por células-tronco hematopoiéticas no gene PIG-A, que levam à deficiência na síntese de âncoras de GPI, responsáveis pela adesão à membrana plasmática de proteínas como CD55 e CD59 de importante papel na ativação do sistema complemento. A ausência dessas proteínas na membrana dos eritrócitos advindos do clone HPN faz com que esses se tornem suscetíveis à lise mediada pelo complemento. O ecuzumabe, um anticorpo monoclonal que se liga à proteína 5 (C5) do complemento e impede a formação de seus componentes terminais, é a mais recente forma de tratamento para HPN. **Objetivos:** Avaliar a resposta ao tratamento com ecuzumabe dos pacientes com HPN atendidos no Serviço de Hematologia da FCMS-PUC-SP/CHS. **Material e métodos:** Foi feito um estudo retrospectivo de quatro pacientes com HPN em tratamento com ecuzumabe no Serviço de Hematologia da FCMS-PUC-SP/CHS e os dados coletados foram submetidos à análise estatística. **Resultados:** A mediana do tempo de uso do ecuzumabe foi de 25 meses (variação de 16 a 37 meses). Todos os pacientes referiram melhoria dos sintomas e tornaram-se independentes de transfusão, atingiram e mantiveram Hb superior a 13 g/dL. Foram registrados os valores de Hb imediatamente antes do início do tratamento com ecuzumabe (T0) e no fim do período da pesquisa (TF); encontrou-se um aumento mínimo de 1,6 g/dL e máximo de 3,7 g/dL, com uma média de 2,83 g/dL ($p = 0,0092$). O número de plaquetas também foi avaliado nos tempos T0 e TF; registrou-se uma média de aumento nos valores de plaquetas de 37.000/mm³, de forma que todos os pacientes apresentavam valores plaquetários superiores a 100.000/mm³ no tempo TF. Quanto ao nível de DHL, a variação de seus valores foi registrada em três pacientes, e foi verificada uma média de diminuição de 917,45 U/L ($p = 0,2378$). **Conclusão:** O uso do ecuzumabe se provou eficaz na melhoria dos sintomas e estabilização do nível de Hb dentro da faixa da normalidade, deixando os pacientes livres de transfusão. Apesar da queda notável dos níveis de DHL, o pequeno número de pacientes impossibilitou que essa variável alcançasse valor estatístico.

132. PREDITORES DE ÓBITO PRECOCE EM PACIENTES COM ANEMIA APLÁSTICA SEVERA TRATADOS COM TIMOGLOBULINA

Lima CBL^a, Dias DSP^a, Clé DV^b, Calado RDT^b, Scheinberg P^c, Atta EH^d

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

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

^c Centro Oncológico Antônio Ermírio de Moraes (COAEM), São Paulo, SP, Brasil

^d Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: Devido à indisponibilidade da globulina antitímocítica de cavalo no Brasil, a globulina antitímocítica de coelho (timoglobulina) é usada em combinação com a ciclosporina (CSA) para o tratamento em primeira linha de pacientes com anemia aplásica severa (AAS) não elegíveis para o transplante de células-tronco hematopoiéticas. Neste trabalho, procuramos identificar as variáveis preditoras de óbito precoce em pacientes com AAS tratados em primeira linha com timoglobulina e CSA. **Material e métodos:** Análise retrospectiva de 54 pacientes consecutivos com AAS tratados em primeira linha com timoglobulina e CSA entre março de 2008 e fevereiro de 2014 em uma única instituição. Definiu-se como óbito precoce todo aquele ocorrido nos primeiros 90 dias após o tratamento com timoglobulina. **Resultados:** O óbito precoce ocorreu em 11 de 54 pacientes (20,4%). O grupo com óbito precoce caracterizava-se por: maior idade (mediana de 45 vs. 18 anos, $p = 0,007$), menor contagem basal de neutrófilos (mediana de 59 vs. 255/μL, $p < 0,001$) e menor contagem basal de linfócitos (mediana de 1.114 vs. 1.785/μL, $p = 0,01$). O intervalo entre o diagnóstico e o tratamento (34 vs. 41 dias, $p = 0,23$) e a dose total de timoglobulina (mediana de 2,50 vs. 3,27 mg/kg/dia, $p = 0,11$) foram semelhantes entre os grupos. Na análise univariada, as seguintes variáveis associaram-se ao óbito precoce: idade > 35 anos (hazard ratio [HR] 8,8, $p = 0,005$), contagem basal de neutrófilos ≤ 100/μL (HR 27,7, $p < 0,001$) e contagem basal de linfócitos ≤ 1.000/μL (HR 11,1, $p = 0,005$). Na análise multivariada, apenas a contagem basal de neutrófilos ≤ 100/μL permaneceu independentemente associada ao óbito precoce (HR 27, $p < 0,001$). O óbito precoce decorreu de complicações infecciosas em 10 casos (90,9%) e de hemorragia em um caso (9,1%). A taxa de resposta global ao tratamento com timoglobulina e

CSA foi de apenas 31,5% (17 de 54 pacientes), com uma sobrevida global em dois anos de 57,6%. O subgrupo de pacientes com uma contagem basal de neutrófilos $\leq 100/\mu\text{L}$ apresentou menor sobrevida em comparação com os demais (sobrevida global em dois anos de 33,3% vs. 66,7%; $p = 0,003$). **Conclusão:** A associação da timoglobulina com a CSA para o tratamento em primeira linha da AAS apresenta baixa taxa de resposta e elevado percentual de óbitos precoces. Uma contagem basal de neutrófilos $\leq 100/\mu\text{L}$ associa-se independentemente à ocorrência de óbito precoce, particularmente por complicações infecciosas. Estratégias opcionais ao tratamento em primeira linha com timoglobulina e CSA devem ser avaliadas para pacientes com AAS e contagem basal de neutrófilos $\leq 100/\mu\text{L}$.

133. INCIDÊNCIA DE HEMOGLOBINAS VARIANTES EM RECÉM-NASCIDOS

Henriques RKVM^a, Hdj-Idris BRL^b, Souza DMS^a

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

^b Faculdade Associação Caruaruense de Ensino Superior (ASCES), Caruaru, PE, Brasil

Introdução: As hemoglobinopatias resultam de mutações nos genes que codificam as cadeias globínicas da molécula de hemoglobina. Atualmente, são conhecidas mais de 1.500 hemoglobinas variantes. No entanto, as que apresentam maior importância devido às características clínicas e epidemiológicas são as hemoglobinopatias estruturais C e S e a hemoglobinopatia quantitativa beta-talassemia. Portadores homocigotos da hemoglobina S (HbS) desenvolvem clinicamente a anemia falciforme, caracterizada como uma anemia hemolítica crônica, em que a HbS provoca crises frequentes de falcização, nas quais as membranas dos eritrócitos sofrem modificações que levam à destruição das hemácias. Os portadores homocigotos para hemoglobina C (HbC) apresentam um quadro clínico característico de hemólise crônica acompanhada por hepatoesplenomegalia, cansaço e fraqueza devido à anemia crônica e ao desconforto abdominal. A beta-talassemia é a forma mais importante de talassemia, graças ao seu grau de morbidade e mortalidade, determinados pela gravidade dessa anemia hemolítica. O Ministério da Saúde instituiu a Portaria nº 822/01, de 6 de junho de 2001, que inclui a triagem de hemoglobinopatias no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), como opção de prevenção e controle das hemoglobinopatias no Brasil, por meio do teste do pezinho. O diagnóstico e o tratamento precoce dessas hemoglobinopatias aumentam significativamente a sobrevivência e a qualidade de vida dos seus portadores, diminuem as sequelas e atenuam as complicações clínicas. **Objetivo:** Analisar a incidência de hemoglobinopatias nos exames de triagem neonatal feitos em um grande hospital privado da região metropolitana do Recife, em recém-nascidos de janeiro de 2011 a junho de 2015. **Material e métodos:** Estudo transversal, retrospectivo, que avaliou os resultados de teste do pezinho de 358 recém-nascidos de um hospital privado de Recife (PE) de janeiro de 2011 a junho de 2015. **Resultados:** Entre os pacientes pesquisados, 29 (8,1%) apresentaram HbC ou HbS, dos quais cinco (1,39%) apresentaram a hemoglobina S/S, 19 (5,3%) apresentaram as hemoglobinas F/A/S, cinco (1,39%) apresentaram as hemoglobinas F/A/C e 329 (91,89%) apresentaram as hemoglobinas F/A. **Conclusão:** Os resultados obtidos corroboram os números reportados por outros trabalhos feitos no Brasil. A inclusão da triagem e do tratamento das hemoglobinopatias, principalmente da anemia falciforme, representam o reconhecimento da sua relevância como problema de saúde pública no país, e a implantação do PNTN em todo o território nacional se faz extremamente necessária para a garantia da igualdade para a população, defendida pela política do nosso Sistema Único de Saúde.

134. PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS CASOS DE ANEMIA APLÁSICA NO SERVIÇO DE HEMATOLOGIA DO ADULTO DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DE MINAS GERAIS

Azevedo PDGG, Casas PHFDCL, Chalup MMBS, Heilbuth TR, Araujo SSS, Santana SA

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

Anemia aplásica se caracteriza por pancitopenia e medula óssea hipocelular na ausência de infiltração medular ou excesso de reticulina na medula óssea. Representa uma deficiência das células-tronco hemato-

poéticas e pode se manifestar com infecções recorrentes pela neutropenia profunda, sangramentos pela trombocitopenia e sintomas decorrentes da anemia, como fadiga e comprometimento cardiovascular. A anemia aplásica tem incidência de dois a quatro por milhão por ano e pode ser classificada como falência medular congênita ou falência medular adquirida, essa última muito mais comum. O serviço de hematologia do adulto do Hospital das Clínicas de Minas Gerais, que atende pacientes com idade igual ou superior a 17 anos, acompanhou 72 pacientes com aplasia de medula, sem diferença da incidência entre os sexos, assim como relatado na literatura. Desses 72 pacientes, a maioria foi diagnosticada entre 25 e 60 anos, o que contradiz os dois picos citados na literatura – um de 10 a 25 e outro acima de 60. A maioria se caracterizou como forma adquirida, com poucos casos de anemia de Fanconi. A causa, porém, foi identificada em uma minoria dos pacientes com a forma adquirida da anemia aplásica. Os exames de cariótipo feitos foram inconclusivos ou foram normais na maioria dos pacientes examinados. Desses, a grande maioria recebeu imunossupressão com ciclosporina e pequeno número recebeu ainda timoglobulina. Dois pacientes foram tratados com oximetolona, quatro receberam deferasirox, e dois receberam eritropoietina. Cinco desses pacientes foram diagnosticados como hemoglobinúria paroxística noturna (HPN), porém o percentual de pacientes com clone HPN positivo foi bem menor do que citado em outras séries de casos. A maioria dos pacientes foi submetida a sorologia para vírus da imunodeficiência adquirida, citomegalovírus, Epstein Barr, hepatite A, B e C. Nenhum apresentou sorologias compatíveis com infecção viral aguda, porém a maioria apresentava IgG positivo para EBV e CMV. Além disso, a maioria dos pacientes testados foi positiva para IgG para toxoplasmose, mas negativa para IgM. Concluímos que os dados do serviço em relação aos pacientes com anemia aplásica são concordantes com os dados apresentados na literatura nacional e internacional. Houve, entretanto, diferença quanto à idade de diagnóstico desses pacientes.

135. TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA NO TRATAMENTO DA ANEMIA APLÁSICA: A EXPERIÊNCIA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Chalup MMBS, Casas PHFDCL, Azevedo PDGG, Araujo SSS, Teixeira GM, Heilbuth TR

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

A anemia aplásica é um conjunto de doenças caracterizadas por citopenias e hipocelularidade da medula óssea, pode ser classificada em adquirida e hereditária. A forma adquirida pode ocorrer em qualquer idade e é frequentemente resultado de uma ativação autoimune contra a célula-tronco hematopoética. As formas hereditárias, tais como anemia de Fanconi e anemia de Blackfan-Diamond, usualmente se manifestam na primeira década de vida e frequentemente vêm acompanhadas de anomalias características, como baixa estatura, hipogonadismo, entre outras. Pode ser classificada como severa, definida por contagem plaquetária menor do que $20 \times 10^9/\text{L}$, reticulócitos menores do que $50 \times 10^9/\text{L}$ e contagem de neutrófilos menor do que $0,5 \times 10^9/\text{L}$, ou muito severa, quando a contagem de neutrófilos é menor do que $0,2 \times 10^9/\text{L}$. O tratamento de primeira linha depende essencialmente da idade e da existência de um doador HLA-identico aparentado. Na maioria dos centros, pacientes com menos de 40 anos e com doador HLA-identico aparentado, o transplante alogênico de medula óssea é o tratamento de escolha, especialmente nos pacientes com aplasias hereditárias, que apresentam resposta inferior ao uso de imunossuppressores. Nos demais pacientes, o tratamento de escolha consiste na combinação dos imunossuppressores ciclosporina e globulina anti-timócito. O primeiro relato de transplante alogênico bem-sucedido em paciente com anemia aplásica ocorreu em 1972 e muitos avanços ocorreram desde então. Dados da EBMT revelam sobrevida em 10 anos de 34% para os pacientes transplantados entre 1975 e 1980, 60% nos transplantados entre 1980 e 1990 e 79% nos transplantados entre 2000 e 2009. No Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais foram feitos 151 transplantes alogênicos em pacientes com anemia aplásica de 1995 a 2014, 85,4% portadores de anemia aplásica adquirida, 7,2% hemoglobinúria paroxística noturna, 4,6% anemia de Fanconi e 2,6% anemia de Blackfan-Diamond; 35,7% eram pacientes do sexo feminino e 64,2% do masculino. Ao longo do período foram reportados 40 óbitos (26,4%).

136. APLASIA PURA DE SÉRIE VERMELHA CAUSADA POR ANTICORPOS ANTIERITROPOIETINA RECOMBINANTE

Heilbuth TR, Casas PHFDCL, Azevedo PDGG, Chalup MMBS, Araujo SSS, Cerqueira TL, Carmo LPFD

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

Jovem, do sexo feminino, portadora de doença renal crônica associada ao vírus da imunodeficiência adquirida foi encaminhada ao ambulatório Borges da Costa do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais para investigação de anemia grave e plaquetopenia leve. A paciente recebeu eritropoietina humana recombinante durante aproximadamente três anos, inicialmente com boa resposta ao manejo instituído. Após um longo tempo de tratamento, a paciente evoluiu com anemia progressiva com necessidades transfusionais frequentes e foi refratária à eritropoietina e à adequação dos estoques de ferro. No serviço de hematologia, a paciente foi investigada para causas secundárias e foi submetida à propedêutica medular. Suspeitou-se de formação de anticorpos antieritropoietina e foi proposta a retirada do hormônio. Tal medida resultou em melhoria notável dos níveis de hemoglobina e de hematócrito, inicialmente sem necessidade de imunossupressão associada. Este relato demonstra um caso de aplasia pura de série vermelha causada por anticorpo antieritropoietina após uso relativamente prolongado do hormônio recombinante, resolvido apenas com a suspensão da medicação.

137. EXPERIÊNCIA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFMG COM USO DE CICLOSPORINA PARA TRATAMENTO DE ANEMIA APLÁSICA

Casas PHFDCL, Azevedo PDGG, Chalup MMBS, Heilbuth TR, Araujo SSS, Santana SA

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

Introdução: Tendo em vista as perspectivas devastadoras para anemia aplásica (AA) grave e muito grave, é necessária uma abordagem de longo prazo. O transplante de medula óssea é a terapia mais eficaz, mas sua utilidade diminui com a idade devido a complicações fatais. Como resultado, outras terapias, tais como terapia imunossupressora (ISS), têm sido geralmente usadas em pacientes com idade superior a 20 anos sem doador disponível. Atualmente, a terapia combinada de ciclosporina (CSA) e timoglobulina parece ser a mais eficaz. **Objetivo:** Avaliar a experiência do nosso serviço com 73 pacientes entre 2007-2015. **Material e métodos:** Fizemos uma análise por meio de levantamento de prontuários dos pacientes admitidos e cuja propedêutica foi completada em nosso serviço. Desses, 54 fizeram uso regular e por ao menos três meses de CSA em dose imunossupressora. A resposta foi avaliada com a comparação dos critérios de gravidade de AA: contagem absoluta de neutrófilos, contagem plaquetária e número corrigido de reticulócitos. A CSA é iniciada em uma dose de 10 a 12 mg/kg por dia, dividida em duas doses iguais; aponta para níveis mínimos de cerca de 200 a 400 ng/mL. A maioria dos autores prefere medir níveis no sangue total, enquanto algumas instituições oferecem apenas medições do nível sérico. Os níveis de CSA, a função renal (calculada pelo *creance* de creatinina estimada pelo CKD-EPI), sinais de neurotoxicidade e pressão arterial do paciente devem ser verificados com frequência para evitar eventual toxicidade. A CSA é geralmente continuada durante cerca de seis meses, embora a dose possa ser reduzida depois de um mês para ajustar até obter um nível sérico de 200 a 250 ng/mL. **Resultados:** Dos pacientes admitidos em nosso serviço que não apresentavam doador disponível, 74% fizeram uso de CSA em algum momento. Nos pacientes não respondedores, aqueles que fizeram uma segunda tentativa de imunossupressão, houve pouca ou nenhuma resposta. A melhor taxa de resposta se deu entre os pacientes que tinham como doença de base hemoglobinúria paroxística noturna (HPN), assim como observado em outros estudos, mesmo quando havia o clone *minor* de HPN. A mortalidade maior ocorreu nos pacientes admitidos em sepse grave nos pacientes com AA muito grave. **Conclusão:** A CSA permanece como uma das melhores opções para ISS nos pacientes com AA grave sem doador HLA-compatível. Os resultados da terapia associada a timoglobulina mostraram melhores resultados se comparados com o uso da CSA isolada, porém relacionados a maior número de efeitos colaterais. As metas de ISS são melhorar a expectativa de vida, assim como obter uma resposta hematológica mantida, que evite recaída e evolução clonal, que em nossa experiência ocorrem, ge-

ralmente, depois de dois a quatro anos de imunossupressão. Em um cenário de falha, a intensificação da imunossupressão por outras drogas além da CSA ou de substituição como pela ciclofosfamida não tem sido bem-sucedida. As opções mais atraentes e promissoras têm sido as abordagens sequenciais, como cursos repetidos da ATG e adição de drogas complementares, como androgênios e fatores de crescimento plaquetário (tais como eltrombopag), como temos em nosso serviço relatos de casos de pacientes respondedores a oximetolona e eltrombopag. Assim, persistimos na ISS, sem, no entanto, descartar abordagens diferentes em segunda ou terceira linha de tratamento.

LEUCÓCITOS, INFLAMAÇÃO, INFECÇÃO E IMUNOLOGIA

138. INFECÇÃO FÚNGICA DISSEMINADA POR SCEDOSPORIUM PROLIFICANS: MANEJO TERAPÊUTICO EM PACIENTE COM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

Bocchese AFA^a, Quadros MN^b, Fabin L^b, Lorenzoni MC^b, Barbosa G^b, Lersch E^b, Santiago P^b

^a Universidade de Passo Fundo (UPF), Casca, RS, Brasil

^b Hospital São Vicente de Paulo, Passo Fundo, RS, Brasil

Introdução: Fungos do gênero *Scedosporium* são considerados patógenos emergentes em indivíduos imunossuprimidos e a espécie *Scedosporium prolificans* é frequentemente associada à infecção desses pacientes. O *S. prolificans* tende à resistência a antifúngicos, porém o uso sistêmico de voriconazol mostrou-se mais potente do que terapias convencionais. **Objetivo:** Relatar a abordagem terapêutica em paciente com leucemia mieloide aguda (LMA) em quimioterapia, com infecção fúngica disseminada por fungo *S. prolificans*. **Relato de caso:** Paciente masculino, 14 anos, em tratamento quimioterápico para LMA, em Nadir da consolidação II, admitido por pancitopenia severa e dor lombar moderada, evoluiu com febre. Coletada hemocultura e feita RM da coluna lombar, que evidenciou espondilodiscite de L3/L4 e coleção líquida paravertebral. Iniciou-se antibioticoterapia empírica, sem melhoria da dor. Em nova RM, 14 dias após, com pioria da espondilodiscite, o abscesso foi drenado e a secreção encaminhada para cultura. As hemoculturas de admissão e a cultura da secreção foram negativas. No 21º dia, apresentou dor em região costovertebral esquerda, de forte intensidade. TC de tórax e ultrassonografia da parede torácica evidenciaram coleção líquida na transição costovertebral da sétima costela. Fez drenagem do abscesso com resolução da dor e material enviado para cultura, que foi negativa. No 25º dia, apresentou dor em coluna torácica. RM evidenciou abscesso em vértebra T9. Fez-se debridamento com colocação de artrodese e encaminhamento para bacteriológico e anatomopatológico. Ambos evidenciaram proliferação por *S. prolificans*, assim como a hemocultura após o debridamento, o que confirmou o diagnóstico de infecção fúngica disseminada. No 27º dia, suspensos os antibacterianos, iniciou-se tratamento com voriconazol, dose de ataque de 6 mg/kg IV por dois dias e redução para 4 mg/kg durante quatro semanas; não apresentou episódios de dor nem evidência de atividade infecciosa aos exames de imagem. Recebeu alta com voriconazol VO, 200 mg, duas vezes ao dia, sem sinais de recidiva, seja da LMA, seja da infecção fúngica. **Discussão:** Fungos *Scedosporium* são ubíquos. O *S. prolificans* é a espécie mais associada à infecção de indivíduos imunocomprometidos. A infecção pode ser fatal, principalmente quando disseminada, devido à escassez de antifúngicos específicos e à comum resistência à anfotericina-B. Neutropenia e doenças hematológicas são fatores de risco. O diagnóstico é pelo exame histo ou citopatológico, que evidencia hifas de *Scedosporium* ao menos em dois locais diversos e a fungemia é definida pela hemocultura positiva. O fungo tende a ser resistente a antifúngicos poliênicos, e o uso sistêmico de voriconazol mostrou-se mais potente do que anfotericina-B, fluconazol e cetoconazol, e é recomendado para o tratamento. O prognóstico depende da patogenidade do fungo, do local da infecção, da escolha do antifúngico, da possibilidade de debridamento cirúrgico e do estado imunológico do paciente. **Conclusão:** Infecções fúngicas pelo gênero *Scedosporium*, apesar de raras, devem ser consideradas em pacientes imunossuprimidos. O diagnóstico precoce e o início imediato de terapia efetiva podem ser cruciais para o

manejo de pacientes imunocomprometidos e o debridamento cirúrgico parece contribuir para o tratamento.

139. CORRELAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS DO HEMOGRAMA AUTOMATIZADO E OS DA PROVA RÁPIDA PARA DENGUE FEITOS DE 6 DE ABRIL A 5 DE MAIO DE 2015 NA REGIÃO NORTE DA CAPITAL DE SÃO PAULO

Mendes CEA, Villarinho AAR, Dias ZC, Ito CM, Colombini MP

Laboratório Clínico, Departamento de Medicina Diagnóstica e Preventiva, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Dengue é uma doença febril, e os pacientes apresentam dois ou mais sintomas: dor de cabeça, dor retro-orbitária, dores musculares, dores articulares, prostração ou manchas avermelhadas. Em São Paulo, o número de pacientes infectados chegou a níveis epidêmicos. Assim, nosso hospital fez atendimento voluntário, oferece hemograma automatizado (CBC) e prova rápida (PR), tratamento imediato e acompanhamento dos pacientes contaminados. Os achados no CBC de leucopenia, neutropenia secundária à linfocitose, plaquetopenia e hemoconcentração frente à clínica e associada à positividade para o antígeno NS1 foram os determinantes para afirmar o contágio. **Objetivo:** Correlacionar os resultados CBC e os da PR positiva para confirmação do diagnóstico de dengue. **Material e métodos:** Foram coletadas 3.000 amostras de sangue total em EDTA potássico e em tubo seco (Sarsted) para processamento do CBC e PR. As amostras foram processadas no equipamento XS 1000i. Após a feitura dos testes, os resultados de leucopenia ($< 3.000/\text{mm}^3$), neutropenia ($< 500/\text{mm}^3$), plaquetopenia ($120.000/\text{mm}^3$) e Ht ($> 50\%$) foram correlacionados com a positividade na PR. **Resultados:** Foram observadas as seguintes alterações do CBC associadas à PR +: 37,3% CBC normais; 16,2% leucopenia, 14,4% plaquetopenia; 5,4% leucopenia associada à plaquetopenia; 0,5% neutropenia e 0,4% de Ht elevado, num total de 75% de positividade no CBC/PR. **Conclusão:** A alta correlação observada entre os resultados, além de confirmar os níveis epidêmicos na região-alvo, possibilitou demonstrar a enorme importância da presença de um laudo laboratorial no momento do atendimento ao paciente para conduta imediata. As alterações hematológicas mais frequentes encontradas foram leucopenia e plaquetopenia, que deverão servir de alerta para serviços de atendimento que não tenham a PR disponível.

Referência:

Barros LPS, Igawa SES, Jocundo SY, Brito Junior LC. Análise crítica dos achados hematológicos e sorológicos de pacientes com suspeita de Dengue. Rev Bras Hematol Hemoter. 2008;30(5):363-6.

140. INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL DE ASCITE POR CRYPTOCOCCUS EM PACIENTES COM HEPATITE B E C

Constantino FR, Saldanha AFA, Silva ALO, Silveira PA, Colombini MP

Laboratório Clínico, Departamento de Medicina Diagnóstica e Preventiva, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: *Cryptococcus neoformans* é uma levedura oportunista encapsulada presente no meio ambiente, de risco para indivíduos imunossuprimidos como os com HIV, por exemplo. A peritonite por esse agente em indivíduos não imunossuprimidos é uma entidade raríssima e de suspeita clínica não imediata. **Objetivo:** Relatar um caso clínico em que o imediato diagnóstico morfológico no líquido ascítico permitiu adequada e pronta conduta. **Material e métodos:** Paciente do sexo masculino, 63 anos, portador das hepatites B e C, foi admitido no hospital por quadro séptico e ascite. Foi feita paracentese e o material foi enviado ao laboratório para análise citológica e cultura. A contagem global das células foi feita em câmara de Neubauer, e a diferencial, feita após citocentrifugação (1.000 rpm/10 min) e coloração por Rosenfeld. **Resultados e conclusões:** O líquido apresentava coloração avermelhada e aspecto turvo. A contagem global foi de 800 leucócitos/ mm^3 e 10.080/ mm^3 hemácias. Na contagem diferencial houve predomínio de linfócitos (71%), monócitos (9%) e eosinófilos (7%); observada presença de componentes capsulados e hifas características de *C. neoformans*. Posteriormente, a cultura confirmou esses achados. Não há dúvida de que o pronto diagnóstico foi possível pela análise morfológica do líquido ascítico. Trata-se de um caso infrequente, no qual a suspeita clínica de infecção pelo *C. neoformans* não havia sido feita. Selecionamos este caso para demonstrar que um grupo

bem treinado em morfologia é de vital importância na atividade no laboratório de hematologia.

Referência:

Yinnon AM, Solages A, Treanor JJ. Cryptococcal peritonitis: report of a case developing during continuous ambulatory peritoneal dialysis and review of the literature. Clin Infect Dis. 1993;17(4):736-41.

141. DISTÚRBIOS LINFOPROLIFERATIVOS REACIONAIS: ANÁLISE DE 57 CASOS EM UM SERVIÇO DE ANATOMOPATOLOGIA EM PONTA GROSSA (PR)

Carneiro FH^a, Grandio IIL^a, Baller EA^a, Lopes L^a, Lirani W^a, Koehler J^{a,b}, Koehler CH^{a,b}, Torres LFB^c, Netto MRM^{a,c}

^a Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Ponta Grossa, PR, Brasil

^b Instituto Sul Paranaense de Oncologia (ISPON), Ponta Grossa, PR, Brasil

^c Patologia Médica, Ponta Grossa, PR, Brasil

Introdução: Os distúrbios linfoproliferativos reacionais ocorrem em resposta a doenças primárias, como infecções, imunodeficiências primárias, reações a drogas e doenças autoimunes. O diagnóstico preciso dos distúrbios linfoproliferativos é complexo, e atualmente a rotina histopatológica e a pesquisa imunofenotípica são ferramentas indispensáveis em sua avaliação. Os processos linfoproliferativos reacionais são mais comuns do que os neoplásicos nas pesquisas de linfadenopatias. No entanto, essas doenças podem apresentar características atípicas e mimetizar linfomas, além de apresentar potencial de evoluir para malignidade. Dessa forma, justifica-se a importância de se obterem informações epidemiológicas sobre essas doenças. **Objetivo:** Analisar a frequência do diagnóstico de processos linfoproliferativos reacionais em um serviço de anatomia patológica em Ponta Grossa (PR) para um período de 11 anos (entre 2002 e 2012). Buscou-se também conhecer a distribuição dos subtipos histológicos e o perfil demográfico da população afetada. **Material e métodos:** Foram selecionados todos os laudos de exames de imuno-histoquímica com diagnóstico de processo linfoproliferativo reacional feitos de 2002 a 2012 a partir de um banco de exames de um serviço de anatomia patológica em Ponta Grossa (PR). Com base nos laudos foram obtidas informações como gênero e idade do paciente e o sítio da biópsia. **Resultados:** Foram selecionados 57 casos de processos linfoproliferativos reacionais, dos quais 78,94% (n = 45) eram de biópsias nodais e 21,05% (n = 12) de biópsias extranodais; 56% (n = 32) eram de pacientes do sexo masculino e 44% (n = 25) do feminino. A média de idade foi de 38 anos (DP = 17), com pico de incidência na faixa etária de 30 a 50 anos. Em relação aos tipos histológicos, 89,47% (n = 51) referiam-se à hiperplasia linfoide e 10,53% (n = 6) a outros diagnósticos. Dos casos de hiperplasia linfoide, 44,26% (n = 27) eram do padrão folicular, 6,56% (n = 4) do padrão sinusoidal, 4,92% (n = 3) do padrão misto, 1,64% (n = 1) do padrão granulomatoso e 26,33% (n = 16) não apresentavam subtipo especificado. **Discussão:** Os processos linfoproliferativos benignos são mais frequentes na faixa etária pediátrica e em adultos jovens; correspondem a aproximadamente 79% das biópsias nodais de pacientes com menos de 30 anos e a 39% em pacientes com mais de 50. A hiperplasia linfoide reacional é uma causa comum de linfonodopatia; corresponde a aproximadamente 75% dos casos que envolvem crianças e 20-30% dos que ocorrem em adultos. O padrão folicular de hiperplasia linfoide é o mais comum em qualquer idade. **Conclusão:** De forma semelhante à literatura, a hiperplasia linfoide foi o processo linfoproliferativo reacional mais frequente em nosso estudo, e o padrão folicular foi o predominante. Devido à escassez de estudos sobre esse tema, este trabalho reflete a importância da pesquisa acerca da ocorrência e distribuição dessas doenças.

142. SÍNDROME HIPEREOSINOFÍLICA, UMA DOENÇA RARA: RELATO DE CASO

Weber D, Tagliari G, Schuh H, Vilella LP, Capra MEZ, Catelli DH

Hospital Nossa Senhora da Conceição de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil

PBC, 62 anos, masculino, branco, urticária gigante havia anos, com quadro alérgico cutâneo disseminado e vários quadros semelhantes posteriores, intermitentes e com uso de anti-histamínicos e corticoide, por períodos curtos. Exames investigatórios evidenciaram leucocitose importante à custa de eosinófilos (80.000 leucócitos/81% de eosinófilos),

acompanhada de elevação nos níveis de IgE. Foi indicada internação hospitalar. Sem alterações ao exame físico. Feito tratamento antiparasitário empírico. Não houve melhoria da eosinofilia. Evolui com artralhas e parestesia de membros superiores. Afastadas causas autoimunes e gamopatia; vitamina B12 normal, sorologias não reagentes, tomografias e ecocardiograma sem alterações, eletroneuromiografia sugestiva de síndrome do túnel do carpo. Medulograma com 15% de eosinófilos. Imunofenotipagem de medula óssea (MO) com 26,5% de eosinófilos, normais; cariótipo de MO normal, ausência de mutação JAK2 e PCR-BCR-ABL negativo. Não coletada mutação PDGFRA por ausência de disponibilidade. Iniciada prednisona 1 mg/kg/dia, com melhoria clínica e dos níveis de eosinófilos, porém muitos parefeitos com a medicação. Não tolerou hidroxiureia por sintomas constitucionais pronunciados. Atualmente, aguarda tratamento com interferon-alfa. A síndrome hipereosinofílica é formada por um grupo de doenças caracterizado por hiperprodução eosinofílica, capaz de causar dano aos órgãos. É rara, mais comum em homens adultos e caracterizada como primária, secundária ou idiopática. Subdivide-se em seis variantes: mieloproliferativa, linfocítica, familiar, idiopática, sobreposta e associada. Em 1975, foram criados critérios para o diagnóstico da doença, ajustados em 2012. Considera-se para o diagnóstico eosinofilia acima de 1.500/ μ L em dois exames, com intervalo de pelo menos um mês, associada à presença de lesão tecidual mediada por eosinófilos, com ou sem disfunção; excluem-se causas secundárias. Lesão tecidual é caracterizada por exame de MO com porcentagem de eosinófilos > 20% e/ou infiltração tecidual importante na opinião do patologista e/ou marcado depósito de grânulos de proteínas de eosinófilos nos tecidos. O quadro clínico é variável; pode ter início insidioso, como achado ocasional, ou início súbito, com manifestações diversas. As alterações cutâneas estão presentes em mais de 50% dos casos. É importante afastar a variante linfocítica nesses casos. Urticária e angioedema têm curso mais benigno. A principal causa de morbimortalidade é a miocardite eosinofílica. Os níveis de IgE podem estar elevados na variante linfocítica, e níveis elevados de vitamina B12 parecem estar relacionados com a presença da mutação PDGFRA. O diagnóstico diferencial inclui leucemia eosinofílica aguda, leucemia mieloide crônica, síndromes paraneoplásicas, parasitoses, reação de hipersensibilidade a drogas, entre outras. Nem sempre a classificação em subtipos é fácil, e quando essa não é possível está indicado tratamento empírico com prednisona 1 mg/kg/dia até resposta laboratorial. Nas variáveis com PDGFRA, o mesilato de imatinibe tem sido usado como primeira linha, com bons resultados. Tratamentos de segunda linha incluem a hidroxiureia e o interferon-alfa, esse último com indicações limitadas pelo grande número de parefeitos. O melhor tratamento ainda é controverso, depende do subtipo e, às vezes, de exames mais específicos, dispendiosos e nem sempre disponíveis para toda a população.

143. TRATAMENTO DE ASPERGIOSE DISSEMINADA CONFIRMADA, COM ACOMETIMENTO CEREBRAL, COM TERAPIA ANTIFÚNGICA TRÍPLICE EM PACIENTE COM APLASIA DE MEDULA ÓSSEA

Soares TB, Catelli DH, Daudt LE, Silla LMR, Silva RW, Ferreira EV, Paiva MF, Burin MM, Schwoelk P, Paz AA, Paz AA

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: A aspergilose invasiva é uma infecção fúngica que se apresenta em 80% dos casos com doença pulmonar e tem incidência elevada em pacientes onco-hematológicos. O acometimento cerebral na aspergilose é infrequente e tem mortalidade elevada, superior a 90%, apesar da terapêutica adequada. **Objetivo:** Relatar um caso de aspergilose invasiva cerebral em paciente com aplasia de medula óssea com sucesso com terapia tríplice antifúngica. **Relato de caso:** Paciente do sexo feminino, 18 anos, branca, com diagnóstico de aplasia de medula óssea havia quatro anos com resposta parcial a tratamento com timoglobulina, ciclosporina e prednisona. Apresentou recaída da doença com pancitopenia severa; foi iniciado novo ciclo de timoglobulina. Após esse tratamento, apresentou quadro de aspergilose pulmonar provável, com lesão tomográfica característica e galactomanana do lavado broncoalveolar positiva; recebeu tratamento com voriconazol por quatro semanas, com boa resposta. Recebeu alta com itraconazol domiciliar. Retornou duas semanas após o fim do tratamento com febre e surgimento de lesão nodular em mama e glabella à direita. Feitas tomografias de avaliação, que mostram lesão nodular hipodensa intra-axial occipital à esquerda de 2,7 cm, císticas, de paredes espessas e com edema vasogênico ao redor e nódulos pulmona-

res esparsos, bilaterais em tórax. As biópsias cerebral e de nódulo mamário identificaram hifas hialinas e cultura com *Aspergillus fumigatus*, com galactomanana sérica negativa. Iniciado tratamento antifúngico: voriconazol intravenoso por oito semanas, trocado por anfotericina complexo lipídico por hepatotoxicidade, do qual fez uso por seis semanas, e uso de micafungina por 12 semanas. Nesse período, fez uso de esquema duplo de micafungina com voriconazol por três semanas, micafungina com anfotericina complexo lipídico por duas semanas e esquema tríplice de micafungina, voriconazol e anfotericina complexo lipídico por seis semanas. Durante o tratamento, apresentou novas lesões nodulares subcutâneas e manutenção dos nódulos pulmonares, o que motivou a associação de antifúngicos. Foi feita adequação da dose terapêutica de voriconazol conforme nível sérico da medicação. Após seis semanas de esquema tríplice, as tomografias de controle não evidenciaram novas lesões cerebrais e redução significativa dos nódulos pulmonares. Optou-se por manter voriconazol via oral na dose padrão como profilaxia secundária. Atualmente, com 10 meses de evolução, a paciente apresenta contagens preservadas, desaparecimento de todas lesões subcutâneas e tomografias sem evidência de lesões. **Conclusão:** A aspergilose invasiva costuma apresentar boa resposta com tratamento em monoterapia com voriconazol. As evidências de literatura para o embasamento de associação de antifúngicos para o tratamento dessa complicação infecciosa são escassas, inclusive com descrição de efeitos antagonísticos *in vitro*. No entanto, essa paciente apresentou desfecho clínico favorável apenas ao ser submetida a tratamento concomitante com três classes de antifúngicos. Ilustramos um caso de sucesso terapêutico com esquema tríplice de antifúngicos no tratamento de aspergilose disseminada confirmada, com acometimento cerebral, situação ainda consideração incomum e excepcional no contexto desse tipo de infecção.

144. USO DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS NO RASTREIO DA INFECÇÃO BACTERIANA NA CORRENTE SANGÜÍNEA: ESTUDO RETROSPECTIVO COM PACIENTES ATENDIDOS NO GRUPO FLEURY

Kaefer D^{a,b}, Wagner SC^{b,c}, Bonjardim EE^a

^a Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

^b Universidade FEEVALE, Novo Hamburgo, RS, Brasil

^c Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: As infecções da corrente sanguínea representam uma grande causa de morbidade e mortalidade, principalmente quando há evolução clínica para sepse e choque séptico. Embora a cultura de sangue seja considerada o padrão-ouro para a confirmação do diagnóstico de infecção bacteriana na corrente sanguínea, esse método é limitado principalmente pela demora da disponibilidade dos resultados. Com o intuito de usar um parâmetro laboratorial mais rápido e mais específico no diagnóstico de um processo infeccioso bacteriano e, conseqüentemente, na prevenção da sepse, muitos pesquisadores têm estudado a relação entre alterações hematológicas e a infecção bacteriana aguda. **Objetivo:** Avaliar os parâmetros hematológicos encontrados em pacientes com hemocultura positiva para bactérias, quando comparados com o grupo controle. **Material e métodos:** Foi feito um estudo retrospectivo no Laboratório Weinmann de Porto Alegre, por análise de 2.553 laudos de pacientes de todos os laboratórios do Grupo Fleury, em diferentes estados do Brasil, que tiveram solicitação de hemograma, proteína C-reativa quantitativa (PCRq) e hemocultura para bactérias, feitos no mesmo dia. Os hemogramas foram feitos a partir de amostras de sangue, coletadas em tubos com EDTA-K3, por meio de metodologia automatizada, com contador XE-2100 (Sysmex®). Após análise inicial, os pacientes foram separados em dois grupos: no primeiro grupo, considerado o controle, foram agrupados todos os pacientes que apresentaram hemocultura negativa e nível de PCRq normal (inferior a 0,3 mg/dL). No segundo grupo, considerado o grupo com provável infecção, foram agrupados os pacientes com hemocultura positiva e nível de PCRq fora da normalidade (superior a 1,0 mg/dL). Para a análise estatística foi usado o teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov; as variáveis não apresentaram distribuição normal. Logo, foi aplicado o teste não paramétrico de Mann-Whitney. **Resultados:** Foram agrupados 50 pacientes no grupo com provável infecção e 95 pacientes no grupo controle. Não houve diferenças estatisticamente significativas para o número total de leucócitos e nem para a contagem automatizada de granulócitos imaturos nos dois grupos ($p = 0,902$ e $p = 0,249$, respecti-

vamente), enquanto a contagem de bastões apresentou resultados significativamente maiores no grupo com infecção ($p < 0,05$). Os mesmos parâmetros, avaliados pela curva ROC, também não puderam separar os dois grupos. **Conclusão:** Em nosso estudo, o único parâmetro hematológico que pode prever infecção foi a contagem de bastonetes, embora outros estudos tenham demonstrado que a contagem automatizada de granulócitos imaturos tenha separado os dois grupos. Novos estudos devem ser conduzidos para elucidar o papel desses parâmetros na prática clínica, bem como podem ser combinados com outros marcadores para criar um algoritmo com melhor sensibilidade ou especificidade de diagnóstico, por exemplo, em associação com a procalcitonina, que tem sido relatada como um marcador promissor neste diagnóstico.

145. SÍNDROME DO ANTICORPO ANTIFOSFOLÍPIDE COM SUBSEQUENTE DIAGNÓSTICO DE LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO – RELATO DE CASO

Barbosa AA, Lima RS, Rigoni L, Zlotnik M, Martins MP, Dulley PWH, Borducchi DMM

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

Introdução: A síndrome antifosfolípide é uma desordem sistêmica adquirida e autoimune, caracterizada por trombose venosa profunda e/ou abortamentos de repetição. A síndrome pode ocorrer de forma isolada (primária), o que corresponde à maioria dos casos, ou secundária, em conjunto com outras doenças autoimunes; é mais comum a associação com lúpus eritematoso sistêmico (LES). Essa síndrome ocorre em 1% a 5% da população em geral e acomete 30% a 50% de todos os pacientes com LES. A manifestação mais comum é a trombose venosa profunda em membros inferiores, com risco de embolia pulmonar. Porém, qualquer sistema vascular do organismo pode ser comprometido. **Relato de caso:** MAL, 45 anos, sexo feminino, em novembro/2012 referia que havia sete anos tinha diagnóstico de síndrome antifosfolípides, fez uso de varfarina sódica durante oito meses e ficou sem acompanhamento médico até apresentar quadro súbito de náuseas, vômitos, liberação esfinteriana e vertigem, que a levou a visitar pronto-socorro onde exames iniciais mostraram Hc 3,82, Hb 12,5, Ht 35,6 e plaquetas de 115.000. Foi prescrito uso de AAS 200 mg/dia. Em outubro/2014 a paciente apresentou VHS = 20; anticoagulante lúpico 1,1 (ausente); PCR 5,5; anticardiolipina IgG = 5,50 e IgM = 6,88 e FAN 1/1280 e foi encaminhada para reumatologista. Em março/2015 a paciente relatou suspensão temporária de AAS para retirada de implantes dentários, apresentou novos resultados, com presença de anticoagulante lúpico, FAN 1/2.560, $\beta 2$ glicoproteína I IgG 6,8, $\beta 2$ glicoproteína I IgM 3,9. Em maio/2015, USG doppler de membro inferior esquerdo apresentou extensa TVP com necessidade de hospitalização. Iniciada anticoagulação plena que dá lugar à profilática com warfarina sódica. A reumatologia observou outros marcadores de doença autoimune, além de sintomas clínicos do LES; fechou esse diagnóstico pelo sistema de escore e iniciou pulsoterapia com metilprednisolona. **Discussão e conclusão:** Apesar de o tratamento de SAF até hoje se basear no uso de anticoagulantes e antiagregantes plaquetários, muitos avanços clínicos e laboratoriais têm sido alcançados, de modo a mudar perspectivas clássicas de diagnóstico e tratamento, que expõem o paciente a eventuais riscos, por depender integralmente de sua adesão ao tratamento. O desenvolvimento de novos fármacos baseados em uma ação seletiva contra os mecanismos patogênicos como em anticorpos anti- $\beta 2$ GPI promete se estabelecer como uma próxima opção de tratamento para esses pacientes, por permitir melhor controle da doença.

146. EOSINOFILIA EM UM PACIENTE COM PSORÍASE: RELATO DE CASO

Souza RC, Bonini NB, Pugliesi TB, Fujiki RHM, Takao GM, Campos FM, Corvelloni L, Cliquet MG

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

Introdução: A psoríase, doença inflamatória crônica, tem origem desconhecida e atinge cerca de 2% a 3% da população ocidental, com maior incidência em pacientes na terceira e quarta décadas de vida. É caracterizada por lesões dérmicas, circulares, escamosas e esbranquiçadas sobrepostas a áreas de lesões eritematosas ou pustulares. Apresenta-se mais frequentemente em regiões como cotovelos, joelhos, couro cabeludo, lombo e unhas. As lesões psoriásicas ocorrem pela alteração no ciclo

de crescimento das células epidérmicas, levam ao espessamento epidérmico decorrente da hiperproliferação celular e vascular com presença de infiltrado linfocitário. A psoríase pode, ainda, desencadear manifestações como febre, mal-estar, fraqueza, artrite, prurido, leucocitose, aumento de VHS e hipocalcemia. Seu diagnóstico é predominantemente clínico, e pode ser complementado pela biópsia das lesões que mostra alterações estruturais da epiderme com presença de infiltrado inflamatório. Entretanto, em alguns casos encontrados na literatura, e no caso que será relatado, existe a presença de eosinofilia, mesmo na ausência de outros fatores que justifiquem o surgimento desse sinal em pacientes portadores da psoríase. **Objetivo:** Relatar o caso de um paciente encaminhado à hematologia por apresentar quadro de psoríase concomitante à eosinofilia. **Relato de caso:** Paciente F.P.B., 67 anos, sexo masculino, vem encaminhado a partir de ambulatório de outra cidade com hipótese diagnóstica de síndrome hipereosinofílica. Queixa de eosinofilia persistente (> 1.500 por mais de seis meses), fizera tratamento com albendazol e metronidazol, sem êxito. Concomitantemente, apresenta psoríase em acompanhamento da dermatologia, com lesões principalmente em couro cabeludo e sem sintomas sistêmicos. Exames laboratoriais: NR para hepatite B ou C, HIV ou *Toxocara canis*. Retorna quatro meses depois com eosinófilos = 1.730 (19,7%); IgE 15 (nL). Ausência de população celular com imunofenótipo anômalo. Aumento do percentual de granulócitos eosinófilos. Coleta de JAK2 e BLC/ABR negativos. Tratamento da psoríase é feito com shampoo indicado. No exame seguinte, após dois meses, apresenta eosinófilos = 1.820. Na última consulta, retorna com eosinofilia = 1.710. WBC 11,9 ($10^3/uL$); granulócitos 8,1; linfócitos 19,8%; RBC 5,96%; HGB 17 g/dL. Diagnóstico inconclusivo. **Conclusão:** É reconhecido o papel dos eosinófilos em diversas doenças inflamatórias. Recentemente, estabeleceu-se uma relação entre a eosinofilia e o aparecimento da psoríase. Segundo Mansur et al., pacientes com psoríase apresentam alta contagem de eosinófilos. No presente estudo foram analisados 58 pacientes portadores de psoríase. Esses apresentavam contagem superior a 1.500 eosinófilos, o que se relaciona com o paciente deste relato. Também não encontramos outra causa possível que explique a eosinofilia deste paciente. Pretendemos acompanhá-lo e avaliar se o tratamento da psoríase relaciona-se com a diminuição da eosinofilia.

147. A EXPRESSÃO DO FRAGMENTO C4D DO SISTEMA COMPLEMENTO LIGADO A RETICULÓCITOS COMO MARCADOR PRECOCE DE ATIVIDADE E NEFRITE NO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO

Ferreira KS^a, Cicarini WB^a, Loures CMG^a, Silva MVF^a, Nunes FFC^a, Toledo VPCP^a, Consoli RV^b, Neiva CLS^b, Pádua PM^b, Carvalho MDG^b

^a Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Serviço de Reumatologia, Santa Casa de Belo Horizonte, Belo Horizonte, MG, Brasil

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença do tecido conjuntivo, caracterizada pela produção de diversos autoanticorpos. Dentre as várias manifestações clínicas, a nefrite lúpica (NL) é conhecida como a mais séria complicação. Evidências atuais mostram que anormalidades na ativação do complemento podem ser elementos fundamentais na patogênese do LES. Dentro desse contexto, a determinação de produtos de ativação do complemento ligados a células do sangue (CB-CAP, Cell-bound complemet activation products), tais como C4d ligados a reticulócitos (R-C4d), são potenciais biomarcadores do estado de ativação da doença. O objetivo principal deste trabalho é avaliar se, no LES, os níveis de CB-CAPs podem ser preditores de reativação da doença (R-C4d), bem como se está associado com a NL. Foram recrutados 11 indivíduos saudáveis como controle e 35 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 de baixa atividade do lúpus (LES-I, $n = 20$) e aqueles com SLEDAI acima de 4, como portadores da forma ativa (LES-A, $n = 15$). Dentre o total de pacientes com LES, 14 foram classificados como portadores da NL e 19 não portadores. O sangue periférico foi coletado em EDTA com posterior separação da população de reticulócitos pelo uso de Thiazol Orange (Retic Count-BD) e marcação da mesma com anticorpos anti-C4d (Quidel). Em seguida, esses foram adquiridos em citômetro de fluxo (LSR-Fortessa) e analisados por meio do programa Flow Jo. Verificou-se que os níveis de R-C4d se mostraram fortemente correla-

cionados com a atividade clínica do LES. Foram observadas diferenças significativas nos percentuais de RC4d quando comparados os grupos LES-A, LES-I e CN ($p < 0,0001$; Kruskal-Wallis). A análise do teste mostra que o percentual de RC4d está diminuído no grupo de LES-I e CN. Após aplicação do teste de Mann-Whitney, foi verificada diferença entre os grupos CN e LES-A ($p < 0,0001$) e entre LES-A e LES-I ($p < 0,0001$). A população com NL apresentou maior expressão de RC4d quando comparada com aquela sem NL. As diferenças foram observadas quando comparadas as formas com NL (LES-CN) e sem NL (LES-SN) ($p = 0,002$ Mann-Whitney). Foram observadas também diferenças significativas nos percentuais de RC4d quando comparados os grupos LES-CN, LES-SN e CN ($p < 0,0001$; Kruskal-Wallis). Os níveis de R-C4d podem refletir o status de atividade da doença, pois os reticulócitos estão presentes no sangue periférico por 24-48 horas e transformam-se em eritrócitos maduros. Dessa forma, presume-se que a avaliação de R-C4d possa ser um biomarcador precoce de atividade do LES; portanto, um promissor parâmetro norteador da conduta médica. **Financiamento:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

148. EXPRESSÃO DO FRAGMENTO C4D DO SISTEMA COMPLEMENTO LIGADO A PLAQUETAS COMO MARCADOR PRECOZE DE ATIVIDADE NO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO

Cicarini WB^a, Ferreira KS^a, Loures CMG^a, Silva MVF^a, Nunes FFC^a, Toledo VPCP^a, Guimarães TMPD^a, Neiva CLS^b, Consoli RV^b, Carvalho MDG^a

^a Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil
^b Serviço de Reumatologia, Santa Casa de Belo Horizonte, Belo Horizonte, MG, Brasil

Evidências mostram que anormalidades na ativação do complemento podem ser elementos fundamentais na patogênese do lúpus eritematoso sistêmico (LES). Dentro desse contexto, o desenvolvimento e a validação de ensaios para avaliar a expressão de produtos de ativação do complemento, tais como C4d ligado a plaquetas (P-C4d), podem assumir grande importância, uma vez que os níveis podem estar relacionados à maior predisposição trombótica em pacientes portadores de LES e tornar esse biomarcador de interesse ainda maior na avaliação prognóstica de tais indivíduos. O objetivo principal deste trabalho é avaliar se no LES os níveis de P-C4d podem ser preditores de reativação da doença (P-C4d), bem como se estão associados com o estado hipercoagulável da doença. Foram recrutados 11 indivíduos saudáveis como controle (CN) e 35 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 de baixa atividade lúpica (LES-I, $n = 17$) e aqueles com SLEDAI acima de 4 como portadores da forma ativa (LES-A, $n = 16$). O sangue periférico foi coletado em EDTA com posterior separação da população de plaquetas por meio do anticorpo anti-CD41b conjugado com ficoeritrina (BD Biosciences, San Jose, CA) e marcação da mesma com anticorpos anti-C4d (Quidel). Em seguida, esses foram adquiridos em citômetro de fluxo (LSR-Fortessa) e analisados por meio do programa Flow Jo. Verificou-se que os níveis de P-C4d se mostraram fortemente correlacionados com a atividade clínica do LES. Foram observadas diferenças significativas nos percentuais de PC4d quando comparados os grupos LES-A, LES-I e CN ($p < 0,0001$; Kruskal-Wallis). A análise do teste de Mann-Whitney para determinar a que grupo essa diferença estatística se refere mostra que o percentual de PC4d está diminuído no grupo de LES-I e CN. Após aplicação do teste de Mann-Whitney, foi verificada diferença entre os grupos CN e LES-A ($p < 0,0001$) e entre LES-A e LES-I ($p = 0,0038$). Os menores valores de mediana para PC4d foram observados no grupo CN. Os resultados obtidos neste estudo indicam que os níveis de P-C4d estão mais elevados em indivíduos com atividade da doença. Valores significativamente diminuídos foram encontrados em indivíduos CN quando comparados com os obtidos para os portadores de LES, bem como quando comparados os pacientes com LES-A e LES-I. De acordo com Liu et al., 2010, os níveis de PC4d foram correlacionados com os níveis plasmáticos de alguns marcadores de hipercoagulabilidade, condição essa presente

nos pacientes com LES. Com base nos dados que serão obtidos, objetiva-se traçar um provável perfil de risco para o desenvolvimento de trombozes venosas ou arteriais em nossa população de estudo. **Financiamento:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

149. BACTEREMIA POR PSEUDOMONAS AERUGINOSA EM NEUTROPÊNICOS FEBRIS: INCIDÊNCIA, PERFIL DE RESISTÊNCIA E MORTALIDADE GLOBAL – MUDANÇAS EPIDEMIOLÓGICAS DAS ÚLTIMAS TRÊS DÉCADAS

Garnica M, Peres TM, Yacoub VRD, Santos RMCD, Nucci M

Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A neutropenia febril é um evento frequente em pacientes com câncer submetidos a tratamento quimioterápico e está associada a altas taxas de mortalidade. Após a introdução de drogas antimicrobianas com cobertura para *Pseudomonas aeruginosa* (PA) no tratamento empírico inicial da neutropenia febril, a mortalidade atribuída a essa síndrome apresentou grande declínio. Porém, atualmente, após décadas de melhoria no suporte desses pacientes, a importância desse patógeno na neutropenia febril merece ser revisitada. **Objetivo:** Descrever a incidência, o perfil de susceptibilidade microbiana e a mortalidade relacionada à bacteremia por PA em pacientes neutropênicos. **Material e métodos:** Coorte prospectiva de neutropênicos febris acompanhados nos últimos 30 anos em centro único. Foram calculados a incidência de episódios de neutropenia febril, com identificação em pelo menos uma hemocultura de PA, e as taxas de resistência dessas amostras aos seguintes antimicrobianos: ceftazidima, cefepime, piperacilina-tazobactam, carbapenemas, aminoglicosídeos e quinolonas. Os episódios de PA foram comparados com episódios sem documentação de PA (controles) quanto a variáveis demográficas, relacionadas a doença de base e aos seguintes desfechos: tempo de tratamento antimicrobiano e mortalidade global. **Resultados:** Foram analisados 2.009 episódios de neutropenia febril entre 1986 e 2013. Desses, 927 (46%) foram leucemias agudas e 684 (34%) pacientes submetidos a transplante de medula óssea. A idade mediana da coorte foi de 42 anos (de 6 a 93). O tempo mediano de neutropenia foi de 10 dias (de 1 a 304). Em 63 episódios (3,1%) houve documentação de PA (casos). PA foi o terceiro patógeno mais identificado em hemocultura, perdeu em frequência para o estafilococo coagulase negativo e a *E. coli* ($n = 112$ [5,6%] e $n = 107$ [5,3%], respectivamente). A incidência de casos de PA no decorrer das décadas de 1980, 1990, 2000 e após 2010 foi de: 4%; 3,8%; 3,0% e 2,15% ($p = 0,65$). A revisão de susceptibilidade foi feita até o momento em 34 das 63 amostras, com taxas de resistência de 18%; 25%; 20%; 18% e 24% a ceftazidima, cefepime, piperacilina-tazobactam, aminoglicosídeos e quinolonas, respectivamente. Comparando os casos aos controles, casos de PA tiveram associação com diagnóstico de LLA (4,7 vs. 18,5%; $p = 0,005$) ou LLC (4,8 vs. 1,15%; $p = 0,011$), uso de quinolona profilática (19,5 vs. 33,5%, $p = 0,015$) e não ter desenvolvido mucosite (76 vs. 60%, $p = 0,039$). A manifestação clínica mais associada aos casos foi choque (9,5 vs. 3,7%, $p = 0,017$) e alterações de pele (23,8 vs. 9,3%; $p = 0,001$). Em relação aos desfechos, os casos se associaram a maior tempo de uso de antimicrobiano (mediana de 12 dias vs. 10 dias, $p = 0,022$) e a mortalidade (27 vs. 14%, $p = 0,0036$). **Conclusão:** Bacteremia por PA mantém incidência estável durante as décadas analisadas, porém com taxas de resistência altas. A mortalidade em pacientes com essa infecção permanece elevada.

150. SÍNDROME HEMOFAGOCÍTICA SECUNDÁRIA À HISTOPLASMOSE DISSEMINADA EM PACIENTE HIV-NEGATIVO: RELATO DE CASO

Franchini CAC, Takihi IY, Goncalves MV, Chauffaille ML, Sandes AF

Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A histoplasmose é causada por um fungo dimórfico, o *Histoplasma capsulatum*, e transmitida por meio da inalação de conídios após exposição a ambientes contaminados com o fungo, como cavernas, galinheiros e telhados de casas abandonadas. A maioria das infecções é leve ou subclínica, embora quadros graves de histoplasmose, com disseminação sistêmica do fungo para órgãos ricos em macrófagos (fígado, baço, linfonodos e medula óssea) possam ocorrer, especialmente em pacientes portadores da síndrome de imunodeficiência humana, transplan-

tados ou com neoplasias hematológicas (como linfoma de Hodgkin e não Hodgkin). **Relato de caso:** Homem, 56 anos, com história de pancitopenia, febre, hepatoesplenomegalia, adenomegalia e lesão oral com suspeita clínica de histoplasmose. O hemograma apresenta: Hb: 9,1 g/dL, alguns micrócitos, poiquilocitose discreta, raros elipócitos e raros esquizócitos; leucócitos: 2.040/mm³ (neutrófilos: 1.460/mm³, eosinófilos: 0/mm³, basófilos: 30/mm³, linfócitos: 380/mm³, monócitos: 170/mm³); plaquetas: 44.000/mm³; ferritina: 2.738 microg/L, DHL: 740 U/L, PCR: 3,56 mg/dL, sorologia para histoplasma (soro): não reagente. O resultado do HIV demonstrou-se negativo. O aspirado de medula óssea demonstrou celularidade normal da medula óssea nos três setores hematopoiéticos, com presença de displasia leve no setor eritrocítico. Observou-se a presença de inúmeras leveduras com distribuição intra e extracelular, com morfologia em crescente e outras anelares, eventualmente circundadas por um pequeno halo; acometeu principalmente histiócitos da medula óssea, com morfologia característica de histoplasma. Além disso, os macrófagos comumente apresentavam-se repletos de hemácias, neutrófilos e restos celulares, o que caracteriza a hemofagocitose. **Discussão:** Síndrome hemofagocítica (SH) é uma doença de ativação imune caracterizada por sinais e sintomas de inflamação extrema. O diagnóstico é feito pela presença de cinco dentre oito critérios diagnósticos: citopenias em sangue periférico, hiperferritinemia, hipertriglicidemia, esplenomegalia, febre, evidência de hemofagocitose na medula óssea, baixa atividade de linfócitos NK e aumento de CD25 solúvel. SH é descrito como formas primárias (herança familiar ou causas genéticas), ou formas esporádicas, secundárias a infecções, neoplasias ou doenças reumatológicas. Nosso trabalho mostra que SH pode ser secundária à histoplasmose disseminada e sugere que hemofagocitose contribui para a presença de citopenias periféricas em pacientes com formas avançadas da doença. A identificação de SH em pacientes com histoplasmose é importante para a correta conduta terapêutica do caso, uma vez que esses pacientes podem se beneficiar do tratamento com dexametasona, em associação com o tratamento antifúngico.

151. PREVALÊNCIA DE CÉLULAS T DUPLO-NEGATIVAS (CD3+CD4-/CD8-) EM PACIENTES HIV+

Freitas PAC^{a,b}, Bach E^a, Farias MC^{a,b}, Pedrazzani FS^{a,b}, Silva CLO^c, Zavascki A^{b,c}, Alegretti AP^a

^a Unidade de Diagnóstico Personalizado, Serviço de Patologia Clínica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^b Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^c Serviço de Infectologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: Células T duplo-negativas (TDN) representam cerca de 4-10% dos linfócitos T humanos. Estudos recentes sugerem que a presença dessas células pode implicar efeitos compensatórios benéficos no sistema imune de indivíduos HIV+, visto que não são atacadas pelo vírus pela falta do receptor CD4 e apresentam funções imunoreguladoras ou semelhantes às células T helper. **Objetivo:** Avaliar a prevalência de células TDN acima de 10% em relação à idade e ao sexo de pacientes HIV+.

Material e métodos: Foram analisados 7.225 pacientes HIV+ (52,7% feminino) que fizeram, por meio da rede de HIV e hepatites do Ministério da Saúde, a quantificação de linfócitos T CD4+ e CD8+ no Hospital de Clínicas de Porto Alegre de 2013 a 2015. A quantificação foi feita em amostras de sangue periférico (K₂EDTA) por citometria de fluxo (Citômetro FACSCalibur, BD), com o uso de anticorpos monoclonais conjugados (CD3/CD4/CD8/CD45, MultiTest™, BD) e tubos TruCount™ (BD). Os pacientes foram estratificados em dois grupos conforme a variação de TDN: ≥ 10% ou < 10%. O teste Mann-Whitney foi usado para comparar a idade dos pacientes entre os grupos (mediana e intervalo interquartil) e o teste exato de Fischer para avaliar a associação com o sexo. Foi usado o SPSS 20.0, considerando um p < 0,05 para significância estatística.

Resultados: Foi identificada uma baixa prevalência de células DN ≥ 10% nos pacientes avaliados (3,1%). Foi evidenciada uma diferença entre as idades dos grupos: TDN ≥ 10%: 44 (35-52); TDN < 10%: 38 (19-46) anos (p = 0.001). Além disso, foi encontrada uma associação positiva entre o sexo masculino e células TDN ≥ 10% (prevalência de 57,8%, em relação ao feminino: 42,2%) (p = 0,001). **Conclusão:** Entre os indivíduos HIV+ avaliados neste estudo foi identificado um aumento de células TDN nos pacientes mais jovens (crianças e adolescentes) e naqueles do sexo masculino.

152. SÍNDROME HIPEREOSINOFÍLICA, UMA DOENÇA RARA: RELATO DE CASO

Weber D, Tagliari G, Catelli DH, Vidor S, Moreno FL, Fenili AC, Fassina K, Pithan CF, Capra M, Schuh H, Vilella LP

Hospital Nossa Senhora da Conceição de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: A síndrome hipereosinofílica (SH) é formada por um grupo de doenças caracterizado por hiperprodução eosinofílica, capaz de causar dano aos órgãos. É rara, mais comum em homens adultos, e caracterizada como primária, secundária ou idiopática. Subdivide-se em variantes: mieloproliferativa, linfocítica, familiar, idiopática, sobreposta e associada. O diagnóstico é feito quando há eosinolia acima de 1500/μL em dois exames, com intervalo de pelo menos um mês, associada a presença de lesão tecidual mediada por eosinólos, com ou sem disfunção, excluindo-se causas secundárias. O quadro clínico é variável, pode ter início insidioso, como achado ocasional, ou início súbito, com manifestações diversas. As alterações cutâneas estão presentes em mais de 50% dos casos, é importante afastar a variante linfocítica nesses casos. A principal causa de morbimortalidade é a miocardite eosinofílica. A IgE pode estar elevada na variante linfocítica e a elevação da vitamina B12 pode estar relacionada com a presença da mutação PDGFRA. Nem sempre a classificação em subtipos é fácil e quando essa não é possível está indicado tratamento empírico com prednisona 1 mg/kg/dia até resposta laboratorial. Nas variáveis com a mutação PDGFRA, o imatinibe tem sido usado como primeira linha, com bons resultados. Tratamentos de segunda linha incluem a hidroxiureia e o interferon-alfa, esse último com indicações limitadas pelo grande número de parefeitos. **Objetivo:** Relatar um caso de SH com difícil subclassificação e controle da doença com corticoterapia, porém com muitos efeitos adversos (EA) à medicação. **Relato de caso:** PBC, 62 anos, sexo masculino, branco, urticária gigante havia anos, com quadro alérgico cutâneo disseminado e vários quadros semelhantes posteriores, intermitentes e com uso de anti-histamínicos e corticoide, por períodos curtos. Exames laboratoriais com leucocitose eosinofílica (80.000 leucócitos/81% de eosinólos), IgE elevada e indicação de internação hospitalar. Sem alterações ao exame físico. Afastadas causas secundárias de eosinofilia. Feito tratamento antiparasitário empírico, sem melhoria. Evolui com artralgias e parestesia de membros superiores, com todos os exames complementares normais. Ecocardiograma sem alterações. Medulograma com 15% de eosinólos e imunofenotipagem de medula óssea (MO) com 26,5% de eosinólos, normais; cariótipo de MO normal, ausência de mutação JAK2 e PCR-BCR-ABL negativo. Não coletada mutação PDGFRA por falta de disponibilidade, o que limitou o uso de imatinibe. Iniciada prednisona 1 mg/kg/dia, com melhoria clínica considerável e melhoria parcial dos níveis de eosinólos, com muitos parefeitos à medicação e necessidade de doses de 20 mg/dia de manutenção. Uso de hidroxiureia com normalização das contagens, porém não tolerou uso por sintomas constitucionais pronunciados. Atualmente, mantém uso de corticoide e aguarda tratamento com interferon-alfa. **Conclusão:** A SH é uma doença rara e com riscos de complicações quando não tratada adequadamente. O tratamento padrão ainda é a corticoterapia, porém nem sempre é fácil controlar a doença devido aos EA ou à indisponibilidade de acesso a tratamentos mais específicos. Neste trabalho relatamos um caso com boa resposta ao tratamento, porém intolerância às medicações atualmente disponíveis. Dessa forma, são necessários novos estudos para melhores estratégias terapêuticas nesses grupos de pacientes.

153. SÍNDROME DE CHEDIK-HIGASHI: RELATO DE CASOS

Figueira FD, Dias JB, Rafaelli RA, Bordinhão T, Favaro ME

Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR, Brasil

Introdução: A síndrome de Chediak-Higashi (SCH) é uma doença autosômica recessiva rara, decorrente de mutações no gene *LYST*, localizado no cromossomo 1, que codifica a proteína "Regulador do tráfego lisossomal" (Lyst), cuja função é regular a síntese, o transporte e a fusão de grânulos/vesículas citoplasmáticas. Na presença de mutações, ocorre a síntese de proteínas Lyst anormais, que leva ao aumento da fusão de grânulos/vesículas no citoplasma de células de diversos tecidos e órgãos, que são característicos da SCH e a base para o diagnóstico laboratorial. Clinicamente, os portadores da SCH apresentam imunodeficiência celular e humoral, albinismo parcial, sangramentos e neuropatias.

Objetivo: Relatar o caso de uma família que apresenta indivíduos com a forma branda da SCH. **Relato dos casos:** Paciente 1, sexo masculino, foi internado pela primeira vez no Hospital Universitário (HU) de Londrina em 2008, aos 7 anos, com pneumonia e neutropenia. Características clínicas e laboratoriais: pele branca, cabelos e olhos escuros, discreta anemia (Hb; 10,5 g/dL). Leucócitos totais normais (5.000/mL), neutropenia e linfocitose absolutas (936 neutrófilos/mL 3.276, linfócitos/mL e plaquetas de 285/mL). Presença de inclusões citoplasmáticas gigantes características da SCH em leucócitos do sangue periférico e da medula óssea. O irmão de 16 anos (paciente 2) e a irmã de 14 anos (paciente 3) foram convocados para avaliação clínica e laboratorial. Ambos apresentaram albinismo cutâneo parcial e cabelo cinza prateado, anemia discreta, número de leucócitos totais normal, com presença de inclusões citoplasmáticas características da SCH no sangue periférico e linfocitose absoluta. A neutropenia também foi observada na paciente 3 (1.352 neutrófilos/mL/plaquetas de 209 mL). Atualmente, os pacientes 1, 2 e 3 estão vivos e com 14, 23 e 21 anos, respectivamente. Os pacientes 1 e 2 continuam em acompanhamento clínico e apresentaram alguns episódios de infecção, que foram tratadas com sucesso. O paciente 2, usuário de drogas, atendido desde 2008 por intercorrências infecciosas, diagnosticado, em 2013, com HIV e sífilis. Recusou o tratamento antirretroviral (ARV); foi feita a quantificação da carga viral e imunofenotipagem. A viremia (cópias/mL) encontra-se alta, com uma variação $\geq 0,5$ do Log, dentro das duas últimas quantificações, corrobora a não adesão da ARV, porém o paciente não desenvolveu AIDS e seus exames de imunofenotipagem estão dentro dos parâmetros da normalidade de CD4⁺, CD8⁺ e componentes. A paciente 3 perdeu seguimento no HU, porém a mãe relata que ela se encontra sem complicações clínicas. **Discussão e conclusão:** A maioria dos indivíduos afetados morre antes dos 10 anos em decorrência de infecções, sangramentos ou desenvolvimento da fase acelerada (85% dos pacientes), caracterizada por infiltração linfo-histiocitária não maligna, porém semelhante ao linfoma, em múltiplos órgãos. Entretanto, cerca de 10% a 15% dos portadores da SCH desenvolvem as formas mais brandas e chegam até a vida adulta. Nos casos acima relatados, o diagnóstico da SCH foi confirmado pela presença de alterações clínicas e laboratoriais típicas da SCH, não foi feito o diagnóstico molecular devido ao custo elevado desse procedimento. Considerando que o paciente 1 está na adolescência e que os pacientes 2 e 3 atingiram a vida adulta sem apresentar a fase acelerada, essa família apresenta a forma mais branda da doença.

154. PLASMOCITOSE E ATIPIA SEM LINFOCITOSE: O HEMOGRAMA DA DENGUE

Aveiro JL, Ferreira TZ, Miura TES, Muramoto FJ, Granato C, Sandes AF, Gonçalves MV

Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Em regiões com surto epidêmico de dengue, o diagnóstico da infecção aguda se baseia no quadro clínico de febre, mialgias, artralgias e cefaleia e pode se associar a alterações hematimétricas de hemocentração e plaquetopenia. No entanto, em regiões com incidência menos frequente, o quadro é mais desafiador, pois a apresentação clínica pode simular outras doenças infecciosas. Pacientes com quadro clínico mais branda podem não apresentar as alterações clássicas de hemograma tão acentuadas. Assim, o diagnóstico se baseia na sorologia IgM positiva ou na presença do antígeno NS1, exames nem sempre disponíveis para decisão clínica imediata. A incomum epidemia de dengue em São Paulo em 2015 expôs a necessidade de parâmetros de rápido acesso e baixo custo que podem indicar a suspeita diagnóstica, especialmente casos menos exuberantes. **Objetivo:** Avaliar as alterações mais comuns no hemograma de pacientes com dengue que não procuraram pronto-socorro para atendimento imediato. **Material e métodos:** Entre fevereiro e abril de 2015, todos os hemogramas de pacientes com solicitação de sorologia dengue ou antígeno NS1 colhidos em unidades ambulatoriais do Grupo Fleury foram revisados. Os dados encontrados no grupo IgM ou NS1 positivos (DEN, n = 182) foram comparados por estatística não paramétrica (Mann-Whitney) com os valores encontrados em dois grupos controle: pacientes com sorologia/NS1 negativos (NEG, n = 181) e pacientes que apresentaram positividade para citomegalovírus (CMV, n = 10), toxoplasmose (TOXO, n = 5) ou mononucleose (MONO, n = 14) na mesma época. **Resultados:** Pacientes positivos apresentaram valores discretamente maiores de hemoglobina [DEN x Demais (mediana): 14,15 g/dL x 13,5 g/dL; p < 0,001] e valores significa-

tivamente menores de leucócitos totais [DEN x Demais (mediana): 4.355/mm³ x 6955/mm³; p < 0,001], neutrófilos (1.525/mm³ x 3.165/mm³; p < 0,001), linfócitos (1.675/mm³ x 4.450/mm³; p < 0,001) e plaquetas (130.000/mm³ x 210.000/mm³; p < 0,001). No entanto, chamou atenção a presença de importante atipia nos pacientes com dengue quando comparados com os demais [DEN x Demais (mediana, em % por 100 linfócitos): 20% x 5%, p < 0,001] e, de maneira mais interessante, a presença de plasmocitose [DEN x MONO (mediana em % por 100 leucócitos): 3% x 0%; p < 0,001]. Quando comparado com as demais doenças virais individualmente, apenas a mononucleose mostrou níveis comparáveis de atipia [DEN x MONO (mediana): 20% x 25%, p = 0,64] e plasmocitose [DEN x MONO (mediana): 3% x 1,5%, p = 0,09]. No entanto, nesses casos, a contagem de linfócitos foi significativamente menor na dengue, o que sugere o diagnóstico diferencial [DEN x MONO (mediana): 1.675/mm³ x 6.670/mm³, p < 0,001]. Também foram significativamente menores as contagens globais de neutrófilos e plaquetas na DEN x MONO. **Conclusão:** Pacientes com dengue agudo apresentam quadro hematológico bastante sugestivo, com presença de atipia linfocitária significativa e plasmocitose, mas sem linfocitose. Em situações nas quais sorologias são indisponíveis, esse conjunto de achados, apesar de não patognomônico, deve direcionar o raciocínio para essa hipótese diagnóstica.

155. CÉLULAS TREG E EXPRESSÃO DAS MOLÉCULAS DE SUPERFÍCIE NOS NEUTRÓFILOS E LINFÓCITOS EM IDOSOS

Lopes AB^a, Antunes RNS^a, Fukasawa JT^a, Cavaretto DA^a, Lopes LB^b, Calamita Z^a

^a Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA), Marília, SP, Brasil

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

Introdução: Imunossenescência é um estado de remodelagem do sistema imunológico, provocado pelo envelhecimento, que afeta o sistema imune inato e adaptativo. Atinge principalmente a imunidade adaptativa, e as alterações estão associadas ao declínio progressivo da função imunológica e aumento da suscetibilidade a infecções e doenças autoimunes. Assim, a imunossenescência pode alterar a função de neutrófilos, linfócitos e células Treg e é relevante estudar a função dessas células. **Objetivo:** Estudar a expressão das moléculas de superfície CD11b, CD16b e CD64 nos neutrófilos, CD40 nos linfócitos B, CD154 nos linfócitos T e a análise quantitativa da subpopulação de células Treg, para verificar se existe diferença ao se comparar um grupo de idosos saudáveis com um grupo de adultos jovens. **Material e métodos:** Foram incluídas amostras de sangue de 50 idosos (≥ 60 anos) do ambulatório de geriatria da Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA), da terceira idade da União dos Aposentados e Pensionistas e do Sest Senat de Marília e de 50 jovens (grupo controle ≤ 35 anos) doadores de sangue do Hemocentro da FAMEMA. A citometria de fluxo foi usada para analisar a expressão das moléculas de superfície CD11b, CD16b e CD64 (neutrófilos), CD40 (linfócitos B CD19⁺), CD154 (linfócitos T CD3⁺), para analisar a subpopulação de células Treg (CD4/CD25/CD127^{low}) e para comparar a intensidade de média de fluorescência (IMF) entre os grupos pelo teste t (programa estatístico Graphpad). **Resultados:** Os dados foram analisados parcialmente. Foram 33 amostras do grupo idoso e 16 do grupo controle. O CD11b apresentou média de células positivas de 98,17% nos idosos x 97,26% nos jovens (p = 0,0310) e média de IMF de 1.570,70 nos idosos x 1.087,55 nos jovens (p = 0,2758). O CD16b apresentou média de células positivas de 99,76% nos idosos x 99,92% nos jovens (p = 0,1833) e média de IMF de 1.316,79 nos idosos x 1.517,55 nos jovens (p = 0,0326). O CD64 apresentou média de células positivas de 100% nos idosos e jovens e média de IMF de 15,45 nos idosos x 16,47 nos jovens (p = 0,4270). O CD40 apresentou média de células positivas de 97,02% nos idosos x 99,79% nos jovens (p = 0,4397) e média de IMF de 128,19 nos idosos x 136,97 nos jovens (p = 0,1832). O CD154 apresentou média de células positivas de 12,15% nos idosos x 21,97% nos jovens (p = 0,0054); a IMF ainda não foi analisada. A subpopulação de células Treg (CD4/CD25/CD127^{low}) apresentou média de células positivas de 6,16% nos idosos x 5,81% nos jovens (p = 0,5270) e média de IMF de 17,44 nos idosos x 15,91 nos jovens (p = 0,2951). **Conclusão:** A análise parcial dos resultados mostra diferença significativa na expressão das moléculas CD11b, CD16b e CD154. A molécula CD11b está envolvida com a fagocitose e adesão dos neutrófilos, sua expressão aumentada nos idosos pode sugerir um estado de maior ativação e pode resultar em um quadro de inflamação crônica. Por outro lado, a expressão diminuída das moléculas CD16b e CD154

pode implicar prejuízo das funções do sistema imune adaptativo, já que estão envolvidas com a ligação dos imunocomplexos nos neutrófilos e com a coestimulação/proliferação dos linfócitos B pelos linfócitos T ativos, respectivamente. Espera-se, com a análise completa dos dados, compreender melhor as alterações das moléculas de expressão nos neutrófilos/linfócitos T e B e subpopulação de células Treg que ocorrem com a imunossenescência.

156. SEPSE EM PACIENTE COM NEUTROPENIA FEBRIL: ABORDAGEM CLÍNICA E HISTOPATOLÓGICA

Silva TB^{a,b}, Mendona GRA^{a,b}, Fiusa MML^{a,b}, Alves BE^{a,b}, Hubert RME^{a,b}, Rodrigues MV^{a,b}, Annichino-Bizzacchi JM^{a,b,c}, Vassallo J^{a,b}, Rogério F^{a,b}, Paula EV^{a,b,c}

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

^b Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

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

Introdução: Sepsis em pacientes com neutropenia febril é uma condição grave e potencialmente letal. Atualmente, a disfunção orgânica é atribuída a uma resposta exacerbada do sistema imune à agressão causada pelo patógeno. Evidências recentes demonstram que neutrófilos e plaquetas participam do mecanismo de dano tecidual por meio da formação de NETs (*neutrophil extracellular traps*), responsáveis pela contenção do foco infeccioso, como parte do processo denominado "imunotrombose". Embora a gravidade da sepsis em pacientes com neutropenia e trombocitopenia esteja bem descrita, os mecanismos de lesão tecidual não foram bem elucidados. **Material e métodos:** Para investigar os mecanismos da lesão tecidual em pacientes com neutropenia/trombocitopenia, coletamos dados de duas coortes prospectivas em nosso serviço (A: neutropênicos, n = 129; B: não neutropênicos, n = 30). Além disso, revisamos 16 necropsias de indivíduos com neoplasias hematológicas e choque séptico (C, n = 16). As lâminas de pulmões, fígado e rins foram criteriosamente analisadas por um pesquisador e revisadas por dois patologistas experientes, todos cegos quanto à presença de neutropenia. Em cada órgão, caracterizamos três principais lesões orgânicas: microtrombos, colônias bacterianas e infiltrado inflamatório. A inflamação só foi considerada em órgãos sem infiltração neoplásica. **Resultados:** Na coorte A, a contagem de neutrófilos foi < 100/mcL em 55,8% dos pacientes e entre 100-500/mcL em 42,6%. A média do Sofa da admissão foi 4 e 5 em neutropênicos e não neutropênicos, respectivamente, e a mortalidade foi de 22,5% e 10,3% nos mesmos grupos (p = 0,9). Entre os pacientes com Sofa >11, a mortalidade foi maior entre os neutropênicos (100% vs. 33,3%; p = 0,04). A evidência clínica de foco infeccioso foi de 60% na coorte A e 100% na coorte B (p = 0,0001). Em contraste, hemoculturas positivas estavam presentes em 38% dos neutropênicos e em apenas 3,3% dos não neutropênicos (p < 0,0001). O estudo das necropsias incluiu 10 pacientes com linfoma e seis com leucemia. A causa de morte foi choque séptico e três pacientes apresentaram neutropenia severa (< 500/mcL). Em neutropênicos, havia microtrombos em 33% nos pulmões e rins, em comparação com 56,25% nos pulmões, 25% nos rins e 6,25% no fígado em pacientes não neutropênicos. Dentre os neutropênicos, 50% apresentaram inflamação leve nos pulmões e 50%, intensa. Não foram encontrados infiltrados inflamatórios nos rins ou no fígado nesses pacientes. Entre os não neutropênicos, 90%, 43% e 67% dos casos apresentaram inflamação leve ou intensa nos pulmões, rins e no fígado, respectivamente. O único paciente neutropênico que apresentou microtrombos era portador de LMA-M3 e leucoestase. Com a coloração H&E, nenhuma colônia bacteriana foi encontrada. **Conclusões:** Como esperado, pacientes sépticos com neutropenia severa apresentaram um pior prognóstico se comparados com não neutropênicos. Além disso, a menor frequência de foco infeccioso, acoplada à maior frequência de hemoculturas positivas em neutropênicos, pode sugerir que esses pacientes apresentem defeitos na capacidade de compartimentalização das infecções, como em modelos animais com deficiência na formação de NETs, da função plaquetária e da homeostasia. Neutropenia severa e trombocitopenia foram compatíveis com os infiltrados inflamatórios e trombos microvasculares nos pulmões, embora os microtrombos só tenham sido observados no paciente com leucoestase.

157. PERFORIN, GRANZYME B, AND FAS EXPRESSION IN HEMOPHAGOCYTTIC LYMPHOHISTIOCYTOSIS: CASE REPORT

Garcia FB, Souza BMB, Oliveira LR, Moraes-Souza H

Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba, MG, Brazil

Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) is a rare and potentially fatal syndrome caused by excessive activation of lymphocytes and macrophages that produce high levels of cytokines. It is believed that the proliferation of these cells is the result of dysfunction in apoptosis and cytotoxicity of cytotoxic T lymphocytes (CTLs) and natural killer cells (NK). Here, a case of a 48-year-old male patient with a recent diagnosis and on antiretroviral therapy is reported. He was admitted for investigation of infectious etiology with daily fever for three weeks (38.5°-39°C), appetite loss, nausea, weight loss of 4 kg in the previous month, generalized myalgia, and history of optic neuritis in the right eye caused by cytomegalovirus. He was diagnosed with HLH justified by the clinical condition of fever, splenomegaly, cytopenias (RBC 2.27 x 10⁶/mm³, Hb 6.60g/dL, platelet count 51,000/mm³), hipofibrinogenia (116 mg/dL), hyperferritinemia (10,868 ng/mL), and hemophagocytosis in bone marrow aspirate. Immunosuppressive treatment with intravenous dexamethasone 10 mg/m² and etoposide 150 mg/m² (initial therapy HLH 2004 protocol) was proposed. Other viral, bacterial, and fungal infections, rheumatological diseases, and cancers were extensively investigated and excluded. From the first day of treatment onwards, the patient was afebrile, with clinical and laboratory improvement. The quantification of gene expression of perforin, granzyme B, and Fas in patients with HLH cDNA was performed before the immunosuppressive treatment, using a control group of 22 healthy individuals. It was observed that the patient had a lower expression of perforin ($\Delta\Delta Ct$ 0.009 vs. 0.14) and increased expression of Fas ($\Delta\Delta Ct$ 0.06 vs. 0.02) when compared with the control group. There were no differences in the expression of granzyme B ($\Delta\Delta Ct$ 0.02 in both groups). NK cells and CTLs both rely on the Fas-FasL (Fas ligand) system and the secretion of lytic granules containing granzyme and perforin to kill virus-infected and malignant cells. Serum FasL concentrations were reported to be elevated in several HLH patients, and its level is closely related to the disease status. These results indicate that cytotoxic cells are activated in HLH and that the Fas-FasL system plays a role, at least in part, in their pathophysiology. This would justify the increase in Fas levels observed in the patient. HIV-specific CTL responses are detectable shortly after the acute phase of HIV infection, but they cannot control viral replication and prevent development of chronic immune suppression. A defect in the expression of perforin in CD8+ T cells in lymphoid tissue from patients with acute HIV infection has been described. This suggests that the mechanisms inhibiting CTL-mediated cytotoxicity are operative in lymphoid tissue early in the course of HIV infection. A defect in the production or expression of cytolytic effector molecules in T and NK cells involved in the killing of infected cells could result in persistence of replicating HIV cells. The identification of factors responsible for low perforin expression may lead to the development of new therapeutic strategies aimed at restoring cytotoxic T cell function in patients with HLH and HIV infection. **Funding:** Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

158. PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA TROMBÓTICA (PTT): RELATO DE CASO

Pereira LP^{a,b}, Silva IV^{a,b}, Ferreira VHS^{a,b}, Neto GCP^{a,b}, Franco B^{a,b}, Tokeshi RN^{a,b}, Souza KJ^b, Bressa RC^{a,b}, Bressa JAN^{a,b}

^a Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil

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

Introdução: A púrpura trombocitopênica trombótica (PTT) é uma patologia rara que atinge frequentemente mulheres na faixa de 30 e 40 anos, e se não houver tratamento adequado, leva ao óbito em períodos muito curtos. Clinicamente, a PTT caracteriza-se por anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia acentuada, alteração neurológicas, insuficiência renal e febre; pode haver surgimentos de pequenos pontos avermelhados na pele, hemorragia de vasos sanguíneos e equimoses. Os sintomas estão relacionados à presença de trombos ricos em plaquetas e fator de Von Willebrand na microvasculatura do organismo, e associados à deficiência funcional grave da ADAMTS13. São conhecidas duas formas de PTT: hereditária e autoimune, a segunda a mais comum. Não há testes específicos para o diagnóstico da doença; porém, quando há suspeita clí-

nica fazem-se testes de rastreamento e exclusão de outras possíveis causas de trombocitopenia. O tratamento mais usado, independentemente da etiologia, é feito por meio da troca do plasma, que basicamente se constitui em plasmáfereze e infusão de plasma fresco congelado ou de sobrenadante do crioprecipitado. **Relato de caso:** Descreve-se o caso de um paciente do sexo masculino, 57 anos, o qual se apresentou inicialmente com queixas de fraqueza muscular em MMII, diarreia e hematúria. Portador de artrite reumatoide havia 12 anos. Negava outras condições patológicas. Tomava imunossuppressores de forma irregular. Os exames laboratoriais iniciais mostravam hemoglobina de 5,7 g/dL, plaqueta de 9 K/μL e aumento de escórias nitrogenadas. Iniciou-se plasmáfereze três dias após internação e foi mantida durante dois meses com gradativa elevação das plaquetas; após a última plasmáfereze, encontrava-se com hemoglobina de 10,0 g/dL e plaquetas de 110 K/μL. O tratamento foi acompanhado do uso de prednisona e, durante esse período, ocorreram episódios de rebaixamento no nível de consciência. Foi feito IDT + VM + sedação, com picos febris e crises convulsivas. Após receber alta hospitalar, foi encaminhado para a reumatologia. **Discussão:** Pode-se dizer que tal caso é notável, uma vez que se trata de uma doença rara que atinge o grupo de menor incidência, o masculino. Somando-se a isso, o quadro apresentou características predominantes da idade adulta com envolvimento sistêmico, sobretudo do sistema nervoso central, formação intermitente de microtrombos e sinais neurológicos flutuantes. Como no caso relatado, a trombocitopenia frequentemente é inferior a 30 K/μL, é comum a presença de febre e a ocorrência disfunção renal, geralmente cursando com proteinúria e hematúria microscópica. Conclui-se ainda que a PTT tem origem autoimune devido à coexistência de artrite reumatoide. Para tanto, foi usada prednisona, que auxiliou no combate à produção de autoanticorpos. Além disso, logo que diagnosticada, iniciou-se o tratamento com plasmáfereze, que resultou na melhoria do paciente em pouco tempo. Após dois meses de tratamento, a quantidade de plaquetas alcançou níveis normais. **Conclusão:** Os sintomas foram compatíveis com os encontrados na literatura e, assim como indicam os estudos, o prognóstico é favorável quando feita a terapia com plasmáfereze.

159. INVESTIGAÇÃO DE ALTERAÇÕES GENÉTICAS ASSOCIADAS AO METABOLISMO DE XENOBIÓTICOS EM CRIANÇAS DO MUNICÍPIO QUILOMBOLA DE SÃO FRANCISCO DO CONDE (BA)

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

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

^b Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brasil

Introdução: São Francisco do Conde é um município baiano remanescente de quilombos. Fica a 67 km de Salvador, com uma população de aproximadamente 40 mil habitantes. Nessa cidade ainda se observa uma forte cultura afro, introduzida na região pelos escravos trazidos da África na época do Brasil colônia. Na região do município existe uma refinaria de petróleo que garante a São Francisco do Conde o maior produto interno bruto nacional. **Objetivo:** Avaliar polimorfismos genéticos comumente associados a enzimas metabolizadoras de xenobióticos e relacioná-los ao perfil hematológico em crianças do município quilombola. **Material e métodos:** Foram investigadas 900 crianças entre julho de 2013 e novembro de 2014, com o consentimento dos responsáveis legais, e se investigaram o perfil hematológico e polimorfismos para os genes *GSTT1*, *GSTM1*, *NQO1*, *MPO* e *CYP2E1* pela reação em cadeia da polimerase (PCR). **Resultados e discussão:** Entre as 900 crianças investigadas, 417 (46%) do sexo feminino e 483 (54%) do masculino e mediana de 9 anos (6-12), 32 (3,5%) apresentaram leucopenia, com média de leucócitos de ($x = 3,51 \times 10^3/\text{mL} \pm 0,66$), que foram pareadas com 57 crianças da mesma faixa etária e etnia, que apresentaram ($x = 7,06 \times 10^3/\text{mL} \pm 1,89$). A contagem de plaquetas foi estatisticamente significativa nos leucopênicos quando comparada à do grupo controle ($p = 0,0053$). Entretanto, não houve diferença significativa na contagem de hemácia ($p = 0,72$). Ao se analisarem os polimorfismos relacionados aos genes *MPO*, *CYP2E1* e *NQO1* e a ausência dos alelos *GSTTM1* e *GSTT1*, observamos que a presença dos alelos variantes pode inibir a atividade de enzimas responsáveis pela metabolização de xenobióticos. **Conclusão:** Considerando que a população do estudo é remanescente de quilombos, o que pode apresentar características hematológicas alteradas devido à origem étnica, a presença de polimorfismos que modifiquem a resposta à exposição ambiental aos derivados policíclicos pode ser considerada como fator potencializador

dessas alterações. Necessita-se de políticas públicas que incentivem a prevenção da saúde da comunidade de maneira geral.

160. MYELOPEROXIDASE DEFICIENCY MANIFESTED AFTER BARIATRIC SURGERY

Barbosa AA, Silva RNC, Grumach AS

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

Introduction: Myeloperoxidase (MPO) deficiency is recognized as one of the most prevalent inherited phagocyte defects, occurring in 1:2,000-3,000 healthy individuals in North America and Europe. No prevalence studies are available in Brazil. MPO is highly present in azurophilic granules of neutrophils and in the lysosomes of monocytes, and plays an essential role in amplifying the toxicity of hydrogen peroxide generated by the respiratory burst reactions. Recurrent *Candida* infections have been reported predominantly in MPO-deficient patients who also have diabetes mellitus. There is no specific treatment for MPO deficiency, although symptomatic patients undergo prophylactic antibiotic and/or antifungal therapies. **Case report:** MSB, a 36-year-old female, was referred to immunological investigation due to episodes of pneumonia (seven times), septicemia (one time), sinusitis (twice/year), and candidiasis in the previous year. She underwent bariatric surgery approximately five years prior, followed by bilateral deep venous thrombosis with anasarca and pulmonary embolism. After hospital discharge, she developed oral abscesses with sequential tooth loss (11 teeth). During the last hospitalization, she presented systemic candidiasis and genital and labial herpes, with no response to antibiotics. Laboratorial evaluation showed thrombophilia (low proteins S and C) and MPO deficiency. Familial history evidenced several members with gastrointestinal cancer, including early death. **Conclusion:** MPO deficiency is frequent but it is usually detected in association with diabetes. Bariatric surgery was the triggering factor for the symptoms. This situation has not been reported before, and it is necessary to establish therapy for these patients.

161. COMO EVITAR A TRANSMISSÃO VERTICAL DO HIV

Dâmaso KLS

Universidade Paulista (UNIP), São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: Fazer uma revisão da literatura sobre as principais formas de prevenção da transmissão vertical do HIV e destacar as principais ações que estão sendo feitas pelo Sistema Único de Saúde no Brasil para diminuir tal transmissão. **Material e métodos:** Uma revisão integrativa da literatura foi feita por meio de artigos originais sobre transmissão vertical do HIV e bancos de dados do Ministério da Saúde. As buscas bibliográficas foram feitas na Biblioteca Virtual em Saúde e em bases de dados como SciELO e PubMed. Os dados usados foram de pesquisas publicadas entre 2006 e 2015. **Resultados:** Estima-se que, no Brasil, 12.456 neonatos sejam expostos ao HIV por ano. Um dos agravantes para o aumento da transmissão vertical é o processo de “feminização do HIV”, em que grande parte das mulheres infectadas está na idade reprodutiva. O Ministério da Saúde oferece um síncrono de medidas a serem efetuadas no pré-natal, durante o parto e puerpério de mulheres soropositivas para o HIV. Entre os principais métodos estão o uso de antirretrovirais desde a 14ª semana de gestação, o uso de inibidores de transcriptase reversa (zidovudina) no período do trabalho de parto, execução de parto cesáreo, se necessário indicar o uso de antirretrovirais por via oral para os recém-nascidos que sofreram exposição, retirar a lactação do neonato até a 42ª semana e fornecer a fórmula infantil até o sexto mês. Tais medidas, quando executadas sob total recomendação médica, reduzem a porcentagem de transmissão vertical do HIV de 35% para 1% e 2%. Assim, para se evitar o aumento de novos casos de transmissão vertical pelo HIV, é necessária maior fiscalização das ações que estão sendo tomadas no Brasil em relação a esse problema de saúde pública. Além disso, se faz necessário um melhor delineamento do perfil socioeconômico, demográfico e obstétrico das gestantes soropositivas, a fim de se verificar os reais riscos de contaminação do feto. **Conclusão:** Há uma grande necessidade de se investir em trabalhos e projetos que levem informações de simples entendimento às pessoas leigas. Conforme observado no presente estudo, as maneiras de se prevenir a transmissão vertical do HIV não são tão complexas. Todavia, as consequências delas podem ser graves. Portanto, quanto mais houver divulgação desses resultados, mais a população e o Estado brasi-

leiro poderão se beneficiar. **Palavras-chave:** HIV; Gestantes; Transmissão vertical; Prevenção.

162. CORRELAÇÃO DO GENE AMPD1 COM PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E HEMATOLÓGICOS DE MILITARES EM TREINAMENTO FÍSICO INTENSO

Bacha TJ^a, Oliveira MAA^b, Carneiro JS^c, Brito RS^c, Martins AMA^a, Araújo ROV^b, Gonçalves MS^d, Neto JPM^b

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

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

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

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

São atribuídos ao treinamento e à nutrição adequada papéis fundamentais no alcance de altos níveis de desempenho físico militar. Nos últimos anos é crescente o número de pesquisas que tentam elucidar prováveis fatores genéticos favoráveis ao rendimento físico. O gene *AMPD1* (adenosina monofosfato desaminase) tem sido demonstrado como moderador indispensável no catabolismo de nucleotídeos de adenina dos músculos esqueléticos, principalmente por envolver fibras musculares tipo II, que exerce um papel importante na produção de energia muscular. O objetivo do estudo foi avaliar a possível associação entre o polimorfismo *AMPD1* e as variações bioquímicas e hematológicas de militares durante três meses de treinamento intenso. A população de estudo foi de 230 militares que participaram do Curso de Operações na Selva em 2013. A primeira coleta (1C) foi feita antes no início do treinamento, a segunda (2C) após 45 dias e a terceira (3C) ao término do treinamento. Como parâmetros bioquímicos foram avaliados as enzimas creatina quinase, ácido úrico, sódio, potássio, lactato desidrogenase, transaminase glutâmico-oxalacética, transaminase glutâmico-pirúvica, gama glutamil transferase (GGT), ureia, creatinina, colesterol total (col T), frações do colesterol HDL, LDL e VLDL, bilirrubinas (BIL). A análise estatística foi feita no programa SPSS versão 22. Como resultado, coeficientes de correlação foram encontrados para diversas associações e os com maior poder de correlação foram para: GGT (3C) $p = 0,041$, col T (1C) $p = 0,011$; LDL (1C) $p = 0,022$; BIL $p = 0,025$; leucócito (3C) $p = 0,047$. Embora um padrão genético específico não garanta, por si só, um ótimo desempenho físico de um indivíduo, o melhor conhecimento do genótipo poderá, além de aperfeiçoar treinamentos físicos, melhorar a recuperação de militares e atletas que desempenham uma intensa atividade física. Contudo, são necessárias novas pesquisas científicas para esclarecer a alta performance e qualidade de indivíduos expostos a esforços físicos extenuantes.

HEMOSTASIA E PAREDE VASCULAR: BIOLOGIA

163. INIBIÇÃO DA ANGIOGÊNESE NA HIPERPLASIA ENDOTELIAL: HEMANGIOMATOSE NEONATAL DIFUSA TRATADA COM PROPRANOLOL

Bocchese AFA^a, Manfroi G^a, Lorenzoni MC^b, Santos FP^a, Santiago P^{a,b}, Filho PM^c

^a Universidade de Passo Fundo (UPF), Casca, RS, Brasil

^b Hospital São Vicente de Paulo, Passo Fundo, RS, Brasil

^c Hospital da Cidade Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brasil

Introdução: A hemangiomatose neonatal difusa é uma doença rara, benigna, determinada pela presença de múltiplos hemangiomas cutâneos e extracutâneos. A corticoterapia é indicada para tratamento de hemangiomas, porém o uso do propranolol mostrou-se seguro e mais eficaz em induzir a regressão das lesões. **Objetivo:** Relatar o caso de hemangiomatose neonatal difusa em neonato tratado com propranolol. **Relato de caso:** Paciente do sexo masculino, 2 meses e 15 dias, encaminhado por paralisia de membro superior esquerdo, de início súbito. Mãe refere lesões nodulares, escuras e violáceas em regiões frontal,

frontoparietal e occipital, asa do nariz, antebraço direito e no dorso desde o nascimento, indolores e com aumento progressivo de tamanho. Após admissão, apresentou dificuldade à amamentação, com roncos nasais, evidenciou-se lesão expansiva e obstrutiva em narina direita. Passado obstétrico: G2 P0 C2 A0, gestação sem intercorrências, IG ao nascimento de 38 semanas. Foi submetido a biópsias excisionais de lesões dorsal e frontoparietal, com diagnóstico histológico de hemangiomas. TC de tórax evidenciou lesão expansiva em pulmão esquerdo compatível com hemangioma. RNM de crânio apresentou múltiplas lesões, infra e supratentoriais compatíveis com angiomas e lesão intranasal obstrutiva em narina direita. Exames laboratoriais evidenciaram anemia normocrômica e normocítica, hiperbilirrubinemia e DHL elevado. Ao exame físico, obstrução completa de narina direita por lesão vegetante e friável, lesão violácea de 2 mm em asa de narina direita, além de lesões nodulares entre 0,5 cm e 2 cm, de cor violácea-avermelhada distribuídas em antebraço direito, tórax, dorso, região occipital e frontal. Criança atenta, irritada, com pupilas isofotorreagentes, ausência de sinais focais. Paralisia espástica de membro superior esquerdo e reflexo de moro assimétrico. Foi submetida à corticoterapia sem alteração das lesões, suspensa para introdução de propranolol, na dose de 2 mg/kg. Após oito meses, houve redução significativa ou resolução completa das lesões cutâneas, com recuperação satisfatória da paralisia de membro superior esquerdo. Em RNM, os angiomas regrediram ou desapareceram e a lesão intranasal diminuiu, com restauração do fluxo aéreo. Em TC, hemangioma pulmonar manteve-se estável. Mãe não refere eventos adversos significativos. Em acompanhamento, apresenta bradicardia e desenvolvimento neuropsicomotor adequado. **Discussão:** Hemangiomas são tumores vasculares comuns da infância. Ocorrem devido à hiperplasia endotelial e têm três fases de evolução: proliferativa, de estabilidade e de regressão. A HND é diagnóstico quando hemangiomas acometem pelo menos três órgãos diversos, além da pele. O fígado é o local extracutâneo mais acometido, seguido do sistema nervoso central, trato gastrointestinal, dos pulmões, da cavidade oral e dos olhos. A patogênese envolve a rápida proliferação de massas de células endoteliais, que formam uma membrana basal multilaminada. A expressão de CD31, de fator von Willebrand e de proteínas na imunohistoquímica sugere origem vascular. O propranolol parece diminuir a expressão de VEGF e de bFGF e levar à apoptose endotelial, com inibição do crescimento e diminuição do volume do tumor mais efetivamente do que a corticoterapia. **Conclusão:** O propranolol parece ser eficaz na inibição da angiogênese endotelial e pode ser considerado para tratamento da HND.

164. ANÁLISE DO SNP IL-18 137 G/C NO ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO HEMORRÁGICO E NO ANEURISMA INTRACEREBRAL

Cavalcante APB^a, Deghaide NHS^b, Freire D^c, Ferreira LB^{c,d}, Donadi EA^b, Silva ICR^a, Cilião-Alves DC^{a,e}, Haddad R^a

^a Faculdade de Ceilândia (FCE), Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brasil

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

^c Centro Universitário de Brasília (UniCEUB), Brasília, DF, Brasil

^d Faculdades LS, Brasília, DF, Brasil

^e Faculdade de Ciências e Educação Sena Aires (FACESA), Valparaíso de Goiás, GO, Brasil

Introdução: O acidente vascular encefálico (AVE) é considerado uma das maiores causas de morte e dependência funcional no país e no mundo. O AVE é considerado hemorrágico (AVEH) quando é caracterizado pelo extravasamento de sangue dentro do cérebro ou entre o crânio e o cérebro. Tal evento pode ocorrer devido à ruptura de um vaso ou rompimento de um aneurisma. Os aneurismas são patologias vasculares que surgem como uma expansão anormal em uma porção da artéria devido à fraqueza dentro da parede do vaso. Estudos sugerem que a associação da interleucina-18 (IL-18) ocorre em várias patologias associadas a condições neuroinflamatórias, incluindo infecções microbianas, isquemia focal cerebral, degeneração walleriana e hipóxico-isquêmica e lesões cerebrais traumáticas (por exemplo, AVE). Além disso, recentes trabalhos têm associado variações em SNPs localizados na região promotora do gene da IL-18, (607C/G [rs1946518] e 137G/C [rs187238]) e a ocorrência de AVE isquêmico. **Objetivo:** Relacionar polimorfismos de IL-18 com a ocorrência

de AVE hemorrágico e aneurisma intracerebral, o que nunca foi feito. **Material e métodos:** A detecção dos polimorfismos do gene da IL-18-137C/G foi feita pela técnica PCR-SSP em amostras de pacientes que apresentavam aneurisma (n = 30), acometidos por AVEH (n = 43) e ainda indivíduos saudáveis (n = 67). Após o cálculo das frequências alélicas e genotípicas de cada grupo, foram usados testes estatísticos apropriados para cada tipo de comparação. **Resultados:** Os estudos revelaram que houve uma tendência de o alelo IL-18-137G ser fator de risco para aneurisma, apesar de não ser estatisticamente significativo. Ainda, com relação a avaliações de déficit neurológico e dependência funcional (escalas de Rankin e NIHSS e índice de Barthel), apesar de não serem estatisticamente significativas, os pacientes com o genótipo IL-18-137GG foram mais frequentes nas classificações de níveis relacionadas ao maior comprometimento, enquanto o genótipo IL-18-137CC foi mais frequente nas escalas de menor comprometimento. **Conclusão:** Apesar de o polimorfismo IL-18-137C/G não apresentar resultados estatisticamente significativos, observamos certa tendência ao genótipo IL-18-137GG no risco para aneurisma. Além disso, esse genótipo foi mais frequente nos maiores níveis de déficit neurológico e dependência funcional, o que talvez possa se comprovar por meio de estudo com número maior de indivíduos. **Palavras-chave:** Polimorfismo; Interleucina-18; Citocinas; Acidente vascular encefálico hemorrágico; Aneurisma.

165. ABO BLOOD GROUP AND AGE ARE RELATED WITH PLASMA VON WILLEBRAND FACTOR AND ITS PROPEPTIDE IN HEALTHY INDIVIDUALS

Soares RPS^a, Nascimento NM^b, Seguro LPC^c, Neto EFB^c, Bydlowski SP^b

^a Fundação Pró-Sangue, Hemocentro de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

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

^c Hospital da Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

Background: Von Willebrand factor (VWF) is an adhesive plasma glycoprotein that performs hemostatic functions. Circulating mature VWF is a multimeric protein: each subunit contains 12 N-linked and 10 O-linked oligosaccharide chains. This protein is synthesized as pre-pro-VWF and contains a signal peptide, a propeptide known as VWF:AgII, and a mature subunit. The mature VWF and the propeptide both are secreted in equimolar quantities, but have different half-lives. In fact, the VWF level is also directly correlated with thrombosis risk and inversely with bleeding risk in the healthy population. Plasma VWF concentration is influenced by numerous factors, including the ABO blood group system. The same oligosaccharide structures of the ABO system have been identified on the oligosaccharide chains of the N-terminal region of VWF. Conversely, as the VWF propeptide appears not to be influenced by the ABO system, it could be an important marker in the investigation of endothelial cell injury in conjunction with mature VWF. **Aim:** The present study was performed in healthy subjects to evaluate the role of ABO system and age on plasma VWF:Ag and VWF:AgII levels and in the VWF:Ag II/VWF:Ag ratio. **Subjects and methods:** This was a cross-sectional study that included 80 healthy subjects (19 males, 61 females; age: 19 to 84 years), blood donors at the Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo. Plasma VWF:Ag and VWF:AgII were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). VWF:AgII was measured by a in-house ELISA, using monoclonal antibody CLB-PRO35 and CLB-PRO 14.3 coupled to peroxidase. Results were expressed as U/dL and %, respectively. **Results:** Subjects were classified according to their ABO blood group as "O" (40) and "Non-O" (40). The antigenic concentration of VWF:Ag was significantly increased in the group "Non-O" in relation to "O" (71 ± 13 vs. 65 ± 12 IU/dL, respectively; $p = 0.0201$). There was no significant difference in the concentration of VWF:AgII between the "O" and "Non-O" groups ($78\% \pm 22\%$ vs. $72\% \pm 26\%$, respectively; $p = 0.2833$). The ratio of VWF:AgII/VWF:A was significantly increased in the group "O" in relation to "Non-O" (1.24 ± 0.38 and 1.01 ± 0.28 , respectively; $p = 0.0080$). The 80 donors involved in the study were classified according to the age (19-30, n = 15; 31-40, n = 22; 41-50, n = 20; and 51-84, n = 23). There was no significant difference in the concentration of VWF:Ag among these groups (66 ± 13 , 67 ± 16 , 65 ± 11 , 72 ± 11 IU/dL, respectively; $p = 0.3151$). The antigenic concentration of VWF:AgII was significantly increased in the age group 51-84 when compared to group 19-30 (83 ± 21 vs. 67 ± 17 %; $p = 0.0487$), respectively. The ratio of VWF:AgII/WF:Ag was significantly increased in the group 51-84 in relation to 31-40 (1.24 ± 0.28 and $0.98 \pm$

0.32 , respectively; $p < 0.1$). **Conclusions:** The present results indicate that the ABO system is related to the antigenic concentration of mature VWF and not to the concentration of the propeptide VWF:AgII. Moreover, it was observed that plasma levels of VWF:AgII are age related. Further studies are needed to better understand this potential relationship and underlying mechanisms. Nevertheless, they could be important in several vascular pathophysiological processes.

166. INFLUÊNCIA DA HEMÓLISE NOS TESTES DE HEMOSTASIA

Martins ECS, Braga JM, Oliveira CF, Pintão MCT

Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A presença de hemólise pode interferir nos resultados dos testes de hemostasia tanto por questões analíticas, como tipo de exame, leitura óptica etc., quanto biológicas, pela liberação de proteínas e fosfolípidos de membrana. O Instituto de Padronizações Clínicas e Laboratoriais (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) e o Colégio Americano de Patologia (CAP) recomendam que amostras grosseiramente hemolisadas não sejam analisadas. Quando amostras com hemólise leve ou moderada forem analisadas, os resultados liberados devem ser acompanhados de nota que informe a presença de hemólise. Entretanto, não há consenso na literatura ou nos órgãos reguladores em relação aos índices hemolíticos que podem ser aceitos em cada situação. **Objetivo:** Avaliar a interferência da hemólise no resultado de parâmetros de avaliação do sistema hemostático. **Material e métodos:** Foram analisadas amostras de 36 indivíduos obtidas em centros hospitalares. As amostras foram incluídas quando a primeira estava hemolisada; e a segunda, não hemolisada, foi obtida em até no máximo duas horas após a entrada da primeira. O plasma foi congelado em até uma hora após a entrada no laboratório e armazenado em freezer -70°C até a feitura dos testes. Os testes foram feitos no equipamento STAR Evolution (Diagnostica Stago) e todos os pares foram analisados no mesmo dia. Os exames feitos foram: tempo de protrombina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa), dosagem da atividade dos fatores V (FV) e VIII (FVIII), antitrombina (AT) e dosagem de dímeros D (DD). Os resultados foram analisados no programa EP Evaluator[®]. **Resultados:** O grau de hemólise das amostras variou de uma a quatro cruzes e houve concordância entre os colaboradores do setor. Os resultados obtidos foram (média \pm DP; não hemolisadas e hemolisadas, respectivamente): TP $14,3 \pm 2,4$ e $14,2 \pm 2,0$ seg; TTPa $36,1 \pm 7,7$ e $34,5 \pm 6,4$ seg; FVIII 194 ± 115 e $206 \pm 112\%$; FV 94 ± 27 e $97 \pm 24\%$; AT $98 \pm 16,6$ e $98 \pm 16,5\%$; DD: 1.545 ± 2.634 e 1.606 ± 3.646 ng/mL FEU. A análise global não mostrou diferenças significativas entre os resultados. Entretanto, houve um discreto encurtamento nos tempos do TP e do TTPa e discreto aumento nas dosagens de FVIII, FV e DD. **Conclusão:** Apesar de discreta, a tendência ao encurtamento dos tempos globais e aumento na dosagem de fatores e dímeros D é consistente com as alterações esperadas para amostras hemolisadas. Para garantir a qualidade dos testes, será necessária a análise de um número maior de amostras. A análise de subgrupos, de acordo com o grau de hemólise, pode ajudar a refinar os critérios de aceitação de amostras.

167. POLIMORFISMO 894 G/T DO GENE NOS3 E PROGNÓSTICO DE DOENÇA CELÍACA: ESTUDO DE CASO CONTROLE

Carvalho VR, Silva ICR, Pratesi R, Nóbrega YKM

Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brasil

A doença celíaca (DC) é classificada como uma enteropatia imunomediada que afeta o intestino delgado em pacientes com alelos predisponentes DQA1*05 e DQB1*02, formadores do gene HLA-DQ2, além dos DQA1*03:01 e DQB1*03:02, que constituem o gene HLA-DQ8, os quais codificam os heterodímeros do MHC de classe II, HLA-DQ2 e HLA-DQ8. Para um correto diagnóstico dessa enteropatia, deve-se basear não só no perfil genético, mas também em exames sorológicos e histológicos. Contudo, a diagnose de DC é de alta complexidade devido ao fato de que os sinais e sintomas não são patognomônicos para a patologia. Nesse sentido, polimorfismos no gene NOS3 poderiam ser um bom marcador não só para prognóstico, mas também como alvo terapêutico. Mais especificamente, o polimorfismo 894 G/T (s1799983) desse gene está relacionado a uma hipotatividade da enzima eNOS, o que gera uma disfunção endotelial na produção de óxido nítrico e tem como consequência a instalação de um quadro infla-

matório crônico característico de doenças autoimunes. Assim, o objetivo deste estudo foi verificar a frequência do polimorfismo 894 G/T do gene NOS3 e sua associação frequência e prognóstico de DC. Para este estudo, foram usadas amostras de DNA genômico extraído de sangue total de 50 pacientes predisponentes a DC (grupo caso) do Hospital Universitário de Brasília (HUB) e 147 indivíduos não portadores de doença crônica (grupo controle). O DNA extraído foi submetido à estratégia PCR-RFLP. Além disso, dados dos prontuários do grupo caso foram anotados: idade, sexo, perfil genotípico DQ e biópsia intestinal com classificação histopatológica de Marsh. Para as análises estatísticas, foi usado o teste do qui-quadrado em nível de significância de 5%; verificou-se também se a frequência genotípica no grupo controle aderiu ao equilíbrio de Hardy-Wienberg. A distribuição das frequências genotípicas do polimorfismo NOS3 894 G/T diferiu estatisticamente entre os grupos caso e controle ($p < 0,001$). No grupo de celiacos foi a seguinte: 42,2% apresentaram genótipo TT; 26,7% TG e 31,1% GG. Já no grupo controle, a distribuição foi, respectivamente: 14,9%, 46,8% e 14,9%. As frequências dos genótipos desse polimorfismo estavam em equilíbrio no grupo controle ($p = 0,680$). Por outro lado, a distribuição do polimorfismo estudado e o genótipo HLA-DQ não diferiram estatisticamente. Para o estudo do prognóstico, verificou-se a frequência genotípica tanto dos alelos do gene NOS3 quanto dos HLA-DQ, conforme os resultados de biópsia intestinal, e foi encontrada apenas uma associação entre o alelo DQB1*02:01 e o tipo de lesão encontrada. Portanto, um polimorfismo no éxon 7 do gene NOS3 pode estar associado com a presença da doença celíaca e definir esse marcador genético como um dos envolvidos na predisposição a DC, mas não com o prognóstico da patologia. Para consolidar este estudo, faz-se necessária uma amostragem maior de pacientes a serem estudados.

HEMOSTASIA E PAREDE VASCULAR: DOENÇAS DE PLAQUETAS

168. TROMBOCITOPENIA INDUZIDA POR LORAZEPAM

Barjas-Castro R^a, Martinelli BM^b, Colella MP^b, Barjas-Castro ML^b, Castro V^b

^a Faculdade de Medicina de Jundiaí (FMJ), Jundiaí, SP, Brazil
^b Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

Background/Case studies: Drug-induced thrombocytopenia (DITP) is a common cause of immune TP. Symptoms typically appear suddenly, the disorder is often severe, and it can result in major bleeding and death. Drug dependent antibodies (DDA) are an unusual class of antibodies that bind firmly to specific epitopes on platelet surface glycoproteins only in the presence of the sensitizing drug. These antibodies typically occur after exposure to a new drug for one to two weeks; however, they can also occur following intermittent use of a drug for an extended period. Drugs frequently involved include quinine, quinidine, and carbamazepine, among others. The diagnosis of DITP is frequently difficult, since the patient generally has other potential causes for TP, concomitantly. This report describes a rare case of lorazepam-induced TP. **Study design/Methods:** A 53-year-old female nulliparous patient, bearing a neuro-psychiatric complex congenital disorder, had been treated with diazepam, promethazine, lorazepam, and phenobarbital for over five years, and quetiapine for four months. The patient had a previous 30-year history of evolution of a controlled corticoid-dependent cutaneous autoimmune disorder – Duhring-Brocq dermatitis herpetiformis, non-gluten associated – upon daily use of 35 mg of prednisone, cutaneous bleeding symptoms initiated. BC counts revealed Hb: 15.1 g/dL, leucocytes: $7.78 \times 10^9/L$, and platelets: $3 \times 10^{11}/L$, MPV: 7.0 fL, PDW: 0.2. Since quetiapine had been recently introduced as therapy, DITP was suspected and blood samples were obtained for DDA research by flow cytometry platelet immunofluorescence test (FC-PIFT) in the absence or presence of each drug (1 mg/mL). **Results/Findings:** Serum FC-PIFT testing was negative ($R < 1.13$) in the absence of drugs or in the presence of phenobarbital. The test was positive when serum was tested against lorazepam ($R = 8.29$), diazepam ($R = 3.37$) and quetiapine ($R = 2.21$). As all drugs could not be withdrawn at once, due to the patients neu-

ro-psychiatric disorder, the drug with higher reaction intensity in DDA testing was first withdrawn. One week after lorazepam was interrupted, platelet counts increased to $30 \times 10^{11}/L$, and 21 days after, to $193 \times 10^{11}/L$; it has been maintained above $150 \times 10^{11}/L$ during the two month follow-up. A lorazepam DITP diagnosis was then strongly suggested. **Conclusion:** DITP diagnosis is complex and depends on the exclusion of other TP causes, exposure to suspected drugs, recovery after drug discontinuation, and recurrence after drug re-exposure. In the present report, almost all criteria were met, except for recurrence after drug re-exposure, as the bleeding risk of a patient with neuro-psychiatric complex congenital disorder is too high to permit this approach. It is notable that lorazepam is a frequently used drug; however, the relation to DITP is rare, with few cases reported in the literature.

169. SUCESSO TERAPÊUTICO COM USO DE RITUXIMABE EM RECIDIVA DE PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA TROMBÓTICA

Garcia TS^a, Santos MO^a, Siqueira GG^a, Santos AJO^b, Velano CEE^c

^a Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS), Belo Horizonte, MG, Brasil
^b Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, MG, Brasil
^c Hospital IMESA, Alfenas, MG, Brasil

Introdução: A púrpura trombótica trombocitopênica (PTT) é rara e apresenta evolução fatal se não tratada precocemente. Sua incidência chega a 3,7 casos/1.000.000 habitantes. Na grande maioria dos casos é idiopática e se apresenta de forma isolada na idade adulta com único episódio. É caracterizada por anemia hemolítica microangiopática e formação de trombos plaquetários na microcirculação que causam trombocitopenia. O tratamento convencional consiste na plasmaférese simultânea ou não à administração de glicocorticoides e no emprego de antiagregantes plaquetários. Porém, em casos agudos graves, refratários ou recaídas, terapêuticas adicionais, como corticosteroides, ciclofosfamida, azatioprina, vincristina, ciclosporina, imunoglobulinas em altas doses e esplenectomia podem ser necessárias. **Objetivo:** Relatar um caso de PTT com quatro recidivas e sucesso terapêutico após uso de rituximabe. **Relato de caso:** Paciente do sexo feminino, 47 anos, hipertensa, admitida na UTI por transferência de outro serviço com quadro de alteração do estado mental, urina escurecida, dispneia aos esforços, icterícia, hematêmese e melena. Veio com tomografia de crânio (sem alterações), tórax e abdome (apontando colelístopia calcúlosa, cisto renal à esquerda); exames laboratoriais: hemoglobina: 7,4 g/dL; hematócrito: 22,2; leucócitos: $17.930/mm^3$; plaquetas: $3000/\mu L$; DHL 1.755 UI/L; Coombs direto negativo; bilirrubina total: 4,79 mg/dL; direta: 1,21 mg/dL; indireta: 0,8 mg/dL. Ao exame físico: paciente grave, PA: 120/80 mmHg, FC: 80 bpm, STO2: 96%, icterícia, hipocorada, boa perfusão capilar, acianótica, afebril, sem linfadenomegalia palpável; aparelhos cardiovascular e respiratório sem alterações; gastrointestinal: abdome globoso, flácido, RHA+, dor à palpação em ponto cístico. Murphy, Blumberg e Giordano negativos. Sob a hipótese diagnóstica de PTT, foram solicitados novos exames laboratoriais. Tais resultados foram compatíveis com o diagnóstico de PTT. Foi iniciada pulsoterapia de três dias com metilprednisolona 1 g, indicada plasmaférese com troca de um volume/dia. No quarto dia de internação, iniciou-se prednisona 1 mg/kg/dia (60 mg/dia). Foram feitas 10 sessões de plasmaférese, sem intercorrências. Colelístase tratada com ceftriaxone e metronidazol por oito dias. Foi dada alta hospitalar no 14º dia de internação, com prednisona 60 mg/dia e acompanhamento ambulatorial. Nos sete meses seguintes houve quatro recidivas tratadas de forma semelhante. Na terceira recidiva confirmou-se a atividade da ADAMTS13 severamente reduzida. Na quarta recidiva, optou-se por iniciar rituximabe na dose de 375 mg/m²/semana/4 semanas, com boa aceitação da paciente. **Resultado:** Paciente evoluiu com remissão completa, mantida até o momento (dois meses). **Conclusão:** A PTT é grave e deve ser diagnosticada e tratada prontamente para uma melhor resposta terapêutica. Vários tratamentos vêm sendo empregados para diminuir sua mortalidade e morbidade. Embora a terapêutica convencional tenha aumentado a sobrevida dos pacientes, há um subgrupo que não alcança resposta completa. Sabe-se que o uso do rituximabe é descrito como benéfico em 93% dos casos tratados, com taxa de remissão completa superior a 90%, mantida com o passar do tempo e com tolerância excelente. Estudos clínicos multicêntricos e randomizados são necessários para esclarecer o papel do rituximabe no tratamento de primeira linha da PTT.

170. PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA IMUNE: EPISÓDIO AGUDO INICIALMENTE INTERPRETADO COMO DOENÇA ONCO-HEMATOLÓGICA

Alves DZA, Rodrigues JM, Menegati SFP, Mestieri BA

Centro Universitário Nossa Senhora do Patrocínio (CEUNSP), Itu, SP, Brasil

A púrpura trombocitopênica imune (PTI) é caracterizada pela produção de autoanticorpos que promovem a destruição de proteínas da membrana plaquetária. Essas plaquetas sensibilizadas são fagocitadas pelos macrófagos, acarretam diminuição dessa linhagem celular. Este estudo tem como objetivo evidenciar a importância de um diagnóstico fiel por meio de uma interpretação clínica e laboratorial bem-sucedida. O trabalho aborda um estudo de caso que apresenta resultados de exames juntamente com sinais e sintomas do paciente adquiridos por meio de dados fornecidos por uma clínica hematológica. O estudo se trata de uma PTI desenvolvida após um quadro infeccioso, ou seja, uma PTI aguda, na qual o nível plaquetário foi controlado e a resposta imunológica esperada foi atingida por meio de uso de imunoglobulina intravenosa no paciente. Inicialmente, a doença em questão foi comparada com um quadro leucêmico. Contudo, por meio de alguns exames laboratoriais, o médico pôde concluir o real diagnóstico. Também foram feitos exames sorológicos a fim de descartar doenças autoimunes como lúpus eritematoso sistêmico, já que esse consta no histórico familiar. Deste modo, é possível concluir que é essencial o entendimento de que diversas doenças podem apresentar características e sintomas em comum e que a diferenciação clínica e laboratorial correta pode auxiliar na qualidade de vida do paciente. **Palavras-chave:** Púrpura trombocitopênica; Plaquetas; Estudo de caso; Diagnóstico.

171. ESPLENECTOMIA COMO TRATAMENTO DA PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA IDIOPÁTICA NOS DIAS ATUAIS: ESTUDO DE ACOMPANHAMENTO AMBULATORIAL EM UM HOSPITAL TERCIÁRIO NO SUL DO BRASIL

Zaltron RF, Nervo M, Bose G, Teixeira BB, Pereira M, Soares TB, Burin M, Paiva MF, Daudt LE, Silla LMR, Lopes E

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: Patologia adquirida, a púrpura trombocitopênica idiopática (PTI) provoca por meio de mecanismos imunes a redução da meia-vida plasmática e da contagens de plaquetas. Com 50 a 100 casos por 100.000 pessoas/ano tem sintomatologia variável, desde um quadro assintomático até sangramentos do SNC, raros, mas responsáveis por boa parte da mortalidade. Quadro agudo com duração menor de seis meses que ao persistir é considerado crônico (em geral em adultos, pois crianças têm maior taxa de remissão). Se o corticoide é consagrado como primeira escolha, não há consenso sobre o tratamento da recaída: imunossuppressores, anticorpos monoclonais, fármacos TPO recombinantes e esplenectomia são opções. Essa última teve grande importância e foi amplamente usada, mas avanços recentes colocam em cheque seu papel, especialmente pelas complicações associadas. **Objetivo:** Avaliar a resposta da PTI à esplenectomia e suas implicações e relacionar resultados aos dados das demais opções terapêuticas de segunda linha. **Material e métodos:** Vinte e oito pacientes com diagnóstico clínico de PTI esplenectomizados de 2007 a 2010 no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) refratários ao corticoide e alguns (16%) também a outra terapia. Com idade média de 22,4 anos e predomínio do sexo feminino (68%), foram avaliados por cinco anos pós-operatórios (PO). O critério de inclusão foi fazer acompanhamento no HCPA; três excluídos por seguimento externo. Idade no diagnóstico e na esplenectomia, tempo do diagnóstico até cirurgia, sua modalidade e complicações PO, vacinas, tempo de remissão ou recaída, outros tratamentos usados e comorbidades foram avaliados. **Resultados:** PTI é responsável por 55% das esplenectomias de patologias benignas não traumáticas no HCPA. A maioria é diagnosticada nas primeiras duas décadas de vida (58%), e cirurgia feita antes dos 30 anos (72%), com tempo médio do diagnóstico até o procedimento de 2,2 anos. Via laparoscópica predomina (80%); 92% dos pacientes sem complicações PO, 4% com complicações tardias (pós-30 dias), 4% com complicações precoces (menos de sete dias PO), todas sem gravidade; 100% com esquema vacinal completo na cirurgia. Seguimento por cinco anos de 64% dos pacientes; dos demais, apenas cinco foram localizados (todos afirmam dificuldades logísticas e/ou financeiras para abandono).

O tempo médio de seguimento foi de 4,1 anos (alta ocorre com cinco anos PO). Dentro do acompanhamento, 92% permaneceram com resposta completa (acima de 150.000 plaquetas), 4% apresentaram recaída após seis meses e antes de cinco anos PO e 4% precoce antes de seis meses PO; todos esses com plaquetas acima de 50.000 e assintomáticos, sem tratamento atual. As comorbidades não apresentaram correlação estatística com os resultados. **Conclusão:** O baixo índice de complicações somado à eficácia dos resultados e ao menor custo em longo prazo se comparada com as demais opções terapêuticas (que apresentam benefícios semelhantes) faz da esplenectomia uma excelente opção para manejo da PTI refratária ao corticoide. Novos estudos são necessários para traçar o perfil do paciente com melhor benefício, as variáveis pesquisadas não são associadas aos resultados. Apesar da importância dos novos fármacos, em um cenário de escassez de recursos e com vistas a políticas públicas efetivas, a esplenectomia é uma opção segura, eficaz e com equivalência com as demais terapias.

172. TROMBOCITOPENIA IMUNE REFRATÁRIA ASSOCIADA A LEUCEMIA DE LINFÓCITOS T LARGE GRANULAR: RELATO DE DOIS CASOS

Fatobene G, Villaca PR, Okazaki E, Valim AKZ, Rocha TRF, Bellesso M, Pereira J, D'amico EA

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

Introdução: Leucemia de linfócitos T large granular (LGL-L) caracteriza-se pela expansão clonal de linfócitos T/CD3⁺ ou NK/CD3⁻. Linfocitose acima de 5,0 x 10⁹/L é observada em 60% dos pacientes, apesar de não haver elevação do número de linfócitos em uma proporção significativa de casos. A trombocitopenia pode ser encontrada em cerca de 36% dos pacientes. Juntamente com outras condições autoimunes, a LGL-L tem sido associada à trombocitopenia imune (PTI). **Relato de casos:** Caso 1: Mulher de 51 anos foi diagnosticada com PTI em 2007. Em 2008, sua contagem de plaquetas espontaneamente caiu para < 30 x 10⁹/L e cursou com sangramento menor. Após introdução de prednisona houve recuperação completa da contagem de plaquetas, mas durante o desmame do corticosteroide houve perda de resposta. Instituídas terapias de segunda e terceira linhas para PTI (cloroquina, danazol, colchicina e esplenectomia), que resultou em resposta de curta duração ou nenhuma resposta. Evoluiu com linfocitose (até 8 x 10⁹/L) de forma intermitente. Foi feita citometria de fluxo que revelou um aumento do número de LGL. O rearranjo clonal para o receptor de células T (TCR) foi positivo. Foi iniciada ciclosporina, o que possibilitou a retirada da prednisona. Desde então, apresentou contagem de plaquetas em média de 50 x 10⁹/L. Caso 2: Mulher de 54 anos apresentou petéquias e sangramento gengival menor em 2002. A contagem de linfócitos no sangue periférico foi de 2,9 x 10⁹/L e a contagem de plaquetas, 7 x 10⁹/L, sem outras citopenias. Ela foi diagnosticada como PTI e respondeu de forma não sustentada à prednisona e sem resposta às terapias de segunda e terceira linhas, mas não a danazol, cloroquina, colchicina, azatioprina, dapsona, ciclosporina e esplenectomia. Em 2011, linfocitose foi notada na avaliação de rotina. A citometria de fluxo demonstrou um aumento do número de LGL. Clonalidade de TCR foi positiva pela reação em cadeia da polimerase. Iniciou-se metotrexato e a paciente respondeu com sucesso a essa terapia. **Discussão:** Apresentamos dois diferentes relatos de casos de PTI associada a LGL-L em que havia dependência de corticosteroides. Terapias de segunda e terceira linhas mais comuns para PTI tiveram pouco ou nenhum impacto na contagem de plaquetas. No entanto, ambas as pacientes responderam com êxito a ciclosporina e metotrexato, o pilar do tratamento para LGL-L. **Conclusão:** Sugerimos considerar o diagnóstico de LGL-L em casos de PTI refratários e/ou dependentes de corticosteroides, mesmo na ausência de linfocitose ou outras citopenias.

173. CTO/PETRÓPOLIS: PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA CRÔNICA AGUDIZADA TRATADA COM ELTROMBOPAG (REVOLADE) E COM RESPOSTA DEPENDENTE DA DOSE: RELATO DE CASO

Duarte CM^a, Fraga C^a, Martins RV^b, Vin CL^b

^a Centro de Terapia Oncológica (CTO), Petrópolis, RJ, Brasil

^b Faculdade de Medicina de Petrópolis (FMP), Petrópolis, RJ, Brasil

Introdução: A púrpura trombocitopênica imune (PTI) é uma das causas mais comuns de plaquetopenia adquirida. Sua fisiopatologia está baseada tanto pela presença de autoanticorpos no sangue que diminuem a meia-vida plaquetária quanto pela diminuição da produção da mesma pela medula óssea. Esse conhecimento permitiu que o uso de medicamentos que estimulasse a produção plaquetária fosse instituído. O eltrombopag (Revolade®- GlaxoSmithKline-GSK) é um agonista do receptor da trombopoetina que induz o aumento da megacariocitopoese. Descreveremos o relato de caso de uma paciente com PTI crônica agudizada refratária que iniciou tratamento com eltrombopag e que somente obteve resposta com doses mais altas do que as recomendadas pela literatura. **Relato de caso:** MBS, sexo feminina, 24 anos, branca, assintomática, encaminhada para investigação em 06/08/2010 de plaquetopenia (43.000). Investigação diagnóstica (exames laboratoriais/radiológicos/medular) concluiu tratar-se de PTI. Espontâneo aumento da contagem –154.000 pqt/mm³. Em 03/07/2012, sem fator desencadeante associado, quadro agudo com metrorragia – 6.000 pqt/mm³. Instituído tratamento com metilprednisolona 1 g/3dias seguido de prednisona (1 mg/kg), sem resposta (15.000 pqt/mm³). Associada imunoglobulina (0,4 mg/kg/dia/5 dias), chegou a 228.900 pqt/mm³. Porém, em cerca de 30 dias, houve queda plaquetária. Devido ao alto risco cirúrgico (obesidade e asma), optou-se por solicitação de revolade às unidades públicas por meios judiciais. Em setembro de 2012, evoluiu com hemorragia de Joelhos bilaterais (5.000 pqt/mm³). Feita nova avaliação MO, concluiu por PTI. Ig venosa, chegou a 150.000 pqt/mm³ com retorno para 5.000 pqt/mm³ em cerca de 30 dias, quando iniciou rituximabe (375 mg/m²/4 doses), sem resposta. Em novembro do mesmo ano, iniciou revolade (50 mg/prednisona) após 30 dias de uso sem resposta – 4.000 pqt/mm³ e petéquias em > 70%, optou-se por associar Ig e metilprednisolona. No terceiro dia com 120.000 pqt/mm³, a paciente apresentou quadro de dor torácica aguda, foi diagnosticado TEP (TTO filtro de veia cava + heparina venosa). Quinze dias após: 9.000 pqt/mm³. Suspensão revolade e Ig e mantido prednisona. Feito contato com especialista internacional (Dr. Saleh). Disse que não poderia afirmar que o efeito trombótico seria do revolade. Iniciado uso de azatioprina/prednisona, porém também sem resposta e com muitos efeitos colaterais. Em fevereiro de 2013, decidiu-se pelo retorno do revolade e, como os dados de literatura permitem o uso de doses maiores para outras doenças como aplasia de medula óssea e a cliente apresentava alto IMC, a dose foi aumentada progressivamente até 100 mg, quando então houve estabilização do quadro –80.000 pqt/mm³, o qual persiste até os dias atuais. **Discussão:** Para o tratamento da PTI existem atualmente várias linhas, e a corticoterapia é a primeira escolha. No caso relatado, a paciente apresentava-se refratária a todos os tratamentos feitos e, impedida de fazer a esplenectomia, manteve uma contagem plaquetária inferior a 10 x 10⁹/L. Não houve resposta ao eltrombopag nas doses recomendadas na literatura para PTI, porém após duas semanas do uso em doses maiores a contagem plaquetária elevou-se a níveis quase normais. Isso sugere a biodisponibilidade para pacientes com IMC elevado e que reajustes de doses sejam necessários para que a resposta seja adequada.

174. A IMPORTÂNCIA DA PROVA DO LAÇO EM PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE DENGUE IGM REAGENTES

Lins NCO, Cardoso RT, Mattos NP, Savoldelli RD, Lereno SA, Salgado PB, Lucena RVL, Ogasuko DA, Sumita N, Loureiro G

Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A dengue, doença viral transmitida pelo artrópode *Aedes aegypti*, manifesta-se por sintomas como febre alta com início súbito, cefaleia, dor retroorbitária, artralgia e mialgia, iniciados cinco a seis dias após a inoculação do vírus. Nos quadros hemorrágicos, após o declínio da febre se iniciam sinais de alarme como dores abdominais e sangramentos e pode evoluir com insuficiência circulatória, choque e óbito. As manifestações hemorrágicas podem estar associadas à prova do laço (PL) positiva. A PL ou prova de fragilidade vascular fornece informação grosseira sobre a capacidade dos pequenos vasos de se conservarem intactos frente à ação traumática feita por garroteamento. Segundo o Ministério da Saúde, deve ser feita em casos suspeitos de dengue sem sinais de alarme ou choque e o resultado positivo em paciente sem outros fatores de risco modifica a classificação do grupo A, no qual o tratamento consiste em hidratação e acompanhamento ambulatorial para o grupo B. São indicados exames complementares e observação, além da hidratação. **Objetivo:** Verificar o valor clínico da PL em pacientes com dengue. **Material e métodos:** Foram incluídos pacientes com IgM reagente para dengue (teste rá-

pido, método imunocromático) que tinham resultado concomitante de PL e plaquetograma em dois hospitais de médio porte localizados no ABC paulista, de março a abril de 2015. **Resultados:** Foram avaliados 80 casos; 59 apresentaram plaquetopenia (< 150 x 10⁹/L), dos quais somente 13 tinham PL positiva (sensibilidade 22%). Dezoito pacientes apresentaram PL positiva, 13 deles com plaquetopenia (valor preditivo positivo 72%); porém, entre 62 com PL negativa, 46 apresentavam plaquetopenia (valor preditivo negativo 25%). **Conclusão:** É necessário cuidado ao avaliar o resultado da PL, uma vez que o resultado negativo não descarta a presença de plaquetopenia, bem como a possível evolução da dengue clássica para dengue hemorrágica.

175. GENOTYPING OF HUMAN PLATELET ANTIGENS IN IMMUNE THROMBOCYTOPENIA PATIENTS

Gomes JGB^a, Carmo JCD^b, Fantin C^b, Klippel PS^a, Cordeiro SC^a, Portela CN^{a,b}, Pinto RM^{a,b}, Fernandes AMDS^a, Weber SS^{b,c}

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

^b Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, AM, Brazil

^c Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil

Immune thrombocytopenic purpura (ITP) is an autoimmune disease characterized by thrombocytopenia due to human platelet antigens (HPA), which can lead to platelet destruction, and subsequent thrombocytopenia and several bleeding disorders. This study consisted of a genetic analysis of human platelet polymorphism in 36 patients (eight males and 28 females), median age of 33 years (range from 3 to 69 years) with ITP. The control group consisted of 200 blood donors (140 males and 60 females), ages ranged from 19 to 65 years, with an average of 36 years, from Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas. Platelet counts at ITP diagnosis varied from 3 to 140 x 10⁹/L (median of 48 x 10⁹/L). HPA-typing was performed by BeadChip microarray method in order to determine allelic variants of eleven HPA systems (HPA-1 to -9, HPA-11 and HPA-15). The allele frequencies were 0.944 for HPA-1a, 0.056 for HPA-1b, 0.847 for HPA-2a, 0.153 for HPA-2b, 0.555 for HPA-3a, 0.444 for HPA-3b, 0.805 for HPA-5a, 0.222 for HPA-5b, 0.9722 for HPA-9a, 0.028 for HPA-9b, 0.9722 for HPA-11a, 0.028 for HPA-11b, 0.486 for HPA-15a, and 0.513 for HPA-15b. Among the ITP individuals, no b allele of HPA-4, -6, -7, and -8 was identified. The ITP group showed a higher incidence of HPA-1a, HPA-3b, and HPA-5b alleles compared to the control group, which could be related to increased risk for ITP among analyzed patient groups. **Keywords:** Platelets; BeadChip; Thrombocytopenia; Alloantibodies; Alloimmunization. **Acknowledgements:** Programa de Apoio à Iniciação Científica no Amazonas (PAIC/FAPEAM 2015-2016), and Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM).

176. INCIDÊNCIA DE PLAQUETOPENIA NA TRIAGEM DA DENGUE E A EFETIVIDADE DA AÇÃO SOCIAL NO COMBATE À EPIDEMIA

Pessoto DS, Carvalho D, Ripoli S, Myazi MEL, Sibir BL, Costa AV, Pavan CP, Oliveira LAM, Loureiro G

Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Nos primeiros meses de 2015 foi decretada uma epidemia de dengue no Município de São Paulo. Mediante esse fato, a Secretaria Municipal de Saúde instalou algumas tendas nas regiões com maior incidência da doença entre a população, cujo objetivo era agilizar o diagnóstico e diminuir a espera no pronto atendimento. Cada tenda continha uma equipe multidisciplinar e um pequeno laboratório, ambos preparados para atender e diagnosticar os casos de dengue. O Grupo Fleury se responsabilizou por três desses laboratórios: Tenda da Lapa e Rio Pequeno (zona oeste) e Vila Manchester (zona sudeste). A dengue é uma doença infecciosa transmitida pelo mosquito *Aedes aegypti* e uma de suas características laboratoriais é a presença de plaquetopenia, ocasionalmente presente na dengue clássica, porém com maior associação com formas graves da doença. Dessa forma, usamos como teste de triagem o hemograma e avaliamos o parâmetro de plaqueta, devido à celeridade e simplicidade. **Objetivo:** Verificar a incidência de plaquetopenia em pacientes atendidos em três tendas de triagem na cidade de São Paulo. **Material e métodos:** De abril a maio de 2015 foram incluídos pacientes que procuraram as tendas, cujos sinto-

mas eram associados com dengue e fizeram hemograma. Foram considerados pacientes plaquetopênicos aqueles com contagem de plaquetas inferior a $100 \times 10^9/L$ e pacientes acentuadamente plaquetopênicos aqueles com contagem de plaquetas inferior a $50 \times 10^9/L$. Para feitura dos hemogramas foi usado o equipamento Sysmex XS-1000i. **Resultados:** Em 9.174 amostras, foram identificadas 1.548 (16,8%) com plaquetopenia, 188 (2%) acentuadamente plaquetopênicas. Houve diferença na distribuição do número de casos de plaquetopenia, maior na tenda de triagem na zona sudeste (Vila Manchester), com 21,4% das amostras. Nas tendas localizadas na zona oeste (Lapa e Rio Pequeno), a incidência de plaquetopenia foi de 13,4% e 20,1%, respectivamente. **Conclusão:** A instalação das tendas foi importante pois permitiu verificar a incidência e fazer a triagem de pacientes plaquetopênicos, que podem ser portadores de forma mais graves da doença e necessitam de tratamento rápido e adequado.

177. ASSOCIAÇÃO ENTRE VOLUME PLAQUETÁRIO MÉDIO AUMENTADO E PLAQUETOPENIA EM CASOS DE SUSPEITA DE DENGUE

Loureiro G, Pessoto DS, Oliveira LAM, Bassitt R

Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A dengue é uma doença viral sistêmica transmitida entre humanos pelo artrópode *Aedes aegypti*. Uma das características laboratoriais é a presença de plaquetopenia, ocasionalmente observada na dengue clássica, porém mais associada com formas graves da doença. O volume plaquetário médio é uma parâmetro obtido pelos contadores automatizados modernos, encontra-se elevado em situações de *turn-over* plaquetário aumentado. A etiologia da plaquetopenia na dengue é complexa e está também relacionada com destruição plaquetária por mecanismo imunológico. **Objetivo:** Verificar a associação entre plaquetopenia e volume plaquetário médio em pacientes com suspeita de dengue. **Material e métodos:** Em dois meses, durante a epidemia da doença na cidade de São Paulo, foram analisadas amostras de pacientes com suspeita de dengue e que procuraram atendimento em três tendas de triagem instaladas nas regiões oeste e sudeste da capital. Os hemogramas foram feitos no equipamento Sysmex XS-1000i. As amostras foram divididas em dois grupos. Foram consideradas amostras com plaquetopenia aquelas com contagem de plaquetas menor ou igual a $100 \times 10^9/L$. Foi calculado o volume plaquetário médio em fL de ambos os grupos e a diferença entre os grupos foi estimada por meio do teste t de Student para amostras não pareadas. Foi considerado significativo valor $p < 0,05$. **Resultados:** De abril e maio de 2015 foram analisadas 9.174 amostras, e 1.548 (16,8%) apresentaram plaquetopenia. No grupo com plaquetopenia (grupo 1), a mediana da contagem foi de $78 \times 10^9/L$ (9-100) e no grupo com contagem de plaquetas superior a $100 \times 10^9/L$ (grupo 2) a mediana foi de $183 \times 10^9/L$ (101-748). O volume plaquetário médio observado no grupo 1 foi de $110,6 \pm 0,27 \times 10^{-1}$ fL e no grupo 2 foi de $102,8 \pm 0,11 \times 10^{-1}$ fL ($p < 0,0001$). **Discussão e conclusão:** O mecanismo imunológico responsável pela plaquetopenia observada na dengue envolve também destruição plaquetária aumentada pela presença de anticorpos. O *turn-over* aumentado das plaquetas nesses casos induziria a liberação de plaquetas mais imaturas na circulação. Essas, em geral, têm volume superior ao das plaquetas “normais”. No presente estudo foi possível verificar diferença no volume plaquetário médio das amostras que apresentaram plaquetopenia em comparação com o grupo que não a apresentava, o que corrobora tal hipótese.

178. USO DO ELTROMBOPAG EM PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA IMUNOLÓGICA CRÔNICA PRÉ-ESPLENECTOMIA: RELATO DE CASO

Figueiredo SSLV^a, Etto LY^a, Freire VMM^b, Carvalho CG^b, Oliveira VTC^b, Barbosa CVB^b, Honfi SR^c, Galiza ES^d

^a Hemocentro da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil

^b Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba (FCMPB), João Pessoa, PB, Brasil

^c Faculdade de Medicina Nova Esperança (FAMENE), João Pessoa, PB, Brasil

^d Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB, Brasil

Introdução: A púrpura trombocitopênica imunológica (PTI) é um distúrbio hematológico em que autoanticorpos levam à supressão ou morte de megacariócitos na medula óssea ou articulam a destruição de plaquetas

no baço e no fígado e acarretam plaquetopenia isolada. Estudos epidemiológicos da doença estimam que a incidência seja de 1,6-2,7 casos e a prevalência, de 9,5-23,6, por 100.000 pessoas/ano. A ocorrência de sangramentos cutâneo-mucosos, apresentação típica, é mais significativa quando as plaquetas estão abaixo de $20.000/mm^3$. O tratamento convencional é à base de corticosteroides (padrão-ouro), imunoglobulina intravenosa ou imunoglobulina anti-D, com vistas a bloquear a destruição plaquetária. Em casos não responsivos à terapia inicial, podem-se fazer outros imunossuppressores e esplenectomia. Atualmente existe a possibilidade de uso de eltrombopag. O presente trabalho relata os benefícios do uso do eltrombopag na terapêutica da PTI crônica antes da esplenectomia. **Material e métodos:** Pesquisa de natureza qualitativa do tipo estudo de caso. **Relato de caso:** S.C.S., 43 anos, branca, casada, natural de João Pessoa (PB), atendida no Hemocentro de João Pessoa. Em 2006, foi evidenciada plaquetopenia grave ($3.000/mm^3$), com leucócitos e hemoglobina normais, e foi feito diagnóstico de PTI. Foi submetida a tratamento com imunoglobulina endovenosa 400 mg/kg/dia por cinco dias e prednisona oral 1 mg/kg/dia . Apresentou melhoria e permaneceu um ano sem tratamento específico. Em 2007, apresentou recaída, reiniciou tratamento com prednisona oral, com sucesso. Em 2008, a paciente engravidou, porém evoluiu com abortamento espontâneo, sem evidência de plaquetopenia. Em 2009, na segunda gestação, devido à plaquetopenia foi iniciada prednisona. Na época, investigou-se lúpus eritematosos sistêmico, mas essa hipótese foi afastada. Após a gestação, iniciou azatioprina 1 mg/kg/dia e manteve uso até 2012, quando a medicação foi trocada para prednisona oral devido à terceira gestação. Alguns meses após o parto, apresentou quadro de plaquetopenia grave ($2.000/mm^3$), mesmo em uso de prednisona oral. A medicação foi trocada para azatioprina; porém, sem resposta adequada, manteve plaquetas em torno de $8.000/mm^3$. Diante desse quadro foi prescrito eltrombopag 50 mg/dia . A contagem plaquetária subiu para $67.000/mm^3$ e a paciente foi encaminhada para esplenectomia em dezembro de 2012. Desde a cirurgia, mantém-se sem qualquer medicação, com contagem plaquetária em torno de $100.000/mm^3$. **Discussão:** Estudos mostram que o eltrombopag tem como benefício uma resposta duradoura na manutenção dos níveis de plaquetas, pois interage com o domínio transmembrana do receptor da trombopoetina (TPO), principal citocina envolvida na produção de plaquetas, que inicia cascatas de sinalização semelhantes às da TPO endógena, e proliferação e diferenciação de megacariócitos. O eltrombopag não compete, pois, com a citocina humana, apenas dá um efeito aditivo à sua ação. **Conclusão:** No presente caso o tratamento com eltrombopag antes da esplenectomia foi eficaz e permitiu a feitura do procedimento com segurança.

179. ANOMALIA DE MAY-HEGGLIN E DESORDENS RELACIONADAS AO MYH9: RELATO DE CASO

Brisolla HRGB, Iwamoto J, Costa FV, Uehara KM, Silva MVE

Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR, Brasil

Introdução: As desordens relacionadas ao MYH9, forma comum de trombocitopenia hereditária, decorrentes da mutação do gene para a cadeia pesada da miosina IIa não muscular, englobam em seu espectro clínico quatro tipos de trombocitopenias: anomalia de May Hegglin, síndrome de Sebastian, síndrome de Fechtner e síndrome de Epstein. **Objetivo:** Apresentar relato de um caso de paciente atendido no Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina e destacar a importância do diagnóstico diferencial diante de um paciente com trombocitopenia. **Relato do caso:** CGF, sexo feminino, 45 anos, deu entrada no pronto-socorro com queixa de perda progressiva da visão havia três meses. Paciente com diabetes mellitus e hipertensão arterial severa. Submetida a tomografia de crânio e exames laboratoriais, que mostraram somente plaquetopenia. A paciente relatava que fazia acompanhamento em São Paulo em decorrência da plaquetopenia, que estava em uso de prednisona 60 mg/dia havia três meses e que tinha perdido seguimento naquele serviço. Avaliação oftalmológica revelou presença de catarata rubra. Imunofenotipagem de medula óssea mostrou inclusões citoplasmáticas basofílicas em neutrófilos e confirmou o diagnóstico de anomalia de May Hegglin. **Discussão:** As desordens relacionadas ao MYH9, forma mais comum de trombocitopenia hereditária, são alterações de transmissão autossômica dominante, derivam de mutações do MYH9, gene da cadeia pesada da miosina IIa não muscular. Morfologicamente caracterizadas pela tríade de trombocitopenia, plaquetas gigantes e corpúsculos de Dohle (inclusões citoplasmáticas basofílicas em neutrófilos) no sangue periférico com função plaquetária preservada. A macrotrombocitopenia

está presente em todos os indivíduos afetados, enquanto apenas alguns apresentam manifestações clínicas adicionais, tais como falência renal, perda auditiva e catarata. As desordens relacionadas ao MYH9 englobam quatro tipos de trombocitopenias autossômicas dominantes, que foram previamente descritas como doenças distintas: anomalia de May Hegglin, síndrome de Sebastian, síndrome de Fechtner e síndrome de Epstein. A trombocitopenia é geralmente leve e deriva de defeitos complexos da maturação de megacariócitos e plaquetas. A presença de plaquetas gigantes no sangue periférico sugere doença relacionada ao MYH9. Os corpúsculos de Dohle característicos são identificados no citoplasma dos granulócitos de 42% a 84% dos pacientes. **Conclusão:** Esses indivíduos podem ser diagnosticados como portadores de púrpura trombocitopênica imunológica crônica, por ser uma afecção mais comum, e correm risco de receber tratamento inapropriado.

180. SÍNDROME DRESS ASSOCIADA À DAPSONA EM PACIENTE COM PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA IMUNOLÓGICA

Dal'Oglio AC, Fraga ES, Miozzo SAS, Capra MEZ, Hallal RC, Brun CP, Pinto ACZ, Breunig RC, Fogliatto LM

Serviço de Hematologia, Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: A síndrome Dress (Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms) é uma reação severa induzida por drogas e comumente associada à dapsona, uma das opções terapêuticas da púrpura trombocitopênica idiopática (PTI). Cursa geralmente com eosinofilia, febre, linfadenopatia, erupção cutânea e envolvimento de órgãos (fígado, rim, pulmão). O diagnóstico é desafiador devido às possibilidades diagnósticas. **Relato de caso:** Paciente do sexo feminino, 23 anos, encaminhada de outro serviço, com diagnóstico de PTI crônica, em uso de dapsona havia 30 dias. Evoluiu com rash cutâneo difuso, febre e colúria. Ao exame físico, apresentava taquicardia, linfonodomegalias cervicais, axilares e inguinais dolorosas de até 1 cm, edema em membros inferiores e artrite nos joelhos. Exames laboratoriais compatíveis com hepatite aguda (TGO 2271; TGP 1503; BT 3; BD 1,8; RNI 1,6; albumina 2,4; FA 76; GGT 204; Hb 11,4; VCM 91; leucócitos 20.760; neutrófilos 11.252; eosinófilos 21; linfócitos 6.145; plaquetas 128.000; LDH 1.183, TAD negativo, creatinina 0,58). As sorologias para hepatite A, B e C, HIV, CMV e EBV foram negativas; herpes I e II IgM reagente e IgG não reagente. Biópsia de medula óssea mostrou achados reacionais. Durante internação, paciente evoluiu com edema periorbitário bilateral e eczema em região dorsal e abdome. Quadro clínico e laboratorial teve resolução espontânea após suspensão de dapsona. **Discussão:** A síndrome Dress é uma reação rara de hipersensibilidade induzida por drogas, caracterizada por um período de latência de até oito semanas após exposição à droga e frequentemente associada com a reativação de infecção latente por herpesvirus. O diagnóstico deve ser suscitado em paciente com rash cutâneo, febre, edema facial, adenomegalias, que esteja em uso de medicamentos. Investigação laboratorial pode mostrar leucocitose, eosinofilia, hepatite ou anormalidades renais. O pilar principal do tratamento é a suspensão da droga causadora, tratamento de suporte dos sintomas e, em casos graves, corticoides. Normalmente cursa com resolução espontânea e melhora completa semanas ou meses após a suspensão da medicação. A síndrome Dress está relacionada a várias drogas, entre elas a dapsona. No caso relatado, a paciente apresentou quadro clínico compatível com a síndrome e remissão espontânea dos sintomas após a suspensão da medicação. **Conclusão:** A síndrome Dress deve ser suscitada em pacientes com sintomatologia sistêmica e em uso de medicações, como dapsona, pois a suspensão da droga é crucial na recuperação.

Referências:

1. Bocquet H, Bagot M, Roujeau JC. Drug-induced pseudolymphoma and drug hypersensitivity syndrome (Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms: DRESS). *Semin Cutan Med Surg.* 1996;15(4):250-7.
2. Cacoub P, Musette P, Descamps V, Meyer O, Speirs C, Finzi L, et al. The DRESS syndrome: a literature review. *Am J Med.* 2011;124(7):588-97.
3. Criado PR, Criado RF, Avancini JM, Santi GG. Drug reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms (DRESS) / Drug-induced Hypersensitivity Syndrome (DIHS): a review of current concepts. *Am Bras Dermatol.* 2012;87(3):435-49.

4. Roujeau J-C. Drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms (Dress). UpToDate. 2015. Disponível em: <http://www.uptodate.com/contents/drug-reaction-with-eosinophilia-and-systemic-symptoms-dress>. Acessado em 4 de agosto de 2015.

181. USO DE AGONISTA DE RECEPTOR DE TROMBOPOETINA NO TRATAMENTO DA TROMBOCITOPENIA IMUNE PRIMÁRIA REFRACTÁRIA EM ADULTOS: EXPERIÊNCIA DO SERVIÇO DE ONCOLOGIA E HEMATOLOGIA DA FACULDADE DE MEDICINA DO ABC - SÃO PAULO

Pallotta R, Borducchi DMM, Giglio AD, Lima RS

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

A trombocitopenia imune, também conhecida pela histórica denominação de púrpura trombocitopênica imune (PTI), é uma doença autoimune adquirida caracterizada por trombocitopenia isolada. Embora relativamente frequente, na maioria dos casos não requer intervenção, uma vez que pacientes adultos com contagens plaquetárias acima de 30.000/mm³ podem seguramente ser acompanhados sem tratamento. Nos pacientes que requerem tratamento com o objetivo de reduzir o risco de sangramentos ou controlar sangramentos vigentes, existem algumas opções terapêuticas. Em geral, os glicocorticoides são as opções de primeira linha, junto com as imunoglobulinas endovenosas, a depender da gravidade do quadro. No grupo de pacientes que persistem plaquetopênicos sintomáticos, o uso de imunossuppressores ou de esplenectomia como segunda linha pode ser indicado. Infelizmente, existe uma porcentagem de pacientes refratários a todas essas opções terapêuticas, o que traz angústia à equipe médica devido à alta morbidade e mortalidade desse grupo. Recentemente, os avanços na compreensão da fisiopatologia da trombocitopenia imune primária permitiram a incorporação dos estimuladores da trombogênese, como os agentes miméticos da trombopoetina e os agonistas de receptor da trombopoetina, a esse arsenal terapêutico. Neste estudo de coorte prospectivo é descrita a experiência positiva do uso de romiplostim, um agonista do receptor de trombopoetina, no tratamento de pacientes com trombocitopenia imune primária refratária acompanhados no serviço de oncologia e hematologia da Faculdade de Medicina do ABC, em São Paulo.

HEMOSTASIA E PAREDE VASCULAR: DOENÇAS DA COAGULAÇÃO E FIBRINÓLISE

182. APRESENTAÇÃO DA VERSÃO BRASILEIRA DO INSTRUMENTO VERITAS-PRO PARA AVALIAÇÃO DE ADESÃO À PROFILAXIA EM HEMOFILIA

Ferreira AA^{ab}, Leite ICG^b, Rodrigues MCB^a, Duncan NA^c

^a Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado de Minas Gerais (HEMOMINAS), Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, MG, Brasil

^c Indiana Hemophilia and Thrombosis Center (IHTC), Indianapolis, Estados Unidos

Introdução: A profilaxia é o tratamento de escolha para portadores de hemofilia com fenótipo grave, e a não adesão ao regime profilático pode comprometer a efetividade dessa modalidade terapêutica, incorporada pelo SUS em 2011. O Veritas-Pro (do inglês, Validated Hemophilia Regimen Treatment Adherence Scale – Prophylaxis) é o único instrumento específico publicado até o momento capaz de mensurar quantitativa e detalhadamente a adesão à profilaxia nesses pacientes. **Objetivo:** Apresentar a elaboração da versão brasileira do questionário Veritas-Pro, cujo original foi criado e validado em Indianapolis, Estados Unidos, por pesquisadores do Indiana Hemophilia and Thrombosis Center. **Material e métodos:** Para a criação da versão brasileira do Veritas-Pro, foram empregadas as diretrizes do Mapi Reseach Institute. Foram feitas duas traduções independentes para o português brasileiro por pesquisadoras brasileiras. As duas traduções foram sintetizadas, e a nova versão foi submetida à retrotradução para o inglês por um tradu-

tor americano, sem conhecimento do questionário original. Tanto a síntese quanto o resultado da retrotradução foram supervisionados por uma autora do instrumento. As etapas de avaliação clínica e *cognitive debriefing* da versão final foram feitas com resultados satisfatórios em uma amostra de seis indivíduos, incluindo médicos, enfermeiros e portadores de hemofilia do Hemocentro Regional de Juiz de Fora (MG).

Resultados: Após as etapas de tradução e retrotradução, as 24 questões que compõem o Veritas-Pro se revelaram extremamente semelhantes às do questionário original. A versão brasileira mostrou ser de fácil compreensão na etapa de pré-teste. O instrumento é composto por seis domínios com quatro questões em cada um. Os domínios avaliados sobre a adesão à profilaxia em portadores de hemofilia são: Rotina, Dosagem, Planejamento, Lembreça, Omissão e Comunicação. As opções de respostas são apresentadas em Escala de Likert de cinco pontos, que vai do “sempre” ao “nunca”. Uma pontuação numérica foi atribuída à escala, de maneira que a pontuação total pode variar de 24 (maior adesão) a 120 (menor adesão). O questionário pode ser respondido tanto pelo paciente quanto por um observador/cuidador (mãe, esposa ou outro responsável pelas infusões de fator). **Conclusão:** Espera-se que a versão brasileira do Veritas-Pro seja capaz de aumentar a sensibilidade na identificação de problemas relacionados à adesão à profilaxia em hemofilia, de modo similar ao alcançado pela versão original do instrumento, e permitir, assim, intervenções direcionadas no regime terapêutico proposto.

Referências:

1. Acquadro C, Conway K, Giroudet C, Mear I. Linguistic Validation Manual for Patient-Reported Outcomes (PRO) Instruments. Lyon: Mapi Research Institute. Quality of Life Research. 2005;14(7):1791-2.
2. Duncan N, Kronenberger W, Roberson C, Shapiro A. Veritas-Pro: a new measure of adherence to prophylactic regimens in haemophilia. *Haemophilia*. 2010;16(2):247-55.
3. Srivastava A, Brewer AK, Mauser-Bunschoten EP, Key NS, Kitchen S, Llinas A, et al. Guidelines for the management of hemophilia. *Haemophilia*. 2013;19(1):e1-47.

183. COMPARAÇÃO ENTRE OS CUSTOS DO TRATAMENTO SOB DEMANDA COM CPPA VERSUS rFVIIa EM PACIENTES COM HEMOFILIA A COM INIBIDORES, SOB A PERSPECTIVA DO SISTEMA DE SAÚDE PÚBLICA BRASILEIRO

Carmo EVS^a, Oladapo Ab, Rothschild C^a

^a Baxter Hospitalar Ltda, São Paulo, SP, Brasil

^b Baxalta Inc., Cambridge, Estados Unidos

Objetivo: Avaliar o custo potencial envolvido na escolha de agentes de *bypass* para o tratamento sob demanda de pacientes com hemofilia A com inibidores, considerando o custo dos produtos no sistema público de saúde brasileiro. **Material e métodos:** Um modelo econômico de comparação de custos foi desenvolvido com base em dados de uso e eficácia dos agentes de *bypass* do estudo Fenoc (comparação *head-to-head*), que avaliou a equivalência entre complexo protrombínico parcialmente ativado (CPPA) e concentrado de FVII ativado recombinante (rFVIIa) no tratamento sob demanda da hemofilia A com inibidores. Segundo o estudo Fenoc, a dose média (variação) usada para o tratamento de hemartrose aguda foi de 84,6 U de CPPA/kg (51,5-100) e 212,5 µg de rFVIIa/kg (98,6-261,8); a faixa de eficácia observada às duas e 48 horas após o início do tratamento foi de 75 e 97,6% para CPPA e 60,4 e 85,4% para rFVIIa. Para a análise em questão, o número de pacientes com hemofilia A e inibidores foi obtido no relatório da Federação Mundial de Hemofilia (WFH) de 2012 e o custo de agentes de *bypass*, no Diário Oficial da União (US\$ 0,71/U de CPPA e US\$ 0,64/µg de rFVIIa). A análise de comparação de custos foi feita assumindo-se o esquema de tratamento sob demanda do estudo Fenoc e uma análise de sensibilidade baseada no intervalo de doses. Não foram incluídos os custos indiretos do tratamento. **Resultados:** O custo médio por quilograma por paciente foi de US\$ 59,81 (36,41-62,90) com CPPA e US\$ 135,57 (62,90-167,02) com rFVIIa. O custo da resolução de sangramentos foi de US\$ 112,43 (68,44-132,9) na segunda hora e US\$ 75,47 (45,94-89,21) 48 horas após o início do tratamento com CPPA. Em relação ao rFVIIa, os custos foram de US\$ 353,97 (164,14-436,1) na segunda hora e US\$ 307,11 (142,48-378,38) em 48 horas de tratamento. O custo da eficácia hemostática em 48 horas foi de US\$ 79,67 (48,5-94,17) com CPPA e US\$ 381 (176,77-469,40) com rFVIIa. A economia total no tratamento de sangramentos com CPPA

pode variar de US\$ 13,2 milhões a US\$ 53,2 milhões, a depender da participação de cada agente de *bypass*. **Conclusões:** Considerando a eficácia comparável entre os dois agentes de *bypass*, a adoção de CPPA em vez de rFVIIa para o tratamento sob demanda de pacientes com hemofilia A e inibidores pode ser mais econômica, na medida em que mais sangramentos podem ser tratados com a mesma efetividade e a um custo mais baixo com CPPA. Os resultados do estudo mostram que para cada sangramento tratado com rFVIIa cerca de 2,3 poderiam ser controlados com CPPA sem perda de eficácia.

184. USO DE CATETERES VENOSOS CENTRAIS DE LONGA PERMANÊNCIA EM HEMOFÍLICOS – EXPERIÊNCIA DO HEMOCENTRO COORDENADOR DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO (HEMORIO)

Marques APQA^a, Silva IAS^a, Duarte LP^b, Cordeiro CRC^c, Rouxinol S^c

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

^b Hemocentro Regional de Campos dos Goytacazes, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

^c Hospital Federal da Lagoa (HFL), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A implantação pelo Ministério da Saúde dos Protocolos Brasileiros de Profilaxia Primária (PP) e Imunotolerância (IT) a partir de novembro de 2011 tornou mais evidente a questão do acesso venoso em hemofílicos. Punções venosas repetidas expõem pacientes e cuidadores a grande sofrimento e aumentam o risco de complicações, como síndrome compartimental. Dessa forma, a colocação de cateter venoso central (CVC) de longa permanência é uma opção para viabilizar as frequentes infusões de PP e IT e o pronto-atendimento das hemorragias. Apesar de muito efetivos, CVCs estão associados a complicações e infecção é a mais frequente e temida. **Objetivos:** Levantar a experiência no uso de CVCs em hemofílicos do HEMORIO e comparar com dados de estudos publicados. **Material e métodos:** Estudo descritivo, retrospectivo, baseado na coleta de dados dos prontuários de 11 pacientes de novembro de 2010 a agosto de 2015. Avaliação descritiva e estatística dos dados, com cálculo da densidade de incidência de infecção. **Resultados:** De outubro de 2010 a agosto de 2015 foram implantados 14 CVCs (tipo “ports”) em 11 pacientes: oito hemofílicos A (HA) e três hemofílicos B (HB); 54,5% tinham inibidores (cinco HA e um HB). As indicações de colocação foram dificuldade de acesso venoso e PP (cinco), indução de IT (cinco) e tratamento sob demanda (um). A mediana da idade à época de inserção foi de 1 ano e 4 meses. Como o HEMORIO não dispõe de centro cirúrgico, as cirurgias de inserção foram efetuadas em hospitais públicos (cinco no Hospital da Lagoa, três no Hospital da Criança e um no Hospital Ferreira Machado) e na rede privada (quatro). A profilaxia cirúrgica foi feita com concentrado de Fator VIII plasmático nos HAG sem inibidor e concentrado de rFator VIIa (NovoSeven®) nos hemofílicos com inibidor, por 5 a 21 dias. Houve uma complicação grave associada à cirurgia (hematoma cervical volumoso). Infecção foi a complicação mais comum: seis CVCs (42,8%) em quatro pacientes (36,3%), com remoção de cinco dos seis CVCs. A densidade de incidência de infecção calculada foi de 1,16 por 1.000 cateteres/dia. As hemoculturas foram positivas para *P. mirabilis*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *C. parapsilose*. Outras complicações foram: hematoma moderado em MSE (um), rejeição ao port (um) e ao ponto cirúrgico interno (dois), obstruções mecânicas (dois) e desconexão do port com o cateter (um). Nenhuma trombose foi diagnosticada, considerando-se apenas parâmetros clínicos, já que não houve rastreamento sistemático. Ocorreu um óbito não relacionado ao cateter. **Discussão:** Este é o primeiro estudo sobre CVCs em hemofílicos brasileiros. Os dados permitem conhecer o perfil dos hemofílicos do Rio de Janeiro candidatos à colocação de CVC e planejar estratégias para reduzir complicações associadas ao seu uso. **Conclusão:** Apesar dos riscos potenciais, a colocação de CVC deve ser considerada em hemofílicos com dificuldade de acesso venoso. O atraso no início da PP e IT em lactentes e pré-escolares, nos quais o problema é mais comum, pode expor esses pacientes ao desenvolvimento de artropatia hemofílica e a sangramentos graves. Medidas adotadas para diminuir a incidência de infecção e complicações incluem a elaboração do Protocolo de Colocação e Manutenção de CVCs em Hemofílicos e treinamento continuado da equipe e cuidadores.

185. MUTAÇÃO F309S PRESENTE NO DOMÍNIO A1 DO FVIII AUMENTA A SECREÇÃO EM LINHAGEM CELULAR HUMANA HEK293

Fantacini DMC^{a,b}, Neto MSA^b, Covas DT^{a,b}, Castro VP^b

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

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

Hemofilia A é uma desordem sanguínea causada pela produção deficiente ou ausente de fator VIII (FVIII). Atualmente, a única terapia disponível é a terapia de reposição com proteína derivada do plasma humano ou proteínas recombinantes produzidas em linhagem celular de roedores. No entanto, o fator VIII recombinante (FVIIIr) produzido em células de hamster não têm as modificações pós-traducionais idênticas àsquelas do FVIII humano nativo, as quais podem levar a reações imunogênicas. Além disso, a expressão do FVIII nesses sistemas é ineficiente, porque o FVIIIr é retido dentro do retículo endoplasmático (RE) por meio de interações com várias proteínas chaperonas, incluindo a proteína ligante de imunoglobulina (BiP). O principal objetivo deste trabalho foi produzir um FVIII recombinante com uma mutação pontual no domínio A1 (F309S) a fim de analisar o efeito da mesma na secreção do FVIII. A construção ainda tem mais três mutações no domínio A2 que ainda estão em fase de análise. Para a produção do FVIIIr foi usada uma linhagem celular humana HEK293, e como controle, uma construção com o FVIIIΔB. As construções foram transferidas para as células humanas HEK293 por meio de repetidos ciclos de transdução com várias infecções de multiplicidade (MOI) para alcançar altos níveis de produção de FVIIIr. As moléculas de FVIIIr foram caracterizadas *in vitro* quanto à produção pelo ensaio cromogênico, e o perfil de expressão gênica, por PCR em tempo real. Nossos resultados mostraram que após cinco ciclos de transdução a linhagem celular transduzida com a construção contendo as mutações (HEKMUT) foi capaz de produzir 7,5 UI/mL. Por outro lado, a linhagem celular transduzida com o controle (HEKΔB), que tem o mesmo número de cópia integrada do vetor, demonstrou atividade biológica igual a 2,5 UI/mL, ou seja, três vezes menos. Além disso, analisamos a expressão dos genes FVIII e BiP. Enquanto os níveis de expressão de FVIII foram mais altos nas células HEKMUT do que em HEKΔB, os níveis de RNAm de BiP não foram alterados em ambas as linhagens celulares, constatado pelo Western Blot. Além da mutação F309S, testamos outra estratégia para melhorar a secreção. Partimos do princípio de que o uso de drogas químicas poderia alterar a secreção do FVIII durante o cultivo celular. Para isso, testamos as drogas betaína e butirato de sódio nas linhagens modificadas. Surpreendentemente, somente a linhagem HEKΔB teve a produção de FVIII aumentada, ao passo que a linhagem HEKMUT não obteve efeito no tratamento com betaína, mas ocorreu uma diminuição de duas vezes na atividade do FVIII quando tratadas com butirato de sódio. Por fim, avaliamos o potencial hemostático das moléculas e, como resultado, demonstraram ser capazes de corrigir o sangramento provocado pela transecção total da cauda de camundongos hemofílicos A, enquanto os animais do grupo controle morreram em até 50 horas após lesão. Esses dados destacam o papel da mutação F309S no aumento da secreção do FVIII em linhagem celular humana HEK293.

186. VON WILLEBRAND FACTOR STRUCTURAL CHARACTERISTICS IN PATIENTS WITH ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME

Valadares DF^a, Nascimento NM^a, Seguro LPC^b, Neto EFB^b, Giacomo GD^a, Bydlowski SP^{a,b}, Soares RPS^c

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

^b Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^c Fundação Pró-Sangue, Hemocentro de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

Background: Von Willebrand factor (VWF) is an adhesive plasma glycoprotein that performs its hemostatic functions through the binding to FVIII, to platelet surface glycoproteins, and to several constituents of connective tissue. Circulating mature VWF is a multimeric protein with a molecular mass ranging from 450 kDa to more than 20,000 kDa. The

VWF-cleaving protease, a metalloprotease of the ADAMTS family, is important for maintaining the normal size distribution of VWF multimers. The multimeric structure of VWF involves low (LMW), intermediate (IMW), and high-molecular weight (HMW) fragments. Antiphospholipid syndrome (APS) is an autoimmune disease that manifests clinically and serologically by elevated levels of antiphospholipid antibodies in patients' plasma. The pathogenic mechanism underlying the prothrombotic tendency of APS has not been elucidated. Numerous procoagulant mechanisms have been tested, including platelet activation, monocyte tissue factor expression, and endothelial cell activation. Therefore, VWF could be useful as a marker for endothelial activation. **Aim:** The present study was performed to analyze the multimeric composition of VWF in subjects with primary antiphospholipid syndrome (PAPS). **Subjects and methods:** Twenty-seven patients with PAPS from the Outpatient Clinics of the Department of Rheumatology, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, were enrolled in this study (21 females and six males). The median age of patients was 41 years. Patients had been treated with warfarin for various periods of time. The control group was matched for age and gender. The antigenic concentration of VWF was measured by ELISA. The multimeric composition of VWF was analyzed by Western immunoblotting, immunolocalization, and luminography; IgM (950 kDa) was used as molecular weight marker. Luminographs were then subjected to densitometric analysis by Image®. **Results:** The PAPS group showed higher levels of VWF: Ag (80 ± 8 vs. 64 ± 12 UI/dL; $p < 0.0001$) when compared with controls. No significant difference was found in the composition of VWF multimers between groups, and PAPS patients were not different from controls regarding VWF:HMW/total ratio ($36 \pm 10\%$ vs. $38 \pm 10\%$; $p = 0.4211$), IMW/total ratio ($33 \pm 6\%$ vs. $30 \pm 6\%$; $p = 0.1115$) and LMW/total ratio ($32 \pm 7\%$ vs. $32 \pm 7\%$; $p = 0.9173$), respectively. The ratio of VWF:LMW/HMW was significantly decreased in PAPS patients, compared to controls (1.031 ± 0.6 vs. 2.624 ± 0.7 ; $p < 0.0001$). **Conclusion:** This preliminary study showed that plasma VWF is increased in PAPS patients, indicating endothelial disruption. However, the difference in the VWF multimeric pattern between PAPS patients and controls was very subtle. Additionally, the decreased ratio of VWF:LMW/HMW in PAPS patients suggests an ongoing process of pathological VWF cleavage, probably due to the action of ADAMTS-13, the metalloprotease that cleaves VWF. The hypothesis is currently being investigated in this laboratory.

187. PERFIL DA PESSOA COM HEMOFILIA A MENOR DE 30 ANOS NOS PROGRAMAS DA PROFILAXIA PRIMÁRIA, SECUNDÁRIA, IMUNOTOLERÂNCIA EM TRATAMENTO NA FUNDAÇÃO HEMOPA

Souza MNM, Silva GMC

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

Introdução: O tratamento da hemofilia nos últimos anos vem evoluindo bastante com o aumento da qualidade de vida dessas pessoas, principalmente das pessoas jovens. O tratamento das manifestações hemorrágicas deve ser imediato, para evitar que a hemorragia progrida e deixe lesões incapacitantes. A forma terapêutica oferecida vem controlando e prevenindo as sequelas nessas pessoas com hemofilia e suas famílias. Os dados apresentados são referenciados ao perfil das pessoas menores de 30 anos que são atendidas nas formas dos programas de tratamento preconizado pelo Ministério da Saúde. Dentre as coagulopatias, a hemofilia A é a mais comum, e esse fato fez com que apresentássemos o perfil da pessoa com hemofilia A menor de 30 anos. **Objetivo:** Avaliar o perfil das pessoas com hemofilia A menores de 30 anos que fazem tratamento no programa de profilaxia primária, secundária, imunotolerância e tratamento ambulatorial. **Material e métodos:** Pesquisa de natureza quantitativa feita a partir do levantamento de dados no sistema webcoagulopatias de janeiro de 2011 a junho de 2015. **Resultados:** A amostra foi composta por pessoas com hemofilia A menores de 30 anos. Quanto à gravidade da hemofilia, 76 pessoas foram consideradas graves, 45 moderadas, 75 leves e 22 ainda não testaram a gravidade da hemofilia. A média de participação do tipo grave no programa da profilaxia primária foi de 92,31%, seguida da secundária de 64%, e 10,24% fizeram atendimento ambulatorial (dose de demanda). Dentre as pessoas com hemofilia grave, cinco já desenvolveram inibidor, mas apenas quatro estavam na imunotolerância, que tem o percentual de 1,84% do total das 217 pessoas. Das 76 pessoas com hemofilia A grave, 12 estavam no programa do profilaxia

primária, 48 na profilaxia secundária e 13 fizeram dose de demanda. Das 45 com hemofilia moderada, apenas uma fez profilaxia primária, seguida de 14 na secundária, 31 em dose de demanda; na hemofilia leve, 13 estavam na profilaxia secundária e 61 seguiam em atendimento ambulatorial. Das pessoas que ainda não fizeram a dosagem de fator, 22 seguiam em atendimento ambulatorial. Quanto à faixa etária por gravidade da hemofilia, o estudo mostrou que a idade até 5 anos tem o maior quantitativo, de 18 pessoas, com hemofilia grave. **Conclusão:** A avaliação desse perfil demonstrou que os resultados apresentados são percebidos como o melhor nas dimensões relacionadas quanto ao tipo da gravidade da hemofilia, e que os parâmetros apresentados na faixa etária estipulada mostram que essas pessoas procuram acompanhar as condições de tratamento com mais eficiência.

188. ANÁLISE DO IMPACTO DO TRATAMENTO PROFILÁTICO EM PACIENTES HEMOFÍLICOS DO CONJUNTO HOSPITALAR DE SOROCABA

Pugliesi TB^a, Filho IF^a, Goncalves MA^b, Santos EAD^b, Cliquet MG^a

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

^b Conjunto Hospitalar de Sorocaba (CHS), Sorocaba, SP, Brasil

Introdução: Os pacientes hemofílicos dispõem da tradicional terapia episódica de FVIII, mas, há alguns anos, o conceito de tratamento ganha nova vertente ao aplicá-lo profilaticamente. Além dos benefícios do tratamento profilático com FVIII na redução da frequência de hemorragias e artropatias, há muitas vantagens que culminam na melhoria da qualidade de vida dos pacientes. **Objetivo:** Avaliar a eficácia do tratamento profilático em pacientes hemofílicos em seguimento no Conjunto Hospitalar de Sorocaba. **Material e métodos:** Análise dos períodos de tratamentos episódico e profilático quanto às hemorragias em cada um, com comparação de aspectos como localização, frequência e duração, bem como a dose administrada a cada paciente e sua respectiva evolução. **Resultados:** A amostra é composta por 26 pacientes, 100% do sexo masculino, com média de 19,65 anos, valor máximo de 38 anos, mínimo de 7 anos e mediana de 18,5 anos. A frequência de eventos hemorrágicos (eventos/semana) sofreu redução na comparação entre a terapia episódica (Média = 0,21; Mediana = 0,20) e terapia profilática (Média = 0,05; Mediana = 0,03) ($p < 0,0001$). A frequência do uso de FVIII (UI/semana) elevou-se na comparação entre a terapia episódica (Média = 1.319,93; Mediana = 693,35) e a terapia profilática (Média = 3.025,86; Mediana = 2.547,22) ($p < 0,0001$). O uso de FVIII por paciente também cresceu. Todas as faixas etárias obtiveram redução da frequência de sangramentos, mesmo com a eventual presença de inibidor. Pacientes procedentes de locais com mais 50 quilômetros de distância do serviço apresentaram menor redução da frequência de sangramentos ($p < 0,0001$). A localização ou tipo de sangramento mais frequente não sofreu alterações com a mudança do tratamento. **Conclusão:** A amostra apresentou evidências de que o tratamento profilático implica menos eventos hemorrágicos e provável melhoria da qualidade de vida dos pacientes hemofílicos. Consideramos que, apesar do uso de maior quantidade de fator VIII com consequentes gastos adicionais, há vantagens clínicas e talvez ainda econômicas, com menor número de internações e problemas relacionados às sequelas.

189. HEMOFILIA ADQUIRIDA: RELATO DE CASO

Leite CA, Sant'anna LP

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

Introdução: A hemofilia adquirida é uma doença autoimune rara, na qual há produção de anticorpos contra fatores de coagulação, mais frequentemente contra o fator VIII. Sua patogênese não é totalmente conhecida, mas estudos sugerem que a produção dos anticorpos resulte da combinação de fatores genéticos e ambientais. Em cerca de 50% dos casos há associação com outras doenças (autoimunes ou neoplásicas), exposição a drogas ou gestação. A incidência aumenta conforme a faixa etária analisada, é mais comum na oitava década, apesar de haver um discreto pico de incidência em mulheres entre 20 e 40 anos, devido aos casos associados à gestação. A clínica é bastante variada. Estudos mostram desde pacientes assintomáticos, nos quais as alterações no coagulograma são achados incidentais, até casos de hemorragias fatais. As prioridades no manejo da doença são o controle do sangramento, a pre-

venção de traumas ou procedimentos invasivos desnecessários, a resolução da condição de base associada, caso presente, e a erradicação do anticorpo. O tratamento agudo da hemorragia pode ser conseguido por meio de *bypass* da via de coagulação. Usa-se preferencialmente o fator VII ativado recombinante ou o complexo protrombínico ativado. O uso de desmopressina ou fator VIII humano pode ser considerado quando as primeiras opções não estiverem disponíveis, apesar de as indicações serem limitadas. Plasmáfereze ou imunoadsorção também têm papel no tratamento da doença, mas ficam reservadas para os casos de falha com a terapia de primeira linha. Para reduzir o risco de recidiva, os pacientes devem ser imunossuprimidos com corticoesteróide isolado ou com a combinação de corticoesteróide e agente citotóxico, como a ciclofosfamida. **Relato de caso:** M.C.C.B., sexo feminino, 81 anos, portadora de hipertensão arterial sistêmica, *diabetes mellitus*, osteoporose e lúpus cutâneo, foi admitida no Hospital Universitário Pedro Ernesto em maio de 2015 para investigação de hematúria macroscópica e hematomas em membros inferiores. Negou eventos hemorrágicos prévios ou em parentes. Apresentava plaquetometria normal e coagulograma com PTT incoagulável. Não houve normalização do PTT com teste da mistura. A pesquisa de inibidor do fator VIII revelou-se positiva e a atividade do fator encontrava-se bastante reduzida. Iniciou-se terapia imunossupressora com corticoesteróide, foi acrescentada a ciclofosfamida na segunda semana de acompanhamento, com melhoria progressiva da hematúria e dos hematomas. Pela possível associação com neoplasia oculta, a paciente foi submetida a exames complementares de *screening* e foi evidenciada lesão cística de dois centímetros na cabeça do pâncreas nos exames de imagem. Os valores dos marcadores tumorais CEA e CA19.9 eram baixos. Devido ao risco de sangramento, tal lesão não foi abordada para elucidação diagnóstica. Após cerca de 20 dias de tratamento, a paciente recebeu alta assintomática. **Conclusão:** Deve-se pensar em hemofilia adquirida diante de pacientes com sangramentos aparentemente inexplicáveis, coagulograma alterado e ausência de história pessoal e familiar de sangramento. O rápido diagnóstico e a imediata intervenção são fundamentais para a sobrevida desses pacientes. Por se tratar de uma doença autoimune, todos os pacientes devem ser imunossuprimidos para a erradicação dos anticorpos, mesmo aqueles assintomáticos ou com sangramento leve, pelo potencial risco de sangramento fatal.

190. HEMOFILIA A ADQUIRIDA: RELATO DE CASO

Cliquet GB^a, Ferrari G^b, Pasuld FL^b, Mancilha E^b, Nukui Y^b, Pugliesi TB^c, Filho IF^c, Fujiki RHM^c, Corvelloni L^c, Cliquet MG^c

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

^b Hospital IGESP, São Paulo, SP, Brasil

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

Introdução: Hemofilia A adquirida (HAA) é uma desordem hemorrágica incomum (1:1.000.000) causada pelo desenvolvimento de autoanticorpos policlonais da subclasse IgG 4 contra o FVIII. Demonstra maior predominância em indivíduos entre 60 e 80 anos e mortalidade entre 7,9% a 22%, acomete igualmente ambos os sexos. Além da forma idiopática, a HAA está associada a condições como gravidez, desordens autoimunes, neoplasias, entre outras. Diferentemente da hemofilia A hereditária, os episódios de hemartroses são incomuns e, geralmente, o histórico pessoal ou familiar de sangramentos é ausente. Laboratorialmente, encontra-se TTPa prolongado, baixa atividade de FVIII e fibrinogênio, TT e contagem plaquetária normais. O tratamento usual envolve a administração de FVIII humano ou recombinante parcialmente ativado eventualmente associados a imunossuppressores. **Relato de caso:** Paciente do sexo masculino, 86 anos, chegou ao pronto-socorro com equimoses e hematomas pelo corpo, além de hematoma em língua. Evoluiu com obstrução da cavidade oral pelo hematoma de língua e consequentemente entrou em insuficiência respiratória. Não foi possível a intubação orotraqueal; foi necessária traqueostomia. Exames laboratoriais mostraram hemograma normal, exceto por leve queda da hemoglobina. Tempo de protrombina normal e TTPa > 100 segundos. Solicitada a dosagem de Fator VIII e de inibidor, que mostrou o nível do Fator VIII em segundo e a presença de anticorpo anti-Fator VIII. O paciente recebeu plasma fresco congelado e crioprecipitado nos primeiros dias sem melhoria e após a chegada da dosagem do Fator e inibidor foi iniciada imunossupressão com solumedrol 1g EV por três dias seguido de prednisona 1 a 2 mg/kg. Alguns dias depois iniciada azatioprina, 50 mg/dia

e depois 100 mg/dia, além de Feiba de acordo com a ocorrência de sangramentos. Pesquisada a presença de neoplasias, doenças linfoproliferativas, infecções virais (HIV, HCV, HBV), doenças reumáticas, nada foi encontrado. O paciente evoluiu com melena, enterorragia e queda importante da hemoglobina; necessitou de inúmeras transfusões. Recebeu doses de Feiba de 4.000 a 8.000 UI por dia, com melhoria dos sangramentos que durava um a dois dias. Voltou a sangrar em seguida e, portanto, necessitou de novas infusões de Feiba. Após cerca de 30 dias do início da imunossupressão, observamos resolução do quadro hemorrágico, redução do TTPa para cerca de 50 segundos e elevação do nível do Fator VIII para 8%. O paciente saiu de alta após cerca de dois meses da internação e, já sem Feiba havia mais de 20 dias, teve IAM e veio a falecer. **Conclusão:** Apresentamos um caso de hemofilia adquirida idiopática, extremamente grave, que sobreviveu devido ao suporte com uso de fatores ativados, imunossupressão e cuidados intensivos. A imunossupressão foi essencial, conseguiu diminuir o título dos anticorpos e elevou os níveis de Fator VIII, resolveu o quadro hemorrágico, mas isso só ocorreu após um mês de seu início. O suporte com fatores ativados foi crucial neste caso, até que a imunossupressão fizesse efeito. Durante todo o tempo, temíamos por eventos tromboembólicos; no entanto, esses ocorreram tardiamente, 20 dias após a cessação do Feiba, e, por isso, acreditamos ser um evento não relacionado a ele.

191. CISTO DE OVÁRIO ROTO EM UMA PACIENTE COM AFIBRINOGENEMIA: INDICAÇÃO PARA PROFILAXIA DE LONGA DURAÇÃO?

Okazaki E, Villaca PR, Amoedo P, Junior WFS, Valim AKZ, Carneiro JDA, Rocha TRF, D'amico EA

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

Introdução: Afibrinogenemia congênita é uma coagulopatia rara, cuja prevalência é de aproximadamente um em um milhão de pessoas e é caracterizada por uma deficiência total de fibrinogênio. Clinicamente, os pacientes apresentam sangramentos frequentes, tais como hematomas musculares, hemartroses e até mesmo sangramento em sistema nervoso central. O tratamento principal baseia-se na reposição de fator e a profilaxia pode beneficiar muitos pacientes. **Objetivo:** Relatar um caso de uma paciente com o diagnóstico de afibrinogenemia congênita que evoluiu com cisto de ovário roto recorrente e discutir a terapêutica em curto e longo prazo nesse cenário. **Relato de caso:** Uma paciente do sexo feminino, 23 anos, nulípara, em seguimento no Centro de Hemofilia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FM-USP) desde os 7 anos por afibrinogenemia congênita. Ao longo do seguimento, apresentou poucos episódios hemorrágicos e de baixa gravidade: sangramento em coto umbilical e hematoma muscular não complicado após medicamento intramuscular. Entretanto, havia três anos, ela evoluiu com um cisto de ovário roto, que foi tratado com reposição de fator e intervenção cirúrgica, sem complicação. A paciente encontrava-se bem até que, em outubro de 2014, deu entrada no pronto-socorro do HC-FM-USP em choque hemorrágico, devido a um novo episódio de cisto de ovário roto, no ovário contralateral. Após controle clínico e reposição de concentrado de fibrinogênio, a paciente ficou estável e foi submetida à laparoscopia. Ela recebeu concentrado de fibrinogênio por duas semanas e profilaxia de curta duração por um mês. Atualmente, encontra-se recuperada e com adequado seguimento ginecológico. Novamente, a equipe considerou que o tratamento de reposição de fator nessa paciente deveria ser o uso apenas sob demanda. **Discussão:** Quando perguntada sobre o uso de contraceptivo oral, a paciente confessou falhar na tomada da pílula anticoncepcional. Essa informação foi de extrema importância, uma vez que o sangramento ovariano ocorreu por causas hormonais e não se tratava de um sangramento espontâneo, o que indicaria a profilaxia de longa duração. A necessidade de adequada aderência ao contraceptivo foi reforçada, e quando a paciente decidir engravidar, profilaxia será considerada. **Conclusão:** Nem todos os sangramentos levam à necessidade de profilaxia de longa duração em afibrinogenemia congênita. Além disso, é descrito na literatura que alguns pacientes com essa rara doença podem cursar com eventos trombóticos durante a reposição de concentrado de fibrinogênio. Este caso ressaltou a necessidade de periodicamente reforçarmos orientações sobre a adesão ao tratamento, muitas vezes não valorizados pelos pacientes. Uma boa relação médico-paciente foi fundamental para a programação terapêutica e evitar a indicação de profilaxia desnecessária.

192. ASPECTOS SOROLÓGICOS DOS PACIENTES PORTADORES DE HEMOFILIA NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL – COMPARAÇÃO COM OS DADOS DO PERFIL DAS COAGULOPATIAS HEREDITÁRIAS NO BRASIL

Catelli DH^a, Hoffmann DS^b, Ourique LO^c, Luz AC^c, Diaz GFC^c, Medina SF^c, Spalding S^c, Spessato B^d, Daudt LE^a, Silla LMR^a

^a Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^b Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^c Fundação Estadual de Pesquisa e Produção em Saúde (FEPPS), Porto Alegre, RS, Brasil

^d Universidade Católica de Pelotas (UCPel), Pelotas, RS, Brasil

Introdução: O tratamento dos pacientes hemofílicos no Brasil apresentou avanços importantes nos últimos anos. Passamos de uma realidade de tratamento sob demanda com quantitativos de fatores de coagulação insuficientes, segundo o preconizado pela Federação Mundial de Hemofilia (WFH), para uma situação de programas de profilaxia primária, imunotolerância e fatores de coagulação recombinantes. A análise dos dados obtidos por meio do registro dos pacientes origina as informações imprescindíveis à concepção, gestão e avaliação de um programa público dessa monta. O Ministério da Saúde (MS), por meio do Perfil das Coagulopatias Hereditárias no Brasil, edições 2007, 2009/2010 e 2011/2012, publicou os resultados da compilação dos dados enviados pelos diferentes centros de tratamento do país. Nessas publicações ficam evidentes o sub-registro, ou a subavaliação, de dados clínicos imprescindíveis ao adequado tratamento desses pacientes. Neste estudo avaliamos os aspectos sorológicos dos pacientes hemofílicos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil, entre 1 de janeiro de 2003 e 31 de dezembro de 2007. A escolha desse período se deveu ao fato de ser anterior ao abrangido pelos Perfis de Coagulopatias Hereditárias publicados pelo MS. Para 455 pacientes cadastrados na ocasião, alcançamos 92% de dados informados para status sorológico foi encontrada uma prevalência de 7,7% para infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), 47% para infecção pelo vírus da hepatite C (HCV), 25% para infecção pelo vírus da hepatite B (anti-HBc e HbsAg), 7% para doença de Chagas e 2% para infecção para o vírus linfotrópico da célula humana (HTLV). Nos pacientes entre 1 e 5 anos, nenhum tinha sorologia positiva para HCV. Essa incidência aumentou com a idade, chegou a 77,8% nos pacientes maiores de 18 anos. Os achados são congruentes com os da literatura, segundo a qual, nos últimos 25 anos, não tivemos registro de soroc conversão para HIV ou HCV por meio dos produtos de coagulação liofilizados. No Brasil, segundo dados de 2007, tínhamos uma prevalência de soropositividade para HIV na população de hemofílicos de cerca de 4%. No entanto, cerca de 30% desses não haviam sido testados ou seu resultado não havia sido informado. Em relação ao HCV, para 92% de pacientes testados, a prevalência em nosso estudo atingiu 47%, contra cerca de 20% no país. Ainda, cerca de 30% dos pacientes foram não testados/não informados. No Perfil 2009/2010, a soropositividade encontrada para HIV foi de pouco mais de 1%, com 80% de testagens não feitas/não informadas. Nesse período, a prevalência de HCV foi de 5%, com cerca de 85% de resultados não informados/não feitos. No Perfil 2011/2012 esse índice de ausência de dados permaneceu inalterado. Essa situação é ainda mais esterecedora se considerarmos que o país dispõe de programas de tratamento amplamente estabelecidos, no contexto do Sistema Único de Saúde, para as infecções por HIV e HCV. **Conclusão:** A WFH relata que, no mundo, cerca de 50% dos pacientes hemofílicos são infectados por HCV e cerca de 10% o são por HIV. Assim, os dados encontrados em nosso estudo são congruentes com os encontrados na literatura internacional. No Brasil, a menor prevalência dessas infecções possivelmente se deva a subdiagnóstico e sub-registro.

193. QUINTA DA HEMOFILIA E O AUMENTO DA DISTRIBUIÇÃO DE FATOR PER CAPITA NO PARÁ

Pinto IS, Trindade SMS, Almeida HJR, Souza MNM, Paz RBM

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

Introdução: Os protocolos de profilaxia e indução de imunotolerância em hemofilia implantados pelo Ministério da Saúde trouxeram muitos benefícios e melhor qualidade de vida às pessoas com hemofilia; porém, no estado do Pará, as pessoas enfrentam uma série de dificuldades para se deslocar

aos centros de atendimento, o que causa a diminuição da adesão ao tratamento. Em busca de minimizar esse problema e dispensar maior atenção às pessoas com hemofilia para motivar a maior adesão ao tratamento em todas as especialidades oferecidas pela Fundação HEMOPA, alterou-se a logística de atendimento. A equipe multiprofissional do HEMOPA criou a “Quinta da Hemofilia”. As quintas-feiras, toda a equipe multiprofissional está voltada para o atendimento em hemofilia; as consultas são agendadas sempre para as quintas-feiras e, no mesmo dia, a pessoa com hemofilia é atendida por médico, enfermeiro, farmacêutico, cirurgião-dentista, psicólogo, fisioterapeuta, assistente social e pedagogo. A possibilidade de fazer diversas consultas em um mesmo dia beneficia os pacientes, além de predispor a um maior contato e troca de informações entre a equipe multiprofissional. **Resultados:** Um ano após a criação da “Quinta da Hemofilia”, observou-se aumento da distribuição *per capita* de fatores de coagulação em 20,67% (*per capita* média em 2013 = 1,369; *per capita* média em 2014 = 1,652); maior adesão ao tratamento e às orientações fornecidas pelas diversas especialidades; houve aumento de 93,44% da atualização cadastral e clínica em 2014 em relação a 2013. **Conclusão:** Com a nova medida de atendimento implantada, somada aos protocolos de profilaxia do Ministério da Saúde, houve menor quantidade de eventos hemorrágicos, que trouxe maior saúde e bem-estar físico e emocional às pessoas com hemofilia e, assim, maior qualidade de vida a elas e seus parentes.

194. TRATAMENTO DE IMUNOTOLERÂNCIA EM PACIENTES ADULTOS COM HEMOFILIA A: A EXPERIÊNCIA DO HEMOES

Prezotti ANL, Marcondes SS, Barcelos MS, Montezi L, Silva CR, Duarte JM, Fadlallah JD, Cezati G, Henriques MEGS, Orletti MDPSV

Centro de Hemoterapia e Hematologia do Espírito Santo (HEMOES), Vitória, ES, Brasil

Introdução: A imunotolerância (IT) é o tratamento de eleição para erradicação de inibidores em pacientes com hemofilia A. Apesar de a resposta à IT ser melhor em crianças com história de inibidor há menos de cinco anos, os pacientes adultos também podem se beneficiar dessa estratégia de tratamento. O objetivo deste trabalho foi descrever os oito casos em tratamento de IT em adultos do nosso serviço. **Material e métodos:** Foram selecionados oito pacientes com idade superior a 18 anos (21-50), com inibidor de alta resposta. O protocolo de tratamento de IT foi de 50 UI/kg de FVIII, três vezes/semana. Seis pacientes usaram FVIII plasmático e dois FVIII recombinante, apesar de todos terem desenvolvido inibidor com o fator plasmático. Foram coletadas amostras de sangue para dosagem de inibidor conforme recomendado no protocolo usado e os resultados foram apresentados individualmente, em gráfico, para acompanhar a resposta ao tratamento. **Resultados e discussão:** Seis de oito pacientes tiveram inibidor detectado havia mais de cinco anos e eram dependentes de agentes de *bypass*. Dos oito casos apresentados, um paciente finalizou a IT, com sucesso completo. Os demais ainda estão em tratamento (7/8) e a maioria (5/7) não depende mais de agente de *bypass*. Alguns aspectos foram considerados para a inclusão dos pacientes na IT: a alta frequência de sangramentos totais e articulares que apresentaram, o alto consumo de agentes de *bypass* e a resposta inadequada a pelo menos um dos agentes em procedimento cirúrgico de um paciente. As duas indicações do tratamento dos pacientes com inibidores de baixo título foram: sangramento recorrente em iliopeços, apesar de doses altas de FVIII, e indicação de cirurgia ortopédica em paciente sem resposta adequada ao FVIII. Optamos por fazer o tratamento de IT desses pacientes, pois consideramos que não haviam tido a chance de fazê-lo anteriormente, por indisponibilidade de fator de coagulação. **Conclusão:** Três pacientes negativaram o inibidor, um deles no terceiro mês de tratamento. Os apresentam redução gradativa do inibidor. Houve redução significativa nas taxas de sangramentos, bem como no consumo de agentes de *bypass*. Apesar de a IT ser um tratamento de alto custo e os pacientes adultos apresentarem menos chance de resposta, nossos resultados mostraram que pode ser uma opção viável para ser usada nesse grupo de pacientes.

195. TISSUE FACTOR PATHWAY INHIBITOR (TFPI) MAY BE ANOTHER IMPORTANT FACTOR IN THE COAGULOPATHY IN ACUTE PROMYELOCYTIC LEUKEMIA (APL)

Bassi SC^a, Kwaan HC^b, Weiss IM^b, Baggio MS^a, Oliveira LCO^a, Rego EM^a

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

^b Feinberg School of Medicine, Northwestern University, Chicago, United States

The characteristic coagulopathy in acute promyelocytic leukemia (APL) is unique among the leukemias, and thrombotic and bleeding complications remain the major causes of early deaths. APL promyelocytes express tissue factor (TF), which, after activation by phospholipids, forms a complex with factor VII and converts factor X to activated factor X. TF plays a central role in the pathogenesis of APL coagulopathy, because the procoagulant activity of lysates from freshly isolated APL cells is mainly attributed to TF. During periods of increased apoptosis of promyelocytes, the procoagulant activity is correspondingly intensified. In addition, APL cells may also induce TF procoagulant activity of endothelial cells through their secretion of IL-1b. The activity of the complex FVIIa-TF can be inhibited by the tissue factor pathway inhibitor (TFPI), but its role in the APL-associated coagulopathy remains unknown. This study aimed to determine the time-course of TFPI levels in patients with APL at diagnosis and during the first two-weeks of treatment with ATRA and anthracyclines. Twenty patients with *de novo* APL (12 males, age ranging from 17 to 72 years) and 20 healthy blood donors (age and sex matched) were included in this study. Peripheral blood samples were collected at diagnosis, and at D3, D7, and D15 of the induction therapy with ATRA and daunorubicin. The following plasma concentrations were determined: thrombin-antithrombin complex (TAT), total TFPI, and free TFPI. The plasma concentrations of TAT were significantly higher in APL patients at presentation, D3, and D7 compared to controls, suggesting that the pathologic activation of coagulation was reversed by D15 of treatment. The concentrations of free-TFPI were significantly higher in APL samples compared to controls in all time-points. In contrast, the concentrations of the truncated form of TFPI (estimated by subtracting the free-TFPI values from total-TFPI concentration) did not vary significantly between the groups. Since free-TFPI (intact form) has been proven to present higher capacity to inhibit the activated factor X and VIIa-TF proteases than truncated-TFPI (bound to lipoprotein), it was hypothesized that these findings confirm the relevance of free-TFPI in APL coagulopathy. To test whether the administration of rh-TFPI may revert aberrant activation of coagulation in APL patients, the authors developed a murine model using the IV infusion of NB4 cells. Similarly to that reported in APL patients, this study observed an increase on TAT levels in mice injected with 5×10^6 NB4 cells [(60.7 ng/mL (24-116 ng/mL) vs. 11.5 ng/mL (2.2-27.8 ng/mL), $p < 0.05$)]. In contrast, murine TFPI levels decreased 30 minutes after the infusion of NB4 cells [30 ng/mL (5.8-217 ng/mL) vs. 202 ng/mL (46-354 ng/mL)], suggesting that it was rapidly consumed. Unfortunately, it was not possible to distinguish between truncated and intact TFPI forms in mice. Intravenous infusion of recombinant human (rh) TFPI at the dose of 10 mg/kg significantly decreased the TAT levels and increased TFPI levels in the murine model. In conclusion, the data on clinical samples and pre-clinical data using a murine model suggest that treatment with rh-TFPI may be a strategy to counteract APL-associated coagulopathy.

196. DOZE ANOS DE RADIOSSINOVIORTESE EM HEMOFILIA NO BRASIL: 1.000 PROCEDIMENTOS

Thomas S^a, Medeiros S^b, Berdeguez MBT^c, Pedras PSV^a, Souza SAL^d, Santos CLD^a, Natsumeda NY^a, Sá LV^b, Soares LAB^e, Albernaz MS^a, Kubo ALSL^a, Perri MLP^f, Barros DRDR^f

^a Serviço de Medicina Nuclear, Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Instituto de Radioproteção e Dosimetria (IRD), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^c Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa de Engenharia (COPPE), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

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

^e Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^f Hemocentro de Mato Grosso (MT Hemocentro), Cuiabá, MT, Brasil

Introdução: As hemartroses representam 80% das manifestações da hemofilia. Quando recorrentes, levam à sinovite crônica e artropatia hemo-

fílica. A radiossinoviotese (RSO), injeção intra-articular de radiofármacos (RF), visa à ablação da sinóvia hipertrofiada, com redução das hemartroses. A RSO é uma importante opção para a sinovite crônica, quando comparada com os procedimentos cirúrgicos, que têm maiores custos e riscos. É especialmente custo-efetiva nos pacientes com inibidores de fatores de coagulação (FC). A indicação dos RF é condicionada às suas características, disponibilidade e custo. Os produtos com grande penetração tecidual, como o ítrio⁹⁰, são os mais indicados para grandes articulações, como joelhos. O samário¹⁵³, com pequena capacidade de penetração, é adequado para articulações de menor volume. **Objetivo:** Relatar 12 anos de experiência dos autores com RSO e demonstrar sua segurança e efetividade. **Material e métodos:** Foram avaliados o volume sinovial e o estágio da artropatia, clinicamente e por métodos de imagem. Foram incluídos os casos com presença de sinovite. Os pacientes encaminhados de 23 hemocentros receberam FC conforme sua deficiência e resposta prévia (FVIII, FIX, CCPa e FVIIar). Foram usados os RF: citrato de ítrio-90 (C-Y⁹⁰), hidroxipatita ítrio-90 (HA-Y⁹⁰) ou hidroxipatita samário-153 (HA-Sm¹⁵³), conforme a articulação, característica e disponibilidade do RF. Usou-se C-Y⁹⁰ de 2003 a 2007, foi então substituído por HA-Y⁹⁰, pelo Ipen-SP, autarquia responsável pelos RF no Brasil. Foi medida a contaminação radioativa na pele dos pacientes e resíduos radioativos em seringas e agulhas. O teste de Wilcoxon foi usado para a análise das médias de hemartroses e um modelo de regressão logística multinomial para a comparação entre os RF. **Resultados:** Foram tratadas 1.000 articulações, 419 em Cuiabá e 581 no Rio de Janeiro. A média de idade foi de 13 anos (2-49). Foram feitas 148 RSO em pacientes com inibidores. Não houve sangramento pós-punção articular. Houve 21 casos de sinovite aguda em decorrência do procedimento com HA-Y⁹⁰ e HA-Sm¹⁵³, que desapareceu com o uso de anti-inflamatórios, entre 3 e 10 dias. Houve redução das médias de hemartroses (seis meses pré e pós-RS), a melhoria estatisticamente significativa ($p < 0,001$), com todos os RF. Os melhores resultados em joelhos foram obtidos com C-Y⁹⁰. O OR, comparando-se C-Y⁹⁰ com HA-Sm¹⁵³, em joelhos foi 9,4 para respostas boas e 7,4 para as excelentes. Comparando-se HA-Y⁹⁰ com HA-Sm¹⁵³ em joelhos, o OR foi 3,15 para respostas boas e 2,03 para as excelentes. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os RF nas demais articulações. **Discussão:** O estudo relata a maior casuística mundial de RSO em hemofilia; o segundo autor com maior número de casos analisou 500 articulações tratadas. Como o C-Y⁹⁰ não está mais disponível no país, é inviável, no momento, a comparação simultânea entre os três RF. Embora a técnica seja minimamente invasiva e rápida, a RSO é uma terapia complexa e exige a interação das equipes multidisciplinares da medicina nuclear e da hemofilia. **Conclusão:** A RSO é uma terapia segura e efetiva, inclusive nos pacientes com inibidores. Os resultados superiores em joelhos, com C-Y⁹⁰, parecem justificar sua aquisição no Brasil. Os bons resultados com RSO incentivam sua disseminação, com projetos cooperativos, com vistas a melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

197. IMPACTO DO TREINAMENTO DOS PROFISSIONAIS DE SAÚDE DA ATENÇÃO PRIMÁRIA E PACIENTES COM COAGULOPATIAS HEREDITÁRIAS NA QUALIDADE DO TRATAMENTO

Prezotti ANL, Marcondes SS, Duarte JM, Silva CR, Lopes ER, Prucoli B, Junger R, Souza S, Marchiori L, Orletti MDPSV

Centro de Hemoterapia e Hematologia do Espírito Santo (HEMOES), Vitória, ES, Brasil

Introdução: O tratamento da hemofilia no Brasil é feito, em grande parte, nos hemocentros dos estados. Em 2011/2012, com a implantação dos programas de profilaxias primária (PP) e secundária (PS) e imunotolerância (IT), os pacientes necessitaram de maior número de infusões do fator de coagulação, porém muitos não conseguiam fazê-las sozinhos. As Unidades Básicas de Saúde (UBS), onde os cidadãos fazem o acompanhamento de sua saúde geral, devem também funcionar como apoio para os programas citados. Como muitos profissionais das UBS não estão capacitados para o correto manejo da hemofilia, o conhecimento dos protocolos dos programas de PP, PS e IT pela equipe de Atenção à Saúde da Família ajuda na adesão e monitoramento desses pacientes. Esse projeto foi feito em parceria com a Fundação Novo Nordisk e a Federação Brasileira de Hemofilia. **Objetivo:** Capacitar profissionais de saúde atuantes na Atenção Primária e Saúde da Família, no âmbito do SUS, para atendimento de pacientes com distúrbios hemorrágicos hereditários; educação dos pacientes e pais/responsáveis sobre temas relevantes no tratamento das

coagulopatias. **Material e métodos:** O Projeto de Capacitação em Hemofilia e outras Coagulopatias foi elaborado e aprovado em 2013, com estimativa de duração de dois anos. As ações foram iniciadas em agosto/2013, após aprovação pela Fundação Novo Nordisk, financiadora do projeto. Toda a equipe multiprofissional participou das capacitações, deslocou-se, estrategicamente, para os maiores municípios do estado para oferecer os treinamentos. Os municípios contemplados foram Vitória, Linhares, São Mateus, Cachoeiro do Itapemirim e Colatina, abrangeram de norte a sul do Espírito Santo. Foram programadas seis capacitações para profissionais de saúde e três para pacientes/pais por ano, ou 18 capacitações em dois anos. Foi feito levantamento prévio do número de hemofílicos por município do estado, para que todas as UBS com hemofílicos fossem contempladas. A capacitação ocorreu em duas fases, a primeira com palestras sobre os temas: 1- O que é hemofilia?; 2- Dose domiciliar; 3- Distribuição dos medicamentos pró-coagulantes no serviço de coagulopatias; 4- Cuidados odontológicos; 5- Profilaxias primária e secundária; 6- Cuidados psicossociais e 7- Emergências em Hemofilia. A segunda fase foi baseada no estudo de casos clínicos para fixação dos conhecimentos transmitidos na primeira fase. Os seguintes materiais de apoio foram produzidos para uso nos treinamentos: Manual de Tratamento para Profissionais da Atenção Primária, Cartilha de Orientação para os Pacientes, cartaz Emergências em Hemofilia e Diário de Infusão. **Conclusão:** Falta uma capacitação para o fim do projeto, mas atingimos 648 profissionais de saúde, atuantes em UBS, de norte ao sul do estado. Desse total, 78% profissionais de nível superior (médicos, odontólogos, enfermeiros, farmacêuticos) e 22% de nível médio (na maioria, técnicos de enfermagem). Com a melhoria do conhecimento da hemofilia por esses profissionais e pelos pacientes/pais, foi possível melhorar a qualidade de atendimento nas UBS, principalmente no apoio aos programas de PP, PS e IT, e aumentar a adesão aos tratamentos. Além disso, o tratamento precoce das intercorrências hemorrágicas reduz o número de sequelas articulares e melhora a qualidade de vida desses pacientes.

198. QUALIDADE DE VIDA NA HEMOFILIA: REVISÃO INTEGRATIVA DA LITERATURA

Holsbach DR^a, Ivo ML^b

^a Centro Universitário Euroamericano (UNIEURO), Brasília, DF, Brasil

^b Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, MS, Brasil

Introdução: As hemofilias são coagulopatias hereditárias ligadas ao cromossomo X, caracterizadas pela deficiência do fator VIII ou do fator IX da coagulação. A hemofilia A é mais frequente na população (85% dos casos), e sua incidência na população geral é de 1:10.000. A hemofilia B é responsável por 15% dos casos, e sua incidência na população geral é de 1:60.000 (Lorenzi, 2006). Quantificar o impacto da doença na qualidade de vida faz-se importante para justificar o alto custo financeiro da terapia nessa condição crônica (Aledort et al., 2012). **Objetivo:** Analisar as evidências disponíveis na literatura científica sobre as hemartroses e seu impacto na qualidade de vida dos hemofílicos. **Material e métodos:** Pesquisa de revisão integrativa de literatura. O problema do presente estudo foi: Qual é a influência das hemartroses no processo de desenvolvimento das artropatias e seu impacto na qualidade de vida dos hemofílicos? Buscaram-se artigos indexados nas seguintes bases de dados: Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE), Scientific Electronic Library Online (SciELO) e Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS). A busca ocorreu em julho e agosto de 2013, e os acessos foram feitos na biblioteca da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Foram usados os seguintes descritores e suas combinações, em português e inglês: "hemofilia", "hemartrose", "qualidade de vida". Os critérios de inclusão dos estudos foram: artigos em texto completo, nos idiomas português, inglês e espanhol, publicados entre 2003 e 2013, que abordassem a temática pretendida. Foram excluídos pesquisas monográficas e artigos que não forneceram dados específicos sobre a metodologia adotada. **Resultados:** Foram selecionados 19 artigos completos, com anos de publicação entre 2010 a 2013. Desses, o idioma predominante foi o inglês. De acordo com o tipo de estudo, foram selecionados nove estudos de coorte, seis estudos de casos e controles e quatro pesquisas transversais. Em relação aos periódicos das publicações, houve predominância da revista "Haemophilia", com 18 referências. O fato pode ser explicado por se tratar de um periódico específico sobre o assunto, considerado o jornal oficial da Federação Mundial de Hemofilia. Os artigos seleciona-

dos foram organizados em três categorias, segundo o assunto que versavam: 1. As disfunções físicas decorrentes da artropatia hemofílica; 2. A classificação da gravidade da hemofilia e tipos de tratamento administrados; 3. A qualidade de vida do indivíduo com hemofilia. **Conclusões:** Os resultados demonstraram haver relação entre a presença de hemartrose e o tipo de tratamento dispendido, bem como o período de início. O tratamento profilático de longa duração mostrou-se importante no controle das hemartroses. Entretanto, a eleição do paciente, idade de início do tratamento, frequência e dosimetrias de administração do fator de coagulação deficiente variam entre os estudos, houve controvérsias. A mensuração da qualidade de vida é ferramenta importante para planejamento de ações voltadas para essa população.

Referências:

1. Aledort L, Bullinger M, von Mackensen S, Wasserman J, Young NL, Globe D, et al. Why should we care about quality of life in persons with haemophilia? *Haemophilia*. 2012;18(3):e154-7.
2. Lorenzi TF. Manual de hematologia: propedêutica e clínica. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

199. ANALYSIS OF THE PROFILE OF CHEMOKINES, CYTOKINES, AND MICROPARTICLES IN PREVIOUSLY UNTREATED PATIENTS WITH HEMOPHILIA A

Jardim LL^a, Silveira-Cassette AC^b, Silva ACSE^a, Portugal MS^c, Cerqueira MH^d, Prezotti A^e, Lorenzato C^f, Chaves DG^e, Rezende SM^a

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

^b Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Belo Horizonte, MG, Brazil

^c Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais (HEMOMINAS), Belo Horizonte, MG, Brazil

^d Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (HEMORIO), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^e Centro de Hemoterapia e Hematologia do Espírito Santo (HEMOES), Vitória, ES, Brazil

^f Centro de Hematologia e Hemoterapia do Paraná (HEMPAR), Curitiba, PR, Brazil

Hemophilia A (HA) is an inherited X-linked bleeding disorder characterized by the deficiency of factor VIII (FVIII), which affects 1:5,000–10,000 newborn males worldwide. The treatment of HA is based on the administration FVIII-containing products in response to bleeding episodes and/or in a prophylactic approach. However, during treatment, approximately 30% of patients develop alloantibodies (inhibitors), which inhibit the coagulant activity of the infused factor promoting ineffective FVIII replacement. The pathophysiology related to the development of inhibitors is poorly understood. Previous studies have evaluated the immune profile of HA patients using a cross sectional study design, but no studies have followed this profile prospectively. This study aims to evaluate the immunological profile of previously untreated patients (PUP), previously exposed patients (PEP) in their early stages of FVIII replacement, and controls composed of healthy, non-hemophiliac boys. For this, 28 patients with HA diagnosed at four Brazilian hemophilia centers were enrolled consecutively. Upon inclusion, 19 (67.9%) patients received no FVIII infusion (PUP group) and nine (32.1%) had at most four days of exposure to FVIII (PEP group). The pattern of chemokines, cytokines, and microparticles (MPs) were evaluated by flow cytometry in the 28 patients with HA and 47 controls. PUPs had higher levels of IL-8 ($p < 0.01$), IL-6 ($p < 0.01$), IL-4 ($p < 0.01$), and IL-10 ($p < 0.01$), and lower levels of MIG ($p < 0.01$) when compared to controls. The PEP group presented high levels of IL-8 ($p < 0.01$), lower levels of MIG ($p < 0.01$), and higher levels of IL-6 ($p < 0.01$), TNF ($p = 0.03$), IL-2 ($p = 0.04$), IFN-g ($p < 0.01$), IL-4 ($p < 0.01$), and IL-10 ($p < 0.01$) when compared with the control group. This study also observed higher levels of MPs (MP/ μ L) of erythrocytes (CD235a; $p < 0.01$), platelets (CD41a; $p < 0.01$), leukocytes (CD45; $p = 0.02$), neutrophils (CD66; $p = 0.01$), monocytes (CD14; $p = 0.04$), and T lymphocytes (CD3; $p = 0.03$) in PUPs when compared with the control group. In conclusion, it was found that the immune profile modulated by cytokines and chemokines differ between PUP, PEP, and the control group, suggesting that an immune response develops as a result from the attempt to control hemostasis in patients with HA.

200. AVALIAÇÃO DA INCIDÊNCIA DE COMPLICAÇÕES PÓS-BIÓPSIA DE MEDULA ÓSSEA EM SERVIÇO AMBULATORIAL E HOSPITALAR

Loureiro G, Arantes MLC, Trofo RPC, Dourado D, Bassitt RP

Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A biópsia de medula óssea é um exame essencial na avaliação de diversas patologias hematológicas e não hematológicas. Trata-se de procedimento relativamente simples, que pode ser feito num contexto ambulatorial, mesmo em pacientes acentuadamente plaquetopênicos e em anticoagulados dentro da faixa terapêutica. Complicações são raras e, em geral, relacionadas com dor e sangramento local. **Objetivo:** Avaliar a incidência de sangramento e complicações após a feitura de biópsia de medula óssea num serviço de atendimento ambulatorial e hospitalar. **Material e métodos:** Foram levantados os casos de biópsia de medula óssea num período de seis meses feitas em duas unidades ambulatoriais e sete unidades hospitalares nas cidades de São Paulo e Recife. Foram compilados dados em relação à ocorrência de sangramento anormal durante a coleta, de complicações pós-procedimento, do uso de antiagregantes e anticoagulantes e de dados de contagem de plaquetas e coagulograma, quando disponíveis. **Resultados:** De janeiro a junho de 2015 foram feitos 387 procedimentos de coleta de biópsia de medula óssea. A mediana foi de 61 anos (0-91), 195 (50,3%) do gênero feminino. Dos 387 procedimentos feitos, em apenas um houve formação de hematoma pós-punção, o que motivou o retorno ao serviço. Nesse caso a hipótese diagnóstica era doença mieloproliferativa crônica, o paciente não usava antiagregantes ou anticoagulantes e a contagem de plaquetas era normal. O caso foi resolvido após cuidados locais, sem necessidade de transfusão. **Conclusão:** Na nossa casuística, observamos um pequeno número de complicações (0,25%) relacionadas com formação de hematoma local, comparável com a literatura.

201. PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS PACIENTES HEMOFÍLICOS ATENDIDOS NO HEMONÚCLEO DO HOSPITAL DE BASE DE BAURU – FAMESP

Frigo TMC, Coltri VFN, Cardoso MT, Garcia MN, Lima PSP, Catto MA, Maciel ACE, Cantão NM, Assato CMS, Freitas TC

Hemonúcleo do Hospital de Base de Bauru, Fundação para o Desenvolvimento Médico e Hospitalar (FAMESP), Bauru, SP, Brasil

Introdução: A hemofilia decorre de fatores hereditários ou adquiridos. Os hereditários são resultantes de alterações nos genes do fator VIII (hemofilia A) ou no gene fator IX (hemofilia B). Os fatores adquiridos são associados a doenças autoimunes, cânceres e causas idiopáticas. A gravidade clínica independe do fato de o portador ter hemofilia A ou B, mas está relacionada ao nível de atividade dos fatores VIII e IX no plasma. Toma-se por base a atividade normal, correspondente a 100%, para a classificação dos seguintes níveis: grave 0 a 1% de atividade normal, moderada de 1 a 5% e leve de 6 a 24%. A hemofilia é uma doença genética de transmissão recessiva ligada ao cromossomo X, o que explica o fato de ela se apresentar quase exclusivamente em homens. De acordo com o Ministério da Saúde (MS, 2012), 49,17% dos casos de doença hemorrágica observados no Brasil são causados pela hemofilia A, 9,71% pela hemofilia B e 29,35% pela doença de von Willebrand (DvW). Os 11,77% restantes estão relacionados às outras deficiências de fatores de coagulação. O diagnóstico clínico baseia-se na identificação de pacientes que apresentam história de hematomas após pequenos traumatismos, principalmente nos primeiros anos de vida; sangramento espontâneo, especialmente em articulações, e sangramento excessivo após trauma ou cirurgia. No entanto, o diagnóstico definitivo depende da pesquisa do fator para demonstrar deficiência de Fator VIII ou IX. A terapêutica das hemofilias está fundamentada na administração dos fatores de coagulação deficiente. Felizmente, já é possível manter os níveis constantes de fatores VIII ou IX nos portadores de hemofilia por administração contínua, por meio das profilaxias primária e secundária. **Material e métodos:** Foram analisados 28 prontuários de pacientes atendidos no hemonúcleo. Os dados obtidos foram classificados de acordo com o tipo de coagulopatia e sua classificação, presença de inibidor, dose domiciliar, feitura de autoinfusão, profilaxia secundária, sorologia e idade. **Resultados:** Dos pacientes, 16 (57,14%) são hemofílicos A, quatro (14,28%) são hemofílicos B, seis (21,43%) são portadores da DvW e dois (7,14%) apresentam deficiências de outros fatores de coagulação.

Dos hemofílicos A e B, três (10,71%) foram classificados em leve, 10 (35,71%) em moderado e sete (25%) em grave. Quanto à dose domiciliar, 18 (64,3%) são aptos, sete (25%) têm treinamento para autoinfusão e seis (21,43%). Quanto aos pacientes soropositivos, observamos dois (7,14%) soropositivos para hepatite B e cinco (17,86%) soropositivos para hepatite C. Em relação à faixa etária, três (10,71%) até 10 anos, seis (21,43%) de 11 a 20 anos, sete (25%) de 21 a 30 anos, seis (21,43%) de 31 a 40 anos e seis (21,43%) de 41 a 50 anos. As articulações mais acometidas são joelhos, cotovelos e tornozelos e os acidentes hemorrágicos mais comuns são hematomas e epistaxes. **Conclusão:** A maioria dos pacientes atendidos no hemonúcleo são hemofílicos A moderado, do sexo masculino e estão na faixa até 30 anos. Quanto ao perfil sorológico, cinco hemofílicos são portadores de hepatite C e dois de hepatite B. A presença do inibidor do Fator VIII ocorreu em apenas um hemofílico. A dose domiciliar é feita pela maioria dos pacientes, mas menos da metade são aptos à autoinfusão. Os pacientes são orientados quanto à necessidade da profilaxia primária e secundária, porém falta comprometimento para atingir o percentual adequado.

202. CUSTO-EFETIVIDADE DA TERAPIA DE INDUÇÃO DE IMUNOTOLERÂNCIA EM PACIENTES ADULTOS COM HEMOFILIA A COM INIBIDORES DE ALTA RESPOSTA

Prezotti ANL^{a,b}, Montalvão SAL^c, Lorenzato C^d, Oliveira AM^e, Roberti MDR^f, Filho LIF^g, Okazaki E^h, Villaca PR^h, Medina SS^c, Ozelo MC^{a,c}

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

^b Centro de Hemoterapia e Hematologia do Espírito Santo (HEMOES), Vitória, ES, Brasil

^c Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^d Centro de Hematologia e Hemoterapia do Paraná (HEMEPAR), Curitiba, PR, Brasil

^e Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado de Minas Gerais (HEMOMINAS), Belo Horizonte, MG, Brasil

^f Hemocentro de Goiás (HEMOGO), Goiânia, GO, Brasil

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

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

Introdução: Inibidores ocorrem em cerca de 25% dos pacientes com hemofilia A (HA). A terapia de indução de imunotolerância (ITI) é o tratamento de escolha para erradicar esses anticorpos. A presença de inibidores de longa data em adultos com HA tem sido associada ao insucesso da ITI. No Brasil, apenas a partir de 2013, com o aumento da disponibilidade de concentrado de fator, tornou-se possível a feita da ITI. **Objetivo:** Avaliar o impacto clínico e econômico da ITI em pacientes adultos com HA, com longo histórico de inibidor de alta resposta e que usam agentes *bypass*. **Material e métodos:** Foram analisados retrospectivamente dados clínicos e laboratoriais de pacientes com HA com inibidores de alta resposta e idade superior a 18 anos, submetidos à terapia de ITI. **Resultados:** Foram avaliados 26 pacientes adultos com HA que iniciaram ITI. Desses, 13 (50%) já atingiram os critérios de sucesso completo (inibidor < 0,6 UB; recuperação \geq 66% e meia-vida do FVIII \geq 6h). Mais quatro pacientes em curso da ITI alcançaram título < 5 UB e param de usar agentes *bypass*. Portanto, 17/26 (65%) pacientes interromperam o uso de agentes *bypass* em período médio de dois meses de tratamento (intervalo até 18 meses). Após 24 meses de tratamento irregular dois pacientes abandonaram o protocolo de ITI. A análise dos 13 pacientes com sucesso completo revelou idade média ao primeiro relato de inibidor de 16,2 anos (DP \pm 11,6; mediana 21 anos; intervalo 0,7 a 37) e idade média de início da ITI 31,2 anos (DP \pm 10,6; mediana 27 anos; intervalo 19 a 47). O tempo médio entre o primeiro inibidor detectado ao início da ITI foi 15 anos (DP \pm 5,1; mediana 16; intervalo 7 a 22). A média do pico histórico do inibidor foi 53,1 UB (DP \pm 49,5; mediana 39,4 UB; intervalo 5,5 a 163). A média do inibidor pré-ITI foi 6,6 UB (DP \pm 5,5; mediana de 5,5 UB; intervalo 0,6 a 20,8). O protocolo ITI inicialmente foi de baixas doses para todos os casos (25-50 UI/kg, 3x/semana) e três pacientes aumentaram a dose durante o tratamento (100 UI/kg de 3 a 7x/se-

mana). Durante ITI, 10/13 pacientes receberam profilaxia com agentes de *bypass* e nove iniciaram a profilaxia antes da ITI. O tempo médio para negatar o inibidor (< 0,6 UB) foi de 11,6 meses (DP \pm 12,5; mediana sete meses; intervalo 0,5 a 44). Os 13 pacientes atingiram os critérios de sucesso; no entanto, houve atraso para a maioria para feita da farmacocinética do FVIII. Quanto aos dados clínicos, observou-se redução significativa na taxa de sangramento anualizada (ABR) e na taxa anualizada de hemartrose (AJBR), na comparação das medianas entre 12 meses antes da ITI (ABR 16; AJBR 12), durante ITI (ABR 3,5; AJBR 2,2) e após alcançar o sucesso completo (ABR 0; AJBR 0) ($p < 0,01$ para todas as análises nas diversas comparações). Na avaliação econômica, houve redução significativa entre as medianas do valor gasto com fatores de coagulação, na comparação dos 12 meses antes da ITI (US\$ 206.974) com os anos seguintes após o sucesso ITI (primeiro ano US\$ 66.923,62, $n = 12$; $p < 0,001$; segundo ano US\$ 35.867,12, $n = 6$; $p < 0,031$). Não se observou qualquer diferença significativa entre as medianas do custo 12 meses antes e do período da ITI (US\$ 121.991). **Conclusão:** Este estudo evidenciou os benefícios tanto na eficácia para controlar e prevenir sangramentos, quanto no impacto econômico da feita da ITI em pacientes adultos com inibidor de alta resposta.

203. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE VIDA RELACIONADA À SAÚDE EM PACIENTES COM HEMOFILIA ATENDIDOS NA FUNDAÇÃO HEMOMINAS – MINAS GERAIS, BRASIL

Salomon T^a, Chaves D^b, Brener S^b, Peixoto SV^a

^a Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado de Minas Gerais (HEMOMINAS), Belo Horizonte, MG, Brasil

De maneira geral, estudos demonstram o impacto negativo da hemofilia na qualidade de vida relacionada à saúde (QVRS) dos pacientes. Esse aspecto é pouco explorado em países em desenvolvimento, incluindo o Brasil. O presente estudo, de delineamento transversal, objetivou avaliar a QVRS e seus fatores associados em pacientes com 18 anos ou mais com hemofilia atendidos em oito das 21 unidades da Fundação HEMOMINAS, centro de referência para o atendimento dessa doença em Minas Gerais. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da HEMOMINAS e todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Usou-se o instrumento específico Haem-a-QoL para coletar os dados sobre QVRS, além de questionário sociodemográfico e consulta aos prontuários médicos. A análise estatística foi feita por regressão logística ordinal (modelo de odds proporcionais), para cada domínio da QVRS. O escore foi dividido em tercís. Foram abordados todos os pacientes que compareceram nos ambulatórios no período da coleta de dados (ago/11 a jul/12), 175, 147 com hemofilia A e 28 com hemofilia B. A idade dos entrevistados variou entre 18 e 68 anos e a maioria era de não brancos (61,9%), não casados (59,4%) e com escolaridade superior a nove anos (81,9%). O escore total do Haem-A-QoL, que varia de 0 a 100, teve mediana de 36,96, com pior desempenho no domínio “Esporte e Lazer” e melhor no domínio “Relacionamentos e Sexualidade”. De maneira geral, a QVRS foi pior entre os mais velhos, com menor escolaridade, não brancos, que não trabalhavam, que foram internados no último ano, que não fizeram uma consulta médica e entre aqueles com maior número de articulações afetadas. Além disso, a presença de hepatite B piorou o domínio “Esporte e Lazer” e entre os casados houve pior desempenho em “Esporte e Lazer”, mas melhor no domínio “Maneira de lidar” com a doença. Pacientes com hemofilia do tipo B tiveram mais chance de reportar pior QVRS no domínio “Autopercepção”. Ter conhecimento a respeito de quais dimensões da QVRS são mais afetadas nessa população favorece o planejamento do cuidado desses pacientes e pode direcionar as modalidades de tratamento, com vistas a melhorar a QVRS dos grupos mais vulneráveis. Isso pode ter impacto em todo o sistema de atenção à saúde, auxiliar na elaboração de novas abordagens terapêuticas que possam influenciar de forma positiva a QVRS dos pacientes com hemofilia. Chama atenção que a presença de sangramentos articulares afeta de forma significativa quase todos os aspectos da qualidade de vida dos pacientes. É necessário avançar no uso do fator profilático para os pacientes com hemartroses de repetição, o que poderá contribuir para melhoria da qualidade de vida desse grupo. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

204. PREVALÊNCIA DE INIBIDORES NOS PACIENTES PORTADORES DE HEMOFILIA NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL – COMPARAÇÃO COM OS DADOS DO PERFIL DAS COAGULOPATIAS HEREDITÁRIAS NO BRASIL

Catelli DH^a, Hoffmann DS^b, Luz AC^c, Ourique LO^c, Diaz GFC^c, Medina SF^c, Spalding S^c, Spessato B^d, Daudt LE^a, Silla LMR^a

^a Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^b Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^c Fundação Estadual de Pesquisa e Produção em Saúde (FEPPS), Porto Alegre, RS, Brasil

^d Universidade Católica de Pelotas (UCPel), Pelotas, RS, Brasil

O surgimento de inibidores é uma temida complicação do tratamento da hemofilia. Consistem em anticorpos capazes de neutralizar a atividade dos fatores de coagulação. Uma unidade de inibidor (uma unidade Bethesda [UB]) é definida como a unidade capaz de inutilizar metade do fator VIII presente na solução testada. Aumentos intensos no título do anticorpo contra o fator (inibidor) são chamados de alta resposta e correspondem a títulos superiores a 5 UB. Respostas imunes mais lentas e contidas estão associadas a menores títulos e são classificadas como de baixa resposta. A presença de inibidores aumenta de forma significativa os custos relacionados ao tratamento da hemofilia. Nos inibidores de baixo título, o aumento nas doses dos produtos habituais está indicado. Nos inibidores de alta resposta, é necessário o uso de produtos ditos de *bypass*, cujo custo é ainda mais elevado. O tratamento da hemofilia no Brasil apresentou importantes avanços nos últimos anos. O cenário atual contempla programas de profilaxia primária, imunotolerância e fatores de coagulação recombinantes. Ainda hoje ocorrem questionamentos referentes ao aumento do risco do desenvolvimento de inibidores relacionados à exposição precoce aos fatores de coagulação, presente no contexto da profilaxia primária, assim como no uso dos produtos recombinantes quando comparados com os de origem plasmática. Neste estudo avaliamos a prevalência de inibidores nos pacientes hemofílicos no estado do Rio Grande do Sul entre 1 de janeiro de 2003 e 31 de dezembro de 2007. Na hemofilia A, de 384 pacientes diagnosticados, 326 foram testados, o que corresponde a 85% da população. Encontramos os achados de 282 pacientes (86,5%) sem inibidores detectáveis, 14 (4,3%) com título entre 0,1 e 0,9 UB, 28 (8,6%) com títulos entre 1 e 5 UB e dois (0,6%) acima de 5 UB, o que corresponde a inibidores de alta resposta. Dos 60 pacientes com hemofilia B, 58 foram testados (96% dos pacientes). Desses, 55 (93,2%) não tinham inibidores detectáveis, dois (3,4%) apresentavam título entre 0,1 e 0,9 UB, dois (3,4%) com resultados entre 1 e 5 UB e nenhum com títulos superiores a 5 UB ($p = 0,484$). Os dados encontrados contrastam com os reportados no Perfil das Coagulopatias Hereditárias no Brasil 2007 pelo estado do Rio Grande do Sul. Nesse Perfil, que compila os dados informados entre 2005 e 2006, há relato de apenas sete indivíduos com hemofilia A testados, o que corresponde a 1,8% da população de 384 pacientes, todos com pesquisa de inibidores negativa. No Perfil 2011-2012, que descreve os dados referentes aos anos citados, houve uma melhoria nesses índices. Nesse Perfil, 72% dos pacientes com hemofilia A foram testados, com 5,95% de resultados positivos sobre o total de pacientes e sem discriminação dos títulos. No mesmo Perfil, para hemofilia B, 51% dos pacientes não haviam sido testados e a proporção de presença de inibidor sobre o total de pacientes foi de 2,38%. A detecção de inibidores impacta no tratamento dos pacientes e eleva seu custo. Os dados reportados ao Ministério da Saúde permitem o planejamento e a execução de programa de tamanha monta. O subdiagnóstico e a subnotificação dificultam a avaliação do impacto dos avanços obtidos no tratamento da hemofilia em nosso país nos últimos anos.

205. PRODUÇÃO DE FATOR VII DE COAGULAÇÃO SANGÜÍNEA EM LINHAGEM CELULARES HUMANAS

Freitas MCC^a, Bomfim AS^b, Mizukami A^b, Swiech K^b, Castro VP^a, Covas DT^c

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

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

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

O Fator VII recombinante (FVIIr) tem sido a principal escolha terapêutica dos pacientes hemofílicos que desenvolvem inibidores contra os fatores VIII e IX usados como tratamento. Atualmente, o fator usado é produzido em células de camundongo (BHK-21), o qual oferece desvantagens, se considerarmos a complexidade das modificações pós-traducionais dessa proteína e a inserção de glicosilações de origem murina altamente imunogênicas aos seres humanos. Dessa maneira, a produção de proteínas para uso terapêutico em linhagens celulares humanas surge como uma opção promissora. Dentro desse contexto, o objetivo principal deste trabalho foi clonar e expressar o FVII de coagulação sanguínea em três linhagens celulares humanas (HepG2, Sk-Hep, HKB-11), compará-las com a linhagem murina BHK-21 e selecionar a melhor produtora da proteína recombinante. As células foram modificadas com o vetor lentiviral p1054-CIGWS, que continha os genes do FVII e do marcador GFP. Após a modificação das células, foi observada uma eficiência de transdução de 80% nas células BHK-21-FVIIr, 73% nas células HepG2-FVIIr, 32% nas células HKB-11-FVIIr e 95% Sk-Hep-FVIIr. O FVII é uma proteína que, para sua ativação, tem como principal modificação pós-traducional a gama-carboxilação vitamina K dependente, que ocorre por meio do ciclo da vitamina K com a participação de três enzimas, gama-carboxilase, VKORC1 e calumenina (inibidor). A expressão gênica dessas enzimas foi avaliada antes e após o tratamento com a vitamina K. Foi possível observar que houve um aumento nos níveis de RNAm nas células humanas tratadas com vitamina K. Isso sugere que essa é capaz de ativar as enzimas do ciclo da gama-carboxilação. A cinética de crescimento celular em garrafas estáticas mostrou que as células murinas BHK-21 modificadas têm uma velocidade específica de crescimento 25% mais elevada do que das células humanas. Contudo, a cinética de produção das linhagens recombinantes mostrou que as células humanas produzem cerca de três vezes mais FVIIr do que as células BHK-21. Devido à baixa produção de FVIIr na linhagem celular murina, e ao fato de que a linhagem humana HepG2 apresenta um perfil de crescimento extremamente lento, as linhagens recombinantes Sk-Hep-1-FVIIr e HKB-11-FVIIr foram selecionadas para ensaios de cultivo em suspensão com microcarregadores em frascos *spinners*. Ao longo de 10 dias de cultivo as células HKB-11-FVIIr mostraram uma produção acumulada de 152 µg de FVIIr, o que corresponde a 304 UI. As células Sk-Hep-1-FVIIr produziram 202,6 µg de FVIIr, o que corresponde a 405,2 UI. Em suma, nossos dados comprovam que as linhagens celulares humanas são eficazes para a produção de fator VII recombinante, uma vez que, com o uso do nosso modelo de produção, essas mostraram-se melhores do que as de células murinas (BHK-21) usadas pela indústria. Assim, essas linhagens celulares humanas podem ser usadas como uma nova plataforma para a produção de FVII, bem como para outras proteínas recombinantes, de maneira mais segura e com menor risco de desenvolvimento de anticorpos inibidores.

206. COMPARAÇÃO ENTRE RESULTADOS DE DOSAGEM DE FIBRINOGENIO E TROMBOELASTOMETRIA NUM SERVIÇO HOSPITALAR

Myazi MEL, Oliveira LAM, Bassitt RP, Loureiro G

Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O fibrinogênio é uma glicoproteína plasmática produzida no fígado, atua na cascata de coagulação e forma a fibrina, após a ação da trombina. É considerada uma proteína de fase aguda, que se eleva em situações que envolvem dano celular, infecção ou inflamação tissular, além de poder encontrar-se elevada também na gestação. O método laboratorial *in vitro* mais usado é o de Clauss (coagulométrico), que converte o fibrinogênio em fibrina após adição de excesso de trombina no plasma citratado. A tromboelastometria (TE) é um método que permite uma avaliação global, em tempo real, de todas as alterações viscoelásticas que ocorrem durante a coagulação, engloba a iniciação, formação, estabilização e lise do coágulo. **Objetivo:** 1- Analisar a correlação entre os valores obtidos do parâmetro MCF (Maximum Clot Firmness) do tromboelastograma e os valores de fibrinogênio em amostras obtidas numa mesma coleta. 2- Verificar a sensibilidade e especificidade do MCF na detecção de alterações na dosagem de fibrinogênio. **Material e métodos:** Em dois meses foram avaliados 38 casos de tromboelastograma solicitados numa unidade hospitalar e que tinham solicitação de dosagem de fibrinogênio concomitante. O TE foi feito no equipamento Rotem e avaliado o parâmetro MCF (Maximum Clot Firmness) expresso

em milímetros. Foram considerados valores normais entre 10-25 mm. O fibrinogênio foi dosado no equipamento STA Compact por meio do método coagulométrico e os valores expressos em mg/dL foram considerados valores normais entre 200 e 400 mg/dL. A correlação entre os valores de MCF e de fibrinogênio foi estimada por meio do teste de correlação de Pearson. **Resultados:** Foi observada correlação direta entre valores obtidos de MCF e os valores de fibrinogênio nos casos estudados ($r = 0,88$). Observou-se também que os quatro testes que apresentaram gráfico de linha reta (incoagulável), ou seja, sem valor para MCF, obtiveram resultados de fibrinogênio inferior a 60 mg/dL. A sensibilidade da alteração do TE para detecção de alteração no fibrinogênio foi de 66,6% e a especificidade de 95%. O valor preditivo positivo obtido foi de 92,3% e o valor preditivo negativo foi de 76%. **Conclusão:** Observou-se que existe uma relação proporcionalmente direta entre os resultados de ambos os métodos – o método coagulométrico automatizado (método de Clauss) do equipamento STA Compact e o método de tromboelastometria do equipamento Rotem. O teste TE apresentou ainda boa especificidade na detecção de casos com fibrinogênio normal.

207. HIPOFIBRINOGENEMIA COMO PRIMEIRA MANIFESTAÇÃO DE DOENÇA AUTOIMUNE

Oliveira MS^a, Okazaki E^a, Villala PR^a, Valim AKZ^a, Rocha TRF^a, Oliveira V^a, Shinjo SK^b, D'amico EA^a

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

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

Introdução: Distúrbios de fibrinogênio são condições raras que podem ser congênitas ou adquiridas. A disfibrinogenemia leva à produção de um fibrinogênio disfuncional, enquanto a hipofibrinogenemia ocorre quando há uma redução da síntese ou aumento de consumo do fibrinogênio. **Objetivo:** Relatar um caso raro de hipofibrinogenemia associado à doença autoimune. **Relato de caso:** Mulher branca, 40 anos, com antecedente de cardiopatia secundária à febre reumática, foi internada no HC-FM-USP em novembro de 2014. Apresentava-se com quadro de parestesia em membro inferior esquerdo iniciado havia dois meses e surgimento de lesões infiltrativas cutâneas, essas inicialmente confundidas com hematomas superficiais em membros inferiores e quadril, que se disseminaram para região glútea, membros superiores e abdome. Associava-se com quadro febril, sem outros sintomas constitucionais ou adenomegalias palpáveis. Laboratorialmente, apresentava prolongamento do tempo de protrombina - TP (atividade = 44%), tempo de tromboelastina parcial ativado - TTPa ($R = 1,4$) e tempo de trombina - TT (66,1 seg), com importante redução dos níveis de fibrinogênio (42 mg/dL) e correção do TP e TTPa após teste da mistura 1:1 (75% e 1,17, respectivamente). Além dessas alterações, apresentava anemia (Hb = 7,5 g/dL Ht = 22,8%; VCM = 92 fL; HCM = 29 pg RDW = 15,4%), com leucocitose e plaquetometria normais e fator antinuclear positivo, pontilhado fino nuclear 1:640. Tomografia de regiões ilíaca, mediastinal e axilares mostrou linfonodos em número aumentado, mas sem caracterizar linfonodomegalia. A biópsia de lesões cutâneas foi compatível com vasculite trombótica. A paciente evoluiu com pioria progressiva de TP (AP = 32%), TT (incoagulável), fibrinogênio (27 mg/dL) e desenvolveu plaquetopenia com níveis de até $58 \times 10^9/L$. Pesquisa de disfibrinogenemia por tempo de trombina modificado, um teste de mistura 1:1 com plasma desfibrinado, foi negativa. Feita hipótese de doença autoimune não especificada e introduzido corticosteroide e posteriormente azatioprina. Após quatro semanas, a paciente apresentou resolução do quadro cutâneo e normalização do TP, TTPa, TT, fibrinogênio (285 mg/dL) e plaquetometria. Nove semanas após o início da terapia imunossupressora, apresentou extensa trombose de veias cervicais, sem sintomas B, ou pioria de lesões dermatológicas. Nessa ocasião, mantinha ainda normalização das alterações de hemostasia, com níveis de fibrinogênio de 451 mg/dL, e foi iniciada terapia anticoagulante. Atualmente, após nove meses de seguimento, mantém níveis de fibrinogênio próximos de 400 mg/dL, e encontra-se ainda com imunossupressão e anticoagulante, em investigação de possível síndrome de Sjögren. **Discussão e conclusão:** É descrição de doenças autoimunes podem ser responsáveis por alterações da hemostasia, devido a mecanismos mediados por autoanticorpos que interagem com as plaquetas e fatores de coagulação. Classicamente, são relatados casos de plaquetopenia imune e, apesar de raros, hemofilia e doença de Von Willebrand adquiridas, porém a associação com al-

terações no fibrinogênio não é comum. O presente relato é um raro caso de hipofibrinogenemia adquirida, secundária a uma doença autoimune, em que o tratamento da causa base foi primordial para a normalização da alteração hematológica.

208. PREVALÊNCIA DE INIBIDOR DO FVIII NOS PACIENTES COM HEMOFILIA A REGISTRADOS NO NÚCLEO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DE SANTOS (SP)

Medeiros BR^a, Souza TA^a, Santos RMD^b, Ferreira ECPM^a

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

^b Hemonúcleo de Santos, Santos, SP, Brasil

Introdução: A hemofilia A é uma coagulopatia de herança recessiva ligada ao cromossomo X, causada por mutações no gene codificador do FVIII. Dentre essas mutações estão as deleções, inversões, inserções e mutações sem sentido ou de sentido trocado que causam deficiência quantitativa ou qualitativa do FVIII. A hemofilia é classificada como grave quando o nível residual de FVIII for abaixo de 1%; moderada quando o nível do fator no plasma varia entre 1 a 5%; e leve quando o FVIII apresenta sua atividade coagulante acima de 5%. O diagnóstico é baseado no histórico familiar, na clínica do paciente e no coagulograma, que terá uma alteração no resultado do TTPa e no tempo de coagulação. A dosagem de FVIII no plasma é o diagnóstico confirmatório para a doença. A terapia abordada no tratamento da hemofilia são infusões de FVIII de origem plasmática ou de recombinante. Porém, alguns hemofílicos apresentam resistência ao tratamento devido à produção de aloanticorpos contra o FVIII exógeno que desencadeiam uma resposta humoral. Esses anticorpos podem ser desenvolvidos por fatores intrínsecos e extrínsecos. Os intrínsecos são o tipo de mutação do gene F8 e o polimorfismo em genes que envolve a resposta imune e os extrínsecos envolvem a origem do FVIII administrado. Os anticorpos são detectados por meio do método de Bethesda modificado, quantificados e descritos como unidades de Bethesda (UB). Uma UB corresponde à quantidade de anticorpos circulantes capaz de inibir 50% do fator de coagulação no plasma de um paciente normal. **Objetivo:** Verificar a prevalência de pacientes portadores de hemofilia A com a presença de inibidores do FVIII no Núcleo de Hematologia e Hemoterapia de Santos. **Material e métodos:** Foi feito um estudo retrospectivo de 81 prontuários de pacientes portadores de hemofilia A registrados no Núcleo de Hematologia e Hemoterapia de Santos (SP). **Resultados:** Foi observado que dos 81 pacientes 97,5% ($n = 79$) são do sexo masculino e 2,5% ($n = 2$) do sexo feminino. Desses, 59,2% ($n = 48$) têm a forma grave da doença, 12,4% ($n = 10$) têm a forma moderada e 28,4% ($n = 23$) a forma leve. Em relação ao tipo de tratamento, 40,7% ($n = 33$) fazem tratamento apenas com FVIII recombinante e 59,3% ($n = 48$) fazem com FVIII derivado do plasma de doadores de sangue. No entanto, ao verificar a presença de inibidor de FVIII, observou-se que 14,8% ($n = 12$) apresentaram inibidor de FVIII positivo; 66,6% ($n = 8$) dos pacientes com o inibidor têm hemofilia A grave, 16,7% ($n = 2$) hemofilia A moderada, 16,7% ($n = 2$) apresentaram a doença na forma leve. Em relação ao tratamento desses hemofílicos com inibidor, 75% ($n = 9$) fazem tratamento com FVIII plasmático e 25% ($n = 3$) com FVIII de origem recombinante. **Conclusão:** A detecção dos inibidores é crucial para que haja uma estratégia médica no tratamento desses pacientes, incluindo opções terapêuticas, como o uso de concentrado do complexo protrombínico ativo ou inativo, bem como a administração de acetato de desmopressina em casos de hemofilia leve. Essas medidas são tomadas com o intuito de conter hemorragias de difícil controle e possibilitar mais segurança em casos de cirurgias eletivas.

209. TROMBOSE VENOSA PROFUNDA ESPONTÂNEA EM PACIENTE COM HEMOFILIA A: RELATO DE CASO

Duarte BP, Moraes EAS, Lima MCMC, Vanderlei AM, Correia MCB, Araújo MAAL, Almeida CBV, Carvalho BRV, Assis RA

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

Introdução: Hemofilia A é uma doença hemorrágica hereditária caracterizada pela deficiência do fator VIII de coagulação. Trombose raramente é descrita em pacientes com hemofilia A e, quando presente, está relacionada ao uso de cateter venoso e agentes de bypass. Neste relato apresentamos o caso de um paciente com hemofilia A, diabético, portador de vírus C e trombose venosa profunda (TVP) espontânea não relacionada a

uso de cateter ou agente *bypass*. **Relato de caso:** Homem, 45 anos, com diagnóstico de hemofilia A moderada desde os 19 anos devido à hemorragia de repetição e história familiar de dois irmãos com diagnóstico de hemofilia A em acompanhamento no HEMOPE. Ao longo do seguimento, apresentou vários episódios de sangramentos cutaneomucosos, articular (ombros, cotovelos, joelhos e tornozelos) e hematomas (ungueal, antebraço, panturrilha, psosas e região cervical, glútea e abdominal). Os episódios de sangramentos eram tratados com crioprecipitado, plasma fresco congelado, e os sangramentos mais leves, com antifibrinolíticos. A partir de 1993, iniciou tratamento com concentrado de fator VIII (CFVIII). Nunca apresentou inibidor do fator VIII em avaliações anuais. É portador do vírus da hepatite C desde 1998, em acompanhamento e sem tratamento específico, além de diabetes mellitus não tratada desde 2011. A profilaxia secundária com CFVIII foi iniciada em 2013, após diagnóstico de hematoma de psosas com consequente redução dos episódios de sangramento. Em 2015, evoluiu com quadro de dor importante e edema em membro inferior esquerdo com USG Doppler venoso que evidenciou trombose em veia solar. Iniciado heparina de baixo peso molecular (HBPM) e CFVIII recombinante (CFVIIIr). Durante a internação, apresentou os seguintes exames laboratoriais: TTPa (ratio): 1,69, dosagem FVIII: 19, inibidor de FVIII: 0,1 UB, Proteína C e S, mutação do fator V Leiden e da protrombina negativos para trombofilia. Após 20 dias de internação, recebeu alta hospitalar com CFVIIIr e USG Doppler venoso de controle que evidenciou recanalização do vaso. **Discussão:** Trombose é raramente encontrada em pacientes com hemofilia A. Os fatores de risco mais importantes estão relacionados ao uso de cateter venoso, agentes de *bypass*, deficiência de proteína C, mutação do fator V de Leiden e do gene da protrombina. A terapia de reposição de fator que corrige o defeito de coagulação aproxima o risco trombótico do da população normal. Além disso, a melhoria da sobrevida dos pacientes com hemofilia aumentou o número de comorbidades relacionadas à idade, principalmente eventos cardiovasculares. Não há consenso sobre o tratamento de TVP em pacientes hemofílicos devido ao baixo número de casos relatados. A maioria dos autores descreve o uso de HBPM associado a CFVIII como tratamento de escolha, com tempo de anticoagulação máximo de 30 dias. Anticoagulantes orais não são o tratamento preferencial devido ao maior risco de sangramento e à necessidade de monitoramento mais próximo. No caso relatado, o paciente foi anticoagulado com HBPM (2/3 da dose) por 20 dias associado ao uso do CFVIIIr elevado a 30% e apresentou boa evolução da TVP com recuperação clínica e ultrassonográfica. **Conclusão:** Trombose venosa em pacientes hemofílicos é uma realidade ainda pouco compreendida com alguns casos descritos em literatura. É necessária uma melhor investigação do mecanismo e tratamento da trombose nesse grupo de pacientes.

210. OCTREOTIDE PARA SANGRAMENTO RECORRENTE DEVIDO À ANGIODISPLASIA INTESTINAL EM DOENÇA DE VON WILLEBRAND

Duarte BP, Moraes EAS, Lima MCMC, Vanderlei AM, Correia MCB, Araujo MAAL, Almeida CBV, Carvalho BRV, Assis RA

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

Introdução: Angiodisplasia associada a defeitos ou disfunções do fator de Von Willebrand (FVW) é conhecida há mais de 40 anos. O sangramento do trato gastrointestinal (TGI) associado a angiodisplasia piora o curso clínico da desordem hemorrágica e torna o manejo difícil e desafiador. A terapia de reposição do fator tem limitações e o uso de análogo de somatostatina ou inibidores de angiogênese é uma das opções para diminuição do sangramento refratário. **Relato de caso:** Homem, 72 anos, encaminhado ao HEMOPE devido a episódios de epistaxe de repetição. Apresentava TTPa (ratio): 1,23, INR: 1,03, contagem plaquetária: 324.000, teste de agregação plaquetária com ADP e cofator de ristocetina normais, dosagem de FVW: 37%, fator VIII: 41,7% e fator IX: 95%. Foi diagnosticada doença de von Willebrand (DVW). Em 2006, atribuiu a causa dos episódios de epistaxe ao hemangioma nasal, corrigido cirurgicamente. Em 2014, após correção cirúrgica de hérnia inguinal, evoluiu com melena e necessidade transfusional importantes. Fez exames endoscópicos de TGI com visualização de angiectasias e outras malformações vasculares em jejuno com sangramento em atividade. Iniciado tratamento com talidomida 100 mg ao dia por 60 dias sem resposta. Octreotida foi iniciado como segunda opção terapêutica, atualmente na dose de 30 mg a cada 28 dias, e o paciente evoluiu com diminuição dos episódios de sangramento e da necessidade transfusional. **Discussão:** O

papel do FVW na hemostasia é bem conhecido. Nos últimos anos, outras funções têm sido descritas. Isso indica que essa proteína está envolvida em múltiplos processos vasculares, um deles o controle da angiogênese, com grandes implicações clínicas para os portadores de DVW. Angiodisplasia tem sido descrita tanto na DVW congênita quanto adquirida, está predominantemente associada aos tipos 2 e 3. Os pacientes podem apresentar hemorragia gastrointestinal grave, e os métodos diagnósticos mais comumente usados são endoscopia e angiografia. O manejo desses pacientes é um desafio, uma vez que os episódios de sangramento tornam-se mais recorrentes e graves com a idade. Terapia de reposição com produtos derivados de plasma que contém FVW e Fator VIII é o principal tratamento em casos de sangramento agudo. Devido às limitações da terapia de reposição e frequente recorrência dos episódios de sangramento no TGI, profilaxia secundária e tratamentos adjuvantes têm sido tentados, como procedimentos endoscópicos (termo, eletro e fotocoagulação), arteriografia com embolização do principal vaso na área afetada (não muito efetivo devido ao padrão de acometimento múltiplo e difuso das lesões angiodisplásicas), imunoglobulina, octreotida, ácido tranexâmico, desmopressina e drogas com propriedades antiangiogênicas, como talidomida e atorvastatina em altas doses. No caso relatado, o paciente não apresentou resposta com uso da talidomida, evoluiu com diminuição da necessidade transfusional e redução gradual dos episódios de sangramento após uso do octreotida. **Conclusão:** Tratamento com octreotida parece ser efetivo e seguro em pacientes com DVW e sangramento severo no TGI decorrente à angiodisplasia. Entretanto, estudos científicos devem ser incentivados, com o intuito de melhor avaliação da efetividade terapêutica em longo prazo.

211. HEPARINA DE BAIXO PESO MOLECULAR NA ABORDAGEM TERAPÊUTICA DA COAGULAÇÃO INTRAVASCULAR DISSEMINADA CRÔNICA SECUNDÁRIA A MIOMATOSE UTERINA: RELATO DE CASO

Bastos VQA, Villaa PR, Okazaki E, Valim AKZ, Rocha TRF, Oliveira V, Bozzini N, Amico EAD

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

Introdução: Relatos de coagulopatias associadas a miomas uterinos, uma doença benigna, têm sido feitos há pouco mais de três décadas. No entanto, sua associação com coagulação intravascular disseminada (CIVD) crônica ainda é pouco estudada. **Relato de caso:** Mulher, 35 anos, nulípara, em programação de embolização de mioma uterino, foi encaminhada para hematologia por apresentar prolongamento do tempo de protrombina (TP): AP = 56% (VR: 70-100%). Durante a investigação, evoluiu com piora dos testes da coagulação: TP = incoagulável, tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPA): r = 1,15 (VR: 0,84-1,21), tempo de trombina (TT) = incoagulável (VR: 16,8 seg.); plaquetas = 186.000/mm³ e fibrinogênio = 40 mg/dL (VR: 220-496) e aumento de dímero D = 6.613 mg/dL (VR: < 255). Durante o acompanhamento, apresentou oscilações dos resultados laboratoriais: TP: AP = incoagulável a 64%, TTPA: r = 1,06 a 1,21, TT = incoagulável a 23 seg, fibrinogênio = 40 a 103 mg/dL, dímero D = 6.103 a 50.980 mg/dL. Devido à alteração hemostática, optou-se por uso de análogo do GnRH para o controle do mioma. Após dois ciclos da terapêutica instituída foi evidenciada piora do quadro, com aumento do volume uterino de 2700cc para 7200cc, com nódulo que media 40,9 x 38 x 9,1 cm. Com a hipótese diagnóstica de CIVD crônica secundária ao mioma, foi feita prova terapêutica com heparina de baixo peso molecular (HBPM) – enoxaparina 40 mg/dia SC por 20 dias –, com boa resposta: fibrinogênio = 174 mg/dL; dímero D = 1.199 mg/dL; TP: AP = 80% e TT = 21 seg, o que possibilitou a liberação para o procedimento cirúrgico. A paciente foi submetida a histerectomia total, sem intercorrência, com sangramento esperado para o procedimento. No intraoperatório foram feitos controles da dosagem de fibrinogênio, que se apresentou acima de 120 mg/dL e não houve necessidade de reposição de hemoderivados ou hemocomponentes. Em controle uma semana após a cirurgia, apresentava dímero D (425 mg/dL) levemente aumentado, o coagulograma normalizado (TP: AP = 85%; TTPA: r = 1,09, TT = 18,6s) e níveis normais de fibrinogênio (398 mg/dL). **Discussão:** Poucos são os relatos de CIVD associada a miomas descritos na literatura. Caracteristicamente, essas pacientes cursam com importante hipofibrinogemia e oscilações do coagulograma, sem manifestações hemorrágicas sistêmicas. No presente relato

encontramos as mesmas características clínico-laboratoriais. O uso de HBPM em dose profilática foi eficaz na correção do coagulograma e normalização dos níveis de fibrinogênio e permitiu abordagem cirúrgica segura, diferentemente dos relatos de literatura, quando são usados hemocomponentes no manejo dessas pacientes. **Conclusão:** HBPM pode ser uma boa opção terapêutica no preparo pré-operatório de pacientes com CIVD secundária a miomatose uterina. Mais estudos são necessários para maior elucidação da fisiopatologia, do diagnóstico e manejo das alterações hemostáticas associadas a essa condição clínica.

Referências:

1. Caputo R, Kanbour-Shakir A. Chronic disseminated intravascular coagulation caused by a uterine leiomyoma. A case report. *J Reprod Med.* 1993;38(9):737-40.
2. Handler M, Rezaei F, Fless KG, Litinski M, Yodice PC. Uterine angioleiomyoma complicated by consumptive coagulopathy. *Gynecol Oncol Case Rep.* 2012;2(3):89-91.
3. Levi M, ten Cate H. Disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med.* 1999;341:586-92.

212. AVALIAÇÃO DE NOVAS MUTAÇÕES NO FATOR IX DA COAGULAÇÃO SANGUÍNEA HUMANA COM VISTAS AO AUMENTO DA SUA ATIVIDADE BIOLÓGICA

Bomfim As^{a,b}, Freitas MCC^b, Pádua RAP^a, Covas DT^{b,c}, Castro VP^b, Russo EMS^a

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

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

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

O Fator IX (FIX) da coagulação sanguínea é uma proteína dependente de vitamina K de grande valor farmacêutico no tratamento da hemofilia B, o qual é baseado na administração de FIX derivado de plasma humano ou FIX recombinante produzido em células de hamster. A terapia baseada nessas abordagens apresenta alto custo; a primeira está ainda associada à contaminação com vírus e príons, enquanto a segunda apresenta alto custo devido à sua baixa produtividade. O FIX é uma proteína extremamente complexa e devido às suas modificações pós-traducionais apresenta baixa secreção *in vitro*. Nesse contexto, a engenharia genética tem se tornado uma ferramenta importante na modificação de proteínas de interesse farmacêutico com vistas à melhoria das suas propriedades bioquímicas e biofísicas. Neste trabalho, fizemos um estudo detalhado da estrutura da proteína FIX e geramos quatro moléculas de FIX com vistas a melhorar sua atividade biológica. Primeiramente, clonamos a molécula FIX-TripleL, que tem as mutações ocasionais V86A, E277A e R338L e que apresenta 14 vezes mais atividade biológica do que o FIX selvagem, no plasmídeo lentiviral p1054CIGWS sob o controle do promotor CMV. Em seguida, sintetizamos outras três moléculas, cujas mutações foram determinadas por enfoques diferentes. Na molécula denominada FIX-YKALW, combinamos mutações já descritas na literatura, que substituíram aminoácidos no domínio GLA, no linker entre os domínios EGF-like 1 e 2 e no domínio catalítico, o que resultou nas mutações G4Y, V10K, V86A, R338L e S377W. No FIX-LLW, nos baseamos na estrutura do domínio catalítico da proteína que alterou os aminoácidos R338L, E372L e S377W. Por meio de análise baseada na biologia evolutiva, observamos uma divergência a partir do filo *Chordata* no aminoácido leucina na posição 265 para lisina nos mamíferos. Desse modo, na molécula FIX-ALL mutamos os aminoácidos V86A, R338L e substituímos a lisina por leucina na posição 265. Com os mutantes construídos e clonados no mesmo vetor lentiviral p1054CIWS, faremos a expressão e análise dos FIX mutados em células humanas com vistas a obter melhor produção de FIX, para que possamos contribuir para uma terapia de reposição, na qual quantidades menores das moléculas cataliticamente melhoradas serão suficientes para se obterem os benefícios terapêuticos do FIX. Essa infusão diminuída poderá reduzir ou eliminar a geração de inibidores de FIX e minimizar os efeitos colaterais e os custos do tratamento. Assim, a produção de novas moléculas de FIX recombinantes com maior atividade, com o uso de sistema de expressão de células humanas, é uma importante inovação e pode ser uma grande opção de melhoria para o tratamento da hemofilia B.

213. ANÁLISE DOS FATORES DE RISCO TROMBÓTICO EM PACIENTES COM SÍNDROME DE BUDD-CHIARI NO HOSPITAL ISRAELITA ALBERT EINSTEIN

Rocha JD, Blumenschein DI, Santos C, Helman R, Hamerschlag N

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A síndrome de Budd-Chiari é um quadro raro que se caracteriza por qualquer processo fisiopatológico que interrompa ou diminua o fluxo sanguíneo no fígado. Ocorre normalmente por trombose nas veias hepáticas, intra-hepáticas e na supra-hepática (veia cava inferior). Sabe-se que em 80% dos pacientes encontra-se um ou mais fatores de risco para eventos trombóticos associados, importante para definir a terapêutica (anticoagulação, antes do shunt). **Material e métodos:** Análise retrospectiva de 33 pacientes com síndrome de Budd-Chiari, com análise dos fatores de risco para trombose, na experiência do Hospital Israelita Albert Einstein. **Resultados:** Análise retrospectiva de 33 casos de pacientes diagnosticados com síndrome de Budd-Chiari e investigados por trombofilias. A mais frequente foi a presença de mutação do JAK2, com 36% (12/33), seguida de deficiência de proteína C (18%, 6/33) e 9% (3/33) em proteína S, SAF em 6% (2/33) e HPN em 3% (1/33). Não foram detectados caso de deficiência do fator V de Leiden, hiperhomocisteinemia, mutação da protombina e deficiência da antitrombina III; 82% (27/33) da amostra eram portadores de cirrose hepática. A apresentação clínica de cirrose hepática mais frequente foi ascite, em 58% (19/33), seguida de encefalopatia hepática (6/33, 18%). Dos achados laboratoriais, o mais frequente foi anemia em 30% (10/33), transaminase alterada em 33% (11/33), e hiperbilirrubinemia também em 33% da amostra. A pontuação na classificação de MELD (End-stage liver disease) dos pacientes analisados foi entre 10-19 em sua maioria, 73% (24/33), o que clinicamente significa uma mortalidade de 6% em três meses. Um paciente tinha MELD acima de 30, o que representa 52,6% (24/33) de mortalidade em três meses. O desfecho final da paciente foi óbito, em detrimento do transplante hepático; 33% dos pacientes foram submetidos a Tips (*transjugular intrahepatic portosystemic shunt*) e 16% ao transplante hepático (5/33). **Conclusão:** A investigação de fatores de risco para trombose na síndrome de Budd-Chiari é importante para definir tempo de tratamento e programação de acompanhamento, e deve ser feita de rotina.

214. PREVALÊNCIA DE ARTROPATIAS E CONSUMO DE FATORES DE COAGULAÇÃO ENTRE PACIENTES PORTADORES DE HEMOFILIA A E B NO RIO GRANDE DO SUL – UMA COMPARAÇÃO

Catelli DH^a, Hoffmann DS^b, Luz AC^c, Ourique LO^c, Diaz GFC^c, Medina SF^c, Spalding S^c, Spessato B^d, Daudt LE^a, Silla LMR^a

^a Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^b Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^c Fundação Estadual de Pesquisa e Produção em Saúde (FEPPS), Porto Alegre, RS, Brasil

^d Universidade Católica de Pelotas (UCPel), Pelotas, RS, Brasil

A hemorragia intra-articular (hemartrose) é a manifestação musculoesquelética mais comum da hemofilia. A hemartrose aguda se caracteriza por edema articular de ocorrência súbita. Se tratado adequadamente, o episódio agudo tende a não deixar sequelas. Entretanto, não é infrequente o desenvolvimento de um padrão de sangramentos de repetição em uma mesma articulação, o que leva à denominação de articulação-alvo. Essa articulação-alvo pode sofrer um processo de sinovite crônica, artrite inflamatória e, finalmente, artropatia crônica, com diminuição da amplitude de movimentos e deformidade articular permanente. Os programas de profilaxia implantados recentemente no Brasil visam em grande parte à prevenção dessa morbidade. Ainda que essa seja a manifestação clínica mais evidente da hemofilia, os registros nacionais e internacionais apresentam poucos dados referentes a essa condição. Embora os graus de severidade das hemofilias A e B sejam definidos igualmente de acordo com a atividade residual do fator de coagulação, estudos prévios relatam padrões de sangramento distintos entre as duas condições. Um estudo de adultos com hemofilia severa encontrou

um risco três vezes maior de necessidade de artroplastia entre os pacientes portadores de hemofilia A quando comparados com os com hemofilia B. Outros dois estudos com adolescentes e adultos jovens, que considerou número de artropatias, consumo médio anual de fatores de coagulação, número de sangramentos ou um escore composto por esses achados mais critérios radiológicos, encontraram uma severidade de sangramentos maior no grupo de pacientes com hemofilia A. Entretanto, um estudo feito com crianças portadoras de hemofilia A e B severa e moderada, avaliadas até sua inclusão em programa de profilaxia primária, não mostrou diferenças nos desfechos de idade da primeira exposição ao fator de coagulação, idade do primeiro sangramento e idade do primeiro sangramento articular. Este trabalho avaliou as artropatias encontradas nos pacientes hemofílicos no estado do Rio Grande do Sul, entre 1 de janeiro de 2003 e 31 de dezembro de 2007, portanto anterior aos programas de profilaxia atualmente instituídos no país. Encontramos uma prevalência de 31,5% de pelo menos uma artropatia entre os pacientes com hemofilia A e de 25% na hemofilia B, diferença que não é estatisticamente significativa. ($p = 0,386$). Nesse mesmo período, com o objetivo de comparar o consumo de fatores de coagulação entre os pacientes com hemofilia A e B, a amostra foi pareada por idade e grau da severidade da hemofilia. O teste t de Student não identificou diferenças significativas quanto ao consumo médio de fator (t (97) = 0,24, $p = 0,8$), variável não corrigida para o cálculo de reposição de fator IX. Embora estudos retrospectivos sugiram que, em especial na hemofilia severa, os pacientes portadores de hemofilia A apresentem mais sangramentos do que os pacientes com hemofilia B, um estudo prospectivo com pacientes acompanhados até sua inclusão em programas de profilaxia primária não demonstrou essa diferença. Em nosso estudo, embora a frequência de pelo menos uma artropatia não tenha diferido entre os grupos, o consumo bruto de fatores de coagulação também não diferiu, o que sugere uma menor necessidade de reposição de fatores de coagulação entre os pacientes portadores de hemofilia B.

215. RELATO DE CASO: USO DE RITUXIMABE PARA TRATAMENTO DE PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA TROMBÓTICA REFRAATÁRIA

Molla VC, Roque F, Lopes ER, Pontes PDP, Oliveira LC

Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: A púrpura trombocitopênica trombótica (PTT) pode ser congênita ou adquirida. A forma adquirida ocorre devido à presença de anticorpos anti-ADAMTS13, uma metaloproteinase que tem como função a clivagem do fator de von Willebrand (FvW). A PTT congênita é rara e ocorre devido à deficiência na produção de ADAMTS13. Em condições fisiológicas os polímeros do FvW são clivados pelo ADAMTS13, tornam-se multímeros menores, na ausência dele, multímeros do FvW de peso molecular muito alto. Ao passar pela microcirculação, são desdobrados e transformados em formas alongadas e ativas, que predispoem à agregação plaquetária e trombose. **Relato de caso:** Paciente do sexo feminino, 37 anos, com diagnóstico de PTT em 2004, na ocasião com necessidade de internação em CTI, com resolução do quadro após 20 sessões de plasmáfereze, retorna em maio de 2015. Apresenta um quadro com início havia 14 dias de astenia, náusea, cefaleia e palidez. Ao exame físico, apresentava petéquias em membros inferiores. Exames laboratoriais: Hb 10,0 g/dL, Plq 2.000/ μ L, Cr 1,23 mg/dL, INR 1,1, BI 1,7 mg/dL e reticulócitos 58.000/ μ dL e LDH 2.665 U/L. São visualizados esquizócitos em esfregaço de sangue periférico. Iniciadas sessões de plasmáfereze diária (uma volemia) e prednisona 1 mg/kg/d, recebeu alta hospitalar cinco dias após, com Hb 7,9 g/dL, plaquetas 218.000/ μ L e LDH 477 U/L. Após dois dias, a paciente volta a apresentar quadro de astenia, com piora dos exames laboratoriais: Hb 5,4 g/dL, plaquetas 12.000/ μ L, reticulócitos 157.000/ μ dL e LDH 1.751 U/L. Optou-se por troca de acesso venoso central, com cultura da ponta e hemoculturas negativas. Após três dias a paciente mantinha-se sem melhora do quadro, a despeito da terapia instituída. Feita dosagem de ADAMTS13 6% e anticorpo anti-ADAMTS13 positivo. Então, foi iniciado rituximabe 375 mg/m²/semana por quatro semanas. Após cinco dias da primeira infusão a paciente já apresentava melhora clínica e laboratorial: Hb 10,9 g/dL, plaquetas 140.000/ μ L e LDH 461 U/L. **Discussão:** O quadro clínico de PTT pode se manifestar de forma súbita ou insidiosa; é classicamente caracterizado por: trombocitopenia, anemia hemolítica microangiopática, lesão renal aguda, febre e sintomas neurológicos. Os exames laboratoriais são com-

patíveis com anemia hemolítica microangiopática. A mortalidade é de 90% se não tratada. A terapêutica de escolha é a plasmáfereze diária até que a contagem plaquetária seja maior do que 150.000/ μ L e haja o reestabelecimento de valores normais de LDH por dois a três dias consecutivos. O papel dos corticoides ainda não está bem-definido. Alguns autores indicam o início no momento do diagnóstico. PTT refratária é definida como falha de resposta plaquetária após quatro a sete dias do início da plasmáfereze ou piora clínica a despeito da terapia-padrão. Para o tratamento da doença refratária há diversas opções terapêuticas, como corticoides, aumento da frequência da plasmáfereze, rituximabe, esplenectomia, ciclosporina e vincristina. Novas terapias, como bortezomibe, N-acetilcisteína, eculizumabe, ADAMTS13 recombinante e terapia anti-FvW, vêm sendo testadas. Pacientes com PTT refratária tratados com rituximabe apresentaram remissão clínica entre 87 a 100% dos casos. A dose mais usada é de 375 mg/m²/semana por quatro semanas. **Conclusão:** Devido à alta mortalidade da PTT e à possibilidade de falha da plasmáfereze, é importante o conhecimento de terapias para a doença refratária.

216. ARTROPATIA HEMOFÍLICA: REVISÃO DE LITERATURA

Silva JCO, Mendes MVG, Ericeira MAL, Nicolau DI

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

Introdução: As hemofilias são doenças hemorrágicas resultantes da deficiência de fator VIII (hemofilia A) ou de fator IX (hemofilia B) da coagulação, provocada por mutações nos genes que codificam esses fatores. Podem causar uma série de repercussões musculoesqueléticas, decorrentes de hemorragias musculares e articulares, entre elas a artropatia hemofílica (AH). Em casos graves e sem tratamento adequado, tal artropatia pode acarretar limitações funcionais e até mesmo invalidez. Assim, por conta de suas graves sequelas, a prevenção da AH continua a ser um desafio para os profissionais de saúde, sobretudo hematologistas e ortopedistas. **Objetivo:** Analisar a fisiopatologia, os principais sintomas e os tratamentos empregados atualmente em pacientes acometidos por artropatia hemofílica; Apresentar informações recentes e de relevância para aqueles envolvidos no estudo e tratamento dos pacientes com AH. **Metodologia:** Revisão de literatura de artigos retirados das bases de dados SciELO, LILACS e MEDLINE, publicados de 2009 a 2015, que abordam o tema artropatia hemofílica. Fez-se a análise desses com avaliação de conceito, descrição dos sintomas mais relatados, diagnóstico, prognóstico e os tratamentos mais usados atualmente. **Resultados:** A AH é uma doença poliarticular que resulta de hemartroses de repetição, caracterizada por rigidez articular e dor crônica, atinge, sobretudo, o tornozelo, o joelho e o cotovelo. A hemorragia intra-articular provoca distensão capsular e reação inflamatória da membrana sinovial. Devido a essa inflamação, ocorre uma hipervascularização que ocasiona hemorragias repetidas, que geram um efeito destrutivo nas estruturas articulares. Além disso, a presença de sangue na cavidade articular causa um hiper crescimento irregular das epífises ósseas, provoca um fechamento precoce das epífises de crescimento, ocasiona a degeneração cartilaginosa. A cartilagem articular é destruída por processos enzimáticos, químicos e mecânicos e substituída por tecido fibroso, acarreta a diminuição do espaço articular, irregularidades do osso subcondral e formação de cistos e erosões. Posteriormente, há destruição articular com perda do alinhamento ósseo. Os primeiros achados clínicos indicativos de evolução da artropatia crônica são a hipotrofia muscular e a perda da mobilidade articular, que se manifestam antes mesmo da dor mecânica e da deformidade articular. A dor tem origem mecânica e no início responde bem aos anti-inflamatórios e analgésicos. O tratamento da AH consiste principalmente na profilaxia (prevenção dos episódios recorrentes de hemorragia e de suas consequências). O regime profilático recomendado pela Federação Mundial de Hemofilia é a administração de 20 a 40 IU/kg de fator VIII, três vezes por semana (hemofilia A), ou 30 a 40 IU/kg de fator IX, duas vezes por semana (hemofilia B). Outras opções terapêuticas, principalmente nos casos mais avançados, são os procedimentos ortopédicos, tais como sinovectomias, arthrodeses e artroplastias. **Conclusão:** A AH é uma condição que pode levar a graves complicações. A profilaxia e o tratamento oportuno podem melhorar significativamente a qualidade de vida do paciente hemofílico e permitir a feitura de atividades físicas e maior liberdade nas suas atividades da vida diária. Portanto, tais conhecimentos são fundamentais para os profissionais de saúde que lidam com esses pacientes.

217. AVALIAÇÃO DE SANGRAMENTOS NÃO ARTICULARES EM PACIENTES PORTADORES DE HEMOFILIA NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL

Catelli DH^a, Hoffmann DS^b, Ourique LO^c, Luz AC^c, Medina SF^c, Spalding S^c, Spessato B^d, Daudt LE^a, Silla LMR^a

^a Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^b Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^c Fundação Estadual de Pesquisa e Produção em Saúde (FEPPS), Porto Alegre, RS, Brasil

^d Universidade Católica de Pelotas (UCPel), Pelotas, RS, Brasil

Embora a hemorragia intra-articular (hemartrose) seja a apresentação mais comum da hemofilia, os sangramentos podem ocorrer em virtualmente qualquer topografia, sejam esses de origem espontânea ou traumática. Os sangramentos considerados potenciais ameaças à vida são os intracranianos, os de cabeça e pescoço e os de trato gastrointestinal. Os sangramentos considerados graves são os mais comuns: articulares e musculares, bem como os de membranas mucosas, como cavidades oral e nasal e trato urinário. Dados da literatura indicam que a frequência aproximada de sangramentos maiores não musculoesqueléticos é de 5 a 10%, a frequência de sangramentos de sistema nervoso central geralmente é inferior a 5%. Este trabalho avaliou os principais sangramentos não articulares encontrados nos pacientes hemofílicos no estado do Rio Grande do Sul, entre 1 de janeiro de 2003 e 31 de dezembro de 2007, portanto anterior aos programas de profilaxia atualmente instituídos no país. A amostra foi constituída por 412 pacientes (n = 354 pacientes com hemofilia A, n = 58 pacientes com hemofilia B) e a análise estatística foi feita por meio do teste qui-quadrado. Em relação aos sangramentos de sistema nervoso central, esses acometeram 5,6% dos pacientes. Os pacientes com hemofilia B apresentaram uma frequência superior desses sangramentos (10,3%) em comparação com os pacientes com hemofilia A (4,8%). Não houve, entretanto, diferenças significativas entre os grupos (p = 0,16). Para os sangramentos de trato urinário, 20% dos pacientes acompanhados no período apresentaram hematúria. A frequência de hematúria foi semelhante entre pacientes portadores de hemofilia B (21,4%) em comparação com os pacientes com hemofilia A (20,1%). Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos (p = 0,96). Na análise dos sangramentos de trato gastrointestinal, a incidência foi de 9,9%. A frequência desses sangramentos entre os pacientes com hemofilia A (10,3%) foi superior à apresentada pelos pacientes com hemofilia B (3,4%). Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos (p = 0,12). Por fim, considerada a epistaxe, 35% dos pacientes apresentaram esse sangramento no período estudado. Pacientes com hemofilia A apresentaram uma frequência superior de sangramentos nasais (39,9%), em comparação com os pacientes portadores de hemofilia B (23,4%). Mais uma vez não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos (p = 0,06). Neste estudo não houve diferença estatisticamente significativa entre os sangramentos não articulares dos pacientes portadores de hemofilia A ou B. Nas hemorragias de sistema nervoso central, houve uma tendência a maior frequência entre os pacientes portadores de hemofilia B e, naquelas do trato gastrointestinal e epistaxe, uma tendência a maior frequência entre os pacientes com hemofilia A. De forma geral, a prevalência de sangramentos não articulares, nessa população de pacientes, foi superior à descrita na literatura, exceto para os de trato gastrointestinal. É possível que a adoção dos programas de profilaxia primária reduza esses índices. Na realidade brasileira, infelizmente existem poucos estudos regionais ou nacionais que descrevam a frequência desses sangramentos.

218. INFLUÊNCIA DE ALELOS DO SISTEMA HLA NA PREDISPOSIÇÃO AO DESENVOLVIMENTO DE ANTICORPOS INIBIDORES DO FVIII EM HEMOFÍLICOS A GRAVES

Souza FCB^a, Chaves DG^a, Oliveira MB^a, Ruckert MT^a, Filho OAM^b

^a Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado de Minas Gerais (HEMOMINAS), Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Belo Horizonte, MG, Brasil

A hemofilia A é uma doença hemorrágica com caráter hereditário ligado ao cromossomo X. Os portadores da doença têm mutação no gene responsável pela codificação do fator VIII (FVIII) da coagulação sanguínea. As mutações nesse gene levam à anormalidade da atividade coagulante dessa proteína ou ao bloqueio da sua síntese e favorecem a ocorrência de episódios hemorrágicos. Os pacientes com hemofilia A recebem constantes infusões de FVIII para manutenção da hemostasia. Durante o tratamento, cerca de 25% dos pacientes desenvolvem uma resposta imune contra o FVIII infundido, o que gera anticorpos que inibem a atividade pró-coagulante do FVIII. Diversos fatores são relacionados à predisposição ou proteção do surgimento desses anticorpos, dentre eles fatores não genéticos, como idade ao início da terapia de reposição de fator, tipo do complexo infundido e frequência desse tratamento, bem como fatores genéticos, a exemplo do tipo da mutação do fator VIII e dos alelos HLA. Ponto-chave no estabelecimento da resposta imune, o sistema HLA foi estudado neste trabalho com objetivo de identificar correlações de proteção e/ou suscetibilidade de alelos HLA para o desenvolvimento de anticorpos inibidores. Um grupo de 30 hemofílicos A graves foi dividido em subgrupos classificados de acordo com a presença ou ausência de histórico de títulos altos de anticorpos inibidores (> 5 UB/mL) e foi feita tipificação molecular de média resolução para os locos A, B, C de classe I e alta resolução para DRB1, DQA1 e DQB1 de classe II. Com o uso de ferramentas de predição de ligação MHC foi feito ensaio *in silico* de desafio antigênico com peptídeos derivados do FVIII. Os haplótipos encontrados nos indivíduos do estudo foram combinados com os peptídeos a fim de gerar um escore de afinidade entre as regiões de ancoramento na fenda da molécula de HLA e o peptídeo derivado do FVIII. Foram encontradas diferenças na avidade de ligação aos peptídeos para alelos tipificados de pacientes com inibidores daqueles identificados em hemofílicos sem a presença de anticorpos inibidores. No entanto, devido à dificuldade amostral, os valores não foram estatisticamente significativos, a despeito da tendência da presença de alelos que se ligam mais fortemente aos peptídeos no grupo de hemofílicos sem inibidor. O fato de esses pacientes não desenvolverem inibidores poderia se dever a uma seleção negativa de linfócitos mais eficiente. Isso faria com que aquelas células imunes desses tenham melhor conhecimento do conteúdo antigênico *self* e desencadearia, assim, menor geração de anticorpos quando do contato com peptídeos derivados do fator de coagulação exógeno. Esses resultados apontam, mais uma vez, para a importância do estudo dos genes do sistema HLA e sua interrelação com a imunologia dos anticorpos inibidores. Destaca-se essa área como promissora fonte de respostas na busca de melhoria da qualidade de vida dos hemofílicos acometidos por essa comorbidade.

HEMOSTASIA E PAREDE VASCULAR: TROMBOSE

219. DEVELOPMENT OF A PHARMACOGENETIC ALGORITHM FOR WARFARIN DOSING IN BRAZILIAN PATIENTS

Marcatto LR, Duarte NE, Soares RAG, Strunz CMC, Scanavacca M, Krieger JE, Pereira AC, Santos PCJL

Instituto do Coração (INCOR), São Paulo, SP, Brazil

Pharmacogenetic algorithms using clinical, medication, and genetic data for predicting warfarin dose have been proposed. Currently, studies are being conducted to determine whether warfarin therapy guided by genotype improves the quality outcomes of warfarin treatment. It is not clear, however, whether population-specific algorithms are related to better outcomes as compared to international dosing algorithms in this clinical scenario. The main aims of the present study were to develop a pharmacogenetic-based warfarin dosing algorithm and to validate it in a highly admixed population. Two patient cohorts were included, treated with warfarin (first cohort, n = 832; and second cohort, n = 133). A dose-prediction model was derived using data from 368 patients in stable dose regimen (derivation sample from the first cohort). A replication sample of 133 patients in stable dose was enrolled in a different time period and used to validate the created algorithm (second cohort). In addition, a testing group (n = 464) was formed with patients who have not achieved a stable dose from the first cohort. Finally, patients on stable dose were followed-up for one year to evaluate anticoagulation stability. They were divided into two groups according to the median TTR (< 0.73 or ≥ 0.73) or

the presence of all INR values within the therapeutic target. This algorithm achieved a determination coefficient of 40%, including the variables age, gender, weight, height, self-declared race, amiodarone use, enzyme inducers use, VKORC1 genotypes, and predicted phenotypes according to CYP2C9 polymorphisms. Moderate correlations were observed between predicted dose (PD) and observed dose (OD) (correlation coefficient [r^2] 0.51, $p < 0.001$, $n = 368$) in the derivation sample and between PD and OD dose in the replication sample ($r^2 = 0.61$, $p < 0.001$, $n = 133$). In a prospective analysis ($n = 318$), the variation between OD and PD by this algorithm was lower than the variation between OD and PD by the IWPC algorithm ($p < 0.001$). In conclusion, the authors were able to develop and validate a warfarin-dosing algorithm using two independent patient cohorts. Data suggest that this new algorithm is more accurate than the IWPC algorithm when the application is focused on patients from the Brazilian population. Population-specific derivation and/or calibration of warfarin dosing algorithms may lead to improved performance compared to the general-use dosing algorithms currently available.

220. ESTUDO COMPARATIVO DA SENSIBILIDADE ENTRE DUAS METODOLOGIAS DIFERENTES PARA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO PLAQUETÁRIA EM PACIENTES EM USO DE ANTIAGREGANTE

Aranda VF, Mello DRC, Santos AOD, Colombini MP, Guerra JCC

Laboratório Clínico, Departamento de Medicina Diagnóstica e Preventiva, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: A investigação da função das plaquetas pela agregação plaquetária é um exame clássico na rotina dos laboratórios de coagulação tanto para a investigação das plaquetopatias como, mais recentemente, para o monitoramento dos pacientes em uso dos diferentes antiagregantes plaquetários. Nosso objetivo foi comparar a sensibilidade entre dois diferentes equipamentos que apresentam diferentes metodologias, a turbidimetria e a impedância, para o monitoramento do uso do ácido acetilsalicílico (AAS) e do clopidogrel. **Material e métodos:** Foram selecionadas 36 amostras coletadas em tubo com citrato de sódio a 3,2% e hirudina, ambos da Sarsted™. Eram 18 de indivíduos sem uso de medicação, 12 em uso do AAS e seis em uso do Clopidogrel. Todas elas foram processadas simultaneamente nos agregômetros Chrono-log™ (turbidimetria) e Multiplate™ (impedância). Para a avaliação do efeito do AAS foi usado o agonista ácido aracônico (AA) por turbidimetria e o ASP test por impedância. Para o estudo da ação do clopidogrel usamos o ADP 1 μMol , o ADP 3 μMol para o Chrono-log e o ADP test 0,2 mM (2 μMol) para o Multiplate. **Resultados e conclusões:** Foi observada a mesma sensibilidade de 94,4% (17/18) entre os dois equipamentos para todos os agonistas testados (AA/ASP e ADP) no estudo dos indivíduos sem medicamento. O mesmo ocorreu com os pacientes em uso do AAS avaliados pelo AA e ASP com uma sensibilidade de 91,6% (11/12), enquanto para a avaliação do clopidogrel as sensibilidades para o Chrono-log™ ADP 1 μMol foi de 83,3% (5/6) e para o ADP3 μMol = 50% (3/6) e no Multiplate™ para o ADP test foi de 66,6% (4/6). Pelos resultados obtidos, concluímos que ambas as metodologias têm o mesmo desempenho para os normais e aspirinizados. A diferença de sensibilidade observada para o clopidogrel, a princípio, deve-se às diferenças na concentração dos reagentes ADP usados ou poderia ser em função da pequena amostragem, mas de qualquer forma sugere que menores concentrações são as mais indicadas para apontar a ação dos antagonistas do P_2Y_{12} .

221. FLUTUAÇÕES DA RAZÃO NORMALIZADA INTERNACIONAL EM PORTADORES DA SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPIDE PRIMÁRIA

Giacomo GD^a, Nascimento NM^a, Seguro LPC^b, Borba EF^b, Bianchi JVD^c, Valadares DF^a, Bydlowski SP^a, Soares RPS^d

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

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

^c Centro Universitário São Camilo, São Paulo, SP, Brasil

^d Fundação Pró-Sangue, Hemocentro de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A síndrome antifosfolípide (SAF) é uma doença crônica em que o organismo passa a produzir anticorpos antifosfolípidos (AAFs)

que afetam a coagulação sanguínea e podem levar à trombose. As manifestações clínicas variam de acordo com o local do vaso acometido. A trombocitopenia pode ser a primeira manifestação da SAF, a trombose venosa profunda é a consequência mais comum; quando acomete o sistema arterial, a circulação cerebral é o principal alvo. O diagnóstico se dá pela associação de critérios clínicos, como trombose de artérias ou veias, e laboratoriais, com a presença de AAFs de forma persistente ao longo do tempo. Após um episódio agudo de trombose, o tratamento é baseado em medicamentos antiagregantes e anticoagulantes orais, como a varfarina (antagonista da vitamina K). O controle do uso do anticoagulante é feito por meio do monitoramento da razão normalizada internacional (RNI), calculada pela razão entre tempo de protrombina (TP) do controle e TP do paciente elevado ao índice de sensibilidade internacional. A faixa terapêutica da RNI para indivíduos com SAF é de 2 a 3. O monitoramento da RNI é importante para evitar novos eventos (trombose e/ou sangramento). **Objetivo:** Correlacionar as flutuações da RNI com a dose de varfarina usada pelos pacientes com SAF primária e fazer associações entre as flutuações da RNI e possíveis novos eventos apresentados pelos pacientes. **Métodos:** Fez-se um estudo descritivo, retrospectivo e longitudinal com início em 2000 e término em 2014. Os dados foram coletados por meio do prontuário eletrônico Prontmed do HC-FM-USP e as variáveis analisadas foram: RNI, tipo de evento, frequência do evento e dose de varfarina sódica. A avaliação da associação entre as variáveis de interesse foi feita com o teste exato de Fisher e o programa GraphPad Prism. **Resultados:** Avaliados 51 pacientes com SAF primária, a maioria do sexo feminino, com de 19 a 69 anos (mediana 41 anos). O tempo de doença variou de dois a 20 anos (mediana oito). A dose média de varfarina sódica usada é de 40 mg/semana. O estudo revelou que 92% dos pacientes em algum momento foram medicados com doses acima da faixa terapêutica indicada e 98% abaixo. A dose de varfarina sódica de 40 mg/semana foi associada com os portadores de SAF primária que tiveram RNI abaixo do alvo terapêutico ($p < 0,0001$). Em relação ao sangramento, houve associação com RNI maior do que o alvo ($p = 0,0101$). **Conclusão:** Os resultados obtidos em nosso estudo confirmam a associação entre a dose de varfarina maior ou igual a 40 mg/semana e a RNI abaixo do alvo terapêutico. Também observamos que os pacientes que tiveram eventos de sangramento apresentaram RNI acima do alvo. Isso possivelmente indica que quanto mais baixa a RNI, maior o risco de retrombose. Portanto, maior deve ser a dose de varfarina. É importante ressaltar que níveis de RNI menores do que a faixa terapêutica indicada estão associados à maior incidência de fenômenos tromboembólicos e RNI maiores que o indicado estão associados ao risco de hemorragia. Os resultados obtidos corroboram as informações de estudos anteriores sobre a importância na manutenção da RNI. Embora seja trabalhoso, deve-se orientar os pacientes e seus parentes sobre os riscos e benefícios do tratamento adequado.

222. FACTOR V LEIDEN, PROTHROMBIN G20120A MUTATION, AND MTHFR C677T POLYMORPHISM IN PARAGUAYAN PATIENTS WITH CLINICAL DIAGNOSIS OF DVT

Jolly V^a, Franco L^a, Zarza J^b, Guggiari P^c, Roysg M^b, Gaona A^d, Ferreira-Nizza J^b, Ayala-Lugo A^a

^a Laboratorio de Genética Molecular, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción, Asunción, Paraguay

^b Hospital de Clínicas, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Asunción, Asunción, Paraguay

^c Hospital Nacional, Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Itauguá, Paraguay

^d Hospital Central Dr. Emilio Cubas, Instituto de Previsión Social, Asunción, Paraguay

Deep vein thrombosis (DVT) is a disease in which the formation of a thrombus partially or completely blocks the deep vein circulation, preventing blood flow. This disease has a multifactorial origin, whereupon both genetic and acquired factors may influence its development. The acquired risk factors, among others, are: surgery, prolonged immobilization, fractures, postpartum paralysis, and oral contraceptive use. Among the genetic risk factors are the following: mutation G1691A of the V coagulation factor, known as factor V Leiden (FVL), mutations G20210A of the prothrombin gene (PT20210A), and polymorphism C677T of the gene coding for the enzyme methylenetetrahydrofolate

reductase (MTHFR). The main goal of this descriptive, observational, transverse study was to determine the presence of genetic risk factors such as FVL, PT20210A, and C677T polymorphism in the MTHFR gene in 60 Paraguayan patients with clinical diagnosis of DVT. The mean age was 35 years. Ten percent of patients were carriers of FVL, 72% were carriers of the C677T polymorphism, and 10% were carriers of PT20210A. A relation between the presence of a genetic risk factor and the presence of the immobilization acquired risk factor ($p = 0.008$) was found. This study implemented the first nationwide detection of genetic risk factors in patients with DVT, and has introduced this genetic study as a useful tool for the treatment of Paraguayan patients who are carriers of such mutations.

223. INCREASED LEVELS OF CIRCULATING TISSUE FACTOR DETECTED IN PATIENTS WITH SECONDARY ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME

Mazzeto BM^a, Zapponi K^a, Custódio IF^a, Saraiva SS^a, Collela MP^a, Paula EV^{a,b}, Appenzeller S^b, Annichino-Bizzacchi J^{a,b}

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

^b Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

Introduction: Tissue factor (TF) has been described as participant of the pathogenesis of thrombosis caused by antiphospholipid syndrome (APS). However, the clinical significance of TF for APS clinical course is not established. **Objectives:** The aim of this study was to determine the circulating levels of TF in a cohort of patients with APS with previous thrombosis and to correlate these levels with APS-associated clinical presentation. **Methods:** The study cohort included patients with the diagnosis of APS treated at the Centro de Hematologia e Hemoterapia (HEMOCENTRO), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Brazil. The cohort had been followed-up since APS was diagnosed. Sydney classification criteria were used for APS diagnosis. The local Ethics Committee on Human Research approved this study, and written informed consent was obtained from patients. Following enrollment in the study, patients' blood samples were collected for assessment of tissue factor (TF). Clinical and laboratory data about lipids and blood counts were collected retrospectively from medical records and direct questionnaires. A commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to measure plasma TF (Sekisui Diagnostics, United States). Thrombotic events were confirmed by image exams, such as ultrasound, computerized tomography, nuclear magnetic resonance, ventilation/perfusion lung scan, or biopsies, according to the site of thrombosis. Categorical data are expressed as absolute number and percentage (%); continuous data are expressed as median and interquartile (IQ). Categorical variables were compared using the chi-squared or Fisher's exact test. To compare continuous variables between the two groups, the Mann-Whitney rank test was performed. The software SPSS v. 20.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) and GraphPad Prism v. 6.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) were used. **Results:** Eighty-five patients were included in the study, 72% were female, and 42% had systemic lupus erythematosus (SLE). Median age at time of the first thrombosis was 27 years (IQ: 20–39), median time since the first diagnosis was seven years (IQ: 3–14). Plasma levels of circulating TF were higher in SLE-associated APS than in primary APS (median TF levels: 173.3 pg/mL, IQ: 199.7–535.5 pg/mL vs. median TF levels: 294.0 pg/mL, IQ: 86.4–241.5 pg/mL, respectively, $p < 0.0005$). The levels of circulating TF were not associated with any other clinical features of APS, such as thrombosis recurrence, vascular site of thrombosis (arterial or venous), obstetric complications, or the profile of antiphospholipid antibodies. There was a significant correlation between TF levels and LDLc ($r = -0.2449$; 95% CI = -0.4427 to -0.02433 , $p = 0.025$), HDLc ($r = 0.2391$; 95% CI = 0.01826 to 0.4378 , $p = 0.029$), lymphocyte counts ($r = -0.3417$; 95% CI = -0.5219 to -0.1324 , $p = 0.001$), and platelet counts ($r = -0.2141$; 95% CI = -0.4139 to 0.005339 , $p = 0.04$). **Conclusions:** Levels of circulating TF may be increased in APS patients, particularly in those with SLE. In APS patients, lipid disorders and platelet counts were associated with plasma levels of TF. However, TF levels were not associated with APS clinical profile. Thus, although increased in APS, circulating TF may not play a role in APS clinical course and prognosis.

224. ANTIBODIES DIRECTED AGAINST DOMAIN 1 OF BETA2GLYCOPROTEIN 1 MAY BE ASSOCIATED WITH SECONDARY ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME

Montalvão SAL^a, Soares PE^a, Saraiva S^a, Mazetto BM^a, Colella MP^a, Paula EV^{a,b}, Appenzeller S^b, Annichinobizzacchi JM^{a,b}, Orsi FA^{a,b}

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

^b Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

Background: The diagnosis of antiphospholipid syndrome (APS) is based on the persistent positivity of lupus anticoagulant (LA), anticardiolipin (aCL), or IgG anti β 2 glycoprotein 1 (a β 2GP1) antibodies in patients' plasma. Particularly, the role of antibodies directed against the domain 1 of β 2GP1 (a β 2GP1D1) has been described as relevant for the mechanism of immunopathogenesis in APS. However, the role of the a β 2GP1D1 antibodies in clinical diagnosis and management of APS has not been established. **Aim:** The aim of this study was to evaluate the association of the presence of a β 2GP1D1 antibodies with the clinical course of patients with thrombotic APS. **Methods:** Patients diagnosed with thrombotic APS were consecutively selected for the study, from December 2013 to July 2014. Demographic features and clinical conditions were recorded at the inclusion and during the follow-up. The clinical parameters analyzed were APS etiology (primary versus secondary), vascular bed of the thrombosis, history of multiple thrombosis, concomitant obstetrical morbidity, the presence of antinuclear antibodies (ANA), and the profile of the antiphospholipid antibodies. Anti β 2GP1D1 antibodies were determined in patients' plasma by chemiluminescence (BioFlash/AcuStar®, Barcelona, Spain). **Results:** Eight-five patients were included in the study; all patients presented venous or arterial thrombosis. The antibodies distribution among patients was: 80% LA positive, 50% aCL positive, 54% a β 2GP1 positive, and 26% triple-positive. Twenty-one patients (25%) tested positive for a β 2GP1D1, and 94% had positive a β 2GP1 antibody, previously detected at diagnosis. The presence of a β 2GP1D1 was not associated with age or gender. Detected clinical conditions related to APS severity, such as thrombosis recurrence, concomitant obstetrical and vascular morbidity, and triple-positive antiphospholipid antibodies were evaluated. The positivity for a β 2GP1D1 antibodies was not associated with thrombosis recurrence (OR = 1.0, 95% CI = 0.37-2.71, $p = 1.0$), concomitant obstetrical and vascular morbidity (OR = 1.5, 95% CI = 0.33-7.34, $p = 0.58$), or triple-positive antibodies (OR = 2.79, 95% CI = 0.76-8.84, $p = 0.13$). Anti β 2GP1D1 antibodies were associated with the diagnosis of systemic autoimmune disease, in particular with lupus, (OR = 3.49, 95% CI = 1.25-9.76, $p = 0.01$) and positive ANA test (OR = 3.3, 95% CI = 1.08-10.1, $p = 0.03$). **Conclusion:** In this study, a β 2GP1D1 antibody was detected mainly in patients who had already tested positive for a β 2GP1 antibody, so it is possible that a β -2GP1D1 assay may not provide additional sensibility to the diagnosis of APS. However, these results also suggested that the presence of a β 2GP1D1 antibody might be associated to the diagnosis of secondary APS. The diagnosis of primary APS is based on the exclusion of systemic autoimmune diseases, and there are no current laboratory parameters that discriminate between primary and secondary APS. Besides the laboratory criteria for lupus diagnosis, there may be overlapping of the antibodies and hematological features between APS and lupus. Furthermore, after the diagnosis of primary APS, it may require a long follow-up to detect the underlying autoimmune disease. Therefore, if these findings are confirmed, a β 2GP1D1 assays may play a role as a laboratory tool for the differential diagnosis between primary and secondary APS.

225. RELATO DE CASO DE PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA TROMBÓTICA POR DEFICIÊNCIA DA ATIVIDADE DA PROTEÍNA ADAMS-13

Emerenciano DL, Nascimento LATD, Lima NE, Cabral JVS, Carvalho JP, Silva EP

Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN, Brasil

Introdução: O termo púrpura trombocitopênica trombótica (PTT) descreve uma síndrome com anormalidades em múltiplos órgãos sistêmicos, decorrente da oclusão difusa de arteríolas e capilares da microcirculação, o que leva à isquemia de vários tecidos. É uma doença rara – de incidência anual estimada em 3,7 casos/mil pessoas, mais comum em mulheres, na proporção de três para dois homens, com um pico de incidência na

quarta década de vida –, porém de extrema importância devido a sua elevada mortalidade, a qual excede 90% caso não seja tratada. Essa doença exige diagnóstico precoce e terapia adequada, baseada na troca do plasma, procedimento denominado plasmaférese, por plasma fresco congelado (PFC), que proporciona uma taxa de sobrevivência em longo prazo que se aproxima de 80%. Para tanto, precisamos cada vez mais conhecer essa patologia e o modo como diagnosticá-la. **Relato de caso:** No presente estudo, foi avaliado um caso com diagnóstico de PTT, por deficiência da atividade da proteína ADAMS-13. A paciente, de 26 anos, branca, apresentou um quadro súbito de prostração, hipocolia fecal, icterícia, púrpuras em membros inferiores, anemia hemolítica (Hb: 5,9 g/dL) associada à plaquetopenia de 24.000/mL. Teve em sua evolução dois ataques isquêmicos transitórios e febre. Outros exames laboratoriais mostraram aumento de bilirrubinas à custa de indireta (bilirrubina total: 4,16 mg/dL; bilirrubina indireta: 3,52 mg/dL) e aumento de LDH que chegou a 1.800 U/L. Foi indicado o tratamento-padrão para PTT, plasmaférese com substituição por plasma fresco congelado, que cursou com resposta à terapia; foram feitas cinco sessões com intervalos de dois dias entre elas e, então, ela seguiu, após 20 dias de internação, com alta hospitalar para tratamento ambulatorial. **Discussão:** O reconhecimento da PTT pode ser difícil devido à variedade de apresentações. A única anormalidade consistente é a anemia hemolítica microangiopática, caracterizada pela fragmentação das hemácias e trombocitopenia, manifestações que podem também ocorrer em outras condições. O presente caso é notável, visto que apesar de a PTT ser mais incidente na quarta década de vida, a paciente apresentou em sua terceira década. Ademais, 60% não apresentam todos os sinais/sintomas da PTT, a exemplo da paciente, que apresentou anemia hemolítica microangiopática, sintomas neurológicos, trombocitopenia, febre, mas não teve insuficiência renal. **Conclusão:** O uso da plasmaférese terapêutica com intervalos de dois dias entre as sessões, associado à substituição por plasma fresco congelado, foi efetivo na obtenção de melhoria clínica. Apesar de que a PTT possa ocorrer como episódio único, deve-se monitorar a paciente com exames de sangue e exames físicos durante alguns anos, visto que recaídas podem acontecer e exigirão o tratamento adequado.

226. PATIENTS WITH ARTERIAL OR VENOUS THROMBOSIS ASSOCIATED WITH ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME MAY PRESENT DISTINCT RISK FACTORS FOR THROMBOSIS

Saraiva SS^a, Custódio IF^a, Mazetto BM^a, Collela MP^a, Paula EV^{a,b}, Appenzeller S^b, Annichino-Bizzacchi J^{a,b}, Orsi FA^{a,b}

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

^b Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

Introduction: Antiphospholipid syndrome (APS) is a heterogeneous thrombotic disease that may present a wide range of thrombotic complications. APS affects different vascular beds, such as arterial, venous, and capillary, with potential risk for thrombosis recurrence. Risk factors associated with different thrombotic complications are not fully elucidated. **Objectives:** The aim of this study was to evaluate possible risk factors associated with arterial (AT) and venous thrombosis (VT) in APS, in order to provide a better characterization of APS clinical features and highlight possible preventable risk scenarios. **Methods:** The authors evaluated a retrospective cohort of patients with APS and previous thrombosis. The study cohort included patients with APS treated at the Centro de Hematologia e Hemoterapia (HEMOCENTRO), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Brazil. Sydney classification criteria were used for APS diagnosis. The local Ethical Committee on Human Research approved this study and written informed consent was obtained from patients. Following enrollment in the study, patients' clinical features were retrospectively collected from medical charts and interviews. Thrombotic events were confirmed by image exams or biopsies, according to the site of thrombosis. Categorical data are expressed as absolute number and percentage (%), continuous data are expressed as median and interquartile range (IQ). Categorical variables were compared using the chi-squared or Fisher's exact test. To compare continuous variables between the two groups, the Mann-Whitney rank test was utilized. Risk factors associated with thrombosis were calculated using logistic regression. **Results:** One hundred and thirty patients were included in study; 57% of patients had primary APS. VT occurred in 68.5% (n = 89), 75% (68 patients) had venous thromboembolism, and 23.5% (21 patients) had venous thrombo-

sis with an unusual site. AT occurred in 31.5% of patients (n = 41), the majority suffered (73.2%) stroke. Patients with VT had higher frequency of positive IgG-anticardiolipin antibody (60.3 vs. 32.6%, p = 0.007), higher LDLc levels (median LDLc: 114.0 mg/dL, IQ = 92.7-137.5 mg/dL vs. median LDLc: 98.0 mg/dL, IQ = 72.5-123.5 mg/dL, p = 0.02) and lower HDLc levels (median HDLc: 51 mg/dL, IQ = 40-66 mg/dL vs. median HDLc: 60.5 mg/dL, IQ = 48.5-68.0 mg/dL, p = 0.05) than patients with AT, respectively. In counterpart, patients with AT had higher frequency of obstetric morbidity (80% vs. 50%, p = 0.02) and higher frequency of positive lupus anticoagulant antibody (94% vs. 72%, p = 0.003) than VT patients, respectively. Positive IgG-anticardiolipin antibody was the main risk factors associated with the occurrence of VT (OR = 7.0, 95% CI = 1.5-33.0, p = 0.01) and history of pregnancy morbidity was the main risk factor associated with the occurrence of AT (OR = 5.5, 95% CI = 1.2-25.0, p = 0.02). **Conclusions:** These results give additional evidence that the occurrence of AT or VT in APS is associated with distinct risk factors. Factors associated with VT seem to be related to lipid disorders and anticardiolipin antibodies, while factors associated with AT may be related to obstetric morbidities and the presence of lupus anticoagulant. These results may suggest that arterial and venous thrombosis represent independent diseases in the clinical spectrum of APS.

227. TROMBOSE VENOSA PROFUNDA X TROMBOCITOPENIA INDUZIDA PELA HEPARINA: RELATO DE CASO

Tófano VAC, Toscan DCO

Universidade de Marília (UNIMAR), Marília, SP, Brasil

Introdução: A trombocitopenia induzida pela heparina (TIH) é um efeito colateral da terapia anticoagulante e apresenta-se de duas formas: uma menos severa, tipo I, que acomete cerca de 25% dos pacientes, e uma mais severa, a tipo II, que acomete de 1 a 5% dos pacientes sujeitos a terapia com heparina durante mais de quatro dias, a qual acredita-se estar relacionada com uma reação autoimune. As complicações mais frequentes da TIH tipo II são tromboembolismos venosos, especialmente trombose venosa e embolia pulmonar. Complicações arteriais geralmente envolvem as grandes artérias dos membros inferiores e levam à isquemia aguda das extremidades. **Relato de caso:** Paciente masculino, 57 anos, pós-operatório tardio (2007) de transplante hepático por cirrose hepática idiopática em uso de imunossupressores. Internado em UTI devido a quadro diarreico importante e insuficiência renal aguda. Necessitou de tratamento dialítico e obteve melhoria do quadro. No quinto dia de internação identificou-se edema de membro inferior esquerdo e plaquetopenia. Diagnosticada TVP do membro, provavelmente secundária a TIH, com autoanticorpos positivos, o que caracterizou TIH tipo II. Feita a suspensão da heparina e iniciada anticoagulação com varfarina, obteve recuperação dos níveis plaquetários dentro de 15 dias. O paciente foi mantido em anticoagulação por seis meses e atualmente encontra-se assintomático em seguimento na hepatologia. **Discussão:** A TIH deve ser suspeitada em qualquer doente medicado com HNF ou HBPM administrada de forma I.V., subcutânea ou em cateteres, nas situações de trombocitopenia isolada e inexplicada, tromboembolismos venosos e/ou arteriais associadas, redução da contagem plaquetária superior ou igual a 50% em relação à contagem plaquetária pré-heparina, lesões necróticas de pele ou reações sistêmicas agudas. Após a suspeita, deve-se interromper o uso de heparina e reavaliar o quadro em busca de nova opção terapêutica. **Conclusão:** A TIH é uma complicação possível em pacientes críticos usuários de heparina e o diagnóstico preciso pode mudar o prognóstico do paciente.

228. AVALIAÇÃO DE POLIMORFISMOS NOS GENES DO FATOR V LEIDEN E DA PROTROMBINA EM MULHERES EM IDADE FÉRTIL EM USO DE CONTRACEPTIVOS ORAIS COMBINADOS

Ferreira JRD^{a,b}, Coelho MPES^a, Adorno EV^a, Santos CSC^a, Mendes KO^a, Carvalho SP^a, Oliveira RM^a, Veloso NS^a, Santiago RP^b, Goncalves MS^{a,b}

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

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

Tromboembolismo venoso (TEV) é uma desordem multifatorial, com incidência mundial elevada. O TEV é resultante da interação entre fatores de risco genéticos, como polimorfismos em genes do Fator V Leiden

(FVL) e da Protrombina (PRO), e adquiridos, tais como o uso de contraceptivos orais combinados (COC), obesidade (IMC > 25 kg/m²), história familiar de TEV, dentre outros, fatores esses que afetam as proteínas do sistema de coagulação e da fibrinólise. O presente estudo teve como objetivo avaliar polimorfismos nos genes FVL e da PRO e correlacioná-los com os perfis hematológico, lipídico e glicêmico em mulheres em idade fértil usuárias de COC, em Salvador (BA). Foram estudadas 503 mulheres de 14 a 45 anos, atendidas no Laboratório LACTFAR-UFBA. A análise dos polimorfismos em genes associados a alterações trombofílicas foi feita por PCR-RFLP, com o uso das enzimas de restrição *Mn I* (FVL) e *Hind III* (PRO). A mediana de idade foi de 30 anos (14-45). Em relação à cor da pele, 44,5% (224/503) eram negras e 45,1% (227/503) pardas; 49,9% (251/503) eram solteiras; 46,8% (232/503) cursaram o ensino médio; 32,4% (163/503) concluíram ou cursavam o ensino superior e 82,1% (403/503) relataram receber até três salários mínimos. Dentre os COC usados, 46,5% (234/503) usavam os de segunda geração (EE e levonorgestrel) e 53,5% (269/503) usavam os de terceira ou quarta geração (EE e desogestrel, gestodeno, drospirenona ou ciproterona). Para o FVL, 99,8% das mulheres apresentaram alelo selvagem e 0,2% apresentaram alelo variante em heterozigose (GA) (n = 494); 99,4% apresentaram o alelo selvagem e 0,6% apresentaram o alelo variante em heterozigose (GA) para o gene da PRO (n = 488). Foram observados níveis elevados para lipoproteína de baixa densidade (LDL) e colesterol total na paciente heterozigota para FVL. Nos indivíduos com a presença do alelo mutante para PRO (n = 3), encontramos o aumento nas concentrações de colesterol total, bem como no índice de massa corpórea (IMC), o que indicou tendência à obesidade, além de relato de história prévia de TEV na família. Os nossos dados sugerem que a presença dos polimorfismos nos genes FVL e PRO pode aumentar o risco de TEV em mulheres que usam COC. Além disso, os hábitos de vida que podem predispor ao TEV, tais como obesidade e hiperlipidemia, juntamente com o uso de COC, devem ser monitorados para evitar desfechos indesejáveis e danos à saúde dessas mulheres. **Palavras-chave:** Tromboembolismo venoso; FVL; Protrombina; Contraceptivo.

229. USO DE FONDAPARINUX NO TRATAMENTO DE TROMBOCITOPENIA INDUZIDA POR HEPARINA EM PACIENTES COM DISFUNÇÃO RENAL

Simões CM, Sousa MLVE, Neffa PP, Okazaki E, Valim AKZ, Rocha TRF, Villaca PR, D'amico EA

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

Introdução: A trombocitopenia induzida por heparina (HIT) é uma complicação vista em até 10% dos pacientes expostos por curto período à heparina. Fondaparinux é um análogo sintético da heparina, que se liga à antitrombina, leva à inibição do fator Xa e pode ser usado no manejo dessa entidade. A medicação é excretada principalmente por via renal e o uso em pacientes com disfunção renal sob monitoração da atividade anti-Xa é pouco descrito na literatura. **Objetivo:** Relatar dois casos de uso de fondaparinux em pacientes com insuficiência renal. **Caso 1:** Mulher, 71 anos, submetida à hepatectomia direita ampliada devido à hepatocarcinoma. No 12º dia de pós-operatório, apresentou taquipneia, hipoxemia, edema assimétrico de membros inferiores e plaquetopenia progressiva, que atingiu 20 x 10⁹/L. O ultrassom doppler confirmou trombose venosa fêmoro-poplíteo tibial esquerda e poplíteo-tibial direita. Paciente estava em uso de heparina não fracionada (HNF) havia 13 dias, que foi suspensa, devido à alta probabilidade de HIT, e introduzido fondaparinux. Testes funcional e imunológico para HIT confirmaram o diagnóstico. Não foi possível confirmar com exames de imagem embolia pulmonar devido à ClCr < 30 mL/min. O ajuste de fondaparinux foi feito de acordo com a atividade do anti-Xa, com vistas a manter níveis inferiores a 1,26 mg/L. Apresentou melhora clínica e aumento progressivo de plaquetometria. Recebeu alta após 20 dias, em uso de antagonista de vitamina K, sem ocorrência de novos eventos trombofílicos ou hemorrágicos. **Caso 2:** Homem, 58 anos, transplantado hepático havia sete anos, foi internado por quadro de choque séptico de foco abdominal (gastroenterite) e de agudização de doença renal crônica (ClCr < 10 mL/min), em hemodiálise. Além de antibióticos, recebia HNF. Após oito dias da introdução da HNF cursou com queda de plaquetometria (34 x 10⁹/L), trombose de veias femoral e poplíteo direita e múltiplas coagulações do sistema de diálise. Suspensa HNF e introduzido fondaparinux, pela alta suspeição de HIT, que foi confirmada pelos testes imunológico e funcional. A dose do fondaparinux foi ajustada de acordo com atividade anti-

Xa. Paciente evoluiu com resolução de quadro infeccioso, recuperação de função renal, melhora de edema em membro inferior e elevação de plaquetometria. Foi possível a introdução de antagonista de vitamina K e suspensão de fondaparinux após atingir INR alvo. **Discussão:** As drogas usualmente aprovadas para tratamento de HIT, argatroban e danaparinoide, são indisponíveis no Brasil. Entretanto, séries de casos também demonstram bons resultados com uso de bivalirudina e fondaparinux. Esse último é a única opção disponível em nosso país. A grande limitação ao seu emprego é a contraindicação na disfunção renal grave. A despeito da recomendação do fabricante e devido à gravidade e à presença de tromboes extensas, aliada à realidade no país, optamos pelo uso da medicação. O controle rigoroso da atividade do anti-Xa específica para a droga permitiu que ambos os pacientes evoluíssem com melhora clínico-laboratorial, sem ocorrência de eventos adversos decorrentes da terapêutica no período. **Conclusão:** O emprego do controle laboratorial da atividade anti-Xa pode ser uma ferramenta útil para o uso seguro do fondaparinux em pacientes com disfunção renal, principalmente se considerarmos que essa é a única droga disponível no nosso país.

230. TROMBOEMBOLISMO PULMONAR E MUTAÇÃO DA PROTROMBINA: TRATAMENTO COM NOVOS ANTICOAGULANTES

Brisolla HRGB, Iwamoto J, Costa FMV, Uehara KM, Ribeiro M, Silva MVE

Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR, Brasil

Introdução: O tromboembolismo pulmonar (TEP) é uma condição potencialmente grave de etiologia por vezes não reconhecida, dentre elas as trombofilias. A mutação da protrombina é o segundo fator de risco hereditário mais comum para trombose. Os novos anticoagulantes são um desafio terapêutico nesses casos. **Relato de caso:** Mulher de 18 anos, previamente hígida, em uso de anticoncepcional oral, sem história de tabagismo, cirurgia prévia ou evento trombofílico familiar, admitida no Hospital Universitário proveniente do PA Municipal por dor torácica ventilatório-dependente e dispnéia súbita durante atividade física. Apresentava exames normais, exceto troponina positiva. Ecocardiograma com aumento de câmaras cardíacas direitas, que sugeria TEP, confirmado por angioTC de tórax que evidenciou falhas de enchimento nas artérias pulmonares, ramos lobares médio e inferior direitos e ramos lobares esquerdos; iniciada anticoagulação com heparina de baixo peso molecular. Recebeu alta com rivaroxabana no quarto dia. No ambulatório de pneumologia, diagnosticada heterozigotia para a mutação G20210A do gene da protrombina, o que confirmou trombofilia. **Discussão:** O TEP, espectro potencialmente grave do tromboembolismo venoso (TEV), é a terceira causa de mortalidade cardiovascular, com prevalência de até 16,6% no Brasil, e predomina na meia-idade. Trombofilia é a condição hereditária ou adquirida de alteração da hemostasia que predispõe a tromboes patológicas. A mutação G20210A do gene da protrombina é o segundo fator de risco hereditário mais comum, segue o fator V de Leiden. A forma heterozigota apresenta-se nos EUA em 2,2% dos brancos não hispânicos. A mutação leva à superprodução de protrombina e ao risco para TEV de 2-5 vezes maior no heterozigoto. No evento agudo do TEP indica-se a anticoagulação por no mínimo três meses, inicialmente com drogas parenterais, seguida por anticoagulação oral, classicamente com antagonistas da vitamina K. Os novos anticoagulantes orais agem por inibição do fator Xa ou do fator IIA/trombina. A rivaroxabana foi o primeiro aprovado pelo FDA para o tratamento do TEP, em 2012. Nenhum estudo específico abordou a eficácia dessas novas drogas em relação às trombofilias, porém não há evidência de que não possam ser usadas nesses casos. Portadores de trombofilias de alto risco de recorrência são candidatos à anticoagulação por tempo indefinido. O risco de TEV é maior em portadores da mutação da protrombina, porém é controverso se heterozigotos têm maior recorrência após o primeiro evento. Não há evidências atuais de benefício no tratamento prolongado para esses pacientes – os casos devem ser avaliados de forma individualizada. Este caso discute o TEP em jovem com trombofilia, o uso dos novos anticoagulantes e a duração do tratamento.

Referências:

1. Vanassche T, Verhamme P. Rivaroxaban for the treatment of pulmonary embolism. *Adv Ther.* 2013;30(6):589-606.
2. Sinescu C, Hostiuc M, Bartos D. Idiopathic venous thromboembolism and thrombophilia. *J Med Life.* 2011;4(1):57-62.

231. PILEFLEBITE: RELATO DE CASO

Clé DV, Lopes ER, Pontes PDP, Molla VC, Roque F

Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: A pileflebite, ou trombose supurativa do sistema venoso porta, é uma forma de trombose venosa do sistema porta associada à alta taxa de mortalidade e decorre de infecções descontroladas em áreas intra-abdominais que drenam para o sistema porta. Inicia-se com tromboflebite de pequenas veias mesentéricas que drenam a área infectada e pode estender-se de forma hematogênica por todo o sistema porta, até o fígado. **Relato de caso:** Paciente do sexo masculino, 29 anos, tabagista e etilista, admitido sob queixa de dor abdominal em hipogástrio, náuseas, vômitos e diarreia líquida havia 30 dias. Havia 10 dias com hiporexia, queda do estado geral, febre e calafrios, além de icterícia e escurecimento urinário. Na admissão apresentava abdômen flácido, doloroso à palpação, desconpressão brusca negativa, com fígado a 3 cm do RCD, pressão arterial limítrofe e taquicardia. Exames laboratoriais: Hb: 8,6 g/dL, GB: 26.800/mm³, neutrófilos: 20.900/mm³ com 14% de bastões, BT: 2,4 mg/dL, BD: 1,5 mg/dL, proteína C-reativa: 23,6 mg/dL; US de abdome: lobo hepático D, veia porta e baço sem fluxo sanguíneo ao doppler; TC de abdome: ausência de contrastação da veia porta e veia esplênica; baço com áreas hipodensas associadas a gás, a maior de cerca de 7,7 x 4,3 cm com formação de nível líquido. Aventura a hipótese de pileflebite, iniciados ceftriaxona e metronidazol. Feita laparotomia exploradora e esplenectomia, com achado cirúrgico de múltiplas aderências do epiplon e estômago, drenagem de pus após lise. Iniciada anticoagulação plena com enoxaparina no primeiro pós-operatório. Cultura de material esplênico com crescimento *E. coli* sensível à ceftriaxona. Mantida antibioticoterapia e paciente evoluiu bem, com boa recuperação. **Discussão:** Os sintomas e sinais da pileflebite são inespecíficos e arrastados, mais comumente apresentam-se como dor abdominal, náuseas, vômitos, diarreia, icterícia, febre e hepatomegalia. Leucocitose e hiperbilirrubinemia são achados frequentes e o diagnóstico requer a demonstração de trombose de veia porta acompanhada de bacteremia em paciente febril. As principais causas descritas de pileflebite são apendicite, diverticulite, infecções do sistema biliar, DII ou, como em nosso paciente, abscessos intra-abdominais. O principal fator de risco relacionado são os estados de hipercoagulabilidade. A bacteremia comumente é polimicrobiana; são mais frequentemente isolados *B. fragilis* e *E. coli*. Complicações habituais incluem abscessos intra-abdominais, propagação da trombose venosa e isquemia mesentérica. O tratamento é baseado no uso de antibioticoterapia de amplo espectro de acordo com o foco infeccioso provável até resultado de culturas e o tempo de tratamento pode variar de quatro a seis semanas. O racional para a feita de anticoagulação seria evitar a propagação do trombo e suas complicações, todavia não existe consenso na literatura quanto a sua indicação. Alguns relatos de caso têm sugerido benefício no início precoce da anticoagulação, que aumenta as taxas de recanalização do sistema porta e diminui a mortalidade. Também são descritas, com menor evidência, outras técnicas, como trombólise química e mecânica. **Conclusão:** Devido aos sinais e sintomas inespecíficos e à alta mortalidade da pileflebite, é imperativo que todos os médicos conheçam essa rara complicação das infecções abdominais e mantenham alto nível de suspeição quando avaliarem pacientes com processos infecciosos abdominais.

232. USO DE CONTRACEPTIVOS ORAIS COMBINADOS ENTRE MULHERES OBESAS: AVALIAÇÃO DE FATORES DE RISCO PARA INFLAMAÇÃO E TROMBOSE

Freire JRD^{a,b}, Coelho MPES^a, Adorno EV^a, Figueiredo CVB^{a,b}, Mendes KO^a, Carvalho SP^a, Oliveira RM^a, Yahouédéhou SCMA^{a,b}, Santiago RP^b, Gonçalves MS^{a,b}

^a Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil^b Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brasil

Os contraceptivos orais mais usados pelas mulheres em todo o mundo são combinações que contêm estrogênio e progesterona (contraceptivos orais combinados, COCs), uma vez que são seguros e altamente efetivos em prevenir a gravidez. Porém, o uso dos COCs encontra-se associado à ocorrência de tromboembolismo venoso (TEV) e essa associação está relacionada a fatores hereditários, tais como mutações trombogênicas, e fatores adquiridos, dentre os quais a obesidade. A obesidade, definida

pela presença do índice de massa corpórea (IMC) acima de 25 kg/m², é considerada um problema de saúde pública, e o aumento do IMC está associado ao TEV, infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral, risco também atribuído ao uso dos COCs. Além disso, a quantidade de tecido adiposo pode afetar a secreção do hormônio denominado leptina. O polimorfismo -2548 G>A no gene da leptina tem sido associado a variações nas concentrações plasmáticas de leptina e no IMC, tanto em indivíduos obesos como em indivíduos não obesos, e pode ter consequências na obesidade e nas suas associações com outras condições clínicas. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar o IMC, o perfil lipêmico e inflamatório e o polimorfismo -2548 G>A no gene da leptina em mulheres usuárias de COCs em Salvador (BA). Foram estudadas 237 mulheres de 14 a 45 anos, atendidas no LACTFAR-UFBA (SUS), onde foram feitas as análises bioquímicas. A análise dos polimorfismos no gene da leptina foi feita por PCR-RFLP, com a enzima de restrição *CfoI*. As análises estatísticas foram feitas no programa GraphPad 20.0. A mediana de idade foi de 29 anos. Dentre os COCs usados, 48,1% (114/237) das mulheres usavam os de segunda geração (EE e levonorgestrel) e 51,9% (123/237) os de terceira e quarta gerações (EE e desogestrel, gestodeno, drospirenona ou ciproterona). Das mulheres em uso de COC de segunda geração, 57% eram obesas (65/114), e das que usam os de terceira e quarta gerações, 46,3% apresentavam IMC acima de 25 kg/m² ($p = 0,119$; teste exato de Fisher). Dentre os parâmetros bioquímicos e inflamatórios analisados em relação ao IMC, nas mulheres que usavam COCs, foram observadas concentrações médias mais elevadas nas mulheres com IMC acima ou igual a 25 kg/m² em relação à glicemia ($p = 0,001$), lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) ($p = 0,001$), triglicérides ($p = 0,001$), ferritina ($p = 0,001$), fibrinogênio ($p = 0,012$), proteína C-reativa ($p = 0,001$) e óxido nítrico ($p = 0,046$) (Mann Whitney), além da diminuição da proteína de alta densidade (HDL) nesse grupo, com valores dentro dos limites de referência. Também houve aumento da circunferência abdominal nas obesas em relação às não obesas usuárias de COCs ($p = 0,001$; Mann-Whitney). Os níveis médios dos componentes do perfil lipêmico e inflamatório encontravam-se aumentados sempre nas mulheres que usavam COCs de segunda geração, bem como a diminuição do HDL. Quanto ao polimorfismo no gene da leptina, não houve associação estatisticamente significativa desse com IMC ou geração de COCs usados pelas mulheres. Uma vez que a obesidade está relacionada ao aumento do risco de TEV, que pode ser fatal ou incapacitante em muitos casos, é importante monitorar as mulheres que usam COC de forma a se evitarem desfechos indesejáveis. **Palavras-chave:** Trombose; Contraceptivos orais combinados; Obesidade; Leptina.

233. MICROANGIOPATIA TROMBÓTICA MEDIADA POR COMPLEMENTO: RELATO DE CASO

Soares MAP, Neto NN, Araújo SF

Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: A microangiopatia trombótica (MAT) mediada por complemento, também denominada síndrome hemolítico-urêmica atípica, é uma afecção rara causada pela ativação anormal da via opcional do complemento. Além de anemia hemolítica, com esquizócitos no sangue periférico e plaquetopenia, cursa com disfunção renal que evolui para estágio terminal na maioria dos casos. A base do tratamento ainda é a plasmáfereze. O uso de droga anticomplemento (eculizumabe) foi aprovado pelo FDA em 2011, com resultados promissores em relação à sobrevida livre de microangiopatia e efeitos na função renal. **Relato de caso:** MAAVF, 59 anos, hipertensa, diabética insulino-requerente e dislipidêmica. Admitida em 26/06/15 no Pronto-Socorro do HC/UFMG por anasarca e crise hipertensiva. Negava diarreia prévia, lesões cutâneas, alopecia, úlceras orais, artrite/artralgia ou dor pleurítica. Sem sintomas ou sinais neurológicos. Exames iniciais com pancitopenia, proteinúria nefrótica, hematuria dismórfica, C3 consumido/C4 normal, esquizócitos presentes em sangue periférico, LDH aumentado e bilirrubina indireta normal. Coombs direto, autoanticorpos e sorologias negativas. Atividade ADAMST13 de 85%. Apresentou piora rápida e progressiva de função renal com hemodiálise iniciada em 30/06/15. Biópsia renal com achados de nefropatia diabética classe II. Optou-se por pulsoterapia com metilprednisolona 1 g por três dias seguida por prednisona (60 mg). Esquizócitos positivos, LDH aumentado e C3 consumido continuaram presentes em exames subsequentes. Assim, foram iniciados plasmáfereze (três sessões) e eculizumabe (primeira dose em 01/08/2015). Evoluiu com estabilização de escórias renais, mas permaneceu com necessidade de diálise. As plaquetas tiveram ascensão após terapias citadas, es-

tão atualmente dentro dos valores de referência. **Discussão:** Diagnósticos diferenciais para o caso como lúpus eritematoso sistêmico, glomerulonefrite membranoproliferativa ou PTT foram excluídos pela clínica, painel de autoanticorpos, biópsia renal e dosagem de ADAMST13. A nefropatia diabética pode evoluir com síndrome nefrótica e hematuria dismórfica, porém não justifica a rapidez da perda de função renal e os sinais hematológicos da paciente. Revista a literatura médica, nossa paciente apresentou critérios diagnósticos para SHU atípica: presença de creatinina acima do nível superior, anemia hemolítica microangiopática, plaquetopenia, atividade do ADAMST13 > 5% e toxina Shiga negativa (essa última não feita, porém não havia história de diarreia aguda). Assim, foram feitas três sessões de plasmáfereze e eculizumabe. Até o momento a paciente encontra-se com plaquetas em níveis normais, e sua função renal não pode ser avaliada pelo pouco tempo de tratamento. **Conclusão:** MAT mediada por complemento é uma síndrome rara, de diagnóstico difícil e com consequências graves. A aprovação do uso de drogas anticomplemento abre novas perspectivas em relação à sobrevida e redução das morbidades, porém o uso dessa terapêutica nesse contexto ainda é novo e carece de avaliações sobre custo e tempo de tratamento. **Palavras-chave:** Microangiopatias trombóticas; Ativação do complemento; Anemia hemolítica; Plasmáfereze.

234. SIGNS OF HYPOFIBRINOLYSIS IN PATIENTS WITH UNPROVOKED IDIOPATHIC VENOUS THROMBOEMBOLISM

Bassora FDS, Orsi FLA, Alves GSA, Montalvão SAL, Senger KAZ, Romano AVC, Colella MP, Paula EV, Annichino-Bizzachi JM

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

Background: The causes for venous thromboembolism (VTE) remain undetermined in at least 30% of patients with unprovoked VTE. Hypofibrinolysis may be associated to VTE; however, the occurrence of hypofibrinolysis in patients with unprovoked, idiopathic VTE is not well established. **Aims:** To evaluate whether hypofibrinolysis is associated with unprovoked idiopathic VTE. **Methods:** Patients with a history of unprovoked VTE without acquired or inherited thrombophilia were included. Global tests of fibrinolysis, such as euglobulin lysis time (ELT) and lysis area on fibrin plate (LAFP), and specific tests of fibrinolysis, such as plasma activity plasminogen, a-2 antiplasmin (a2AP), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), and thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI), were performed in patients and healthy controls. This study also analyzed the plasma activity of factor (F) XIII. **Results:** Thirty-one patients and 50 healthy controls were included. ELT results were higher in patients than in controls (median = 295 and IQ = 205-355 minutes vs. median = 250 and IQ = 167-295 minutes, respectively, $p = 0.006$) and LAFP values were lower in patients compared to controls (median = 81 and IQ = 56-110 vs. median = 95 and IQ = 72-132, respectively, $p = 0.0014$), suggesting that they were experiencing a hypofibrinolytic state. Plasma activity of plasminogen (median = 131 and IQ = 119-141 vs. median = 120 and IQ = 111-137, respectively, $p = 0.045$) and FXIII (median = 103 and IQ = 89-127 vs. median = 96 and IQ = 80-105, respectively, $p = 0.050$), were higher in patients than in controls, whereas plasma activity of α -2AP was lower in patients (median = 124 and IQ = 114-128 vs. median = 127 and IQ = 121-133, $p \leq 0.001$). Interestingly, patient's median TAFI activity was lower than in controls (median = 16 and IQ 13-18 $\mu\text{g/mL}$ vs. median = 19 and IQ = 17-21 $\mu\text{g/mL}$, $p \leq 0.001$). However, PAI-1 activity did not differ between groups. **Conclusions:** Hypofibrinolysis may occur in patients with unprovoked idiopathic VTE and may be detected by global tests of fibrinolysis. It is possible that hypofibrinolysis contributes to the pathogenesis of thrombosis in these selected cases.

HEMATOPOESE E CÉLULAS-TRONCO

235. PROTEIN MALNUTRITION: EFFECTS ON HEMATOPOIETIC STEM CELL FREQUENCY, CELL CYCLE AND CHEMOKINE RECEPTORS EXPRESSION IN THE ENDOSTEAL NICHE REGULATION

Tsujita M^a, Buri MV^b, Oliveira JL^a, Silva GB^a, Gamero EJP^b, Fock RA^a, Borelli P^a

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

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

Introduction: Hematopoietic stem cells (HSCs) are able to self-renew, and also demonstrate multilineage differentiation into all blood cell lineages. HSC occurs within the lineage(-) Sca-1(+)/c-Kit(+) (LSK) cells compartment and consists of at least two functionally distinct HSC subpopulations, long-term (LT) (Lin-c-Kit+Sca-1+Flk-2-Thy1.1low) and short-term (ST) (Lin-c-Kit+Sca-1+Flk-2lowThy1.1low) repopulating HSCs. LT-HSC are preferentially located in the endosteal niche in a quiescent state. The crosstalk between them is mediated by cytokines, such as osteopontin (OPN), CXCL12, and angiopoietin (Ang) produced by osteoblasts that interact respectively with receptors (CD44, CXCR4, Notch and Tie-2) in LT-HSC. Protein malnutrition (PM) induces pancytopenia, bone marrow (BM) hypoplasia, and changes in bone microarchitecture. **Objectives:** The aim was to investigate the effects of PM on frequencies of HSC populations, cell cycle status, as well as CD44, CXCR4, Notch, and Tie2 expression. **Methodology:** C57Bl/6J mice were randomly assigned in control and malnourished groups, which received normoproteic and hypoproteic diets (12% and 2% protein, respectively) over a five-week period. For HSC and progenitor analysis, the following antibodies were used: lineage cocktail: CD5, CD45R (B220), CD11b, anti-Gr-1 (Ly-6G/C), and Ter-119, Sca-1 (D7), c-Kit (2B8), CD90.1 (OX-7), and Flk-2 (A2F10.1). For chemokine receptor expression, cells were incubated with CD44 (A95-1), Notch-1 (mN1A), CXCR4 (2B11), and Tie-2 (TEK). For cell cycle analysis, cells were first stained for lineage, HSC markers, then fixed and permeabilized, and stained with SYTOX green. After incubation, cells were analyzed by flow cytometry using BD FACSaria. Post-acquisition analysis of data was performed with FlowJo software v. 7.6.5. **Results:** It was found that PM significantly decreased the frequency of LSK and LT-HSC when compared to control animals. This both cells populations from malnourished animals also demonstrated significantly loss of self-renewal capacity. In parallel, CD44 was significantly less expressed on LSK and LT-HSC populations from malnourished animals when compared to control animals. However, no differences were detected in Notch-1, CXCR4, and Tie-2 expression. **Conclusion:** These results show that PM decreases the number and also the self-renewal capacity of HSC cell subpopulations. In addition, CD44 is modulated by PM.

236. CORD BLOOD HEMATOPOIETIC STEM CELLS EX VIVO EXPANSION: COMPARATIVE ANALYSIS OF CELL PROLIFERATION PROMOTED BY MESENCHYMAL STEM CELLS FROM ADIPOSE TISSUE AND UMBILICAL CORD ENDOTHELIUM IN COCULTURE SYSTEM

Forte A^a, Levy D^a, Ruiz JLM^b, Alves A^c, Bydlowski SP^a

^a Laboratório de Genética e Hematologia Molecular (LIM 31), Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, PR, Brazil

^c Instituto de Ensino e Pesquisa - São Lucas (IEP - São Lucas), São Lucas, SP, Brazil

Introduction: Umbilical cord blood (UCB) hematopoietic stem cells have been used for the treatment of both malignant and non-malignant diseases. Nevertheless, some UCB units could have low total nucleated cells (TNC) dose. Several approaches have been suggested to avoid inadequacy problems of hematopoietic stem cell (HSC) numbers for transplantation, such as administration of two UCB units to the patient and HSC ex vivo expansion. **Objective:** Evaluate UCB ex vivo expansion proliferative rates in a high and low mesenchymal stem cell (MSC) confluence feeder layer obtained from different MSC sources, and by adding/not adding cytokine cocktail into the medium. **Methods:** This study was approved by the Research Ethics Committee (CPPESQ) of Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. The collection of UCB (n = 10) was made after delivery of the infant and the expulsion of the placenta. Processing was performed using volume reduction method, which consists of red blood depletion. MSC samples from umbilical cord endothelium were obtained from three different donors and adipose tissue stem cell (n = 3) from LIM31 pattern inventory. The TNC expression of hematopoietic surface markers such as CD133⁺/CD34⁺ was observed after seven days of culture. Beyond that, colony forming unit assay (CFU) was performed before and after UCB expansion. The expansion by coculture method was observed in two

groups (Group I – coculture with added cytokine cocktail vs. Group II – coculture without cytokine cocktail) for both MSCs sources. **Results:** After seven days, analysis of confluent coculture showed that TNC proliferation rate was almost two times higher than that in subconfluent coculture (35-fold vs. 16-fold) in Group I, and also revealed a higher proliferation rate in CD133⁺/CD34⁺ cells. CFU showed similar increase after seven days of culture in comparison with day zero (up to eight-fold). Subconfluent coculture with both umbilical cord endothelium and adipose tissue showed lower yield compared with those with high MSC confluence. The expansion in the presence of cytokines showed higher cell proliferation compared to the coculture without the addition of cytokine. **Conclusion:** This study showed that the coculture system may require the addition of cytokine cocktail in the media and that confluent MSC, regardless of source, is superior for high yield of UCB cells.

237. CÉLULAS DE LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA (K562) E SUA DERIVADA K562-LUCENA RESISTENTES À VINCISTINA TÊM A PROLIFERAÇÃO CELULAR INIBIDA PELO MEIO CONDICIONADO DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS IN VITRO

Amorim EG^a, Ruiz JLM^b, Levy D^a, Bydłowski SP^a

^a Laboratório de Genética e Hematologia Molecular (LIM 31), Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^b Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza (ILACVN), Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, PR, Brasil

Introdução: As células-tronco mesenquimais (CTM) têm amplas aplicações em terapia regenerativa, principalmente nos transplantes de medula óssea, após a quimioterapia de pacientes com câncer. Essas células dão apoio às células-tronco hematopoéticas que vão recuperar o sistema hematopoético danificado durante o tratamento quimioterápico. Sabe-se que as CTM produzem múltiplas substâncias, mas ainda é pouco conhecido como essas interagem com outros tipos celulares, especialmente nos tumores. Existem relatos controversos na literatura que indicam que as CTM podem aumentar *in vitro* e *in vivo* a proliferação de linhagens tumorais e em outros casos inibi-la. Mas a grande maioria desses estudos está relacionada a tumores sólidos, e existem poucos estudos sobre tumores hematológicos. Dada a utilidade terapêutica das CTM e sua possível interação em transplantes de medula óssea, seria de grande importância estudar como essas células podem interagir com células tumorais sensíveis e resistentes à quimioterapia. **Objetivo:** Determinar as alterações causadas na viabilidade celular e na proliferação celular *in vitro*, de células tumorais sensíveis (K562) e resistentes (K562-Lucena) à quimioterapia frente às substâncias liberadas no meio condicionado (MC) de CTM derivadas de tecido adiposo e de líquido amniótico. **Material e métodos:** Os meios condicionados foram produzidos pela incubação de CTM derivadas de tecido adiposo (n = 3) e de líquido amniótico (n = 3) com meio DMEM com 10% SFB. Essas células foram obtidas do Laboratório de Genética e Hematologia Molecular da FMUSP. As células foram cultivadas durante 24 horas e depois o MC foi separado, centrifugado, filtrado (0,22 µm) e estocado a -20°C. Os experimentos foram feitos com células de leucemia miogênica crônica K562 (ATCC CCL-243) e sua derivada K562-Lucena resistente à vincristina. Mudanças na viabilidade celular foram determinadas pelo método do MTT. O grau de apoptose das células tumorais tratadas com diferentes MC foi determinado com o ensaio de anexina V/Pi por microscopia High Content Screening e análise por MetaXpress. Os resultados foram expressados como média e desvio-padrão e as comparações foram feitas com Anova *one way* considerando p < 0,05 como significativo. **Resultados:** Nas análises de proliferação celular foi observada a redução da proliferação das linhagens K562 e K562-Lucena quando tratadas com MC independentemente da sua origem. As análises de viabilidade celular demonstraram que não houve aumento significativo de apoptose, porém foi possível observar tendência ao aumento quando comparadas com o controle. Isso indica que o MC pode estar atuando como um agente citostático sobre as células tumorais. **Conclusão:** O meio condicionado de células-tronco mesenquimais modula negativamente a proliferação celular de linhagens leucêmicas. **Financiamento:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fluidos Complexos (INCT-Fcx).

238. GREEN TEA MODULATES QUIESCENCE/MOBILIZATION OF HEMATOPOIETIC CELLS BY AFFECTING COAGULATION AXIS

Torello CO^{a,b}, Della-Via FI^{a,b}, Shiraiishi RN^{a,b}, Martins F^{a,b}, Prax MCA^{a,b}, Queiroz MLS^{a,b}, Paula EV^{a,b}, Saad STO^{a,b}

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

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

Coordinated arrangement of bone marrow microenvironment is essential to maintaining hematopoietic stem cells and progenitor cells. Quiescence with consequent proliferation/differentiation and mobilization of these cells from the bone marrow (BM) to the circulation is tightly regulated, and is accelerated during non-physiological or stress conditions (such as infections). It has been reported that thrombin induces rapid HSPC mobilization through coagulation thrombin/PAR-1 axis and that quiescence is maintained through APC/EPCR/PAR-1 axis. This axis may be modulated by reactive oxygen species (ROS). In this concern, considering that green tea (GT) modulates ROS, due to the presence of large amounts of polyphenolic compounds, the effects of GT treatment were studied in the quiescence/mobilization of hematopoietic cells, by evaluation of mature and immature myeloid population (Gr1⁺Mac1⁺) and the number of granulocyte-macrophage colonies (CFU-GM) in mice challenged with lipopolysaccharide (LPS). In addition, the authors analyzed thrombin-antithrombin complex (TAT) in the plasma, soluble endothelial protein C-receptor (sEPCR) in the serum and EPCR in the total BM of mice by immunofluorescence. The dose of 250 mg/kg body GT was given once every seven days by oral route (gavage) to Balb/C mice (n = 6/group). Mice were challenged with i.p. injection of 100 µg LPS. The control group received the vehicle only. After 72 h, mice were sacrificed; BM, spleens (SP) and peripheral blood (PB) were collected to the assays. ANOVA-Tukey testing was used for statistics. The percentage of Gr-1⁺Mac-1⁺ cells was reduced in the BM of mice challenged with LPS vs. control (14.7% ± 8.8% vs. 32.7% ± 3.3%; p < 0.001). On the contrary, increases in the percentage of this population were observed in the SP vs. the controls (4.0% ± 1.1% vs. 1.2% ± 0.3%; p < 0.0001) and PB vs. control (66.5% ± 10.0% vs. 26.2% ± 3.6%; p < 0.0001) of these mice. GT treatment prevented these changes induced by LPS, maintaining levels similar to control group in the BM (37.9% ± 12.0% vs. control 32.7% ± 3.3%; p < 0.0001), and partially in the SP (2.8% ± 0.4% vs. control 1.2% ± 0.3%; p < 0.05) and PB (36.9% ± 11.8% vs. control 26.2% ± 3.6%; p < 0.0001). According to this, in mice challenged with LPS, CFU-GM numbers were reduced in the BM (85 ± 5 vs. control 140 ± 9; p < 0.01) and increased in the SP (83 ± 7 vs. control 32 ± 4; p < 0.001). GT treatment normalized CFU-GM in the BM (129 ± 10 vs. control 140 ± 9; p < 0.01) and SP (59 ± 7 vs. control 32 ± 4; p < 0.01) of these mice. In the LPS group, increased levels of TAT in the plasma (87 ± 1.4 ng/mL vs. control 68.5 ± 6.3 ng/mL; p < 0.005) and sEPCR in serum (304.5 ± 7.7 ng/mL vs. control 157.5 ± 10.6 ng/mL; p < 0.001) were observed. The treatment of these mice with GT reduces TAT levels to control (66.2 ± 0.2 ng/mL vs. control 68.5 ± 6.3 ng/mL; p < 0.005) and partially reduced sEPCR levels (232 ± 31 ng/mL vs. control 157.5 ± 10.6 ng/mL; p < 0.05). In addition, immunofluorescence analysis showed reduction in the expression of EPCR in the total BM cells of LPS mice, compared to controls; however, treatment with GT maintained the EPCR expression similar to that of controls. These findings indicate that modulation by GT on the altered mature and immature myeloid population induced by LPS could be related to some impact in the quiescence or proliferation/differentiation and mobilization of these cells through the coagulation thrombin/PAR-1 and/or APC/EPCR/PAR-1 axis, but additional experiments are needed to clarify this observation.

239. GERAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO PLURIPOTENTES INDUZIDAS A PARTIR DE CÉLULAS SOMÁTICAS DE INDIVÍDUOS COM FENÓTIPO DE INTERESSE PARA TRANSFUSÕES SANGUÍNEAS

Catelli LF^a, Junqueira L^b, Sandoval ESR^c, Ferreira AF^b, Favarin MDC^c, Malta TM^a, Santos FLS^c, Júnior BPAP^c, Ubiali EMA^c, Covas DT^a, Kashima S^b

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

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

^c *Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil*

A demanda por transfusões sanguíneas aumentou nos últimos anos e o cenário atual é de escassez de concentrados de hemácias cujos fenótipos poderiam reduzir a ocorrência de reações transfusionais indesejáveis. As células-tronco pluripotentes induzidas humanas (hiPSCs) são potenciais fontes de hemácias, pois podem se diferenciar em todos os tipos celulares do organismo. O objetivo deste estudo foi a geração de células eritroides a partir da diferenciação de hiPSCs provenientes de células mononucleares do sangue periférico (PBMC) de indivíduos que têm fenótipos que abrangem, em teoria, a maior parcela possível de pacientes que necessitam de transfusões. Amostras de sangue periférico de 12 doadores de sangue foram obtidas e fenotipadas/genotipadas para antígenos eritrocitários pertencentes aos sistemas sanguíneos: Rh(C,c,E,e), Kell(K), Duffy(Fy^a,Fy^b), Kidd(Jk^a,Jk^b), MNS(S,s). Tais antígenos foram escolhidos pela sua importância na prática transfusional, principalmente por induzir a imunização do organismo receptor. Amostras menos imunogênicas (PB02) foram selecionadas para a indução da pluripotência. Para tanto, as PBMCs de PB02 foram isoladas por Ficoll Hypaque[®] e expandidas *in vitro* em meio sem soro com as citocinas SCF, IL-3, IGF-1, EPO e dexametasona, que favorecem a proliferação de eritroblastos e a depleção de células da linhagem linfóide. A população de células enriquecidas foi reprogramada por meio de nucleoporação com os vetores episomais pEB-C5 e pEB-Tg e cocultivadas sobre fibroblastos embrionários murinos (MEFs) até o surgimento das colônias hiPSC like. Essas foram transferidas para condições de cultivo de células embrionárias humanas (hESCs) e posteriormente caracterizadas quanto à sua pluripotência. Os resultados mostraram que a morfologia das colônias eram semelhantes às das linhagens embrionárias H1, H9 e Br1. Além disso, tanto a expressão dos genes de pluripotência como a imunofenotipagem mostraram alta expressão dos marcadores de pluripotência OCT4, SOX2 e NANOG e baixa expressão de marcadores hematopoiéticos como CD43, CD34 e CD45. A expressão dos genes de pluripotência foi feita por qPCR e os dados foram expressos em unidades relativas de expressão (URE): Oct4 (66116,7), Sox2 (151902,2) e Nanog (4992,3). Esses resultados condizem com o estado celular indiferenciado encontrado em linhagens embrionárias como a H9 e Br1. Isso indica que a iPSC PB02 encontra-se em estado indiferenciado. Foi feito o ensaio de diferenciação hematopoiética com a linhagem iPSC_{3-cl3} (derivada de fibroblasto com genótipo de interesse) e observou-se que 7,12% das células diferenciadas expressaram o marcador CD235a característico de células eritroides maduras. Portanto, foi possível a geração de uma linhagem de células hiPSC like a partir do fenótipo de interesse para transfusão e essa é capaz de ser mantida em estado indiferenciado por várias passagens. Os resultados preliminares de diferenciação eritroide sugerem que as células geradas neste estudo têm potencial para atender à demanda de produção de painéis de hemácias personalizadas que são usados como reagentes de imunofenotipagem, bem como possibilita o estudo dos mecanismos fisiopatológicos da eritropoese, além de contribuir para o embasamento biotecnológico de produção de hemácias *ex vivo*. **Financiamento:** Centro de Terapia Celular/Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Terapia Celular (CTC/INCTC), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP).

240. ARHGAP21 IS UPREGULATED AND TRIGGERS THE MODULATION OF RHO GTPASE SIGNALING PATHWAYS DURING MEGAKARYOCYTIC DIFFERENTIATION

Bernusso VA^a, Lazarini M^{a,b}, Machado-Neto JA^a, Barcellos KSA^a, Saad STO^a

^a *Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil*

^b *Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil*

Introduction: During differentiation, the megakaryocyte experiences profound changes in the actin cytoskeleton and tubulin through Rho GTPase activity. Microtubules provide the elongation of proplatelets, whereas actin microfilaments mediate force to increase branching and release of platelets. ARHGAP21 is a RhoGAP for RhoA, RhoC, and Cdc42, which has been shown to interact with α -tubulin in cancer cells. Moreover, arhgap21^{+/−} mice exhibit significant reduction in platelet number and increased platelet volume. **Aim:** To evaluate ARHGAP21

function in the activity of Rho GTPase and their effectors during megakaryocytic differentiation. **Materials and methods:** Megakaryocyte differentiation was stimulated in HEL cells through treatment with 20 nM of phorbol myristate acetate -13 -12 (PMA) for four days, and was confirmed by the expression of CD41a, CD42b, and CD61, as well as polyploidy using flow cytometry. Morphological changes were observed by optical microscopy. The localization of ARHGAP21, F-Actin, and α -tubulin cytoskeletal proteins was assessed by confocal microscopy. The expression of ARHGAP21 and the Rho GTPases RhoA, RhoC, and Cdc42, as well as the downstream proteins Rock1 e2, phospho-MLC2, MLC2, phospho-cofilin, cofilin, and mDia1 were analyzed by western blotting. Rho GTPases activity was determined through pull-down assays using Rhotekin-GST (RhoA, RhoB, and RhoC) and WASP-GST (Cdc42) constructions. Tubulin polymerization was evaluated by soluble and insoluble tubulin precipitation assay. ARHGAP21 silencing was performed by siRNA, after PMA treatment for two and three days, and was followed by the analysis of the expression and activity of Rho GTPases and their effectors, ploidy, and differentiation markers. **Results:** Megakaryocytic differentiation of HEL cells was accompanied by intense rearrangement of the cytoskeleton, increased cell size, polyploidy, and increased expression of the membrane receptors CD61, CD41a and CD42b. Interestingly, a gradual up-regulation of ARHGAP21 was observed during differentiation, especially on days two and three of treatment (both 9.33-fold increase) and mainly in extracts containing polymerized tubulin. ARHGAP21 up-regulation was concomitant with the reduction of RhoA and Cdc42 activity (92% decreased and 52% decreased, respectively), but not in RhoC. Silencing of ARHGAP21 by siRNA was confirmed by western blot. Downregulation of ARHGAP21 in HEL cells triggered increased phosphorylation on serine 19 of myosin light chain2 (MLC2) on day two. Moreover, mDia1, a common effector of RhoA and Cdc42, was also increased at the same point. ARHGAP21 silencing induced an increase in CD42b on day three (5% increased, $p < 0.015$). No difference was observed in the expression of CD61 and CD41a and in the ploidy of ARHGAP21 silenced cells compared to control. **Conclusion:** These results suggest that the up-regulation of ARHGAP21 during megakaryocytic differentiation is important to control the dynamics of the cytoskeleton through the regulation of RhoA and Cdc42. Silencing of ARHGAP21 induces increased phosphorylation of MLC2 and the expression of mDia1, which may impair megakaryocytic differentiation. Furthermore, ARHGAP21 appears to regulate the acquisition of the CD42b receptor, participating in the final stages of megakaryopoiesis.

241. SHORT-TERM EFFECTS OF 7-KETOCHOLESTEROL ON HUMAN ADIPOSE TISSUE MESENCHYMAL STEM CELLS IN VITRO

Levy D^a, Silva SF^a, Celestino AT^a, Ruiz JLM^b, Ferreira AK^c, Isaac C^d, Bydlowski SP^a

^a *Laboratório de Genética e Hematologia Molecular (LIM 31), Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil*

^b *Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, PR, Brazil*

^c *Department of Immunology, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil*

^d *Division of Plastic Surgery, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil*

Introduction: Oxysterols comprise a very heterogeneous group derived from cholesterol through enzymatic and non-enzymatic oxidation. Among them, 7-ketocholesterol (7-KC) is one of the most important. It has potent effects in cell death processes, including cytotoxicity and apoptosis induction. Mesenchymal stem cells (MSCs) are multipotent cells characterized by self-renewal and cellular differentiation capabilities. Very little is known about the effects of oxysterols in MSCs. **Objective:** Analyze the short-term cytotoxic effect of 7-KC on MSCs derived from human adipose tissue. **Methods:** This study was approved by the Research Ethic Committee (CPPESQ) of Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Human adipose tissue-derived MSCs were obtained from three different donors (n = 3) from the LIM31 pattern inventory. Several concentrations of 7-KC (0 to 100 mM, 200 μ L final volume) were added, followed by incubation for another 24 h. Cell viability was determined using MTT. The Annexin V: FITC Apoptosis Detection Kit II (BD Biosciences) was used to determine the percentages of apoptotic cells. Caspase-3/7 activity was mea-

sured using the NucView 488 Caspase-3 Assay kit for live cells. Mitoscreen (BD Biosciences) was used to evaluate the transmembrane mitochondrial potential (DY). Cell cycle evaluation with Hoechst 33342 and changes in actin organization were investigated using Alexa Fluor 488 phalloidin. **Results:** The IC₅₀ of 7-KC was 59.54 ± 2.09 μM. 7-KC did not produce cell cycle changes and alteration in caspase-3/7 activity at any of the tested concentrations. 7-KC induced cell deaths by apoptosis only at the concentration of 50 μM, in the hyperpolarized mitochondrial membrane state, and promoted changes in actin organization after 24 h of treatment. **Conclusion:** These results clearly suggest that 7-ketocholesterol promotes short-term mitochondrial hyperpolarization in human adipose tissue-derived MSCs, which might be a first step in the apoptotic process. Moreover, this was followed by a slight increase in the level of apoptosis and changes in actin organization. The pathophysiological importance of these findings remains to be investigated. **Funding:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fluidos Complexos (INCT-Fcx).

242. GLOBIN GENE EXPRESSION PROFILE ANALYSIS DURING IN VITRO HEMATOPOIETIC DIFFERENTIATION

Ferreira Ar^{a,b}, Costa EBO^{b,c}, Ferreira AF^{b,d}, Orellana MD^{a,b}, Kashima S^{a,d}, Covas DT^{a,c}

^a Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP), Hospital de Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^b Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Células-Tronco e Terapia Celular (INCTC), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^c Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^d Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

The current demand for hematopoietic stem cells (HSCs) required by cell therapy is growing, and HLA system compatibility is a barrier to be overcome. Therefore, the cultivation and *in vitro* differentiation of human embryonic stem cells (hESCs) and human induced pluripotent stem cell (hiPSCs) have been shown to be a suitable alternative method to overcome this adversity. Recent studies described a broad variety of *in vitro* differentiation methods; however, erythropoiesis is not widely monitored over the course of most protocols and they are not efficient on obtaining adult hemoglobin (Hb). The hemoglobins present in human red blood cells are assembled in a tetrameric way: Two α -like (α and ζ) and two β -like (β , δ , ϵ , and γ) chains. Each polypeptidic Hb chain is known as a globin; these structures contain a heme group that combines with an iron ion (Fe²⁺), which is the responsible for oxygen transport in the body. For instance, two alpha- and two beta-globin chains ($\alpha_2\beta_2$) constitute HbA. The globin chain gene expression proportion is an efficient biomarker that might test the degree and stage of erythroid differentiation in a sample. It predicts the theoretical cells' Hb profile and emphasizes the importance of tracking the *in vitro* differentiation. As the human embryo develops, its cells express a different set of globin genes in each life stage that will result in a specific Hb subset. However, the molecular mechanisms that play a central role in the globin switching are still to be fully revealed. Both hESCs and hiPSCs are robust *in vitro* models to mimic many natural physiologic and pathologic molecular human differentiation mechanisms. The cytokines induced hematopoiesis protocol from hESCs lineage H1 (hESCs-H1) co-cultured onto murine embryonic fibroblasts (MEFs) in a differentiation medium supplemented with cytokines and hematopoietic growth factors showed a high efficiency on progenitor hematopoietic cells generation. The main goal of the present study was to analyze which globin chains genes are expressed in human hematopoietic *in vitro* differentiated cells compared to those of the normal human development. A sample obtained by this research group in previous assays of hematopoietic differentiation showed a globin (HBA2, HBB, HBE1, HBG2, and HBZ) gene expression pattern similar to that found in the first ten gestational weeks. It indicates higher gene expression levels of alpha (α) and gamma (γ) chain, but they still transcribe the embryonic globin chains epsilon (ϵ) and zeta (ζ) genes. Even so, it still is a challenge to obtain an increased globin beta (β) chain gene expression in most *in vitro* differentiation assays. These results were obtained by comparison with umbilical and placental blood cord sample by cation exchange high performance liquid chromatography (CE-HPLC) and quantitative polymerase chain reaction (qPCR). The globin levels testing on cells resulted from hematopoietic *in vitro* differentiation might help in the understanding of the globin switch-

ing mechanisms during human embryo development. These results demonstrated that the use of pluripotent stem cells might aid the design of *in vitro* hematopoietic differentiation models aiming to supply the clinical demand for HSCs and contribute to cellular therapy applied to many of the known hemoglobinopathies. **Funding:** Centro de Terapia Celular/ Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Terapia Celular (CTC/ INCTC), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (3452-12-3), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP), and Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES).

243. AVALIAÇÃO DE 10 ANOS DE COLETA E CRIOPRESERVAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO DE CORDÃO UMBILICAL: PARTO NORMAL VERSUS PARTO CESÁREA

Massumoto SM, Lizier NF, Melati I, Winck C, Sartoretto I, Luciano MED, Ambrósio V, Massumoto C, Ayoub R, Ayoub CA

Centro de Criogenia Brasil (CCB), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O sangue (SCU) e o tecido (TEC) do cordão umbilical são uma rica fonte de células-tronco hematopoéticas e mesenquimais, respectivamente. As células-tronco hematopoéticas são usadas como fonte de progenitores celulares após ablação quimioterápica, e as células mesenquimais são amplamente usadas em caráter experimental, com a finalidade de reparação e diferenciação em outros tecidos. Atualmente, há a tendência de induzir o aumento do número de partos normais feitos nos grandes centros. **Objetivo:** Analisar os vários parâmetros envolvidos na coleta de sangue de cordão umbilical e comparar os resultados entre parto normal e cesárea. **Material e métodos:** Foram avaliadas 6.830 amostras com os dados completos de SCU coletadas e criopreservadas de outubro de 2004 a dezembro de 2014. Após a coleta do SCU e TEC em centro obstétrico, as amostras foram levadas aos respectivos laboratórios de criopreservação (CTC I) e "sala limpa" (CTC II) para serem processadas e criopreservadas. As amostras foram avaliadas quanto ao tipo de parto e relacionaram: volume coletado, idade gestacional, peso do recém-nascido (RN), peso da mãe, % de células CD34+, número de células totais, número de células totais/mL, número de células CD34+/mL. **Análise estatística:** Para as variáveis quantitativas, essa análise foi feita por meio da observação dos valores mínimos e máximos e do cálculo de médias, desvios-padrão e mediana. Para as variáveis qualitativas calcularam-se frequências absolutas e relativas. Para a comparação de dois grupos foram usados os testes não paramétrico de Mann-Whitney, Kruskal-Wallis e t de Student. **Resultados:** Após análise estatística dos dados verificou-se que dentre as coletas feitas no centro, 93,69% correspondem a cesarianas e 6,31% a partos vaginais. O grupo com parto normal apresenta valor de volume e peso materno significativamente menor quando comparado com o parto cesárea. O grupo com parto normal apresenta idade gestacional, número de células/mL, número de células CD34+/mL maior em relação ao parto cesárea. Fizemos comparações entre várias idades gestacionais: 25 a 30, 30 a 33, 34 a 37, 38 a 41 semanas e pesos do RN: abaixo de 2 kg, 2 a 2,5 kg, 2,5 a 3 kg, 3 a 3,5 kg, 3,5 a 4 kg, e acima de 4 kg. Os resultados serão apresentados em tabela. **Conclusão:** Apesar do número reduzido de partos normais, apresentaram idade gestacional, número de células/mL e número de células CD34+/mL significativamente maiores em relação ao parto cesária.

244. COMPARAÇÃO DO PROCESSO DE DIFERENCIAÇÃO MESENQUIMAL ESPONTÂNEA A PARTIR DE CÉLULAS-TRONCO EMBRIONÁRIAS E CÉLULAS-TRONCO PLURIPOTENTES INDUZIDAS

Costa PNM^{a,b}, Malta TM^a, Gyuricza IG^a, Ferreira AR^a, Caruso SR^a, Tozetti PA^a, Goday ALC^a, Orellana MD^a, Menezes CCO^a, Covas DT^{a,c}, Kashima S^{a,b}

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

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

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

O interesse em células-tronco mesenquimais (MSC) se dá pelas suas propriedades imunomodulatórias e regenerativas. Contudo, os métodos para obtenção de MSC de pacientes são em geral invasivos, de alto custo e por muitas vezes trabalhosos. Para contornar essa situação, vários trabalhos

científicos demonstraram com sucesso a obtenção de células com características de MSC provenientes de métodos de indução de diferenciação de células-tronco embrionárias humanas (hESC) e de células-tronco pluripotentes induzidas humanas (hiPSC). Este trabalho tem como objetivo comparar o processo de diferenciação mesenquimal espontânea a partir de diferentes células pluripotentes (hESC e hiPSC) quanto a características morfológicas, imunofenotípicas e capacidade de diferenciação osteogênica, adipogênica e condrogênica. Para tanto, as colônias de hESC H1, hESC H9 e de hiPSC provenientes de fibroblastos e de mononucleares de sangue periférico humanos (hiPSFib e hiPSPB, respectivamente) foram deixadas em cultura sem troca de meio até que sofressem diferenciação espontânea e adquirissem morfologia fibroblastoide típica. Essas células fibroblastoides foram repicadas enzimaticamente e depois cultivadas em meio α -MEM 15% soro fetal bovino (SFB). O perfil imunofenotípico foi analisado por citometria de fluxo no início e no fim da diferenciação espontânea (passagem 3). Nessa passagem, elas foram plaqueadas para diferenciação osteogênica, adipogênica e condrogênica. Como resultados, podemos destacar que no fim da diferenciação mesenquimal espontânea todas as células obtidas eram aderentes ao plástico e exibiram morfologia fibroblastoide. A análise de imunofenotipagem mostrou alta expressão ($\geq 90\%$) dos marcadores de superfície clássicos em MSC: CD73, CD90 e CD105 e baixa da expressão ($\leq 31\%$) dos marcadores de pluripotência: SSEA4, OCT4 e NANOG. A análise *in vitro* dessas células derivadas das hESC-H1 e hiPSFib mostrou capacidade de diferenciação em condrócitos. Esses achados mostraram que a diferenciação mesenquimal espontânea a partir de células pluripotentes resultou em células morfológica e imunofenotipicamente semelhantes a MSC adultas e, portanto, uma fonte potencial para obtenção de células mesenquimais para uso na terapia celular. Uma caracterização mais detalhada da sua plasticidade e de suas propriedades imunomodulatórias deve ser feita. **Financiamento:** Centro de Terapia Celular/Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Terapia Celular (CTC/INCTC), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), 2014/02245-3, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNHERP), Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES).

245. DEVELOPMENT OF A TISSUE ENGINEERING SKIN SUBSTITUTE: AN IN VIVO RESPONSE

Steffens D^{a,b}, Luco DP^c, Soster PLR^d, Vergani G^e, Mathor MB^e, Pranke P^{a,b,f}

- ^a *Hematology and Stem Cell Laboratory, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil*
^b *Post-graduate Program in Physiology, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil*
^c *Instituto de Pesquisa em Energia Nuclear, São Paulo, SP, Brazil*
^d *Morphological Science Department, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil*
^e *Faculdade de Medicina de Jundiaí (FMJ), Jundiaí, SP, Brazil*
^f *Instituto de Pesquisa com Células-Tronco (IPCT), Porto Alegre, RS, Brazil*

Tissue engineering (TE) is an important tool for skin regeneration. Currently available treatments are insufficient for preventing scar formation and promoting healing of the patient. Therefore, the current study aimed to produce a cutaneous substitute using PDLLA polymer to produce the biomaterial. For this proposal, scaffolds were constructed by the electrospinning technique: PDLLA and PDLLA/Lam (hydrolyzed with NaOH and in which the protein laminin was linked by covalent binding). They were constructed with two different fiber diameters, with the smallest at the top of the scaffold. For the experiments, mesenchymal stem cells were then seeded onto the bottom of the scaffolds and, after 24 hours, skin keratinocytes were seeded on the other side. The *in vivo* experiments were performed using nude mice as burn animal models. Six groups were tested: (1) animals injured without scaffolds (lesion group), in which gauze was used as a cover ($n = 4$); (2) PDLLA/Lam without cells; (3) PDLLA without cells, (4) PDLLA/Lam with cells ($n = 6$ /group); (5) PDLLA with cells, and (6) healthy animals ($n = 4$). All the animals had a 1 cm² skin defect performed on their backs, removing all the skin, with the exception of group 6. The scaffolds (or biomaterials) were implanted in the mice with burn-imitation skin defects for up to nine days. Photographs were taken on the day of surgery and on the day of euthanasia. Two parts of the skin

defect were taken for histology and gene expression analyses. The fiber diameter varied for each biomaterial, ranging from 3.197 to 4.622 μm for the largest fibers. The pore size also varied according to the scaffold, ranging from 19.182 to 27.732 μm . The smallest fibers showed a diameter of 574 nm and a pore size of 3.444 μm . The presence of both types of cells was observed through histological analysis in the evaluation of all the groups up to 21 days of cultivation. Moreover, it was clearly observed that the cells occupied all the structure of the scaffolds in all the groups. After nine days of *in vivo* experiments, skin defect size did not show statistical difference among the groups, although the groups with the PDLLA/Lam biomaterial had the smallest lesion size and the PDLLA/Lam group presented the best visual aspect of the wound. Gene expression analysis showed considerable increase of TGF β 1 expression, increased VEGF, and balance of the BAX/Bcl-2 ratio, when compared to the lesion group. Histological analysis showed well-formed tissue in the groups where the biomaterials and biomaterials plus cells were used. In some animals in which biomaterials and cells were used, the epidermis was formed throughout the length of the wound. There was no formation of skin annexus in any of the animals tested. In conclusion, these biomaterials were capable of providing support for the growth of the cells, indicating that they may be suitable biomaterials for use in tissue engineering.

Funding: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), and Stem Cell Research Institute.

246. CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E FUNCIONAL DE CÉLULAS-TRONCO DE PLURIPOTÊNCIA INDUZIDAS

Gyuricza IG^a, Malta TM^b, Souza LEB^{a,b}, Magalhães DAR^a, Orellana MD^a, Neder L^b, Kashima S^{a,c}, Covas DT^{a,b}

- ^a *Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil*
^b *Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil*
^c *Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil*

A descrição das células-tronco de pluripotência induzidas (iPS) representou um grande avanço na medicina regenerativa e terapia celular, apresenta-se como uma opção ao uso das células-tronco embrionárias humanas (hCTE). O objetivo deste trabalho foi caracterizar linhagens geradas por meio da transdução de fibroblastos com genes de pluripotência veiculados por lentivírus. Dessas linhagens, quatro foram geradas com os genes OCT4, SOX2, KLF4 e c-MYC: iPS_BM_03_Cl_03 (iPS_Cl_03), iPS_BM_03_Cl_04 (iPS_Cl_04), iPS_BM_03_Cl_08 (iPS_Cl_08) e iPS_BM_03_Cl_11 (iPS_Cl_11) e duas foram geradas com o gene TCL1: BJ_TCL1 e CCD_TCL1. As linhagens iPS_Cl_11 e BJ_TCL1 foram analisadas quanto à expressão dos genes OCT4, SOX2, NANOG, KLF4 e c-MYC por meio de PCR quantitativo em tempo real (qPCR). Linhagem de hCTE e células em maior estágio de diferenciação foram usadas para quantificação relativa. As linhagens apresentaram alta expressão dos genes de pluripotência quando comparadas com as células diferenciadas (fibroblastos). Foi feita a imunofenotipagem das linhagens iPS_Cl_11, iPS_Cl_08, BJ_TCL1 e CCD_TCL1 para marcadores de pluripotência intracelulares (como OCT4 e NANOG) e de superfície (SSEA-4). As linhagens foram positivas para todos os marcadores intracelulares, com exceção das linhagens BJ_TCL1 e CCD_TCL1, que não apresentaram marcação de OCT4. Além disso, não houve marcação significativa de SSEA-4 para qualquer das linhagens. Para a análise do potencial de diferenciação das linhagens em células dos três folhetos embrionários foi feito o ensaio de formação de corpos embrioides (CE) com as linhagens iPS_Cl_03 e iPS_Cl_04 por meio do plaqueamento das células em placas de baixa aderência e uso de meio de cultura específico para diferenciação espontânea. Ambas as linhagens avaliadas demonstraram formação de CE. Os CE da iPS_Cl_03 foram analisados por imunofluorescência e demonstraram expressão de marcadores dos três folhetos embrionários. Apesar da formação dos CE da iPS_Cl_04, não foi possível fazer a imunofluorescência devido à baixa quantidade de material obtido. As linhagens iPS_Cl_08, iPS_Cl_11, BJ_TCL1 e CCD_TCL1 foram submetidas ao ensaio de diferenciação *in vivo* (formação de teratoma) por meio da injeção das células em camundongos imunodeficientes. Neste ensaio, foram obtidos tumores apenas de BJ_TCL1, os quais foram extraídos, processados histologicamente, corados com hematoxilina-eosina e analisados por imunohistoquímica. As análises evidenciaram caracte-

rísticas malignas, tais como indiferenciação celular, alta angiogênese e alta atividade proliferativa. Com base nesses resultados foi possível verificar a heterogeneidade das linhagens quanto às características moleculares e funcionais. Nesse contexto, torna-se evidente a necessidade da completa caracterização das linhagens reprogramadas, por meio de diferentes metodologias, o que reforça a importância da feitura de ensaios *in vivo*. **Financiamento:** Centro de Terapia Celular/Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Terapia Celular (CTC/INCTC), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), 2013/06841-7, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP).

247. BANCO DE SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL E PLACENTÁRIO – UMA REALIDADE DO SERVIÇO PÚBLICO NO CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO CEARÁ (HEMOCE)

Solon VRM^a, Ferreira IAF^a, Gomes VAF^a, Pinheiro AN^a, Mendona WB^a, Freitas HBF^a, Nunes SWG^a, Bruno NMM^a, Duarte FB^b, Carlos LMB^a

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

^b Unidade de Transplante de Medula Óssea, Hospital Universitário, Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brasil

Introdução: O Banco de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário (BSCUP) é um banco público que tem como objetivo a captação de sangue de cordão umbilical e placentário (SCUP) doado voluntariamente. Para se candidatar à doação do sangue de cordão umbilical e placentário, as mães devem ter acima de 18 anos, duas consultas pré-natais documentadas, idade gestacional igual ou superior a 35 semanas, bolsa rota há menos de 18 horas e ausência de processo infeccioso que possa interferir na vitalidade placentária. O SCUP é fonte de células progenitoras hematopoiéticas (CPH), assim como a medula óssea. As CPH desempenham um papel importante na reconstituição da medula óssea pós-quimioterapia mieloablativa. Assim, o SCUP tem se mostrado uma fonte de CPH opcional à medula óssea no transplante alogênico não aparentado e aumenta as chances de um candidato a transplante de medula óssea (TMO) encontrar um doador compatível. **Objetivo:** Relatar parâmetros obtidos por ocasião da coleta, tais como tipo de parto feito, idade gestacional, sexo do recém-nascido (RN), peso do RN, volume real do SCUP e celularidade inicial, isto é, contagem de leucócitos com o intuito de analisar sua influência na qualidade das células coletadas. **Material e métodos:** Análise prospectiva de dados obtidos das doadoras de SCUP e dos RNs, cujo material foi processado no BSCUP-Fortaleza/HEMOCE. **Resultados:** Foram analisados SCUPS de mães que se enquadravam nas condições aptas à doação de janeiro a julho de 2015. A população analisada, neste estudo, é composta de 81 doadoras de SCUPS, 48 (59,3%) dos RNs são do gênero masculino e 33 (40,7%) do gênero feminino. Desse contingente de parturientes, 15 (18,5%) optaram por parto vaginal, enquanto 66 (81,5%) por parto cesáreo. A média da idade gestacional das mães é de 39,09 semanas para os RNs do sexo feminino e 39,12 semanas para os RNs do sexo masculino, cujo peso variou de 2,400 kg a 4,015 kg com a média de 3,314 kg e 2,475 kg a 4,290 kg com a média de 3,482 kg, respectivamente. O volume real das bolsas de SCUP de RNs do sexo masculino variou de 46,9 mL a 143,1 mL com a média de 84,66 mL e do sexo feminino variou de 46,3 mL a 134,1 mL com a média de 87,94 mL. A média da contagem de leucócitos inicial encontrada é 10,74 x 10⁶/mL nos SCUPS de RNs femininos e 10,64 x 10⁶/mL dos masculinos. **Conclusão:** Os dados obtidos são preliminares. Serão feitas análises estatísticas, comparativas, entre os parâmetros obtidos.

248. PROTEIN MALNUTRITION MODIFIES FIBRONECTIN REMODELING CAPABILITY IN LONG-TERM BONE MARROW CULTURE

Silva GB, Hastreiter AA, Massaro RR, Tsujita M, Maria-Engler SS, Borelli P

Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

Introduction: Protein malnutrition (PM) leads to alterations in the extracellular matrix (ECM) in different organs, leading to compromise of its functioning. The authors previously described that PM causes quantitative changes in the bone marrow (BM) ECM *in vitro*, mainly of fibronectin (FN). Both increase as well as decrease in FN protein expression in BM has

been observed *in vitro*, when cultivated in different periods of time. Alterations in FN impair the cell cycle of hematopoietic stem/progenitor cells (HSPC), which is in turn related to impairment of hematopoiesis in PM. The matrix metalloproteinases (MMPs) are responsible for degradation of FN, and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP) regulate this process. **Objectives:** The purpose was to evaluate the effects of PM on MMP activity, levels of TIMPs, and FN gene expression on long-term bone marrow culture (LTBMC). These findings would allow better understanding of whether these factors contribute to the modifications in FN expression observed in this model. **Methodology:** Adult male C57BL/6J mice were distributed into two groups: control (C) and malnourished (M), which received a diet with 12% and 2% protein, respectively. After five weeks of malnutrition induction, the BM cells were harvested and grown in the LTBMC for 28 and 35 days. Zymography and/or ELISA were used to measure MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 levels and activity. Gene expression of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2, and FN were analyzed by real-time PCR. **Results:** No significant differences were found in FN gene expression in both periods. In 28 days, an increase in MMP-9 gene expression was detected. Quantification of the zymogen/active enzyme status of pro-MMP-9, pro-MMP-2, active-MMP-9, and intermediate-MMP-2 showed no significant differences in both periods. This study also detected no significant differences in MMP-9 and MMP-2 activity by ELISA. Furthermore, TIMP-1 levels and gene expression were significantly decreased at day 35, but these alterations were not observed in TIMP-2. **Conclusion:** This study demonstrated that PM not modifies gene expression, but changes the protein expression of FN besides alterations in MMP-9 gene expression in spite of its activity remained unchanged. Furthermore, demonstrated changes in gene expression and level of TIMP-1 considering that it inhibits the action of MMP-9. Altogether, MMP and TIMP results can play a role into the modifications of FN in BM observed *in vitro*. However, PM probably modifies the post-transcriptional processes of FN, representing a possible mechanism to elucidate these alterations. **Funding:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

249. EFFICIENT EXPANSION OF HUMAN UMBILICAL CORD MESENCHYMAL STROMAL CELLS IN A XENOGENEIC-FREE SYSTEM FOR CELL THERAPY

Orellana MD^a, Tozetti PA^a, Caruso SR^a, Fernandes TR^a, Godoy ALC^a, Palma PVB^a, Bonaldo CCOM^a, Mizukami A^a, Swiech K^b, Covas DT^a

^a Centro de Terapia Celular, Hemocentro de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brazil

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

Introduction: Mesenchymal stromal cells (MSCs) are being widely studied as potential cell therapy agents due to their immunomodulatory properties, which have been established by *in vitro* studies and in several clinical trials. Within this context, mesenchymal stem cell therapy appears to hold substantial promise, particularly in the treatment of conditions involving autoimmune and inflammatory components. However, the large cell dose (> 2.0 x 10⁶ cells/kg) used in clinical trials with MSC will require an efficient production process. **Objective:** The goal of this study was develop an efficient expansion of human umbilical cord mesenchymal stromal cells in a xenogenic-free system for cell therapy use. **Material and methods:** MSC samples obtained from human umbilical cord (n = 5) were expanded on non-porous plastic microcarriers, P102L at 5.0 g/L in 100 mL, stirred in spinner flasks at a density of 1.1 x 10⁴ cells/cm² in xenogenic-free medium. The medium alpha-MEM supplemented with human serum was used for expansion, with 50% medium renewal every day after the third day of the culture. The authors evaluated the cell adhesion to microcarriers, growth, metabolism, final cell recovery, and the functional and immunophenotypic properties before and after cultivation. **Results:** After eight days, 3.18 x 10⁷ (± 0.93) UC-MSC were harvested by this recently-developed technique, using animal-free enzymatic cell detachment accompanied by agitation followed by filtration to separate the UC-MSC from microcarriers, with a post-harvest viability of 90.21 (± 3.62%). The immunophenotypic (positive for CD73, CD90 and CD105 and negative for CD31, CD45 and HLA-DR), multilineage differentiative potential and inhibition of lymphocytes proliferation of expanded cells were not affected upon spinner culture. **Discussion:** These results demonstrated the feasibility of expanding human umbilical cord MSC

from in a clinically relevant expansion configuration in a controlled microcarrier-based stirred culture system under xenogenic-free conditions. As the system used allows for scale-up, if a 1 L bioreactor had been used, it would have been possible to produce approximately 3.0×10^8 cells, which would be enough to treat more than one patient of 70 kg with a dose of 2.0×10^6 , with optimized cost-effectiveness utilizing the GMP culture system for cellular therapy.

250. PATIENT-SPECIFIC INDUCED PLURIPOTENT STEM CELL-DERIVED MODELS OF SICKLE CELL ANEMIA

Junqueira-Reis LC^{a,b}, Picanco-Castro V^b, Marques MM^c, Araújo FT^c, Carramaschi LVP^c, Covas DT^{b,d}, Russo EMS^a

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

^b Centro de Terapia Celular, Hemocentro de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brazil

^c Instituto de Biociências (IB), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^d Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

Sickle cell anemia (SCA) is a monogenic disease resulting from a recessive mutation in the beta-globin gene, generating deformed and stiffened red blood cells that survive less in the circulation. The only potentially curative treatment for SCA is the hematopoietic stem cell transplantation, but it is a high-risk procedure and is recommended only for severe cases with a compatible donor. The technology of induced pluripotent stem cells (iPSCs) has provided a powerful tool for the investigation of tissue differentiation and the creation of genetic disease models. Although therapeutic potential has been shown in animal models of SCA, iPSC generated by viral methods does not suit all the clinical applications. This study describes the derivation of human iPSCs from SCA patients using non-integrating episomal vectors. The most used cells in reprogramming are skin fibroblasts, but this methodology requires biopsies and expansion of these cells *in vitro* for several passages. In this context, the peripheral blood is a more accessible source of patient cells for reprogramming, and extensive maintenance in culture is not necessary. The authors have shown efficient generation of three lines of integration-free iPSCs from a small amount of peripheral blood. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from three SCA patients are cultured to expand the erythroblast population. The PBMC samples were cultured in StemSpan™ medium, supplemented with specific cytokines for erythroblast expansion and T cells depletion. After 14 days of expansion, the cells were transfected with an episomal vector expressing five factors (OCT4, SOX2, KLF4, C-MYC, and LIN28), and an episomal vector expressing SV40 large T antigen. Nine days post-transfection, the first colonies were already visible. The iPSCs are morphologically similar to embryonic stem cells in proliferative and developmental potential, and they express the pluripotency markers Nanog (76.5%), Oct4 (72.5%), and Sox2 (81%). This study also tested the *in vitro* differentiation potential, generating embryoid bodies. The immunohistochemical analysis of sections confirmed the embryonic layer-specific genes, such as alpha-fetoprotein, beta-tubulin III, and alpha-SMA. The next step is to induce the hematopoietic differentiation to obtain mature blood cells. The iPSC technology may provide a new approach for the treatment of SCA, and represents an important source for the production of patient-specific cells for cell therapy, since they provide an inexhaustible source of cells that are immunologically compatible.

251. ENDOTHELIAL-LIKE CELLS DERIVED FROM BONE MARROW NES+ MESENCHYMAL STEM CELLS HAVE A SINUSOIDAL PERIVASCULAR PHENOTYPE

Hastreiter AA, Santos GGD, Santos EWCO, Makiyama EN, Borelli P, Fock RA

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

Problem: Mesenchymal stem cells (MSCs) and endothelial cells are essential for the perivascular bone marrow (BM) niche function. Nestin-expressing (Nes⁺) MSCs perivascular cells regulate hematopoietic stem cells' (HSCs) self-renewal and proliferation. Recently, two distinct peri-

vascular Nes⁺ MSCs with opposite functions were described in the literature: whereas arteriolar NG2-expressing (NG2⁺) Nes⁺ MSCs induce HSCs quiescence, sinusoidal Leptin receptor-expressing (LEPR⁺) Nes⁺ MSCs promote HSC proliferation. It is well known that MSCs can differentiate into endothelial-like cells (EL-MSCs). Despite the fact that EL-MSCs modulate hematopoiesis, it is uncertain to which perivascular niche these cells belong and, consequently, their effect on HSCs support remains unclear. **Background:** HSCs mainly reside in the BM, where signals generated by their niche regulate their self-renewal, proliferation, and transport. Important components of the perivascular niche include endothelial cells, mesenchymal progenitors, and Nes⁺MSCs – including LepR⁺ cells and NG2⁺ cells. These cells produce several factors that have been implicated in HSCs maintenance and proliferation, including stem cell factor (SCF). Thus, molecular and cellular signals from these cells maintain the hematopoietic system homeostasis. **Hypothesis:** Since EL-MSCs are commonly used to study the niche modulation on hematopoiesis *in vitro*, the authors investigated whether EL-MSCs derived from Nes⁺ MSCs would have a sinusoidal or an arteriolar phenotype. In this manner, the role of these cells on hematopoiesis could be estimated. **Research:** BM MSCs were isolated from C57BL/6 mice and differentiated *in vitro* into EL-MSCs by a medium supplemented with 2% SBF, VEGF, FGF, IGF, and EGF each 14 days. EL-MSCs were morphologically characterized and their endothelial markers' (FLT1-VEGFR1, KDR-VEGFR2, and NT5E-CD73) mRNA expression was determined by qPCR. In addition, NES-Nes, LEPR-LepR, and CSPG4-NG2 mRNA expression was quantified for both MSCs and EL-MSCs. KITL-SCF mRNA expression was also evaluated to assess the stimulation of HSC proliferation capacity from Nes⁺ MSCs and EL-MSCs. **Observations:** It was observed that all cells studied expressed NES. After the endothelial differentiation, Nes⁺ MSCs acquired endothelial phenotype and morphology. Although the expression of CSPG4 mRNA was similar between Nes⁺ MSCs and EL-MSCs, LepR mRNA expression in EL-MSCs was higher when compared to MSCs. Furthermore, KITL mRNA expression was quite increased in EL-MSCs. Therefore, it is assumed that EL-MSCs present a sinusoidal perivascular phenotype and likely induce HSC proliferation and self-renewal.

252. GENERATION OF SPECIFIC SUBPOPULATIONS OF MATURE AND PROGENITOR MYELOMONOCYTIC CELLS THROUGH DIFFERENTIATION OF HUMAN EMBRYONIC STEM CELLS

Costa EBO^{a,b}, Moreira LF^b, Orellana MD^b, Palma PVB^b, Covas DT^{a,b}

^a Graduate Program in Clinical Oncology, Stem Cells and Cell Therapy, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^b Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Células-Tronco e Terapia Celular (INCTC), Ribeirão Preto, SP, Brazil

Hematopoiesis has been well described in murine models in last decades. However, studies revealing the mechanisms of hematopoiesis in humans are still scarce. Cultivation and differentiation of human embryonic stem cells (hESCs) represent a powerful tool to generate hematopoietic cells for future clinical application and to assist hematopoietic development. hESCs represent a population of pluripotent stem cells with high capacity for self-renewal and differentiation into cells derived from the three germ layers. However, although numerous studies show the ability of hESCs to differentiate and produce hematopoietic cells, the protocols have generated varying quantities of cells with low efficiency and functional properties. It has been demonstrated that although hematopoietic precursors can be generated *in vitro* from hESCs, there is no robust evidence that these cells are able to generate multipotent, self-renewing, and long-term transplantable hematopoietic stem cells so far. In addition, establishing conditions for directed differentiation of hESCs toward a particular hematopoietic lineage will allow the functional analysis of genes essentials during early hematopoietic commitment of different hematopoietic lineages. Myelomonocytic cells originate from multipotent hematopoietic stem cells in the bone marrow and consist mainly of granulocytes (neutrophils, eosinophils, basophils) and cells of monocyte/macrophage lineage; the authors have investigated the hematopoietic commitment of specific hematopoietic populations, especially myelomonocytic specification. A differentiation system has been developed based on co-culture of hESC with murine stromal cells

in differentiation medium supplemented with fetal bovine serum and cytokines/hematopoietic growth factors in low concentrations. This study allowed the establishment of a method to generate a mixed population of cells enriched in hematopoietic progenitor cells positive for the marker CD45 (93% ± 5%), with great *in vitro* clonogenic potential, comparable to umbilical cord blood mononuclear cells, and with the ability to generate all BFU-E, CFU-GEMM, and CFU-GM hematopoietic colonies. CD45 marker showed be co-expressed with other hematopoietic markers (CD31 [95% ± 3%], CD43 [88% ± 4.5%], CD71 [94% ± 3%], and CD38 [88% ± 4.5%]). Cells of the erythroid and myelomonocytic lineage were obtained at different stages of maturation, evidenced by specific markers (235a [9% ± 2%], CD14 [12.7% ± 4%], CD15 [35.7% ± 11.7%], CD16 [20.3% ± 7.57%]), with viability greater than 70% during more than 30 days. Sorting for enriched CD45+CD43+CD38+CD34- and CD45+CD43+CD38-CD34- cell populations revealed that both harbor myelomonocytic progenitor cells, but only CD45+CD43+CD38-CD34- were able to generate both mature granulocytes (CD45+CD11b+CD15+) and mature monocytes/macrophages (CD45+CD11b+CD14+), whereas CD45+CD43+CD38+CD34- progenitors were only able to differentiate into mature monocytes/macrophages (CD45+CD11b+CD14+). Additional studies to characterize cell populations involved in myelomonocytic commitment as well mature cells' functional properties are being conducted. These results demonstrate an efficient protocol to differentiate hESCs into hematopoietic stem/progenitor cells for obtaining mature and progenitor myelomonocytic cells to study hematopoietic commitment and obtain specific hematopoietic lineages.

LEUCEMIAS AGUDAS

253. EVALUATION OF STRATEGIES FOR THE DETECTION OF NPM1 EXON 12 MUTATIONS IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA PATIENTS USING SANGER SEQUENCING TECHNOLOGY

Rodrigues JO^a, Muniz LG^b, Mateo EC^a, Ferreira ACS^a, Assumpção JG^a

^a Setor de Pesquisa e Desenvolvimento, Instituto Hermes Pardini, Vespasiano, MG, Brazil

^b Laboratório BIOCODO Biotecnologia Ltda, Vespasiano, MG, Brazil

Mutations in the nucleophosmin (NPM1) gene occur in 30 percent of adult cases of acute myeloid leukemias (AML) and represent the most frequent genetic alteration currently known in this subset. Such alterations are common in cases with a normal karyotype, detectable in about 60% of AML without visible chromosomal aberrations, and are associated with a good prognosis. The lesions consist of small insertion/deletions in the NPM1 exon 12 region, coding for the nucleolar localization signal of the protein. The most frequent mutation (80% of the cases) is a duplication of a TCTG tetranucleotide at positions 956 through 959, known as type A, resulting in a shift of the reading frame. The remaining cases harbor insertions of different tetranucleotides at the same position or, rarely, insertion/deletion mutations at other locations in exon 12. The aim of this study was to evaluate different approaches for the detection of NPM1 mutations and determine the most cost-effective assay. A total of 155 patients with *de novo* myeloid acute leukemia were included in this study. Patients were referred to seven Brazilian treatment centers from February 2011 to September 2013. Bone marrow samples were collected in PAXgene tubes (QIAGEN/BD); RNA was extracted using a PAXgene Bone Marrow RNA Kit and DNA was extracted with phenol-chloroform from a PAXgene pellet. RNA was reverse transcribed into cDNA with the Improm II Reverse Transcription System (Promega). Exon 12 and part of exon 11 were PCR amplified with primers containing mutations to avoid pseudogene amplification and Platinum Taq DNA Polymerase (Life Technologies). Mutations were assessed through direct sequencing of cDNA, and were shown to be present in 13.6% of the cases. Type A mutation accounted for 90% of the mutations found. Next, genomic DNA was amplified using a forward primer located at intron 11 and a reverse on exon 12. In this way, direct DNA sequencing was performed in 20 patients, six of whom carried a mutation. Results from DNA and cDNA sequencing were concordant in all cases. However, only the reverse reaction of DNA sequencing could be analyzed, since the forward ones contained a high proportion of extra peaks following

capillary electrophoresis, probably a result of polymerase slippage due to the presence of 13T residues downstream from the forward primer. Since this poly T track is very close to the mutation hot spot, changes in primer design will not improve NPM1 DNA forward sequencing. One possibility to solve this issue is to conduct amplification and sequencing with reverse primer in duplicate reactions. Alternatively, the authors are currently evaluating the performance of high-fidelity enzymes to prevent slippage and improve sequencing results. **Funding:** Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

254. A IMPORTÂNCIA DO TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA EM PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIAS AGUDAS

Santos TRD

Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-Goiás), Goiânia, GO, Brasil

Este artigo foi elaborado com a finalidade de mostrar quão importante é a doação de medula óssea para pacientes portadores de leucemias agudas, uma vez que esse procedimento, muitas vezes, é a única esperança de cura para os portadores da doença. Desse modo, serão apresentadas as diferenças entre leucemia linfóide aguda (LLA), leucemia mieloide aguda (LMA) e leucemia promielocítica aguda (LPA), suas respectivas expectativas de cura com o tratamento proveniente do transplante de medula óssea associado a drogas citotóxicas, os tipos de transplantes – alogênico, autólogo e singênico – e ainda os processos para doação de medula óssea. A coleta de dados foi feita por meio da execução de buscas eletrônicas em diferentes portais acadêmicos de credibilidade disponíveis *on-line* e em manuais impressos, de distribuição gratuita, que tratam das doenças de forma objetiva. Os resultados obtidos mostram como a doação de medula é importante para os portadores de leucemias agudas, muitas vezes é a única solução para o caso.

255. LEUCEMIA BIFENOTÍPICA: RELATO DE CASO

Ribeiro ECP, Miranda BCJ, Reche CFC, Kikugawa E, Silva TDB, Perlamagna SAF, Castro HC, Cartum J

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

Introdução: A maioria das leucemias agudas pode ser classificada como mieloide ou linfóide T/B, segundo a morfologia e o antígeno expresso. Em 5% dos casos há coexpressão de antígenos mieloide e linfóide na mesma célula. Esses casos são chamados de leucemias bifenotípicas. A incidência desse tipo em pacientes pediátricos varia de 2% a 4,4%. **Objetivo:** Relatar caso de paciente pediátrico portador de leucemia bifenotípica aguda, incluindo quadro clínico, diagnóstico, tratamento e prognóstico. **Relato de caso:** HDS, sexo masculino, 13 anos. Apresentou quadro de emagrecimento de 3 kg em dois meses, cansaço, inapetência e sonolência. Procurou atendimento, foi solicitado hemograma, que evidenciou plaquetopenia e leucopenia. Foi encaminhado a serviço especializado onde fez mielograma, cujo resultado foi compatível com leucemia aguda. Na imunofenotipagem, foram observados marcadores positivos para linhagem mieloide (CD13 parcial, CD33 parcial, CD34, CD45, CD64, CD117, HLA-DR e MPO) e linfóide B (CD19, CD22 e IgM citoplasmática). Dessa forma, chegou-se ao diagnóstico de leucemia bifenotípica aguda. Paciente foi internado e submetido ao tratamento com indução baseado no protocolo BFM 2002, consolidação L-MAIO e manutenção BFM 2002. O paciente apresentou boa resposta ao tratamento com significativo indicio de cura e ainda faz acompanhamento. **Material e métodos:** Estudo feito a partir do levantamento de prontuários do paciente no ambulatório da FMABC. Foram importantes para o método: anamnese, exame físico, exames laboratoriais, dados da internação e do tratamento. **Resultados:** Embora a leucemia bifenotípica aguda seja rara e tenha um prognóstico ruim, o paciente foi submetido a doses adequadas de quimioterápicos somadas a acompanhamento ambulatorial e obteve uma resposta eficaz. Os últimos exames são compatíveis com remissão da doença. **Conclusões:** A leucemia bifenotípica aguda é um tipo raro de leucemia. Este estudo é importante, uma vez que a doença tem um prognóstico ruim. Com isso, fazemos necessários uma melhor abordagem e tratamento mais intensivo para que se alcancem remissões completas.

256. PERFIL DOS PACIENTES COM LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA INFANTIL EM PETROLINA (PE)

Coelho DS^a, Nascimento PLD^b, Portela GJS^b, Britto LRPB^a

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

^b Centro de Oncologia Dr. Muccini, Petrolina, PE, Brasil

As leucemias agudas (LA) abrangem um grupo heterogêneo de enfermidades malignas das células precursoras hematopoiéticas. A proliferação clonal desses precursors que perderam a capacidade de se diferenciar leva ao acúmulo excessivo de blastos leucêmicos na medula óssea e ocasiona a síndrome da imunodeficiência medular e a infiltração de diversos tecidos do organismo. Tendo em vista a necessidade do conhecimento dos pacientes infantis atendidos no Centro de Oncologia Dr. Muccini, em Petrolina (PE) (Ceonco/Apani), este trabalho teve como objetivo analisar 25 pacientes: 80% tinham idade ao diagnóstico até 8 anos, 52% do sexo feminino, 40% residem em Petrolina e 24% foram a óbito. Com relação ao subtipo da LA, 44% foram LLA-CALLA, 96% receberam a conduta pelo protocolo GBTLI-99, 20% foram classificados como alto risco, em 44% foi observada citotoxicidade medular e não houve perda de seguimento nos 25 pacientes atendidos. As sintomatologias mais frequentes presentes ao diagnóstico: anemia, febre, hepatoesplenomegalia, astenia, adenomegalias cervicais e netropenia febril. Quanto aos fatores de risco associados à doença, 16% relataram histórico familiar com câncer. Foi observada ausência para as fusões gênicas *bcr/abl* em todos os pacientes analisados. Em relação à citogenética, 36% apresentaram cariótipo normal, 24% ausência de metáfases. Dos 25 pacientes, apenas quatro não fizeram a citogenética. Três pacientes tinham também a trissomia do 21 e dentre as alterações cromossômicas houve relato de: t(8;13), +X, +4, +5, +6, +8, +10,+13, +14, +15,+17, +18, del 6q, 12p. Além dessas alterações, havia hiperdiploidia, cromossomo pseudo dicêntrico e quebras cromossômicas com cromátides aleatórias. Quanto à imunofenotipagem, 76% apresentaram CD19, 68% CD22, 64% HLA-DR e 56% CD10. O presente trabalho visou a traçar um perfil dos pacientes atendidos em Petrolina (PE). O atendimento infantil no Ceonco/Apani tem sido crescente no último ano, e mesmo com 40% dos atendidos de Petrolina (PE), os demais 60% são provenientes de cidades circunvizinhas ao Vale do São Francisco e do estado da Bahia. Diante do exposto, os dados observados são similares aos relatados nos principais centros de oncologia infantil no Brasil. No entanto, foi observado que mesmo na presença de alterações cromossômicas que são correspondentes ao mal prognóstico os pacientes tiveram uma resposta favorável à conduta feita a partir do protocolo GBTLI-99, mesmo os com relato de citotoxicidade medular.

257. ANÁLISE DO PROGNÓSTICO DE PACIENTE COM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA COM MARCADORES ANÔMALOS

Braga CCB, Takano CYY, Silva JBCB

Liga Acadêmica de Hematologia e Hemoterapia, Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide aguda (LMA) é uma doença clonal do tecido hematopoiético que se caracteriza pela proliferação anormal de células progenitoras da linhagem mieloide, em que mieloblastos expandem-se, acumulam-se e suprimem a atividade hematopoiética normal. Embora células leucêmicas mieloides apresentem geralmente características apenas de sua linhagem celular, elas podem coexpressar marcadores linfoides, que quando devidamente identificados por técnicas de imunofenotipagem, auxiliam na análise do prognóstico da LMA em cada paciente. **Objetivo:** O estudo possibilita a partir do resultado da imunofenotipagem correlacionar a expressão dos marcadores anômalos CD19 e TdT (desoxinucleotidil-transferase terminal) com suas respectivas alterações citogenéticas mais frequentes, demonstrando a implicação prognóstica que essas representam. **Material e métodos:** Análise do prontuário do paciente e revisão bibliográfica. **Relato de caso:** Paciente do sexo masculino, 40 anos, previamente hígido, foi encaminhado da Unidade Básica de Saúde para Hospital Universitário de Campinas devido a alterações no hemograma um mês após ter concluído tratamento para dengue e leptospirose. Trouxe o hemograma em que constavam: Hb 10,8 g/dL - Ht 31,6% - VCM 102,9 FL - Leucócitos 6.580/uL - Neutrófilos 2632/uL - Eosinófilos 0/uL - Linfócitos típicos 3224/uL - Monócitos 66/uL - Blastos 329/uL (5%) - Plaquetas 42.000/uL. Paciente negava queixas, até mesmo sintomas B e sangramentos, e não apresentava alterações de exame fisi-

co, com exceção de estar descorado ++ e de o baço estar percutível. Procedeu-se a coleta de aspirado de medula óssea, cujo resultado da imunofenotipagem foi de uma LMA com expressão anômala de CD19 e TdT. Além disso, o estudo do cariótipo de medula óssea resultou normal. **Discussão e conclusão:** O CD19 e o TdT são marcadores expressos pelas células B precursoras e maduras e células linfoides imaturas, respectivamente, que quando expressos, juntamente com marcadores de linhagem mieloide, podem significar uma leucemia mieloide com marcadores linfoides anômalos. Dados da literatura demonstram que há uma forte associação entre a expressão anômala do marcador linfóide CD19 na LMA e a ocorrência da translocação entre os cromossomos 8 e 21, que indica um prognóstico favorável. Entretanto, tal alteração citogenética não foi observada no paciente em estudo, que apresentou um cariótipo normal. Foi classificado, portanto, como tendo um prognóstico intermediário. Sabe-se também que esses pacientes com citogenética normal apresentam uma provável heterogeneidade molecular entre si, razão pela qual eles apresentam diversidade de resposta ao tratamento quimioterápico, mesmo quando mais intensivos. Além do mais, não há a comprovação de que a expressão anômala do TdT tem relação com alguma alteração citogenética e seu uso na análise do prognóstico da LMA ainda permanece controverso.

258. LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA COM INFILTRAÇÃO CUTÂNEA: CASO CLÍNICO

Euflazino JF, Venâncio PCA, Rezende CP, Silva JBCB

Liga Acadêmica de Hematologia e Hemoterapia, Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide aguda (LMA) é resultado de alterações genéticas não hereditárias que cursam com proliferação clonal e bloqueio da maturação das células hematopoiéticas. A leucemia monocítica aguda (LMA-M5) é um subtipo da LMA, caracterizada pela presença de mais de 20% de blastos, dos quais mais de 80% são precursoras de monócitos. Nesse subtipo, há maior prevalência de tumores extramedulares, com infiltração em pele, gengiva, tubo digestório e sistema nervoso central. A infiltração cutânea ocorre em aproximadamente 15% dos pacientes com LMA-M5 e pode se manifestar como síndrome de Sweet (SS), uma dermatose neutrofílica associada com doenças malignas, em que se constata placas elevadas e dolorosas e, histologicamente, um denso infiltrado dérmico com neutrófilos maduros. Ou pode se apresentar como leucemia cutânea (LC), uma infiltração de blastos que causa erupções na pele. Na LMA, normalmente ocorre infiltração da mucosa oral, extremidades ou tronco, na forma de múltiplas pápulas ou nódulos. A biópsia da lesão auxilia no diagnóstico. **Objetivo:** Descrever caso de paciente com LMA-M5 que perdeu a resposta ao tratamento e apresentou alterações cutâneas. **Relato do caso:** EDJ, masculino, 36 anos, iniciou acompanhamento médico em julho/2011 devido a LMA-M5. Iniciou o tratamento quimioterápico (QT) com protocolo "3+7" e teve boa evolução do quadro num primeiro momento. Além disso, apresentou, após as administrações de QT subsequentes, diversos quadros infecciosos. Foram necessários repetidos tratamentos com antibioticoterapia e antifúngicos. Após oito meses do início da QT, apresentou recaída da doença e foram administrados os protocolos de resgate FLAG-IDA e MEC, sem sucesso. Em novembro/2012 apresentou aplasia grave após QT e foi internado por abcesso em região axilar esquerda. Ainda na mesma ocasião apresentou três lesões em forma de pápulas, hipertróficas, elevadas, de bordas definidas e não dolorosas na região torácica anterior, as quais foram biopsiadas e cujo exame anatomopatológico evidenciou dermatite subaguda perivascular e perianaxial, com edema intersticial moderado e focos de hemorragia recente intradérmica; presença de eosinófilos no infiltrado. **Discussão e conclusão:** A combinação de LMA-M5 e lesão papular na pele dá margem a aventar diversas hipóteses diagnósticas do ponto de vista dermatológico, principalmente com a descrição do resultado da biópsia de pele, e são as principais SS, LC ou farmacodermia. Na SS há múltiplas placas eritematosas e/ou violáceas, bem demarcadas e frequentemente dolorosas, que podem apresentar superfícies com aparência vesicular devido ao acentuado edema da derme superior, associado a edema subepidérmico. Histologicamente, a doença distingue-se da apresentada pelo paciente pela presença de denso infiltrado inflamatório dérmico, com predomínio de neutrófilos sem vasculite leucocitoblástica. Ainda, o paciente apresenta características semelhantes às da LC, como pápulas em região torácica, que se desenvolveram após o diagnóstico de LMA. No entanto, não apresenta discussões com a equipe de anatomia patológica,

concluiu-se que os achados eram mais sugestivos de farmacodermia secundária aos tratamentos medicamentosos a que o paciente foi submetido. Assim, entendemos o quanto lesões dermatológicas em pacientes com LMA-M5 são achados de grande complexidade e que o exame anatomopatológico é útil para elucidação do caso.

259. ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO COMO MANIFESTAÇÃO INICIAL EM LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA: RELATO DE CASO

Preto DD^a, Ikedo AS^a, Santos RMD^a, Costa RO^{a,b}

^a Hospital Guilherme Álvaro, Santos, SP, Brasil

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

Objetivo: Relatar caso de leucemia promielocítica aguda (LPA) com AVCi como primeira manifestação clínica. **Introdução:** A LPA é caracterizada pela t(15;17), que forma o transcrito de fusão PML-RARalfa. Caracteristicamente, há maior propensão a hemorragias. A maioria dos pacientes apresenta TP e TTPA prolongados, hipofibrinogenemia e plaquetopenia ao diagnóstico. Os eventos hemorrágicos estão presentes em praticamente 60% dos pacientes ao diagnóstico e os trombóticos são mais raros. **Relato de caso:** PCS, sexo masculino, 30 anos, previamente hígido, procurou o pronto-atendimento e se queixou de dificuldade para deambular, diminuição de força no membro inferior esquerdo e desvio do olhar homolateral, náuseas e vômitos. Negava febre ou sangramentos. Relatou história de tontura e parestesia em membro superior esquerdo havia três semanas, ficou internado em outro serviço, mas sem elucidação diagnóstica. Ao EF, apresentava-se em REG, descorado 2+/4+, hidratado, eupneico, acianótico, anictérico, afebril, consciente, lúcido, orientado. AR e ACV sem alterações. Abdome sem alterações. Extremidades bem perfundidas, sem edema, com pulsos cheios, simétricos e rítmicos. Diminuição de força em membro inferior esquerdo. Em vista da hipótese diagnóstica de acidente vascular cerebral, fez RNM de crânio que evidenciou picos de hipersinal em T1 e flair no hemisfério cerebelar esquerdo e no hemisfério esquerdo, com predomínio no território da artéria cerebelar posterior inferior e relação com lesões isquêmicas. Exames laboratoriais: Hb 8,5g/dL, GB 2.430/mm³, neut 705/mm³, linfó 1.458/mm³, plaq 96.000/mm³, fibrinogênio 263 mg, TAP 100%, RNI 1 e TTPA 28 segundos. Solicitada avaliação da hematologia devido à pancitopenia, feitos análise de sangue periférico e mielograma (infiltração por promielócitos) e iniciado prontamente ATRA. Pesquisa do transcrito PML-RARalfa foi positiva. Evoluiu com sepsis grave de foco cutâneo por celulite em braço direito, permaneceu em UTI durante sete dias, com uso de antibioticoterapia de largo espectro. Durante a internação foi feita investigação de trombofilias hereditárias, com resultados negativos. Teve boa evolução, recebeu alta hospitalar no D+33 da indução, com melhoria importante do quadro neurológico. Atualmente segue ambulatorialmente em fase de consolidação do protocolo PETHEMA e faz fisioterapia motora. Ainda mantém discreto desvio do olhar à esquerda e consegue deambular em curtas distâncias.

Discussão: Comparados a hemorragias, eventos trombóticos (ETs) são intercorrências menos frequentes na LPA. Segundo Rashidi et al., mais de 80% dos ETs ocorrem antes ou durante a terapia de indução. Trombose venosa profunda/embolismo pulmonar, manifestações cardíacas e acidentes vasculares cerebrais constituem mais de 75% dos ETs. Eventos arteriais foram discretamente mais comuns do que os venosos, sem predileção por sexo. ETs parecem ser mais comuns na LPA do que em outras leucemias agudas, com prevalência entre 2% a 10-15%. Na literatura também encontramos relato de possível relação entre ETs e certas características biológicas, tais como expressão de CD2 e/ou CD15, transcrito PML/RARalfa subtipo bcr3, FLT3-ITD e leucometria elevada. **Conclusão:** Apesar da maior propensão à hemorragia na LPA, ETs podem ocorrer e até mesmo ser manifestação inicial desse subtipo de leucemia aguda.

260. LEUKEMIA CUTIS COMO PRIMEIRA MANIFESTAÇÃO DE RECIDIVA DE LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA-M5

Ikedo AS^a, Ferreira-Pinto F^b, Preto DD^a, Sibillo LAP^a, Almeida DVP^a, Santos RMD^a, Costa RO^{a,b}

^a Hospital Guilherme Álvaro, Santos, SP, Brasil

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

Objetivo: Relatar caso clínico de paciente com leukemia cutis (LC) que precedeu recaída medular em recidiva de leucemia mieloide aguda

(LMA-M5). **Introdução:** LC é termo usado para caracterizar infiltração leucêmica cutânea. Tem prevalência estimada em torno de 3% em LMA, é mais comum nos subtipos mielomonocítico e monoblástico e pode manifestar-se antes do acometimento medular. **Relato de caso:** APO, sexo feminino, parda, 53 anos, procedente de Peruíbe (SP), foi diagnosticada com LMA-M5 em abril/13. Na ocasião apresentava lesões cutâneas (biópsia compatível com LC), mielograma com infiltração por monoblastos e imunofenotipagem (IFT) com CD13+, CD14+/-, CD33-, CD 64+/, CD117- e MPO+. Tratada com protocolo 7+3 (idarubicina + citarabina) com resolução da LC no D8. Apresentou intercorrências clínicas e infecciosas, que incluíram necessidade de hemodiálise e aspergilose pulmonar, com retardo nos ciclos subsequentes. Apresentava pesquisa de DRM negativa entre as duas primeiras intensificações com citarabina em alta dose. Enquanto aguardava voriconazol para iniciar terceiro ciclo de intensificação, surgiram lesões nodulares em face e membros, semelhantes às do diagnóstico. IFT de MO não apresentava células com imunofenótipo inicial. Feito punch, que confirmou infiltração cutânea pela leucemia (IHQ: CD45+, Ki67+ em 90% dos núcleos, MPO inconclusivo). Aproximadamente 45 dias após o surgimento das lesões, evoluiu com pancitopenia severa, que caracterizou recidiva medular. O cariótipo, que inicialmente mostrava trissomia do cromossomo 8 e monossomia do cromossomo 17, passou a ter clone que apresentava tri/tetrassomia do cromossomo 8 e material adicional no braço curto do cromossomo 21. Optou-se por retratamento com protocolo 7+3, apresentou melhoria importante das lesões a partir do D+3, porém dessa vez sem resolução completa. Evoluiu à óbito por enterocolite neutropênica no D+29. **Discussão:** LC corresponde a infiltração da epiderme, derme ou tecido subcutâneo por células leucêmicas. Trata-se de termo não específico usado para manifestações cutâneas de qualquer tipo de leucemia e apresenta-se de maneiras variadas, o que pode dificultar o diagnóstico diferencial com outras dermatoses cutâneas. É descrita principalmente em LMA, particularmente nos subtipos mielomonocítico e monoblástico, mas também existem relatos em fase acelerada de LMC, SMD e LLA. Em geral, a LC apresenta-se após ou concomitante ao acometimento medular/sistêmico, mas em alguns casos (< 10%) pode precedê-lo. Dessa forma, a biópsia com imuno-histoquímica torna-se imprescindível, já que pode ser a primeira manifestação de recaída em LMA previamente tratada, como no caso relatado. Em relação à citogenética, anormalidades do cromossomo 8 estão associadas com LC em pacientes com LMA. A trissomia do cromossomo 8 é a mais relacionada na literatura. Também existem relatos associados à tetrassomia e pentassomia do cromossomo 8. O caso descrito neste relato inicialmente apresentava trissomia e posterior tetrassomia do cromossomo 8. Recentemente, Luskin et al. demonstraram associação entre a mutação gênica NMP1 e LC em LMA de características monocíticas. Apesar de os mecanismos moleculares que explicam a patogênese da LC não estarem bem claros, moléculas de adesão e receptores de quimiocinas parecem ter papel importante no tropismo cutâneo. Está associada à doença agressiva e confere prognóstico reservado.

261. LEUCEMIA AGUDA BIFENOTÍPICA: RELATO DE CASO

Carvalho FLN, Alves CNR, Araujo HTS, Luz RSB, Araujo AGDP, Mourao KS, Dias TM, Fortes IG, Fonseca AJ, Rosa PGS

Universidade Federal de Roraima (UFRR), Boa Vista, RR, Brasil

As leucemias agudas bifenotípicas (LAB) são doenças raras, responsáveis por cerca de 5% das LA. Caracterizam-se por apresentar antígenos de superfície, citoplasmáticos ou nucleares tanto das linhagens linfóides como das mielóides. O quadro clínico da LAB é inespecífico, pode se comportar tanto como leucemia mieloide quanto linfóide. Paciente KVS, 18 anos, sexo feminino, procedente de Caracará (RR), gestante (10 semanas e 1 dia), buscou o pronto atendimento do HGR em out/14, com queixa de dispnéia, vertigem, dor em epigastro e baixo ventre e febre intermitente com um mês de evolução associada a leucocitose e bicitopenia (Leu: 221 mil, Hb: 5,4 g/dL, Ht: 12,1%, Plt: 37mil). Foi internada e avaliada pela ginecologia, que evidenciou morte embrionária. Foi admitida na UTI com insuficiência respiratória pela leucose e no mesmo dia foi feita a indução da expulsão do concepto com misoprostol sem necessidade de curetagem. A imunofenotipagem diagnosticou leucemia aguda de fenótipo misto B/mieloide (biclonal). Foi feita leucorredução com corticoide e hidroxiureia, com boa resposta, sem necessidade de leucoférese. Apresentou quadro de alucinações visuais devido a hemorragia intraparenquimatosa subaguda com resolução espontânea sem comprometimento das funções orgânicas. Iniciou quimioterapia, protocolo HiperCAVD (11/14), evoluiu com febre diária, ce-

faleia e lesões suspeitas de cloroma na RNM. A inespecificidade dos sintomas das LA, bem como a impossibilidade de estabelecer o diagnóstico de LAB com base apenas na citologia sanguínea, tornou indispensável a solicitação da imunofenotipagem nos casos de suspeita de leucemia aguda. Não há um tratamento padrão estabelecido para LAB. No entanto, a quimioterapia é feita com o objetivo de diminuir o maior número possível de células alteradas. Tem como base para tal o resultado da imunofenotipagem, que indica os marcadores predominantes nessa população, resta apenas uma doença residual mínima cujo controle é feito por meio de ciclos adaptados às peculiaridades imunofenotípicas de cada paciente.

262. ATIVAÇÃO DO EIXO IRS1/BETA-CATENINA EM LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA

Fernandes JC, Machado-Neto JA, Alves APNR, Ribeiro RS, Rego EM, Traina F

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

Introdução: A leucemia linfóide aguda (LLA) é um grupo heterogêneo de neoplasias caracterizadas por proliferação anormal e acúmulo de células imaturas na medula óssea. O substrato 1 do receptor da insulina (IRS1) é uma proteína predominantemente citosólica envolvida na transdução de sinal, que também desempenha um papel na transformação maligna. É altamente expresso em neoplasias sólidas. IRS1, em certas circunstâncias, pode ser translocado para o núcleo. Em fibroblastos, foi observado que o IRS1 nuclear interage com a beta-catenina e induz a transcrição de MYC. Quando altamente expresso, MYC atua como oncogene, contribui para o desenvolvimento de diversas neoplasias, incluindo as hematopoiéticas. Além disso, o fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF1) tem sido descrito como um fator que causa translocação nuclear do IRS1 e ativação de beta-catenina em neoplasias sólidas. Assim, dada a importância do complexo IRS1/beta-catenina e do oncogene MYC, e considerando que em LLA essa interação ainda não foi estudada, é essencial investigar como ela afeta as células leucêmicas, o que vai contribuir para uma melhor compreensão do papel da via de sinalização de IGF1/IRS1 na leucemogênese. Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar a interação proteica IRS1/beta-catenina e a localização celular do IRS1 e beta-catenina em linhagens celulares de LLA, assim como investigar o impacto da estimulação do IGF1 na translocação nuclear do IRS1 e da beta-catenina. **Material e métodos:** Linhagens celulares de LLA (Jurkat, MOLT-4, Namalwa e Raji) foram obtidas do ATCC. Os estudos de expressão, associação e localização proteica foram feitos por meio de imunoprecipitação, *immunoblotting* e *western blotting*, fracionamento celular e microscopia confocal. Para avaliação do efeito do IGF1 na localização celular de IRS1 e beta-catenina, as células foram submetidas a privação de soro por 24 horas, seguidas de incubação com IGF1 (20 ng/mL) por 24 horas adicionais. OSI-906 na dose de 20 µM durante 24 horas foi usado para a inibição do IGF1R. **Resultados:** Observamos alta expressão de IGF1R, IRS1, beta-catenina e MYC em linhagens celulares de LLA Jurkat, MOLT-4, Namalwa e Raji. A interação proteica entre IRS1 e beta-catenina foi observada em células Jurkat e MOLT-4. IRS1 e beta-catenina foram observadas no núcleo e citoplasma das linhagens celulares Jurkat e Namalwa, por meio de fracionamento celular e análise por *western blotting*. A análise de microscopia confocal revelou uma colocalização de IRS1/beta-catenina no núcleo e citoplasma das linhagens leucêmicas Jurkat, Namalwa e MOLT-4. Além disso, a estimulação com IGF1 aumentou a translocação nuclear de IRS1 e beta-catenina na linhagem celular Jurkat, o que foi anulado pelo tratamento com OSI-906 (inibidor do IGF1R). **Conclusão:** A interação proteica entre IRS1 e beta-catenina observada em células de LLA, em adição ao achado do aumento do IRS1 e beta-catenina nuclear induzida pelo IGF1, indica que o eixo IRS1/beta-catenina está ativado em células de LLA e deve representar uma importante via de sinalização envolvida na fisiopatologia da doença. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

263. ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DE LEUCEMIAS AGUDAS EM ADULTOS ATENDIDOS EM UM CENTRO DE ONCOLOGIA DE SERGIPE

Vale YFD^a, Menezes DL^a, Andrade LGR^a, Costa AFO^a, Santos LMD^b, Schimieguel DM^a

^a Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE, Brasil

^b Hospital de Urgência de Sergipe, Aracaju, SE, Brasil

As leucemias agudas são doenças malignas das células precursoras hematopoiéticas e têm como principal característica o acúmulo de células blásticas anormais na medula óssea. São caracterizadas de acordo com o tecido afetado em leucemia mieloide aguda (LMA) e leucemia linfóide aguda (LLA). As leucemias agudas em adultos apresentam baixos índices de cura e sobrevida; são necessários diagnósticos mais precisos para melhor condução do tratamento quimioterápico e consequente melhoria da sobrevida. O presente trabalho se propôs analisar o perfil epidemiológico das leucemias agudas de um centro de oncologia de Sergipe. Para esse fim foi feito um estudo descritivo retrospectivo, por meio de coleta de dados nos prontuários de 2012 e 2013. Dos 242 prontuários analisados, foram descritos 19 casos de leucemias agudas, nove de LLA e 10 de LMA. Os subtipos mais comuns encontrados foram LLA-B, cinco casos, LMA-M2, três casos e LMA-M3, três casos. Do sexo masculino foram 10 (52,63%) pacientes, e nove (47,37%) do feminino. O menor tempo entre o diagnóstico e o início de tratamento foi dos pacientes tratados no mesmo dia em que receberam o diagnóstico e o maior foi de 365 dias. Dos 19 prontuários, 14 apresentaram resultados de exames diagnósticos e desses 10 foram de imunofenotipagem que comprovou o diagnóstico. Os protocolos de tratamento constantes nos prontuários foram PETHEMA (ATRA + idarubicina) para LMA-M3; e idarubicina + citarabina para outras LMAs. Em relação às LLAs, os medicamentos quimioterápicos mais usados foram ciclofosfamida (87,5%), metotrexato (87,5%) e citarabina (75%). Dos 15 prontuários com registros de dados, dois (13,3%) permaneceram em tratamento, 12 (80%) fora do tratamento e foi registrado apenas um caso de óbito nos dados disponíveis do hospital. Foi possível observar uma baixa frequência de leucemias agudas, dados compatíveis com a literatura. Exames fundamentais para diagnóstico de leucemias agudas foram feitos em pouco mais da metade dos casos e os medicamentos empregados foram aqueles descritos nos protocolos mundiais de tratamento. A geração de dados epidemiológicos confiáveis é necessária para o planejamento de programas que se proponham a melhorar a atenção aos pacientes e auxiliar no planejamento e estabelecimento de programas de tratamento.

264. SARCOMA GRANULOCÍTICO COMO RECIDIVA DE LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA EM VOLUMOSA MASSA ANEXIAL SUBMETIDA A RESECÇÃO CIRÚRGICA COMPLETA SEM OUTRO TRATAMENTO COMPLEMENTAR: RELATO DE CASO

Catelli DH, Weber D, Tagliari G, Pithan CF, Fassina KZ, Capra MEZ, Schuh HA, Moreno FL, Villela LP, Fenili AC, Vidor S

Hospital Nossa Senhora da Conceição de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: O sarcoma granulocítico é uma apresentação extramedular de leucemia mieloide aguda; pode preceder sua manifestação, ocorrer de forma concomitante ao quadro agudo ou manifestar-se na recidiva. O tratamento inicial habitualmente consiste em indução com citarabina em infusão contínua associada a antraciclinas. Entretanto, o manejo após a indução ainda é controverso. Alguns trabalhos sugerem consolidação com altas doses de citarabina, outros radioterapia direcionada a lesão inicial e outros, ainda, transplante de medula óssea em primeira remissão, dadas as pobres curvas de sobrevida alcançadas pelos tratamentos anteriores. **Objetivo:** Relatar um caso de recidiva de leucemia mieloide aguda sob a forma de sarcoma granulocítico com volumosa tumoração anexial, tratado com ressecção cirúrgica completa e que se mantém em remissão sem outro tratamento há 24 meses. **Relato de caso:** Paciente DC, 31 anos, sexo feminino, negra, sem outras comorbidades exceto obesidade mórbida interna em fevereiro de 2011 com quadro de abscesso isquiorretal e pancitopenia com blastos. Avaliação da medula óssea demonstrou síndrome mielodisplásica, cariótipo com monossomia do X, IPSS intermediário-2, IPSS-R alto risco, WPSS intermediário. Em maio desse mesmo ano evoluiu para leucemia mieloide aguda com maturação, foi tratada com protocolo quimioterápico de indução 7+3 e três ciclos de altas doses de citarabina, as quais completou em setembro de 2011. Vinha em remissão morfológica na medula óssea e cariótipo normal, hemograma sem particularidades, quando, em abril de 2013, iniciou avaliação para massa pélvica contígua ao útero, que formou duas lesões arredondadas com 17 x 12 x 15 cm à direita e 14,5 x 10 x 13 cm à esquerda. Nessa ocasião, a medula óssea apresentava mielograma com discretos achados displásicos, imunofenotipagem sem evidência de clone e cariótipo normal. Feita anexectomia bilateral, apendicectomia e omentectomia

parcial em 12 de julho de 2013, com diagnóstico de congelação compatível com neoplasia indiferenciada. Diagnóstico imuno-histoquímico dessa tumoração positivou os marcadores CD 34, CD 117 e MPO, compatível com sarcoma granulocítico. Foi oferecido à paciente tratamento similar ao inicial, acompanhado de indicação de transplante de medula óssea. A paciente negou-se a seguir tratamento quimioterápico, estava ciente dos riscos inerentes a essa decisão. Permanece em seguimento ambulatorial, sem evidências de recidiva local, medular ou extramedular em outra topografia. Está em tratamento de quadro de diabetes secundário a obesidade mórbida. **Conclusão:** O sarcoma granulocítico é uma apresentação extramedular de leucemia mieloide aguda, cujo manejo, especialmente após a indução, ainda é controverso. A despeito da modalidade terapêutica empregada, a mortalidade por recidiva costuma ser elevada. Neste relato descrevemos o caso de uma paciente que se mantém em remissão após ressecção cirúrgica há 24 meses.

265. LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA E GESTAÇÃO: RELATO DE CASO

Fujiki RHM^a, Takao GM^a, Campos FM^a, Corvelloni L^a, Pugliesi TB^a, Vecina AC^a, Assis JR^a, Gonalves MA^b, Cliquet MG^a

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

^b Conjunto Hospitalar de Sorocaba (CHS), Sorocaba, SP, Brasil

Introdução: A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é uma doença genética que ocorre pela proliferação descontrolada e pelo acúmulo de células linfoides imaturas na medula óssea e em outros tecidos linfoides ou sistemas orgânicos e leva à substituição das células normais por neoplásicas. O diagnóstico laboratorial é feito com a análise morfológica da medula óssea, além da imunofenotipagem, capaz de diferenciar imunologicamente as LLAs de acordo com a expressão de antígenos e a linhagem celular. Tem importância também para monitoração da doença durante o tratamento. A incidência associada à gestação é pequena e as formas agudas são mais frequentes do que as crônicas. Entretanto, devido à gravidade da doença, é fundamental que o obstetra esteja capacitado a orientar a conduta quando se deparar com esse diagnóstico. As leucemias agudas são de difícil manejo na gravidez. O tratamento deve ser iniciado imediatamente após o diagnóstico para que não haja prejuízo do prognóstico materno. Sem tratamento, a paciente pode evoluir a óbito em semanas a meses. É interessante o fato de que o diagnóstico ocorre comumente no segundo e terceiro trimestres da gestação, o que reduz a necessidade de interrupção da gestação. No entanto, quando diagnosticada no primeiro trimestre, sabe-se que serão maiores os prejuízos fetais frente à quimioterapia a ser empregada. Apesar de alguns agentes serem considerados relativamente seguros no segundo e terceiro trimestres, postergar o início da terapia traz agravos à mulher e, por vezes, o aborto terapêutico é indicado. O dilema ético criado pela concomitância de neoplasias com a gestação é de difícil manejo. Ao promover tratamentos opcionais, com redução de risco de comprometimento fetal, pode-se alterar significativamente o prognóstico materno. **Objetivo:** Relatar o caso de uma paciente com diagnóstico de LLA no primeiro trimestre da gestação. **Material e métodos:** As informações foram obtidas por meio de revisão do prontuário e revisão da literatura. **Relato de caso:** Paciente de 30 anos, gestante com dores articulares no joelho e hemograma que evidenciava pancitopenia. O mielograma e a imunofenotipagem foram compatíveis com leucemia linfoblástica B comum, quando a paciente estava com 16 semanas e cinco dias de gestação (clínica) e 12 semanas ao ultrassom. A paciente foi informada sobre todos os riscos do tratamento quimioterápico para o feto, como possíveis malformações, abortamento espontâneo, parto prematuro, baixo peso ao nascer, entre outros riscos desconhecidos. Além disso, também tinha conhecimento de que postergar o tratamento adequado implicaria risco de vida materno. A partir da discussão entre a paciente, seus parentes e equipe médica, ela decidiu por iniciar o tratamento com protocolo BFM 86 modificado e assinou um termo de consentimento. Durante a Indução 2, notou parada de movimentos fetais, foi diagnosticado óbito fetal por ultrassonografia (21 semanas de idade gestacional). A paciente continuou o tratamento com suporte psicológico e no momento encontra-se em remissão completa, inicia a fase de consolidação do referido protocolo. **Conclusão:** Com este relato, pretendemos alertar sobre a difícil decisão feita por uma paciente grávida com a LLA. Tal escolha deve ser feita com o amparo de toda a equipe médica e parentes dos pacientes. Além disso, deve-se firmar tal decisão por meio de um termo de consentimento.

266. MUDANÇA DE DESFECHO CLÍNICO COM A IDENTIFICAÇÃO DE ALTERAÇÃO MOLECULAR POR PCR EM PACIENTE COM LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA

Soares TB, Catelli DH, Daudt LE, Silla LMR, Burin MM, Paiva MF, Bosi GR, Pereira MP, Zaltron RF, Teixeira BB, Schwoelk P, Fogliatto LM

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: A leucemia linfóide aguda (LLA) é a leucemia mais comum em crianças e adultos jovens. A avaliação prognóstica considera vários fatores, principalmente alterações moleculares ou cariotípicas. A translocação (9;22), chamada de cromossomo Philadelphia, está presente em 2% a 10% dos casos nessa população. O diagnóstico requer a análise citogenética e a pesquisa do mRNA do gene BCR-ABL no sangue periférico ou na medula óssea. Essa alteração confere pior prognóstico e requer início precoce de terapia com inibidores de tirosinoquinase. **Relato de caso:** Paciente de sexo masculino, 17 anos, branco, previamente hígido procura atendimento médico devido a prostração, linfodomegalias cervicais e leucocitose com anemia e plaquetopenia ao hemograma. Feitos aspirado e biópsia de medula óssea que configuram diagnóstico de LLA B comum. Apresentava infiltração de sistema nervoso central detectada pela presença de blastos no líquor ao diagnóstico. O cariótipo mostrou-se complexo com sete alterações cariotípicas, sem identificação da t(9;22). Iniciou tratamento com esquema BFM 2002. Não apresentou corticossensibilidade conforme critérios do protocolo e não entrou em remissão no fim da indução, foi classificado como alto risco. Após a indução, recebemos o resultado da pesquisa molecular de BCR-ABL (p 190) positiva. Nessa ocasião, iniciamos imatinibe e seguimos o protocolo para alto risco com boa resposta e negatização do sistema nervoso central. No fim dos blocos de consolidação, o paciente estava em remissão hematológica e com doença residual mínima (DRM), por método de imunofenotipagem, negativa. Atualmente, o paciente está na fase de manutenção do protocolo com imatinibe e quimioterápicos e mantém DRM negativa. Não tem doador aparentado compatível e aguarda avaliação de possível doador do Registro Nacional de Doadores de Medula Óssea (Redome). **Conclusão:** A presença de cromossomo Philadelphia na LLA modifica significativamente o tratamento e o prognóstico dessa doença. Essa alteração é geralmente detectada no cariótipo, porém é recomendada a avaliação molecular qualitativa de BCR-ABL por PCR devido à maior precisão desse método. Descrevemos um caso de paciente com LLA inicialmente com pouca resposta ao tratamento e com cariótipo sem identificação da t(9;22), que evoluiu com ótima resposta terapêutica na introdução de inibidor de tirosinoquinase, quando identificada a presença de BCR-ABL no PCR qualitativo. A avaliação molecular nas leucemias agudas vem se mostrando de grande valia na definição terapêutica e prognóstica e é cada vez mais incorporada à avaliação inicial desses pacientes.

267. LEUCEMIA/LINFOMA DE CÉLULAS T DO ADULTO – FORMA AGUDA: RELATO DE CASO

Costa EMM^a, Pires EC^a, Reis EJS^b, Costa CSA^a, Ribeiro APMR^a, Almeida MP^a, Santos HHM^c

^a Unidade de Alta Complexidade em Oncologia (UNACON), Hospital Dom Pedro de Alcântara (HDP), Feira de Santana, BA, Brasil

^b Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana, BA, Brasil

^c Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil

Introdução: A leucemia-linfoma de células T do adulto (ATLL) é uma neoplasia de linfócitos T maduros, associada à infecção pelo vírus linfotrófico de células T humanas do tipo I (HTLV-I). A ATLL caracteriza-se pelo surgimento de linfócitos atípicos conhecidos como *flower cells*, rápido curso clínico, lesões de pele ocasionais, linfadenopatia e hepatoesplenopatia. O quadro clínico inclui lesões de pele, leucocitose com linfocitose e linfócitos atípicos. A doença na forma aguda é extremamente agressiva e com alto índice de mortalidade. O objetivo deste estudo foi relatar o caso de uma paciente com ATLL, forma aguda. **Relato de caso:** Paciente do sexo feminino, 66 anos, natural e procedente de Feira de Santana (BA), branca, admitida na Unidade de Alta Complexidade em Oncologia (Unacon) com quadro de cansaço importante associado a adinamia e inapetência com uma semana de evolução. Negava antecedentes prévios. Ao

exame físico apresentava-se descorada, afebril, eupneica, apresentava ao exame físico esplenomegalia volumosa cerca de 8 cm e rash cutâneo localizado em abdômen. Feitos exames laboratoriais: hemograma: Hb: 10,3, HT: 37,4; leucócitos: 514.610; neutrófilos: 10.292; linfócitos: 437.419; blastos: 9%; plaquetas: 95.000; desidrogenase lática: 1.000 (2,5 vezes acima do normal); cálcio: 11. Feito mielograma, que evidenciou 89,2% de linfócitos de médio tamanho com núcleos polilobulados (*flower cell*), com citoplasma escasso e núcleo irregular. Na imunofenotipagem medular apresentava 90% de células CD45+, da linhagem linfóide T (CD3+, CD4+, TCRαβ+, CD2++ e CD5+++), que coexpressam o antígeno de ativação CD25. O cariótipo de medula óssea apresentava-se complexo: 45 XX, del(3)(q12), der(10;13)(q10 q10), add(14)(q32), add(16)(p13.3)[15]/46, idem, +mar[1]/45, XX, del(3)(q12), add(4)(p12), der(10;13)(q10;q10), del(11)(q21), del(14)(q24q32)[1]/44, idem, -X[3]. Solicitadas sorologias para hepatites virais e HTLV, o resultado foi positivo para HTLV e negativo para as demais sorologias. O quadro clínico e laboratorial foi compatível com leucemia/linfoma de células T forma leucêmica aguda. A paciente foi internada e iniciada terapia com AZT (900 mg/dia) e interferon 3.000 unidades diário, apresentou resposta parcial inicial a terapêutica. Após cerca de 20 dias evoluiu com quadro de pneumonia, choque séptico e óbito. **Discussão:** Os dados clínicos da ATLL foram estabelecidos por Takatsuki et al. em 1992. Essa patologia ocorre em adultos entre 40 e 70 anos, existe predominância de soropositividade no sexo feminino e, paradoxalmente, maior acometimento de doença no sexo masculino, numa razão de 1,4:1. Os sinais clínicos mais encontrados ao exame físico são a adenomegalia (60%), hepatomegalia (26%), esplenomegalia (22%) e lesões de pele (39%). Sintomas de desconforto abdominal, diarreia, cólica, ascite e tosse estão associados com determinados subtipos de ATLL. Complicações pulmonares, incluindo pneumonia por *Pneumocystis carinii*, hipercalemia, herpes zoster disseminado, meningite criptocócica e infecção por citomegalovírus são as causas mais frequentes de morte. O tratamento no momento, devido a sua baixa toxicidade, para tentar conduzir a remissão e aumentar a sobrevida é o uso de zidovudina combinada com o interferon. O tempo de sobrevida nos casos de subtipos agressivos é pequeno.

268. THE ROLE OF TWIST1 GENE EXPRESSION AND HYPOXIC MICROENVIRONMENT IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Malafaia EC^{a,b}, Marcondes AM^{c,d}, Karopongse E^c, Serehi D^a, Chauffaille MLL^{a,b}, Deeg J^{c,d}, Kerbauey DMB^{a,b}

^a Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil

^b Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brazil

^c Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, United States

^d University of Washington, Seattle, United States

TWIST1, a basic helix-loop-helix (bHLH) transcription factor, plays a critical role in mesodermal development and organogenesis. Overexpressed TWIST1 has been extensively related to epithelial-mesenchymal transition (EMT) in solid tumors (Qin Q et al., 2012) and has been described as an emerging risk factor in hematological neoplasms (Merindol et al., 2014). Many questions remain to be addressed concerning the role of TWIST1 in acute myeloid leukemia (AML). The understanding of TWIST1 in leukemia cells and its interaction with microenvironment can offer new insights in regards to disease biology and therapeutic targets for patients with AML. **Objectives:** 1) Evaluate the role of stroma contact and hypoxia in TWIST1 expression in myeloid cell lines. 2) Evaluate the functional impact of overexpressed TWIST1 on KG1a and PL21 cells. 3) Evaluate TWIST1 expression in primary cells of AML patients. **Methods:** In order to mimic bone marrow microenvironment, myeloid cells were co-cultured with mesenchymal HS5 cell line and PO₂ 1% was established with Smart-Trak[®] 2 (Sierra Instruments, Inc.) equipment. Quantitative mRNA was determined using TaqMan[®] Universal Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA) and three-step standard cycling conditions with sequence-specific TWIST1 primer normalized to the expression of β-actin. KG1a and PL21 cells were transduced with lentivirus vector carrying e-GFP for stable expression of TWIST1. Transduced cells were sorted by FITC fluorescence and then verified through western blot analysis with TWIST1 antibody. For quantification of apoptosis, cells were labeled with PE-conjugated antibody using annexin V-phycoerythrin and propidium iodide (BD Biosciences, USA). DAPI (4',6'-diamidino-2-phenylindole dihydrochloride) was used to stain DNA and determine cell cycle information. Apoptosis

and cell cycle were analyzed by FACS-Becton Dickinson Canto II (BD Biosciences). Statistical analysis was assessed by unpaired t-test. **Results:** Hypoxia induced TWIST1 mRNA expression in OCIAML3, PL21, KG1a, and ML1 cell lines (increased by 46.3, 29.8, 12.9, and 2.3-fold, respectively). Cells expressing endogenous TWIST1 protein (OCIAML3 and ML1) showed resistance to apoptosis in a hypoxic microenvironment (normoxia versus hypoxia: OCI/AML3, 22.6% vs. 11.7% and ML1, 29.8% vs. 7.5%); in contrast, cells not expressing endogenous TWIST1 protein (KG1a and PL21) went to apoptosis in the same conditions. Thus, overexpressing TWIST1 in KG1a and PL21 induced apoptosis protection in hypoxia (KG1a unmodified vs. modified: 17.6 ± 6.3 vs. 2.8 ± 6.3, p = 0.04; PL21 unmodified vs. modified: 26.9 ± 10.9 vs. 3.2 ± 0.6, p = 0.04). This study found increased TWIST1 mRNA levels in bone marrow samples of 23 AML patients (3.88 ± 1.59) compared with five healthy controls (0.54 ± 0.25) (p = 0.02). Patients in the highest tertile of TWIST1 expression did not show differences in percentage of blasts in bone marrow and of complete remission after treatment compared with patients in the low and middle tertiles. **Conclusion:** These data suggest that TWIST1 gene expression protects acute myeloid leukemia cells from apoptosis in a hypoxic microenvironment. Moreover, the results showed increased expression of TWIST1 in AML patients. Thus, TWIST1 is a potential gene involved in leukemogenesis and should be further explored to understand disease biology and potential therapeutic targets.

269. ABORDAGEM DE PACIENTE COM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA E INV(3)(Q21Q26.2)

Luccas PVL, Barbosa AA, Silva FMOE, Filho RSP, Borducchi DMM

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

Introdução: A leucemia mieloide aguda (LMA) compreende um grupo de desordens hematológicas heterogêneas com características clínicas, morfológicas, imunofenotípicas, citogenéticas e moleculares distintas, pode envolver uma ou mais séries mielóides. Reconhece-se que a LMA com inv(3)(q21q26.2) pode se apresentar como LMA *de novo* ou secundária à síndrome mielodisplásica. Está comumente relacionada com contagens plaquetárias normais ou altas e pode apresentar megacariócitos com núcleos mono ou bilobulados e displasia multilineagem. Pode estar associada a qualquer subtipo FAB de LMA, exceto LPA. Ainv(3) pode ser considerada um risco adverso, já que normalmente está associada a resposta ineficaz a quimioterapia. **Relato de caso:** JMO, 59 anos, sexo masculino, em março/2015 procurou serviço de saúde com queixa de astenia e dor em hipocôndrio esquerdo, que piorava após alimentação. Ao exame físico, paciente descorado ++/4 e com esplenomegalia palpável a 20cm do rebordo costal esquerdo. Hemograma evidenciou Hb 8,1g/dL; leucócitos 52.420/mm³, 25.160 blastos e plaquetas 115.000/mm³. Feitos mielograma, no qual foram observados 52,2% de células imaturas, que na imunofenotipagem eram de padrão mieloide (CD13, CD33, CD71, CD45, CD34, HLA-DR, MPO), e estudo citogenético 46,XY,inv(3)(q21q26). Paciente iniciou tratamento com esquema de indução 3+7 em 27/03/2015, porém, após recuperação, uma nova avaliação de MO demonstrou 35,12% de blastos com perfil imunofenotípico: CD13, CD34, CD45, CD64, CD71, CD33, HLA-DR, CD123, CD117. Optou-se, então, por instituir nova terapêutica com protocolo de resgate MEC, iniciado em 22/05/2015. Após reindução, paciente permaneceu com pancitopenia severa por cerca de 30 dias. Nova amostra de MO ainda com 35,80% de blastos com perfil imunofenotípico: CD45, CD13, CD34, CD123, HLA-DR, CD117 e MPO. Paciente, em julho/2015, evoluiu a óbito após quadro de neutropenia febril. **Discussão e conclusão:** O paciente portador de LMA com inv(3)(q21q26.2) é considerado de alto risco. Portanto, seu tratamento deve ser diferenciado dos demais. No entanto, ainda com esquemas mais intensivos a resposta pode não ocorrer. Um estudo verificou que a sobrevida de um ano desses pacientes chegou a 33% e caiu para 3% em cinco anos. Apenas 42% dos pacientes do estudo conseguiram a remissão completa da doença, algumas vezes após muitos ciclos de tratamento.

270. LEUCEMIA BIFENOTÍPICA: RELATO DE CASO DE DIFÍCIL DIAGNÓSTICO

Borducchi DMM, Maeji MR, Luccas PVL, Filho RSP, Barbosa AA

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

Introdução: O diagnóstico de leucemias de linhagem ambígua é raro e ainda pouco se sabe sobre sua prevalência, seu tratamento e sua progressão. Sua incidência corresponde a menos do que 4% de todos os casos de leucemia aguda. É possível seu diagnóstico em adultos ou crianças, embora seja mais prevalente em adultos. A Organização Mundial da Saúde (OMS) classificou o diagnóstico de leucemia aguda com fenótipo ambíguo em 2001, revisou-o em 2008 ao abranger dentro do grupo a leucemia indifferenciada aguda, a leucemia bifenotípica (LB) aguda e a leucemia bilinhagem aguda. Ainda existem dificuldade de estabelecer o diagnóstico como um quadro clínico distinto devido à ausência de critérios que possam contextualizá-la fora do grupo das leucemias mieloides agudas ou das linfoides agudas com expressão anômala de um marcador de outra linhagem. **Relato de caso:** RLRF, 21 anos, masculino, em agosto/2014 teve início quadro de gengivorragia, epistaxe, astenia, febre alta e emagrecimento de 12 quilos. Em outubro/2014 foi feito hemograma que demonstrou leucocitose importante e o levou a atendimento especializado. Inicialmente, feita biópsia de linfonodo inguinal que sugeriu doença linfoproliferativa T, porém a imunofenotipagem foi compatível com LMA M4 (CD64, CD45, CD36, CD300e). Diante da ambiguidade entre o material medular e linfonodal, foram revidadas todas as amostras. O National Cancer Institute deliberou como leucemia bifenotípica (CD117, CD33, MPO, TdT, CD5, CD2 e CD99). Paciente iniciou tratamento com esquema 3+7 em 20/11/2014, seguido dos protocolos de intensificação com citarabina, e terminou em maio/2015 com ausência de doença residual mínima. Atualmente, em programação para TCTH. **Discussão e conclusão:** Embora não existam critérios uniformes sobre como tratar pacientes com LB, é provável que uma abordagem de terapia intensiva com altas doses de quimioterapia seguida por transplante de medula óssea se faça necessária. O papel dos marcadores genéticos e imunofenotípicos para guiar a quimioterapia e estratégia pós-remissão, assim como a utilidade de terapias específicas, é desconhecido.

271. LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA SECUNDÁRIA À TROMBOCITEMIA ESSENCIAL: RELATO DE CASO

Cliquet GB^a, Nukui Y^b, Ferrari C^b, Mancilha E^b, Filho IF^c, Pugliesi TB^b, Fujiki RHM^c, Takao GM^c, Campos FM^c, Cliquet MG^c

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

^b Hospital IGESP, São Paulo, SP, Brasil

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

Introdução: A trombocitemia essencial é classificada como pertencente ao grupo de distúrbios mieloproliferativos clássicos BCR/ABL negativos. As complicações mais frequentes associadas a TE são os eventos trombo-hemorrágicos. A progressão para leucemia aguda é rara (< 2%) e é considerada, na maioria das vezes, no contexto da terapia leucemogênica (p. ex., com 32P). A transformação em leucemia pode demorar de 1,7 a 16 anos. Estudos mostram que a maioria dos pacientes transformados recebeu terapia citorrredutora prévia. No entanto, há ocorrências também na ausência de tratamento. Isso sugere que o evento é uma implicação natural da doença, resultado, provavelmente, da sua biologia e do tempo de diagnóstico. **Relato de caso:** Paciente com 56 anos ao diagnóstico, do sexo feminino. Em acompanhamento com gastroenterologista em 2007, apresentou plaquetose de 655.000/mm³ e foi encaminhada ao hematologista. Foram afastadas causas reacionais de plaquetose e solicitados exames como mutação da JAK2 (V617F presente), biópsia de medula óssea e cariótipo (Ph1 negativo), que se mostraram compatíveis com diagnóstico de trombocitemia essencial. Em 2008 foi iniciado tratamento com hidroxiureia, mas, a pedido da paciente, houve mudança para anagrelide. Como o controle com esse medicamento foi inadequado (plaquetose chegou a 1.000.000/mm³), foi reiniciando tratamento com hidroxiureia, obteve-se boa resposta, apesar do uso irregular. Em 2014 apresentou quadro de trombose retiniana à direita com diminuição da acuidade visual. Em maio de 2015 retornou ao serviço com hemograma de março que apresentou anemia (11,5 g/dL), neutrófilos no limite inferior (1.617/mm³) e plaquetas de 285.000/mm³. Apesar da suspensão da hidroxiureia por uma semana, evoluiu com pioria do hemograma e passou a apresentar pancitopenia. Foi solicitada avaliação de medula óssea (mielograma, imunofenotipagem e cariótipo), o que resultou em diagnóstico de leucemia mielóide aguda do tipo M6 com características de síndrome mieloproliferativa crônica e de síndrome mielodisplásica e 20% de blastos. Em julho, a paciente foi internada para tratamento com azacitidina e suporte

transfusional. Veio a óbito por sangramentos e sepsis após o primeiro ciclo. **Conclusão:** Apesar de pouco frequente, a transformação da trombocitemia essencial pode ocorrer e a observação constante desses pacientes deve sempre procurar alterações que possam sugerir essa complicação. A opção pelo tratamento se deu pela idade da paciente e ainda pelas alterações displásicas apresentadas.

272. LEUCEMIA CUTÂNEA COM REARRANJO DO GENE MLL E SEM ACOMETIMENTO DE SANGUE PERIFÉRICO: RELATO DE CASO

Ferreira APS, Kerbauy MN, Farias MC, Armijos CAL, Junior WFS, Brandão AAGS, Maciel RG, Velloso EDRP

Departamento de Hematologia e Hemoterapia, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Leucemia cutânea é descrita em 3% das LMAs, na fase acelerada de LMC, nas SMD e raramente na LLA (1%), pode ser concomitante, posterior (maioria) ou anterior ao aparecimento de leucemia sistêmica. Quando antecede em pelo menos um mês a manifestação sistêmica é chamada de leucemia cutânea aleucêmica. Geralmente se associa a fenótipo mielomonocítico e apresenta envolvimento difuso e papulonodular. **Objetivo:** Relatar caso de paciente com leucemia cutânea sem envolvimento de sangue periférico e presença de rearranjo do gene KMT2A (também conhecido como MLL). **Relato do caso:** Mulher, 28 anos, previamente hígida, procurou dermatologista em 12/2014 com história de sete meses de lesões papuloeritematosas progressivas em tronco com posterior extensão para membros e face. Procurou diversos serviços, com feitura de biópsia cutânea e diagnóstico de urticária pigmentosa (mastocitose), sem melhoria com tratamento proposto. Ao exame físico da admissão apresentava lesões papuloeritematosas em face, torax, abdome, dorso, algumas com liquenificação. Hemograma com Hb 13 g/dL, leucócitos 3.600/mm³ (1.260/mm³ neutrófilos), plaquetas 194.000/mm³, sem blastos em sangue periférico. Feita biópsia de pele em nossa instituição que mostrou infiltração por LMA (CD43+, CD68+, CD34+, MPO+ focal, Ki67 alto índice, CD138-, CD117-, CD20-, CD3-, CD30-), achado também observado na revisão da biópsia previamente diagnosticada como urticária pigmentosa. Mielograma mostrou 87% de elementos monocitoides (39% de monoblastos e 61% de promonócitos), que expressavam CD45+, CD34+, CD33+, HLA-DR+, CD117+, CD64+, MPO+, CD4+, CD11b+/-, CD13+/-, CD14-, CD36-. O estudo por Fish para rearranjo do MLL foi positivo em 89,5% das interfases analisadas, alteração críptica no cariótipo, que se mostrou normal em 20 metáfases. Mutação para NMP1, FLT3 e c-KIT negativa. Iniciado tratamento com D3A7 com resolução das lesões cutâneas no sétimo dia do tratamento e remissão completa medular após esse ciclo. Iniciada consolidação com citarabina em altas doses, com programação de TCTH alogênico aparentado em primeira remissão devido alto risco ao diagnóstico. **Discussão:** O mecanismo implicado no envolvimento cutâneo pela leucemia ainda não está completamente compreendido, mas parece envolver a expressão de diferentes receptores de citocinas e moléculas de adesão. A expressão de antígenos de células T pelos blastos pode resultar em envolvimento seletivo da pele por subpopulação de células leucêmicas. As alterações citogenéticas mais descritas são trissomia, tetrasomia e pentassomia do 8. O rearranjo MLL, apesar de relacionado com morfologia mielomonocítica, não é frequentemente descrito. A leucemia cutânea geralmente está relacionada a doença mais agressiva e pior prognóstico; é sempre necessário tratamento sistêmico. Alguns autores advogam uso de TCTH alogênico em primeira remissão para todos os pacientes, mas parece mais prudente considerar a indicação conjuntamente com outros fatores prognósticos, como alterações citogenéticas de alto risco. **Conclusão:** Apesar de rara, a leucemia cutânea deve ser considerada no diagnóstico diferencial de pacientes com doenças cutâneas, mesmo naqueles com hemograma normal, e patologistas devem estar atentos a esse diagnóstico para evitar retardos no tratamento.

273. SARCOMA GRANULOCÍTICO COMO ÚNICA MANIFESTAÇÃO DE LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA: RELATO DE CASO

Monteiro CRA, Barbosa AA, Luccas PVL, Borducchi DMM

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

Introdução: O sarcoma granulocítico (SG) é uma doença tumoral incommon, definida pela proliferação de células precursoras de linhagem

granulocítica extramedular. Pode ocorrer em diferentes apresentações clínicas, mais comumente durante a evolução de leucemias de linhagem mieloide, é muitas vezes a manifestação inicial do diagnóstico. Predomina no sexo masculino (1,2:1) e nas últimas décadas de vida (mediana de 56 anos). Em menos de 10% dos casos, o SG ocorre em múltiplas regiões anatômicas. Embora não frequente, tem importância clínica e de impacto para mudanças em esquemas terapêuticos. **Relato de caso:** GIF, 46 anos, sexo masculino, em julho de 2014 deu entrada em nosso serviço com quadro de dor torácica e lombar e sinais flogísticos em joelho esquerdo, com drenagem espontânea de secreção purulenta. Cintilografia óssea evidenciou lesão com aumento significativo de atividade osteoblástica em segmento proximal de tíbia esquerda. Biópsia óssea da lesão evidenciou SG, com IHQ compatível (CD15, KI67, MPO, CD43, lisozima, CD99). Feita investigação de MO, com mielograma e imunofenotipagem sem alterações. O tratamento foi iniciado em outubro de 2014 com esquema 3+7. Após fase de indução, mantinha lesão em crescimento, no entanto continuava sem doença em MO. Optou-se então por prescrição de MEC como reindução em janeiro de 2015. Após primeiro ciclo de MEC, apresentou, sucessivamente, infecção pulmonar, insuficiência respiratória e instabilidade hemodinâmica e evoluiu a óbito em fevereiro de 2015. **Discussão e conclusão:** O comportamento clínico e a resposta aos esquemas quimioterápicos no sarcoma granulocítico não sofrem influência de sexo, idade, sítio de acometimento, padrão imunofenotípico e alterações citogenéticas. No entanto, deve ser abordado com esquemas intensivos associados à TCTH.

274. ANÁLISE QUANTITATIVA DA ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO RS1800566 NO GENE DA ENZIMA NQO1 E O DESENVOLVIMENTO DE LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

Moita LA, Silva FRP, Pacheco G, Costa ACB, Oliveira AP, Araújo S, Lima EBS, Alencar MS, Vasconcelos DFP, Vasconcelos ACCG

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

Introdução: A enzima NAD(P)H: quinona oxidoreductase 1 (NQO1) tem papel essencial no sistema de defesa antioxidante celular por prevenir a formação de espécies reativas de oxigênio. Aproximadamente 2-4% da população mundial são portadores de mutações no gene dessa enzima, que leva ao desenvolvimento de processos neoplásicos. Diversos estudos associaram mutações no gene dessa enzima e o risco no desenvolvimento de leucemia mieloide aguda (LMA), uma das leucemias agudas mais comuns, que ocorre mais em adultos do que em crianças. Embora existam achados que afirmem tal associação, os resultados de outros estudos mostraram-se controversos. **Objetivo:** Elucidar a relação desse polimorfismo com o risco de desenvolvimento da doença em adultos por meio de uma metanálise. **Materia e métodos:** Pesquisa sistemática foi feita nas bases de dados PubMed, MEDLINE e Web of Science com os descritores: “polymorphism rs1800566 in NQO1 gene”, “polymorphism and risk of acute myeloid leucemia in adults” e “polymorphism in NQO1 and risk of acute myeloid leucemia in adults” para artigos publicados anteriormente a junho de 2015. Os resumos foram lidos para inclusão dos trabalhos; a extração de dados foi feita por três investigadores independentes. A análise estatística se deu com o programa estatístico Review Manager versão 5.2 com cálculo do índice *odds ratio* (OR) por *Random-effect*, índice de heterogeneidade (I^2), o valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. **Resultados e discussão:** A pesquisa resultou em oito estudos caso-controle para prevalência do polimorfismo em 3.138 pacientes com a doença e 3.599 controles. A metanálise mostrou que nem o alelo C nem o alelo T estão diretamente associados ao desenvolvimento da doença (OR = 0,88, 95%CI: 0,65, 1,19, $p = 0,40$; OR = 1,14, 95%CI: 0,84, 1,54, $p = 0,40$, respectivamente). O modelo estatístico *Random-effect* foi usado devido à elevada heterogeneidade ($I^2 = 85\%$, $p < 0,000001$). Existe uma contradição entre a presença do polimorfismo e o desenvolvimento da doença. A metanálise apresenta a vantagem de agrupar os resultados de vários estudos que anulam os chamados “efeitos curtos” que estudos individuais de análise genética têm. Contudo, existem limitações que devem ser consideradas, como o modelo estatístico usado e a limitada quantidade de estudos. **Conclusão:** Esta metanálise com oito estudos, 3.138 pacientes e 3.599 controles, revelou que o polimorfismo rs1800566 não está associado ao risco no desenvolvimento de LMA em adultos.

275. PROTOCOLO QUIMIOTERÁPICO DE BAIXA DOSE ASSOCIADO AO USO DE ÁCIDO VALPROICO COMO AGENTE HIPOMETILANTE EM PACIENTE COM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA EM TERCEIRA RECIDIVA: RELATO DE CASO

Catelli DH^a, Weber D^a, Pithan CF^a, Tagliari G^a, Fassina KZ^a, Capra MEZ^a, Schuh HA^a, Moreno FL^a, Villela LP^a, Fenili AC^a, Vidor S^a, Sarturi BF^b

^a Hospital Nossa Senhora da Conceição de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil

^b Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: A recidiva na leucemia mieloide aguda (LMA) é um evento frequente e está associada a um prognóstico reservado. A falta de doador muitas vezes impossibilita a feitura do transplante de medula óssea alogênico, procedimento considerado de primeira escolha. A melhor estratégia para prolongar a sobrevida dos pacientes com LMA recaída, candidatas a transplante de medula óssea, mas impossibilitadas de fazê-lo, carece de consenso. **Objetivo:** Relatar o caso de uma paciente com diagnóstico de LMA em terceira recidiva, mantida em remissão hematológica com o uso de protocolo quimioterápico de citarabina em baixa dose associada ao uso de ácido valproico como agente hipometilante. **Relato de caso:** CSPF, 36 anos, sexo feminino, branca, veio encaminhada de serviço externo em julho de 2012 com relato de LMA com cariótipo normal. Previamente tratada com protocolo 7+3 e altas doses de citarabina, evoluiu com recidiva hematológica menos de um ano após o término do tratamento. Recebeu dois ciclos de protocolo de resgate Ida-FLAG, seguidos de breve remissão e nova recidiva. Chegou a esse serviço com os dois tratamentos prévios, já em busca de doador não aparentado, e a imunofenotipagem constatou LMA sem maturação e cariótipo com clone neoplásico portador de del(11q23), que poderia corresponder a neoplasia secundária a quimioterapia. A pesquisa de BCR-ABL foi negativa e os demais testes moleculares não foram feitos devido à indisponibilidade. Submetida a C1 do protocolo quimioterápico de altas doses MEC (mitoxantrona, etoposide e citarabina) em 25 de julho de 2012 e a C2 do mesmo protocolo em 19 de setembro de 2012, com importante morbidade e complicações infecciosas. Após esse tratamento encontrava-se em remissão hematológica e com hemograma normal. Iniciado então protocolo Alfa 9803, originalmente indicado para consolidação de tratamento de pacientes idosos, uma vez obtida a remissão. Feitos seis ciclos, completados em junho de 2013. Exame da medula óssea ao término desse tratamento demonstrou remissão hematológica, porém doença residual mínima detectável. Frente a esse quadro, optou-se pela não indicação de transplante autólogo e foi iniciada manutenção com ácido valproico como agente hipometilante associado a citarabina em baixas doses. Paciente vinha com persistência de doença residual mínima positiva, mas em remissão hematológica e com cariótipo normal, até que uma gestação indicou a interrupção desse tratamento. Evoluiu com rápida recaída hematológica e com 14 semanas de gestação foi feita reindução com doses intermediárias de citarabina e obtida quarta remissão na medula óssea, a qual se manteve após reinstalação de citarabina e ácido valproico durante a gestação. Paciente evoluiu com parto normal a termo em 3 de agosto de 2015, com contagens normais ao hemograma e sem intercorrências. **Conclusão:** A recidiva de LMA é um desfecho temido por sua associação a prognóstico reservado. Nos pacientes impossibilitados de fazer transplante, as estratégias terapêuticas são escassas e seus desfechos muitas vezes insatisfatórios. Neste trabalho, descrevemos a remissão hematológica e citogenética prolongada obtida em uma paciente com o uso de esquemas quimioterápicos de baixa dose potencializados pelo uso de ácido valproico como agente hipometilante.

276. CICLOSPORINA ASSOCIADA À INDUÇÃO DE REMISSÃO NO TRATAMENTO DA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA COM ALTO EFLUXO DA RODAMINA AUMENTA TAXA DE REMISSÃO COMPLETA, PORÉM NÃO TEM IMPACTO NA SOBREVIVÊNCIA EM LONGO PRAZO

Koury LCA, Figueiredo-Pontes LL, Simões BP, Oliveira LC, Dalmazzo LFF, Pintão MCT, Garcia AB, Falcão RP, Rego EM

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

Um dos maiores obstáculos no tratamento dos pacientes com LMA é a resistência aos quimioterápicos convencionais. Diversos estudos apon-

tam a glicoproteína-P (Pgp) como principal mecanismo de evasão das células neoplásicas à citotoxicidade dos quimioterápicos e sua superexpressão é relacionada *in vitro* com redução do acúmulo celular de antraciclinas. A superexpressão da Pgp em blastos leucêmicos de LMA está associada a menores taxas de remissão completa (RC) e menor sobrevida global (SG) e livre de doença (SLD). A ciclosporina A (CSA) é um potente inibidor competitivo do efluxo de antraciclinas mediado pela Pgp. List et al. apontaram que a adição de CSA ao tratamento da LMA com daunorrubicina e citarabina reduziu a resistência à indução de remissão (IR) e prolongou a SG e SLD, sobretudo nos pacientes com alta expressão de Pgp (Blood 2001, vol. 98, 12:3212-20). Baseados nesse estudo, testamos o efeito da associação de CSA à IR nos casos com alta expressão de Pgp estabelecida por meio do teste de efluxo da rodamina como previamente descrito (Pétriz e García-López, Leukemia, 1997, vol. 11:1124-30). Foram incluídos e randomizados em dois grupos 21 pacientes: 1. DNR 60 mg/m² em infusão contínua - IC - 3x + citarabina 100 mg/m² IC 7x + CSA 16 mg/m² IC 3x (Grupo CSA) e 2. DNR 60 mg/m² IC 3x + citarabina 100 mg/m² IC 7x (Grupo de IR convencional). Os pacientes que não alcançaram RC após o primeiro ciclo receberam um segundo ciclo de indução. Os dois grupos não diferiram quanto à idade (média ± DP: 44,5 ± 11,9 x 48,5 ± 15,2 anos no grupo CSA e grupo de IR convencional, respectivamente), contagem de leucócitos (44.200 ± 56.100 x 21.540 ± 20.200/μL), frequência de LMA de novo (81,8 x 80%) e casos de Core Binding Factor Leukemia (18,2 x 10%). A média de seguimento entre os sobreviventes foi de 6,2 anos. O nível médio de ciclosporina 24 horas após o início da IR foi de 1.157 ng/mL (variação de 4-1.600 ng/mL), similar ao reportado por List et al. A taxa de RC após a primeira IR foi maior no grupo que usou a CSA (63,6% x 30%; p = 0,09), mas a SLD (2,05 anos x não alcançada; p = 0,27) e a SG (2,08 x 21,12 meses; p = 0,19) foi maior no grupo de IR convencional. Esses resultados podem ser reflexo do efeito do segundo curso de indução naqueles pacientes que falharam em obter RC, com taxas de remissão completa após a segunda IR maiores no grupo que não usou a CSA (0% x 33,3%, p = 0,34, grupo CSA e grupo de IR convencional, respectivamente) e maior índice de recaída no grupo da CSA (42,8% x 33,3%, p = 0,78). Além do mais, houve uma menor frequência de óbitos durante a indução (18,2% x 9%; p = 0,59) e hiperbilirrubinemia (definida como bilirrubina total > 1,5x o limite superior da normalidade) no grupo de IR convencional (6 x 0 pacientes; p = 0,02). Não ocorreu uso de toxicidade cardíaca aguda em ambos os grupos. O estudo foi interrompido devido ao custo da CSA e à ausência de melhoria significativa nos desfechos clínicos. Em conclusão, apesar de taxas mais altas de RC após o primeiro ciclo de IR, não ocorreu melhoria na sobrevida em longo prazo dos pacientes portadores de LMA com alta expressão da Pgp tratados com CSA em combinação com esquema de indução convencional.

277. FREQUÊNCIA DAS DIFERENTES ALTERAÇÕES CITOGENÉTICAS E DA EXPRESSÃO GÊNICA EM PACIENTES ADULTOS COM DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA E CORRELAÇÃO COM O ALCANCE DA REMISSÃO HEMATOLÓGICA E O VALOR PROGNÓSTICO

Serehi DC, Chauffaille ML

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

As leucemias mieloides agudas (LMAs) são doenças neoplásicas clonais, geneticamente heterogêneas, caracterizadas por alterações somáticas nas células progenitoras hematopoiéticas que modificam os mecanismos de autorrenovação, proliferação e diferenciação normais dessas células. Recentemente, um grande número de mutações gênicas e expressões desreguladas das mesmas foi identificado e emergiram como novos fatores diagnósticos e prognósticos e como alvo para novas terapias. Assim, o conhecimento de aspectos genéticos da doença é importante para o entendimento da sua biologia. O objetivo deste trabalho foi verificar a frequência das diferentes alterações citogenéticas e de expressão gênica em pacientes adultos com diagnóstico de LMA e correlacioná-las com o alcance da remissão hematológica e o valor prognóstico. Foram incluídos 53 pacientes adultos com LMA diagnosticada em conformidade com a OMS (2008). O estudo foi aprovado pelo CEP e os pacientes incluídos após a assinatura do TCLE. As amostras de MO e/ou SP foram colhidas, ao diagnóstico, para cariótipo, Fish e análise da expressão gênica dos genes FLT3, NPM1, CEBPA, WT1, RUNX1, MLL, C-KIT, N-RAS e K-RAS por meio da técnica de Rq-PCR, além de quatro amostras de doadores saudáveis como controle para os testes de expressão gênica. Na casuística estudada, a idade média dos pacientes foi de 49 anos, com 16 pacientes idosos (acima

de 60 anos), que corresponderam a 30,2% dos casos. A relação entre sexos foi de 1:1,2 (25 homens:28 mulheres). Os subtipos de LMA mais frequentemente encontrados foram: LMA relacionada a mielodisplasia (20,6%), LMA com componente monocítico (15%), LMA não especificada (13,2%) e LPA (11,3%). Dos pacientes estudados, 43,4% alcançaram a remissão completa ou parcial após a indução, 13,2% não remeteram, 32,1% foram a óbito durante a indução, 9,4% oram a óbito sem tratamento para a LMA devido à instabilidade dos quadros clínicos apresentados e um foi transferido para outro serviço (1,9%). Atualmente, 34% pacientes estão em remissão pós-tratamento ou foram submetidos ao TCTH, 64,1% foram a óbito e em 1,9% houve perda de seguimento. Dos 53 casos estudados, em 79,2% foram obtidos resultados do cariótipo ou Fish, com uma frequência de 52,8% de casos alterados. Pela estratificação de risco, encontramos 43,4% casos com prognósticos intermediários, 22,6% com prognóstico desfavorável, 17% com prognóstico favorável e em 17% (sem metáfases) não foi possível fazer a avaliação. O estudo da expressão gênica foi feito em 34 pacientes e 94% dos casos apresentaram hiperexpressão maior de 10 vezes com relação ao grupo controle de ao menos um gene pesquisado e em 82% dos casos foi observada a hiperexpressão de dois ou mais genes, ao diagnóstico. As principais interações observadas foram entre os genes FLT3 + WT1 + c-KIT (26,5%) e WT1 + c-KIT (17,6%). Este trabalho demonstra a gama de alterações genéticas, muitas delas concomitantes e presentes em casos com resultados de cariótipos normais, que podem ser encontradas nos pacientes com LMA e que interferem no prognóstico, e embasa a necessidade de uma abordagem diagnóstica ampla para traçar um perfil mais preciso de cada caso e determinar terapias individualizadas para reduzir as altas taxas de mortalidade da doença.

278. ASSOCIAÇÃO ENTRE O POLIMORFISMO C609T NO GENE DA ENZIMA NQO1 E RISCO NO DESENVOLVIMENTO DE LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA: UMA PESQUISA COM 2.501 PACIENTES E 3.224 CONTROLES

Pacheco G, Oliveira AP, Costa ACB, Moita LA, Araújo S, Alencar MS, Lima EBS, Silva FRP, Vasconcelos ACCG, Vasconcelos DFP

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

Introdução: Leucemia mieloide aguda (LMA) é um distúrbio hematopoiético caracterizado pela rápida e desordenada proliferação de células brancas anormais na medula óssea. A doença atinge mais adultos do que crianças e diversos fatores estão associados ao risco no seu desenvolvimento, tal como a mutação C609T no gene da enzima quinona oxidoreductase 1 (NQO1). Contudo, os resultados mostram-se contraditórios. **Objetivo:** Esclarecer a associação entre o polimorfismo C609T no gene da enzima NQO1 e o risco no desenvolvimento de LMA. **Material e métodos:** Revisão sistemática feita a partir da análise de artigos disponíveis nas bases de dados Embase, PubMed, MEDLINE e Web of Science. Foram usados como descritores: “polymorphism C609T in NQO1 gene”, “polymorphism and risk of acute myeloid leukemia” e “polymorphism in NQO1 and risk of acute myeloid leukemia” para estudos publicados anteriormente a junho de 2015. **Resultados e discussão:** Foram identificados 13 estudos caso-controle com 2.501 pacientes portadores da doença e 3.224 controles de variadas etnias em que o polimorfismo foi avaliado com o risco de desenvolvimento de LMA em adultos e/ou crianças. Observou-se que o polimorfismo no gene da enzima NQO1 foi associado à doença em apenas cinco estudos. Dentre esses, o estudo de Gonçalves (2012) evidenciou maior relação entre o alelo T e o aumento no risco de desenvolver LMA (OR: 1,69, 95% CI = 0,91-3,14). Em outro estudo, Jia (2012), observou-se que o genótipo TT foi mais frequente entre os pacientes do que os controles e o genótipo selvagem (CC) acarretou 33,6% menor risco de desenvolver LMA. Nos outros oito estudos restantes não houve associação entre alterações no gene NQO1 e risco no desenvolvimento da doença. A enzima NQO1 tem papel importante no metabolismo celular por ser capaz de neutralizar espécies reativas de oxigênio. Mutações no gene da NQO1 já foram reportadas como possíveis fatores associados ao desenvolvimento de neoplasias. Uma metanálise com estudos em crianças revelou que o genótipo TT foi associado ao grupo controle. Contudo, uma análise do alelo não foi feita. **Conclusão:** Os resultados preliminares demonstram que o polimorfismo NQO1 não é um bom marcador molecular para a doença. Contudo, esses achados devem ser considerados com cautela, visto que são necessários mais estudos que objetivem avaliar a presença do polimorfismo e o risco no desenvolvimento de LMA.

279. IMPORTÂNCIA DA CORRETA INTERPRETAÇÃO MORFOLÓGICA DAS CÉLULAS IMATURAS EM EXTENSÃO SANGUÍNEA DE SANGUE PERIFÉRICO PARA DIRECIONAR NO DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA: ESTUDO DE CASO

Almeida VN, Menegati SFP

Centro Universitário Nossa Senhora do Patrocínio (CEUNSP), Itu, SP, Brasil

Hematopoiese é o processo que leva à formação das células sanguíneas. As primeiras células formadas são chamadas de pluripotentes (*stem cell* ou célula-tronco), que sob estímulos têm capacidade de se dividir e dar origem a três linhagens de células sanguíneas distintas: eritrócitos, leucócitos e plaquetas. Os linfócitos são tipos de leucócitos originados da célula pluripotente na medula óssea. Anormalidades no processo de divisão podem ocasionar células mutadas que resultam em alterações hematológicas. Leucemia é uma dessas situações clínicas de caráter hematológico na qual os leucócitos se proliferam anormalmente e acabam por atingir a circulação sanguínea e outros órgãos. A leucemia linfóide aguda (LLA) é uma neoplasia hematológica que se caracteriza pelo acúmulo de linfoblastos (linfócitos imaturos), principalmente na medula óssea, e ocasiona a diminuição de outras linhagens celulares, como eritrócitos e plaquetas. O objetivo deste trabalho foi evidenciar a importância da correta interpretação morfológica de células imaturas que normalmente não estão presentes em sangue periférico e em situações patológicas específicas podem aparecer em extensão sanguínea desse material, analisado geralmente em exames de rotina, como hemograma ou leucograma. O presente estudo foi desenvolvido para analisar o hemograma de um sujeito atleta, jovem, sexo masculino, sem sinais ou sintomas que evidenciassem quaisquer alterações de saúde. O sujeito fez avaliação clínica e exames laboratoriais de pré-temporada juntamente com os outros atletas do clube. Contudo, somente seu hemograma apresentou alterações hematológicas quantitativas e qualitativas importantes, principalmente relacionadas à morfologia celular, confirmadas por outra análise do mesmo método 24 horas após a primeira e que já demonstrou um nível de alteração ainda maior. As análises de todos os atletas foram feitas no laboratório-escola do Centro Universitário Nossa Senhora do Patrocínio. Para análise foi usado o contador hematológico Coulter T-890, que faz contagens de oito parâmetros no hemograma, e toda a diferenciação de morfologia celular foi feita em microscopia manual em objetiva de 100x. O estudo de caso abordado neste trabalho mostra o quanto foi importante a correta interpretação da morfologia das células imaturas em um exame de rotina (hemograma) que colaborou para um diagnóstico precoce de LLA, bem como com o tratamento e bom prognóstico do sujeito em virtude disso. **Palavras-chave:** Leucemia linfóide aguda; Células linfóides; Hemograma.

280. HALOFUGINONE INHIBITS ANGIOGENESIS FACTORS AND LEUKEMIC CELLS IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Cândido LA^a, Assis PA^a, Rego EM^b

^a Department of Basic and Applied Immunology, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^b Hematology Division, Department of Internal Medicine, National Institute of Science and Technology on Cell Based Therapy, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

Introduction: Halofuginone (HF) is a low-molecular-weight quinazolinone alkaloid that has been demonstrated to present potent antitumor effects due to antiproliferative and proapoptotic properties. Treatment with HF impaired proliferation and induced apoptosis in several multiple myeloma cell lines. HF antiangiogenic properties also have been shown to contribute to control of tumor growth. Angiogenesis is one of the most important mechanisms of tumor progression and has been associated to development of hematological malignancies. Several studies have reported high vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in multiple myeloma, non-Hodgkin lymphoma, and acute leukemias. Particularly, in acute myeloid leukemia (AML), high levels of VEGF was found in leukemic BM biopsies, and was correlated with lower rates of complete remission and lower overall survival. The promoter region of the VEGF gene contains DNA-binding sequences for hypoxia-inducible factor

1 alpha (HIF-1 α) and for the TGF- β -signaling mediators SMADs. Thus, activation of TGF- β pathway may be associated with increased VEGF expression and angiogenesis in acute leukemias. **Aim:** To analyze the antiangiogenic and antileukemic effects of halofuginone in vitro. **Methods:** NB4 cells were cultured in RPMI 1640 with 10% fetal calf serum. Human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) were maintained in EBM medium supplemented with 20% FCS. All cells were maintained at 37°C under 5% CO₂. The NB4 cells were treated with HF for 72 hours at doses ranging from 25 to 100 ng/mL. HUVEC cells were treated with HF for 24 hours at doses 50, 100, or 200 ng/mL. VEGF concentrations in supernatants were determined by ELISA. mRNA expression was assessed by real time PCR. NB4 cells were stimulated with halofuginone (200 ng/mL), TGF- β (50 ng/mL), or halofuginone (200ng/mL) + TGF- β (50 ng/mL) for six hours and the chromatin immunoprecipitation was performed with Magna ChIP™. ChIP assay was performed on the supernatants by addition of 5 μ g of each antibody: anti-P-Smad2; anti-Smad2 + Smad3; anti-HIF-1 α ; and IgG rabbit polyclonal. **Results:** In the NB4 cell line, the expression of most proangiogenic factors was decreased and the antiangiogenic factors TIMP2 and CXCL10 was increased at all HF concentrations. The largest differences were noted for HIF-1 α , HGF, angiopoietin-1, angiopoietin-2, TIMP2, and CXCL10. HF dose dependent effect was detected for VEGFA, TIMP2, and CXCL10. HUVEC cells showed increased VEGF gene expression. ANGPT-1, HIF-1 α , HGF, TIMP2, and CXCL10 did not show significant change in gene expression, while ANGPT-2 showed increased expression. NB4 cells treated with HF for 72 hours showed that VEGF levels were strongly reduced using HF concentration of 200 ng/mL, and HUVEC cells treated with the aforementioned HF concentrations showed increased VEGF protein secretion using HF at 100 ng/mL. In the ChIP assay using antibodies for the phosphorylated form of SMAD2 (P-SMAD2) and for the heterodimer SMAD2/3, HF treatment prior TGF- β stimulation enhanced P-SMAD2, but anti-SMAD2/3 did not show binding of unphosphorylated SMADs upon stimulation with TGF- β , although the previous treatment with HF showed increase.

281. SARCOMA MIELOIDE ISOLADO EM MADIASTINO ANTERIOR: RELATO DE CASO

Bosi GR, Weber CS, Zaltron RF, Teixeira BB, Pereira MP, Soares TB, Paiva MF, Burin MM, Schaefer PG, Daudt LE, Nervo M, Silla LMR, Bittencourt RI

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: O sarcoma mielóide é um tumor constituído por células mielóides imaturas. Geralmente ocorre concomitantemente à leucemia mielóide aguda (LMA). No entanto, raramente pode preceder esse diagnóstico. Os sítios mais frequentes de acometimento são os tecidos moles, ossos e linfonodos, porém diversos locais de apresentação já foram descritos. O tratamento inicial já está estabelecido e consiste em indução com antraciclina associada à citarabina de infusão contínua. No entanto, a terapêutica para consolidação ainda não está definida e, por isso, deve ser individualizada conforme sítio de acometimento, idade e condições clínicas do paciente. Citarabina em altas doses, radioterapia direcionada à lesão e transplante de células-tronco hematopoiéticas estão entre as opções estudadas como terapia consolidativa. O prognóstico desses pacientes costuma ser reservado, com sobrevida média global de aproximadamente 13 meses. **Objetivo:** Relatar o caso de um paciente que se apresenta com diagnóstico de sarcoma mielóide mediastinal isolado. **Relato de caso:** Paciente de 52 anos, masculino, branco, previamente hígido e assintomático fazia acompanhamento com cardiologia por ectasia aórtica evidenciada em radiografias de tórax. No entanto, passou a apresentar progressão do alargamento mediastinal e foi avaliado por tomografia computadorizada (TC) de tórax. Esse exame descreveu a presença de uma lesão tumescente sólida e lobulada com densidade de partes moles com contorno infiltrativo localizada no mediastino anterior e na região pré-vascular com infiltração de plano gorduroso mediastinal em íntimo contato com aorta ascendente de aproximadamente 5 cm. Foi feita biópsia da lesão por meio de videotoracoscopia, cujo anatomopatológico descreveu infiltração linfóide atípica sugestiva de tumor; porém imunohistoquímica positiva com os marcadores MPO; CD 99; CD 43; CD 34 e CD 45, além de Ki67 de alto índice, alterações compatíveis com o diagnóstico de sarcoma mielóide. Paciente apresentava hemograma normal e não se evidenciou infiltração blástica em medula óssea, assim como também não se identificaram alterações cariotípicas. Frente ao diagnóstico optou-

se por iniciar quimioterapia de indução conforme o protocolo 7+3. TC de controle apresenta persistência da lesão mediastinal e foi escolhida consolidação com radioterapia direcionada para a lesão. **Conclusão:** O sarcoma mielóide pode raramente se apresentar isoladamente. Ilustramos o caso de um paciente com diagnóstico de sarcoma mielóide mediastinal, localização pouco usual, sem evidência de infiltração medular. Optou-se por tratamento radioterápico de consolidação. A média de tempo entre o diagnóstico de sarcoma mielóide isolado e aparecimento de LMA é de aproximadamente oito meses. Baseado nisso, o paciente será mantido em acompanhamento frequente mesmo após término do tratamento radioterápico.

282. RELATO DE CASO: LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B COM EXPRESSÃO DE ANTÍGENOS MIELOIDES

Andrade IA, Moledo MAFR, Neves GR, Menegati SFP

Centro Universitário Nossa Senhora do Patrocínio (CEUNSP), Itu, SP, Brasil

As leucemias agudas são doenças neoplásicas da medula óssea que geram disfunções no sistema hematopoiético e têm como característica a produção exacerbada de um clone celular anormal. O resultado disso é o acúmulo de células jovens e conseqüentemente a incapacidade de maturação e diferenciação dessas células, que podem ser de linhagem linfóide e/ou mielóide. As leucemias de linhagem linfóide são mais comuns na infância, com prognóstico mais positivo em relação à mielóide. Os sintomas clínicos são derivados da deficiência na formação das células sanguíneas normais, tais como hematomas, anemias e infecções. O diagnóstico das leucemias agudas ocorre por meio de mielograma com expressão de mais de 20% de blastos fundamentalmente associados à imunofenotipagem e também estudos genéticos que trarão importantes informações quanto ao prognóstico do paciente. O tratamento para essas doenças é baseado em poliquimioterapia, transplante de medula óssea, transplante de células-tronco e radioterapia. O objetivo desta pesquisa foi relatar o caso de um sujeito, sexo feminino, 6 anos, diagnosticado com leucemia linfoblástica aguda B com expressão de antígenos mielóides que está sendo tratado com quimioterapia e apresenta um prognóstico positivo para cura dentro de poucos anos. **Palavras-chave:** Leucemia linfóide aguda; Diagnóstico; Imunofenotipagem; Quimioterapia; Prognóstico.

283. CXCR7 PARTICIPATES IN CHEMOTAXIS AND HOMING MEDIATED BY CXCL12

Melo RCC^a, Xavier-Ferrucio JM^a, Ricon L^a, Ferro KPV^a, Bigarella CL^b, Jr GCF^c, Nowill A^c, Saad STO^a

^a Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^b Department of Developmental and Regenerative Biology, Icahn School of Medicine at Mount Sinai, New York, United States

^c Integrated Center for Childhood Onco-Hematological Investigation, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

Hematopoiesis is tightly orchestrated by a precise quiescence/cycling equilibrium that is required for the continuously controlled production of differentiated blood cells. Chemokines and their receptors play an essential role in maintaining the hematopoietic cell pool within cell niches. The CXCL12/CXCR4 axis has been identified as the central axis for migration, adhesion, and homing of hematopoietic cells and for leukemic cells. Another CXCL12-binding receptor has recently been identified, CXCR7; however, the contribution of this receptor to CXCL12-mediated effects in hematopoietic cells is still controversial, even though CXCR7's relationship with tumor progression in non-hematopoietic malignancies is well established. The authors recently demonstrated that CXCR7 is highly expressed in acute lymphoid leukemic (ALL) cells and that CXCR7 contributed to T-ALL cell migration induced by CXCL12, potentiating the CXCR4 response. The mouse model with reduced expression of Arhgap21^{-/-} exhibits a 71% downregulation of CXCR7 protein in membrane of T cells, probably due to lower recruitment by β -arrestin. Moreover, this model showed reduction in migration, adhesion, and homing of hematopoietic stem and progenitor cells, suggesting that Arhgap21 may be a strong candidate for CXCL12/CXCR4 axis regulation. Thus, the present study aimed to investigate the involvement of CXCR7 in chemotaxis induced by CXCL12 and homing using U937 leukemic cell line in

NOD/SCID mice and T-lymphocytes in Arhgap21^{-/-} mice. The subcellular location of CXCR4 and CXCR7 by confocal microscopy evidenced both receptors in the membrane and cytoplasm of U937 cells. After CXCL12 induction, the blocking of CXCR4 by AMD3100 and/or the inhibition of CXCR7 by transduction with lentivirus mediated shRNA resulted in significant changes in U937 cells' chemotactic response, analyzed by transwell assay (U937 treated with AMD3100, $p = 0.0019$; U937 shCXCR7, $p < 0.001$; U937 shCXCR7 treated with AMD3100, $p = 0.0056$; Mann-Whitney test) and homing to the spleen of NOD/SCID mice after 16 hours of transplant (U937 treated with AMD3100, $p = 0.0070$; U937 shCXCR7, $p = 0.0446$; U937 shCXCR7 treated with AMD3100, $p = 0.0243$, Student's t-test). Bone marrow analysis of Arhgap21^{-/-} mice showed a reduction of T lymphocytes (CD4⁺ and CD8⁺; $p = 0.02$, Student's t-test), erythroblasts (Ter119⁺, $p = 0.01$), and myeloid cells (Gr1⁺Mac⁺, $p = 0.02$), but there was no difference in B lymphocytes (B220⁺). Indeed, peripheral blood showed a significant reduction in CD8⁺ cells ($p = 0.04$) but similar numbers of CD4⁺ cells. The thymus did not show difference in CD4⁺ and CD8⁺ populations. Using transwell assay, this study demonstrated a lower response of T lymphocytes to CXCL12 ($p = 0.0050$, Mann-Whitney test), corroborating the reduced CXCR7 expression observed. No difference in CXCR4 expression was observed in any of the cell types. Taken together, these results suggest that CXCR7 is involved in homing and chemotaxis of T lymphocytes and myeloid leukemic cells, potentiating the CXCR4 response. The reduction of T cell in bone marrow of Arhgap21^{-/-} mice may be related to a reduced homing due to the reduction of CXCR7 in the membrane of these cells, which leads to a lower attraction induced by CXCL12 ligand to bone marrow. Moreover, an inhibition of both receptors in leukemic cells could have a better effect in reducing their homing rather than the blocking of a single receptor.

284. VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR IS INCREASED IN MESENCHYMAL STROMAL CELLS OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA BONE MARROWS, AND MAY INDUCE PROLIFERATION AND SURVIVAL OF LEUKEMIC CELLS

Palodetto B^a, Lopes MR^a, Corrocher FA^a, Roversi FM^a, Niemann FS^a, Duarte ASS^a, Campos PM^a, Favaro P^{a,b}, Saad STO^a

^a Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

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

The vascular endothelial growth factor (VEGFA) gene encodes VEGFA, which is a pro-angiogenic cytokine that can stimulate endothelial cells to proliferate and migrate, and increases membrane permeability to plasma proteins. Several studies have reported high VEGFA expression in acute myeloid leukemia (AML) patients and correlate these findings with a poor outcome. The importance of bone marrow angiogenesis in AML pathogenesis has been widely reported, but the underlying mechanism remains unclear. Studies propose that leukemic cells benefit from VEGFA by an autocrine-paracrine loop where the secretion of VEGFA stimulates mesenchymal stromal cells (MSCs), which exist in the bone marrow microenvironment, to produce VEGFA and other growth factors that are used for proliferation, migration, and survival of leukemic cells. To study the influence of VEGFA in AML, the authors overexpressed VEGFA in KG-1 leukemic cell line with a lentiviral vector system, and after 15 days of blasticidin selection, the RT-PCR analysis showed a 12-fold medium increase of VEGFA expression in KG-1 cells compared to the control. The authors performed apoptosis, cell cycle, cell viability, and colony-forming assays and compared the results with KG-1 control cells. An increase in cell viability was identified ($124.36\% \pm 10.3\%$ vs. $100 \pm 0.27\%$, $p = 0.04$, unpaired t-test) and colony formation ($294.0\% \pm 67.2\%$ vs. $115.0\% \pm 36.1\%$, $p = 0.05$, unpaired t-test). In addition, CD34⁺ cells were isolated from three umbilical cord blood and then cultured in DMEM medium (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) supplemented with 20% fetal bovine serum, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ stem cell factor, 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ interleukin 3, and VEGFA recombinant protein at a concentration of 100 ng/mL for 96 hours. Apoptosis, cell cycle, cell viability, and colony-forming assays were performed, and the results were compared with CD34⁺ control cells (without VEGFA treatment). This study also identified a significant increase in cell viability ($118.2\% \pm 2.7\%$ vs. $100\% \pm 0.5\%$, $p = 0.02$, paired t-test) and colony formation ($111.9\% \pm 3.4\%$ vs. $88.88\% \pm 5.1\%$, $p = 0.01$, paired t-test) in CD34⁺ cells treated with VEGFA compared to control cells. No statistical differences in apoptosis and

cell cycle assays were found with VEGFA treatment or overexpression. To test the autocrine-paracrine loop theory, six AML patients and eight healthy donors were recruited, and MSCs were isolated from bone marrow. Through RT-PCR analysis, this study found increased VEGFA expression in MSCs from AML patients (5.67 [1.66-7.57], $p = 0.001$, Mann-Whitney test) compared to MSCs from healthy donors (1.04 [0.25-7.7]). These results indicated that overexpression of VEGFA in KG-1 leukemic cell line conferred advantages by increasing cell viability and self-renewal capacity. The same effects were found after hematopoietic stem cell treatment with recombinant VEGFA. These results suggest that VEGFA could be contributing to AML pathogenesis. Moreover, increased VEGFA expression was identified in MSCs from AML patients compared to MSCs from healthy donors. The VEGFA high expression corroborates with the autocrine-paracrine loop theory, considering that leukemic cells may stimulate MSCs to produce VEGFA and several other growth factors involved in the proliferation and survival of leukemic cells.

285. BUSCA POR UM NOVO AGENTE QUIMIOTERÁPICO DE ORIGEM NATURAL: INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS DE UMA QUINONA EM CÉLULAS DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

Stefanes NM, Maioral MF, Bigolin A, Zatelli GA, Philippus AC, Falkenberg MB, Silva MCS

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

Introdução: As plantas são importantes fontes de compostos naturais biologicamente ativos usados como modelos para o desenvolvimento de novos fármacos. A investigação de produtos naturais para o tratamento de neoplasias malignas busca reduzir a toxicidade e os efeitos adversos dos quimioterápicos disponíveis. Quinonas são compostos de origem natural descritos principalmente por sua atividade antineoplásica. A primina (2-metoxi-6-pentil-1,4-bezoquinona) é uma quinona obtida da *Miconia eriodonta*. A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é uma neoplasia do sistema hematopoiético caracterizada pela substituição dos elementos medulares e sanguíneos normais por células progenitoras linfóides imaturas, denominadas linfoblastos. A LLA é mais comum em crianças, mas em adultos não apresenta um bom prognóstico e a quimioterapia e a radioterapia têm efeitos adversos severos e as taxas de recidiva são elevadas. **Objetivo:** Investigar o efeito da primina nas linhagens Jurkat (LLA) e L929 (fibroblastos), verificar sua atividade hemolítica e a capacidade de induzir morte celular por apoptose, a fim de encontrar um novo fármaco de origem natural com atividade antileucêmica que apresente pouca ou nenhuma atividade citotóxica sobre células normais. **Material e métodos:** A viabilidade celular foi avaliada pelo método do MTT. As células foram incubadas nas concentrações de 1-50 μM de primina em 24, 48 e 72 horas e comparadas com o controle sem tratamento. A atividade hemolítica foi determinada a partir do sangue periférico (SP) de voluntários saudáveis. A morte celular foi investigada após coloração com brometo de etídio e laranja de acridina e por fragmentação do DNA em gel de agarose. Os resultados são: média \pm erro padrão da média de pelo menos três experimentos $p < 0,05$ (Anova one-way e Bonferroni). **Resultados:** A primina apresentou toxicidade significativa na linhagem de LLA Jurkat dependente de tempo e da concentração. Os valores de IC50 na Jurkat foram de $4,7 \pm 0,3 \mu\text{M}$ em 24 horas, $0,93 \pm 0,02 \mu\text{M}$ em 48 horas e $0,25 \pm 0,014 \mu\text{M}$ em 72 horas. Apesar de apresentar uma citotoxicidade importante em células de LLA, a primina não reduziu significativamente a viabilidade celular de fibroblastos, com valores de CI50 $> 50 \mu\text{M}$. O índice de seletividade foi superior a 3, o que indica uma elevada seletividade. A primina não causou hemólise mesmo em concentração nove vezes superior a IC50 (36 μM). Isso sugere que possa ser administrada por via endovenosa. Por meio da coloração com brometo de etídio e laranja de acridina foi feita a análise morfológica das células Jurkat tratadas com primina e observaram-se características de apoptose como sensação da cromatina e formação de corpos apoptóticos. A confirmação da apoptose ocorreu por meio do teste de fragmentação, no qual foi possível observar o “padrão em escada” indicativo da clivagem do DNA por endonucleases em fragmentos múltiplos de 180-200pb. **Conclusão:** Os resultados obtidos até o momento sugerem que a primina é um promissor composto de origem natural que pode se tornar um protótipo para o desenvolvimento de novos quimioterápicos para o tratamento da LLA. Porém, mais estudos são necessários a fim de esclarecer as vias apoptóticas envolvidas no mecanismo de morte celular.

286. LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA DE CÉLULAS T PRECURSORAS IMATURAS EARLY T-CELL: RELATO DE CASO

Hampel BS^a, Pissurno T^a, Nicolato AM^b, Marques FK^c, Assumpção JG^c, Zalis MG^a, Mateo ECC^c, Ferreira ACS^c

^a Laboratório Progenética, Instituto Hermes Pardini, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Hospital Monte Sinai, Juiz de Fora, MG, Brasil

^c Setor de Pesquisa e Desenvolvimento, Instituto Hermes Pardini, Vespasiano, MG, Brasil

Introdução: Nas últimas décadas, estudos de expressão gênica por microarranjos identificaram um subgrupo de pacientes com leucemia linfoblástica aguda de linhagem T (LLA-T) com perfil de expressão de células imaturas e mau prognóstico. Esse subtipo de LLA-T foi chamado de “Early T-Cell” (ETC). Na imunofenotipagem, esse grupo é caracterizado pela positividade para o marcador CD34 e antígenos mielóides, ausência de expressão de antígenos CD4 e CD8 de linhagem T. **Relato de caso:** Paciente do sexo feminino, 26 anos, com febre e dor óssea por um mês, atendida em Juiz de Fora (MG). Ao exame clínico, apresentava febre, anicterícia, hematomas, petéquias e esquistozes, infecção de amígdala, adenomegalia cervical e axilar e esplenomegalia. No hemograma foi detectada anemia normocítica (Hb 7 g/dL, VCM 84 fL e Hto 21%), plaquetopenia grave (7.000/mm³), leucocitose (30.000 células/ μL) e 70% de blastos. Foi observado aumento nos níveis de LDH (800 U/L) e ácido úrico (9 mg/dL) e níveis normais de ureia e creatinina. A radiografia do tórax e o ecocardiograma foram normais. O mielograma mostrou medula óssea hiperplásica, com 100% de blastos, a maioria com características morfológicas de linfoblastos. A análise do líquor mostrou ausência de infiltração por blastos no SNC. Na imunofenotipagem da medula óssea, os marcadores positivos foram CD33 (94%), CD38 (83%), CD34 (85%), CD7 (27%), cCD3 (59%); e os negativos foram cCD22, cCD79a, cIGM, aMPO, CD13, CD117, CD4/CD8/sCD3, CD10, CD19, CD20, CD58, HLADR, Ng2, CD11b, CD64, CD14, CD61, CD41, CD15, CD1a, CD2, CD5, TCRa/b, TCRg/d. O cariótipo da medula óssea foi hiperdiploide com alterações numéricas e estruturais: 47,49, XX, +X, +4, add(5)(q15), +6, +10, der(12)t(1;12)(q21;p13), +mar. O protocolo de tratamento foi o Hiper-CVAD. A paciente evoluiu com pancitopenia severa após o primeiro ciclo, febre e sinais de infecção. Foram ministrados cefepime e vancomicina, mas a paciente apresentou pioria com sinais clínicos e laboratoriais de infecção fúngica e a anfotericina B foi associada ao tratamento. A paciente não alcançou remissão clínica, continuou a apresentar blastos no sangue periférico e evoluiu com quatro de septicemia, vindo a óbito 34 dias após o diagnóstico. **Discussão:** Sabe-se que nesse subgrupo de LLA-T o diagnóstico é definido pela ausência de CD1a e CD8, CD5 fraco e expressão de pelo menos um dos marcadores mielóides ou de células-tronco CD117, CD34, HLA-DR, CD13, CD33, CD11b ou CD65. No caso desse paciente, ocorreu ausência de CD1a, CD8 e CD5 e positividade do cCD3, CD34 e CD33. Em relação ao cariótipo, a translocação encontrada t(1;12)(q21;p13) já foi descrita na literatura tanto em neoplasias linfóides quanto mielóides. Alterações no gene ETV6, localizado na posição 12p13, foram encontradas previamente em adultos com ETC. Não houve disponibilidade de RNA e DNA da amostra do diagnóstico para feitura de testes moleculares com vistas à investigação de um gene de fusão, avaliação de rearranjos em TCRG e Sil-Tal ou detecção de mutações comuns às leucemias mielóides (tal como FLT3) descritas nesse subgrupo. Apesar disso, o diagnóstico sugerido foi ETC, em função dos achados imunofenotípicos, da ausência de remissão e da falha na resposta ao tratamento, compatíveis com as descrições de casos na literatura.

287. LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA RELACIONADA A TRATAMENTO PARA NEOPLASIA PRÉVIA

Miura TES, Franchini CAC, Chauffaille ML

Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O sucesso no tratamento de neoplasias malignas tem levado, por um lado, a um aumento significativo na sobrevida, mas, por outro, de suas complicações em longo prazo. Tratamentos com drogas citotóxicas e radiação predispoem ao desenvolvimento de leucemias secundárias. Leucemia aguda secundária à terapia é entidade reconhecida, geralmente com sobrevida pequena, independentemente da terapia usada. A leucemia promielocítica aguda (LPA) é um subtipo de leucemia de bom prognóstico e ocorre em cerca de 15% a 20% dos casos de LMA no Brasil.

Porém, a incidência de LPA após quimioterapia ou radioterapia para o tratamento de tumores é rara e pouco descrita. **Objetivos:** Avaliar, em estudo retrospectivo, dentre os casos de LPA, quais eram após tratamento por neoplasia prévia. **Materiais e métodos:** Foi feita uma análise cuidadosa de todos os casos de LMA diagnosticados de 1/01/05 a 30/06/15 e foram encontrados 362 casos de LPA classificados em conformidade com os critérios da OMS, após avaliação do mielograma, imunofenotipagem por citometria de fluxo multiparamétrica e citogenética. Desses, 10 eram após neoplasias prévias, abaixo descritos. **Resultados:** A incidência de LPA após quimioterapia ou radioterapia foi rara (2,76%); a mediana de idade dos pacientes foi de 67 anos (31 a 81); a relação H:M = 1:2,3 após QT isoladamente em três casos, após radioterapia isolada em três casos, mas após associação de QT e RTX em quatro casos. **Conclusão:** A leucemia aguda que surge após tratamento para neoplasia prévia é definida pela classificação da OMS como neoplasia relacionada à terapia (t). Surge em 10% a 20% dos indivíduos que receberam agentes alquilantes, radiação ionizante, inibidores da topoisomerase II (ITPII) e outros antimetabólitos. O subtipo LPA também pode ser secundário, mas é mais raramente descrito. Ravandi et al. (2011) relataram casos de LPAT na sua maioria após uso de ITPII, enquanto Duffield et al. (2012) relataram nove casos cujo comportamento clínico e patológico foi semelhante às LPA primárias. Dos casos aqui relatados, a idade média foi maior do que os casos de LPA primários da mesma instituição (67 versus 31,5 anos [Chauffaille et al., 2008]); três foram após tratamento para carcinoma de mama com QT e RTX, concordante com a literatura, que aponta a maioria dos casos com essa doença prévia, o que deixa a relação H:M invertida. Dois haviam recebido tratamento para SMD, o que pode, portanto, ser mera evolução da doença após uso de QT; e os demais foram tanto após RTX como QT para outras neoplasias. Do exposto, apesar de a LPAT compartilhar aspectos semelhantes à LPA primária, os fenômenos que desencadeiam o processo leucemogênicos ainda precisam ser esclarecidos.

288. LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA EM ADULTOS: PERFIL DO SERVIÇO DE ONCOLOGIA E HEMATOLOGIA DA FACULDADE DE MEDICINA DO ABC (SÃO PAULO)

Pallotta R, Takara ME, Akaishi DY, Borducchi DMM, Luccas PVL, Barbosa AA, Giglio AD

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

A leucemia mieloide aguda (LMA) é uma neoplasia hematológica heterogênea, e constitui um enorme desafio diagnóstico e terapêutico. Apesar de todos os progressos no campo da onco-hematologia e da obtenção de índices de resposta pós-indução atingirem 80%, a taxa de cura em LMA permanece em torno de 20%. No Brasil, a crise do sistema público de saúde dificulta cada vez mais o acesso de pacientes com diagnóstico de leucemia aguda a centros especializados, o que limita as chances de tratamento adequado. O Hospital Estadual Mário Covas da Faculdade de Medicina do ABC é o serviço público de alta complexidade de referência para assistência de pacientes com leucemia aguda no ABC. Essa região compreende sete cidades, com uma população de 2,7 milhões de habitantes de acordo com dados do IBGE 2014. Neste estudo de coorte retrospectivo são descritos o perfil epidemiológico e a sobrevida global e livre de doença de janeiro de 2008 a junho de 2015 de pacientes adultos com diagnóstico de leucemia mieloide aguda/mielodisplasia de alto risco. Nesse período foram assistidos 96 pacientes, o que permite inferir, embora exista risco de subestimar, uma incidência de 0,56 caso novo a cada 100.000 habitantes. Na população estudada houve o predomínio do sexo feminino (1,4:1), a média de idade foi de 57,6 anos, variação de 18 a 89 anos, e a taxa de sobrevida livre de doença foi de 26%. Embora o serviço ainda tenha demonstrado taxas de sobrevida livre de eventos inferiores a 30%, tem resultados equivalentes a outros centros nacionais que tratam essa doença.

289. PML-RARA AND FLT3-ITD MUTATIONS IN PARAGUAYAN PATIENTS WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Franco L^a, Jolly V^a, Zarza J^b, Salinas V^c, Acha P^a, Negri L^d, Ayala-Lugo A^a

^a Laboratorio de Genética Molecular, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción, Asunción, Paraguay

^b Departamento de Hematología Adultos, Hospital de Clínicas, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Asunción, Asunción, Paraguay

^c Departamento de Hematología, Hospital Central Dr. Emilio Cubas, Instituto de Previsión Social, Asunción, Paraguay

^d Hospital Nacional, Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Itauguá, Paraguay

Acute promyelocytic leukemia (APL) with t(15;17)/PML-RARA is characterized by the fusion of the promyelocytic leukemia (PML) and retinoic acid receptor alpha (RARA) genes. An internal tandem duplication of the FLT3 gene (FLT3/ITD) was found in 20% of adult cases of acute myelogenous leukemia (AML), and this length abnormality was suggested to be associated with leukemic progression. The main aim of this project was to detect these mutations in patients with clinical suspicion of AML who were attended to at the Laboratory of Molecular Genetics IICS-UNA for these studies. The authors examined the PMLRARA transcript by using reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and the FLT3-ITD mutation by PCR. Twenty-one patients were studied from the three main institutions: HC-UNA (43%), IPS (43%), and MSP-BS (14%). It was found that 47.6% (10/21) were positive for PMLRARA transcript, and the breakpoint regions were identified as bcr1 and bcr3, with a frequency of 70% and 30%, respectively. The frequency of FLT3-ITD mutation was 9.5% (2/21), and was not found coexisting in any patient with APL. This study was the first in this field in Paraguay.

290. A INIBIÇÃO FARMACOLÓGICA DA VIA DE SINALIZAÇÃO IGF1R/IRS REDUZ A VIABILIDADE CELULAR EM CÉLULAS DE LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA

Alves APNR, Machado-Neto JA, Fernandes JC, Fenerich BA, Silva FB, Scheucher PS, Falcão RP, Simões BP, Rego EM, Traina F

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

Introdução: A via de sinalização IGF1/IGF1R é iniciada por meio da ligação do ligando (IGF1) ao seu receptor transmembrana IGF1R e a subsequente ativação dos seus substratos IRS1 e IRS2. A expressão de IRS1 foi previamente correlacionada com a sobrevida em pacientes adultos com leucemia linfóide aguda (LLA) BCR-ABL1+ e IGF1R foi identificado como um novo alvo terapêutico na leucemia linfóide crônica. No entanto, a via de sinalização de IGF1R/IRS em LLA ainda não foi elucidada. **Objetivo:** Investigar os efeitos farmacológicos da inibição de IRS1/2 e IGF1R/IR em linhagens celulares e células primárias de LLA. **Material e métodos:** As linhagens celulares de LLA-T Jurkat e Molt-4 e LLA-B Namalwa e Raji foram usadas. Células mononucleares do sangue periférico (84% de blastos) de um paciente adulto com LLA-T ao diagnóstico foram usadas para estudos funcionais. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Instituição. As linhagens celulares foram tratadas ou não com o inibidor farmacológico de IRS1/2, NT157, a 0,2; 0,4; 0,8; 1,6 e 3,2 µM, ou com o inibidor de IGF1R/IR, OSI-906, a 1; 5; 10 e 20 µM por 24, 48 e 72 horas. Após a exposição aos fármacos, as linhagens foram avaliadas quanto à viabilidade das células (MTT), apoptose (anexina V/PI e a clivagem de caspase 3), clonogenicidade (formação de colônias) e expressão proteica (Western blot). As células primárias foram cultivadas com IL7, IL3, SCF e FLT3L na presença ou não de NT157 e OSI-906 durante 72 horas e submetidas aos ensaios funcionais. As comparações foram feitas pelo teste t e o valor de p < 0,05 foi considerado estatisticamente significativo. **Resultados:** Níveis elevados de expressão proteica de IGF1R, IR, IRS1 foram observados em todas as linhagens testadas, enquanto que de IRS2 apenas em Namalwa. O tratamento com NT157 ≥ 0,4 µM em 48 e 72 horas diminuiu a viabilidade celular de forma dose e tempo-dependente (p < 0,05); o IC50 para Jurkat, Molt-4, Namalwa e Raji em 72 horas foi de 0,3; 0,9; 1,8 e 1,9 µM, respectivamente. NT157 induziu a apoptose de forma dose e tempo-dependente (< 0,05). Foi observado menor crescimento clonal de Jurkat e Raji quando tratadas com NT157. A análise por Western blot revelou que NT157 reduziu os níveis de IRS1 após 24 horas de tratamento. A inibição farmacológica de IRS1/2 por NT157 reduziu a viabilidade celular e induziu apoptose em células primárias de LLA. Após 72 horas de tratamento nas doses de 0,4; 0,8 e 1,6 µM de NT157, a viabilidade das células primárias de LLA foi inibida em 10%, 19% e 41%. As taxas de apoptose das células não tratadas e das células submetidas a 0,4; 0,8 e 1,6 µM de NT157 foram de 7%, 16%, 68%, e 78%. Por outro lado, o tratamento com OSI-906 reduziu a viabilidade, mas não induziu apoptose nas linhagens celulares testadas. Altas doses de OSI-906 foram necessárias para induzir citotoxicidade; a IC50 para Jurkat, Molt-4, de Namalwa e Raji em 72 horas foi de 9, 30, 30 e 28 µM. OSI-906 não modulou a viabilidade e apoptose das célu-

las primárias de LLA. **Conclusão:** Em linhagens celulares de LLA, a inibição farmacológica de IRS1/2, por NT157, exerce um efeito citotóxico, enquanto que a inibição IGF1R/IR, por OSI -906, tem um efeito citostático. Nossos dados indicam que a inibição de proteínas IRS1 por NT157 pode ser uma boa estratégia no tratamento de LLA. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

291. ALTERATION OF FUNCTION AND CYTOKINE PROFILE OF BONE MARROW STROMAL CELLS DERIVED FROM DE NOVO ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Lopes MR^a, Pereira JKN^a, Campos PM^a, Pericole FV^a, Machado-Neto JA^{a,b}, Duarte ASS^a, Traina F^{a,b}, Costa FF^a, Saad STO^a, Favaro P^{a,c}

^a Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^b Department of Internal Medicine, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^c Department of Biological Sciences, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil

It is widely recognized that abnormalities of bone marrow stromal cells (BM-MSCs) could play an important role in the pathogenesis of several hematological malignancies. However, whether the anti-inflammatory and immunomodulatory capability of BM-MSCs are altered with the state of the disease remains unclear. The aim of this study was to characterize the phenotype, immunomodulatory capability, and the cytokine mRNA expression profile of BM-MSCs from acute myeloid leukemia (AML) patients and to study *in vitro* the effects of inflammatory cytokine IL32 silencing in HS5, a cell line with stromal phenotype with ability to secrete cytokines and support hematopoiesis. MSCs were obtained, after informed consent, from BM aspirates of 14 AML patients; seven AML with myelodysplasia-related changes (AML-MRC) and seven AML arising *de novo*, and a group of eight healthy donors. All analyses were carried out after BM-MSCs were culture-expanded (fourth passage). Allogeneic CFSE-labeled CD3⁺ T lymphocytes with PHA stimulation were co-cultured with increasing BM-MSC/T cells ratios of 1/2, 1/5, 1/10, 1/50, and 1/100. Stable lentivirus-mediated miRNA targeting LacZ or IL32 in HS5 cells were established. Bio-Plex human cytokine 27-plex panel assay (Bio-Rad) was used for cytokines quantitation. Mann-Whitney and ANOVA comparisons were used. Confirming mesenchymal origin, BM-MSCs from all the groups analyzed expressed CD73, CD90, CD105; they did not express HLA, DR, CD34, CD31, and CD45. LMA BM-MSCs were only able to significantly inhibit T-cell proliferation at the lower ratios: at the ratio 1/2 for the AML-MRC ($p < 0.001$), and up to 1/10 for AML *de novo* ($p < 0.01$). When compared to the control, AML-MRC BM-MSCs showed a significant increase of IL6 expression ($p = 0.02$), whereas AML *de novo* BM-MSCs presented a significant increase in the expression levels of VEGFA, SDF-1, RPE2, IDO, IL1 β , IL6, and IL32 ($p < 0.05$), followed by a decrease in IL10 expression ($p = 0.008$). IL32 silencing enhanced cell viability of HS5 ($p < 0.01$) and resulted in a lower recruitment of T CD4⁺ cells, mainly in a pro-inflammatory microenvironment ($p < 0.001$). Compared with miLacZ control cells, miIL32 cells showed decreased cytokine expression, including IL1 β (-1.7-fold), IL6 (-3.6-fold), IL2 (-7.3-fold), TNF α (-2.5-fold), MCP-1 (-2.1-fold), and CCL5 (-12-fold); concentration of IL17 was below the level of assay sensitivity. Molecularly, it was observed that IL32 inhibition down-modulated NF κ B and MAPK pathways; there was a decreased phosphorylation of IKK α , IKK β , JNK, and p38. In support of the majority of studies, AML-derived BM-MSCs expressed similar cell-surface markers compared to that of healthy donors. The present study has described a divergent cytokine profile between AML-MRC and AML *de novo* -derived BM-MSCs, suggesting a distinct BM microenvironment between them, which is in agreement with the well known distinctions regarding clinical, cytogenetic, and molecular features between these two categories of AML. These results suggest that AML *de novo* BM-MSCs could directly contribute to leukemogenesis through the promotion of a pro-inflammatory microenvironment, which aids leukemia cell growth. In agreement with this hypothesis, inhibition of IL32 in a stromal cell line resulted in down-modulation of several pro-inflammatory cytokines, possibly because of the downmodulation of NF κ B and MAPK pathways, which are involved in cell proliferation and migration.

292. HIPER CVAD ASSOCIADO A ASPARAGINASE – UM PROJETO PILOTO

Bendlin RM, Bovo PFB, Prá F, Junior ECA

Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

O Hyper CVAD é um dos regimes mais usados no mundo para tratamento de leucemia linfóide aguda (LLA), é considerado um regime intensivo e pode adequadamente suprir a necessidade de intensificação do tratamento desejada nos adolescentes e adultos jovens. O regime demonstra vantagens de não se usar o etoposídeo; administram-se doses baixas de antraciclínico e não contempla a irradiação do SNC, princípios já conhecidos de diminuição da toxicidade e complicações tardias. Entretanto, a asparaginase não faz parte do regime original e tal associação só ocorreu com o protocolo do Hyper CVAD como resgate da recaída de LLA, mas não em primeira linha de tratamento. O objetivo do presente estudo foi o de incorporar, de forma racional, o uso da asparaginase ao regime Hyper CVAD em primeira linha de tratamento, em especial na população de adolescentes e adultos jovens com LLA, e também monitorar a eficácia e os efeitos secundários dessa associação. Para isso, consideramos uma nova forma de uso, seguindo alguns princípios: 1) Uso da asparaginase em altas doses, diferentemente das estratégias iniciais em doses convencionais. 2) O uso da asparaginase foi concentrado em um curto tempo, 3-4 meses, e sem grandes intervalos, com o objetivo de concentrar sua ação antes da formação de altos títulos de anticorpos ou fenômenos alérgicos. 3) O uso endovenoso foi o eleito. 4) O uso em doses fixas foi incorporado, 20.000 UI em cada aplicação, independentemente da superfície corpórea do paciente. 5) O uso da medicação ocorreu de forma fixa, no D3 do ciclo e posteriormente em dias fixos da semana. A medicação foi infundida na segunda, quarta e sexta-feira, independentemente da fase neutropênica de cada ciclo ou do bloco ímpar/par do Hyper CVAD. 6) A interrupção da medicação ocorria quando o paciente apresentava alguma reação alérgica ou toxicidade decorrente da medicação. O conceito do uso de altas doses foi incorporado, mas para definir quanto de asparaginase foi usado seguimos a estratégia de contar o número de doses da asparaginase aplicadas durante o tratamento para cada paciente. Para o cálculo final da dose multiplicávamos o número de doses por 20.000 e dividíamos pela superfície corporal de cada paciente. O objetivo seria o de alcançar pelo menos 150.000 UI/m², dose mínima nos protocolos mais modernos. Três pacientes foram incluídos até o momento e já completaram o uso. Os efeitos colaterais observados foram: 1) Trombose venosa profunda e tromboflebitis no paciente 1; 2) Doença do soro no paciente 2; 3) Coagulopatias preventivamente corrigidas.

293. IDENTIFICATION OF A NOVEL RECURRENT GENE FUSION NPM1 – HAUS1 AS A MECHANISM OF CYTOPLASMIC NPM1 LOCALIZATION IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Campregher PV^a, Pereira W^a, Lisboa B^a, Puga R^a, Velloso EDRP^a, Helman R^a, Marti L^a, Costa FF^b, Hamerschlag N^a, Santos FPS^a

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

^b Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

Chromosomal aberrations and gene mutations are the most important prognostic determinants in acute myeloid leukemia (AML). While several genomic aberrations have been well studied in AML, some remain uncharacterized. The study of such alterations can yield important biological insights and generate clinically relevant information. The present study describes the molecular characterization of the recurrent AML associated chromosomal translocation, t(5;18)(q35;q21). Through whole genome sequencing of a bone marrow sample of a patient harboring the aforementioned translocation, the authors identified the chimeric gene NPM1-HAUS1 and demonstrated the presence of an in-frame transcript harboring NPM1 exons 1-10 fused to HAUS1 exon 9. This chimeric gene biologically resembles the more commonly seen NPM1 mutations, in that both abnormalities generate putative proteins of the same size, with disruption of Tryptophan 288 and 290 and the generation of a novel C terminal nuclear export signal motif (NES). Finally, it was demonstrated that NPM1-HAUS1, like mutated NPM1, localizes both in the nucleus and in the cytoplasm by a mechanism dependent on NES, suggesting that patients harboring the t(5;18)(q35;q21) (NPM1-HAUS1)

have a form of AML that biologically resembles the provisional World Health Organization entity "AML with mutated NPM1."

294. LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA T COMO SEGUNDA NEOPLASIA APÓS LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA: RELATO DE CASO

Vivas YAV, Zouain DS, Oliveira AG, Martins AVC, Neves MCA, Oliveira LM, Uhebe LQ, Menezes JO

Hospital Madre Teresa, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é uma neoplasia maligna relacionada aos linfoblastos (células linfóides imaturas), que se apresentam em grande número na medula óssea e outros órgãos. Embora a etiologia da LLA não esteja bem definida, sabe-se que radiação, fatores imunológicos, exposição a drogas antineoplásicas, fatores genéticos e exposição a vírus (como exemplo o HTLV-I) podem ser gatilhos da doença. Existem poucos estudos sobre a leucemia linfoblástica T como segunda neoplasia após uma leucemia mieloide aguda (LMA). A LMA é comumente mais descrita após uma LLA-T. **Objetivo:** Descrever um caso, acompanhado pelo Serviço de Hematologia do Hospital Madre Teresa (HMT), Belo Horizonte, Minas Gerais, de leucemia linfoblástica T no adulto, após sete anos de remissão do quadro de LMA. **Material e métodos:** Informações coletadas por anamnese, exame físico, exames complementares, acompanhamento clínico, revisão do prontuário e da literatura. **Relato de caso:** MFML, sexo masculino, 43 anos, teve o diagnóstico de LMA em março de 2007 (LMA-M5B) com cariótipo 46, X, Yqh+c(28), imunofenotipagem que apresentava dados consistentes do diagnóstico de LMA e com ausência de antígenos de linfóides T (CD2, CD3, CD7) ou linfóides B (CD19, CD20, CD22, CD79a). Nesse ano, fez tratamento com citarabina e daunoblastina, com a última sessão em novembro de 2007, e manteve-se em remissão da doença. No entanto, em junho de 2014, foi admitido no HMT com queixa de equimoses difusas, sem associação com traumas. Foi colhido um hemograma inicial que apresentava hemoglobina de 10 g/dL, leucócitos totais de 53.820/mm³ (com diferencial de segmentados 3% e linfócitos 92%) e plaquetas 15.000 mm³. Foi internado para elucidação do caso. Feita imunofenotipagem em junho de 2014 que apresentou CD1a, CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD10, CD79a positivos, compatíveis com LLA-T, assim como o mielograma. O cariótipo coletado não apresentou crescimento celular. Iniciado o protocolo HYPER-CVAD (ciclofosfamida, vincristina, doxorubicina, dexametasona, citarabina e metotrexato), foi obtida remissão morfológica da doença após o primeiro ciclo, confirmada por biópsia de crista ilíaca e imuno-histoquímica. A pesquisa do gene BCR/ABL em julho de 2014, apresentou resultado negativo. Seguiu o tratamento com a feitura de quatro ciclos de HYPER-CVAD, sem intercorrências graves, até que em agosto de 2014 encontrava-se em remissão completa da doença. Devido ao diagnóstico da segunda neoplasia hematológica, foi indicado e feito transplante alogênico de células-tronco hematopoiéticas, em dezembro de 2014. Como não apresentava irmão HLA idêntico, foi localizado doador HLA compatível não aparentado, com sucesso da terapia implementada. **Conclusão:** Necessitamos de mais trabalhos sobre o tema para estimar o risco de desenvolvimento de uma segunda leucemia linfoblástica em pacientes tratados para neoplasias hematológicas da linhagem mieloide.

295. IDENTIFICATION OF ANLN AS ETV6 PARTNER GENE IN RECURRENT T(7;12)(P15;P13): A POSSIBLE ROLE OF Deregulated ANLN EXPRESSION IN LEUKEMOGENESIS

Campregher PV^a, Pereira W^a, Lisboa B^a, Helman R^a, Miyagi M^a, Velloso EDRP^a, Ali S^b, Costa FF^c, Hamerschlag N^a, Santos FPS^a

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

^b Foundation Medicine, Cambridge, United States

^c Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

Background: The ETV6 gene encodes an ETS family transcription factor, required for normal hematopoiesis, that is involved in a myriad of chromosomal rearrangements found in hematological malignancies and other neoplasms. At least 30 partner genes have been described as forming fusion genes with ETV6 in myeloid and lymphoid neoplasms. One recurrent ETV6 translocation whose partner has never been identified is t(7;12)(p15;p13), which has been previously described in patients with acute

myeloid leukemia (AML). **Findings:** The authors report that the t(7;12)(p15;p13) fuses ETV6 to ANLN, a gene not previously implicated in the pathogenesis of hematological malignancies, and it is demonstrated that this translocation leads to high expression of the fusion transcript in the myeloid and lymphoid lineages, suggesting that this genomic event occurs in a hematopoietic stem cell or an early precursor. **Conclusions:** This study identified the novel gene fusion ETV6-ANLN as the result of the recurrent AML translocation t(7;12)(p15;p13).

296. ANÁLISE DOS DADOS EPIDEMIOLÓGICOS E CLÍNICOS DE PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA TRATADOS PELA DISCIPLINA DE HEMATOLOGIA DO HOSPITAL SÃO PAULO/EPM-UNIFESP DE 2010 A 2014

Braz TRP, Pelloso LAF, Chauffaille ML

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

Introdução: A leucemia mieloide aguda (LMA) é o tipo mais comum de leucemia aguda em adultos, corresponde a cerca de 90% dos casos. Estima-se que a incidência de LMA no Brasil, em 2014, foi de 5.050 casos novos em homens e 4.320 em mulheres. Esses valores correspondem a um risco estimado de 5,20 casos novos para cada 100 mil homens e 4,24 para cada 100 mil mulheres/ano. **Objetivo:** Descrever os dados epidemiológicos e clínicos dos pacientes com LMA atendidos no Hospital São Paulo (HSP), assim como demonstrar as taxas de remissão completa após primeira indução e de mortalidade. **Material e métodos:** Estudo de coorte transversal retrospectivo para avaliação de 93 pacientes diagnosticados de 1 de janeiro de 2010 a 31 de dezembro de 2014. **Resultados:** Foram diagnosticados 93 pacientes com LMA, 90 (96,8%) casos de LMA de novo e três (3,2%) casos de recaída. A mediana de idade ao diagnóstico foi de 50,5 anos (variação de 17 a 84), distribuição equitativa entre gêneros (F:M=1:1), o tempo médio entre o início dos sintomas e o diagnóstico foi de 36,3 dias e o tempo médio decorrido entre o diagnóstico e o início do tratamento foi de 6,6 dias. De acordo com a Classificação da OMS de 2008, destacou-se a seguinte distribuição entre os subtipos: 21,5% LMA com anormalidades genéticas recorrentes, 14% LMA com alterações relacionadas à mielo-displasia, 59,1% LMA não categorizada, 2,15% sarcoma mieloide, 1,1% neoplasia de células denticuladas plasmocitoides blásticas e 2,15% leucemias agudas de linhagem ambígua. Desses pacientes, 14 apresentaram cariótipo com alterações de bom prognóstico, 36 intermediário, dos quais 24 eram normais, oito de prognóstico adverso, e em 33 o cariótipo não foi informativo. Nos pacientes tratados com quimioterapia de indução 3+7 a taxa de RC1 foi de 36,4% e naqueles tratados com associação de daunorubicina e ATRA (IC-APL) foi de 93,3%. A taxa de mortalidade da população observada foi de 74,2%, foram mais prevalentes os óbitos nos primeiros três meses a partir do diagnóstico (63,7%), relacionado à aplasia e infecção. **Discussão:** Os dados epidemiológicos assemelham-se aos previamente publicados em nosso grupo (Pelloso et al. 2003, Pelloso et al. 2013). Nota-se que, diferentemente de estudos do hemisfério norte, nossa população de estudo constituiu-se de pacientes mais jovens e distribuição equitativa com relação ao gênero, além da alta taxa de pacientes com cariótipo favorável, o que é raro em populações da Europa e da América do Norte. Dado interessante é o tempo de apresentação de sintomas em média de 30 dias e o tempo para início de tratamento. Esses dados corroboram dados de literatura do nosso grupo (Pelloso et al. 2013). Na população estudada, grande parte dos óbitos está relacionada ao período de indução, o que torna, em muitos casos, difícil se avaliar a resposta à terapêutica, uma vez que ocorreram durante a aplasia. Dos pacientes que sobreviveram a esse período, 69,4% apresentaram remissão completa após terapêutica de primeira linha adotada, 30,6% falharam e 35,4% foram encaminhados para TCTH. Tal estudo permite concluir que, em nosso meio, devemos diminuir o período excessivamente longo transcorrido entre o início dos sintomas e o diagnóstico, além de introduzir medidas para minimizar a ocorrência de óbitos precoces.

297. APRESENTAÇÃO UNI VERSUS MULTIFOCAL DE SARCOMA MIELOIDE ÓSSEO: RELATO DE CASO E REVISÃO DA LITERATURA

Braz TRP, Pelloso LAF, Chauffaille ML

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

O sarcoma mieloide (SM) caracteriza-se pela proliferação extramedular de blastos de uma ou mais linhagens mielóides que alteram a arquitetura

ra normal dos tecidos nos quais se encontram, podem ou não estar associados ao envolvimento de medula óssea. SM isolado é a denominação dada para casos em que não há acometimento medular; sua ocorrência é pouco conhecida, gira em torno de 0,2/100.000 adultos/ano, predomina no sexo masculino (2:1). O objetivo deste estudo foi descrever um caso com raro de SM de acometimento concomitante em diferentes tecidos. Trata-se de paciente do sexo masculino, 26 anos, sem comorbidades prévias que, em fevereiro de 2015, referia dor em cólica em flanco E e aparecimento simultâneo de tumoração em região esternoclavicular E, acompanhada de dor e hiperemia local. Ao exame clínico, notava-se lesão em clavícula E que media 5 cm. O hemograma inicial demonstrou Hb = 12,7, Ht = 35,2, leucócitos = 4.890, plaquetas = 225.000. Foi feita extensa investigação etiológica, que incluiu RNM de articulação esternoclavicular E com lesão em clavícula E e manúbrio de 4 cm, TC de pescoço, tórax e abdome total que demonstrou massa sólida supra clavicular E (7,4 x 5, 4 x 2, -9 cm), espessamento de adrenal E, imagens ovaladas em córtex renal D e moderada dilatação pielocalicial; além de duas biópsias da tumoração clavicular. Na tentativa de documentação da lesão renal, o paciente foi submetido a ureteroscopia com tentativa de biópsia de lesões ureteral e renais, sem sucesso. Após serem afastadas outras etiologias possíveis que justificassem as lesões renais e ureteral, foi fechado diagnóstico de SMO com provável envolvimento de rim e ureter E. A despeito do acometimento extramedular extenso, o hemograma e o mielograma apresentavam-se com contagens normais e sem evidências células anômalas. O paciente foi elegível à terapia de indução (3+7), seguiu para consolidação, uma vez que apresentou expressiva redução das lesões. Atualmente, encontra-se em remissão completa com seguimento ambulatorial e inscrito no Registro Nacional de Receptores de Medula Óssea (Rereme), em programação de transplante de células progenitoras hematopoiéticas (THPH) alogênico não aparentado tão breve se identifique um doador compatível. A ocorrência de SM está mais comumente associada à LMA ou, menos frequentemente, a outras doenças mieloproliferativas; o que torna o diagnóstico de SM isolado um desafio clínico. Segundo Byrd et al., 46% dos casos receberam inicialmente diagnósticos errôneos. Em 60-90% dos casos, o SM isolado evolui para LMA dentro de 5-9 meses a partir do diagnóstico e os principais sítios envolvidos são tecidos moles, linfonodo e pele, embora haja descrições de envolvimento multifocal (Pileri et al. 2007; Seifert et al. 2014 e Yang et al. 2014). O acometimento de trato urinário é extremamente raro. O envolvimento de bexiga é o mais frequentemente descrito (Crestani et al. 2012; John et al. 2013). Este caso descreve uma apresentação extremamente rara de SM isolado multifocal com envolvimento de trato urinário e demonstra a importância da busca por um diagnóstico correto precoce, que possibilite iniciar terapia de indução antes mesmo da progressão para LMA, já que a evolução do SM isolado mostrou-se mais favorável quando comparada com o SM associado à LMA (Movassaghian et al. 2014). São necessários mais estudos prospectivos para elucidar a patogênese, a história natural e a melhor estratégia terapêutica para essa doença.

298. ANÁLISE DA TAXA DE MORTALIDADE POR LEUCEMIA INFANTO-JUVENIL NO ESTADO DO PIAUÍ, DE 2008 A 2014

Moita LA, Oliveira AP, Pacheco G, Araújo S, Alencar MS, Costa ACB, Lima EBS, Costa DS, Araújo TSL, Sousa NA

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

Introdução: Apesar do declínio do número de óbitos por câncer infanto-juvenil no Brasil, as neoplasias ainda estão entre as 10 primeiras causas de morte em crianças e adolescentes entre 1 e 19 anos. A leucemia é o tipo de câncer mais comum nessa faixa etária (Inca, 2012). Isso se deve principalmente à redução da mortalidade por doenças transmissíveis, o que aumenta o peso do câncer o conjunto de causas de morte na infância e na adolescência, além da desigualdade de acesso ao diagnóstico e ao tratamento em serviços especializados. Isso constitui a leucemia como um importante problema de saúde pública. Estudos sobre mortalidade e incidência de doenças são de grande importância para se planejar e determinar prioridades do orçamento e de serviços de saúde necessários para a prevenção da exposição a fatores de risco, com o intuito de reduzir as taxas de mortalidade. **Objetivo:** Analisar o perfil da taxa de mortalidade por leucemias em crianças e adolescentes, no estado do Piauí, de 2008 a 2014. **Material e métodos:** Os dados brutos sobre os óbitos e a taxa de mortalidade foram obtidos por meio do Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM), do Ministério da Saúde, disponíveis nas páginas eletrônicas do Datasis. Os dados foram divididos de acordo com os grupos etários entre 1

a 4 anos; 5 a 9 anos, 10 a 14 anos e 15 a 19 anos e analisados por meio de estatística descritiva básica com o programa Excel®. **Resultados e discussão:** De acordo com o SIM, no Estado do Piauí, de 2008 a 2014, foram registrados os dados sobre óbitos e taxa de mortalidade somente para a capital Teresina. Isso leva a crer que esses dados podem ter sido subnotificados, já que, de acordo com a literatura, nos estados do Nordeste, especialmente no Piauí e no Maranhão, existe uma subenumeração de óbitos, o que subestima a taxa de mortalidade nessa região. Foram registrados 132 óbitos na faixa entre um e 19 anos no estado, no referido período, não houve diferença estatística significativa entre os grupos etários analisados. A taxa de mortalidade por leucemia no período foi de 4,82. A menor taxa de mortalidade foi observada no grupo de 1 a 4 anos (3,67) e a maior no grupo de 15 a 19 anos (7,98). Observou-se que houve uma tendência para diminuição da taxa de mortalidade por esse agravo com o avançar dos anos analisados. A maior taxa de mortalidade do período foi em 2008 (7,49) e as menores taxas foram em 2013 (3,73) e em 2014 (3,80). Esse fato corrobora outro estudo que mostra uma tendência de declínio de óbitos por câncer em crianças e adolescentes no Brasil. **Conclusão:** Neste trabalho, foi visto que as taxas de mortalidade do estado do Piauí, assim como do Brasil, diminuíram no período analisado, porém pode haver problemas de subestimação dos dados registrados no sistema. Assim, é de grande importância analisar os padrões de mortalidade por neoplasias, a fim de que sejam planejados métodos para a diminuição dos fatores de risco e redução do número de óbitos por esse agravo.

299. PROLIFERAÇÃO IN VITRO DE CÉLULAS DA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA INDEPENDENTEMENTE DA INTERAÇÃO CÉLULA-CÉLULA COM CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS

Otsuka NY, Scheucher P, Rego EM

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

Células-tronco mesenquimais (MSC) compõem o tecido de sustentação da medula óssea (MO) e interagem com células-tronco hematopoiéticas (HSC), proveem sua sobrevivência e as mantêm ancoradas nesse microambiente. Jing et al. (2010) demonstraram, em ensaio de cocultivo celular *in vitro*, que HSC em contato íntimo com monocamada de MSC apresentam maior taxa de divisão celular em relação às HSC sobrenadantes e às HSC localizadas abaixo da monocamada de MSC. Essas, por sua vez, mantiveram o imunofenótipo característico de célula-tronco (CD34+ CD38-) por mais tempo do que as demais camadas. Paralelamente, dados clínicos sugerem que o microambiente da MO seja importante para gênese de células neoplásicas, especialmente em leucemia meloide aguda (LMA). Porém, ainda não foi estabelecido se os efeitos das interações entre MSC e HSC são semelhantes entre pacientes com LMA e indivíduos saudáveis. O objetivo do presente estudo foi comparar a proliferação de células de linhagem leucêmica OCI-AML3 cocultivadas por 48 horas com MSC isoladas de MO de pacientes recém-diagnosticados com LMA e com MSC isoladas de MO de indivíduos saudáveis (doadores de MO). As três subpopulações descritas por Jing et al. foram analisadas e são elas: A) OCI-AML3 sobrenadantes no meio de cultura (sem contato célula-célula com as MSC); B) OCI-AML3 em contato célula-célula com MSC de forte intensidade (os dois tipos celulares foram separados após cinco lavagens com PBS); e C) misto de MSC e OCI-AML3 restantes aderidas à garrafa de cultura, removidas com tripsina. Em todos os grupos, diferenciamos MSC e OCI-AML3 por citometria de fluxo, com marcação de antígenos de membrana CD90 (específico para MSC). O estudo de proliferação celular foi feito por meio da quantificação de células em diferentes estágios do ciclo celular, após fixação e marcação do material desoxirribonucleico com iodeto de potássio e leitura por citometria de fluxo. As células leucêmicas isoladas dos grupos A, B e C após cocultivo com MSC de pacientes com LMA apresentaram percentagens de células em fase G0/G1 do ciclo celular de 33,1%, 32,2% e 33,1%, respectivamente. Já as células leucêmicas isoladas dos grupos A, B e C após cocultivo com MSC de indivíduos saudáveis apresentaram percentagens de células em fase G0/G1 do ciclo celular de 44,5%, 37,8% e 45,8%, respectivamente. Células leucêmicas que não receberam cocultivo apresentaram percentagens de células em fase G0/G1 do ciclo celular de 37,5%. Não foram evidenciadas diferenças estatísticas entre os grupos citados. Assim, observamos que células leucêmicas que receberam cocultivo, tanto com MSC de pacientes com LMA quanto com MSC de indivíduos saudáveis, apresentaram perfil de proliferação celular muito semelhante a células leucêmicas que não receberam cocultivo. Nosso estudo conclui, portanto, que a proliferação de células

leucêmicas de linhagem OCI-AML3 independe de estímulo de MSC, sejam essas isoladas de MO de pacientes com LMA, ou de indivíduos saudáveis, em contraste com a observação do estudo de Jing et al.

300. AVALIAÇÃO DAS ECTOENZIMAS E-NTPDASE E E-ADA EM LINFÓCITOS DE PACIENTES EM TRATAMENTO PARA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

Oliveira LZ^a, Farias ILC^a, Silveira KL^a, Bertioncheli CM^a, Marques CT^b, Cóser VM^a, Leal DBR^a

^a Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil

^b Centro Universitário Franciscano (UNIFRA), Santa Maria, RS, Brasil

Introdução: Os protocolos de tratamento da leucemia linfoblástica aguda (LLA) recomendam uma combinação de fármacos que têm a função de inibir a proliferação, a diferenciação, a divisão e os processos de biossíntese de compostos, de modo a promover a apoptose e a morte celular. A apoptose induzida pela quimioterapia é mediada por radicais livres e outras moléculas relacionadas à sinalização celular. Dentre os moduladores dos processos imunodestaculares o ATP, o ADP, o AMP e a adenosina, cujas concentrações extracelulares são controladas pela atividade das ectoenzimas E-NTPDase (CD39), E-5'-NT (CD73), E-NPP e ecto-adenosina desaminase (E-ADA) por meio de receptores do sistema purinérgico. O monitoramento dos resultados terapêuticos é feito por avaliação quantitativa do número de blastos no sangue periférico e medula óssea e pela pesquisa de doença residual mínima (DRM) na medula óssea. **Objetivos:** Investigar a atividade e a expressão das enzimas do sistema purinérgico e a relação de ambas com a avaliação da DRM no dia D15 do tratamento, em portadores de LLA diagnosticados no HUSM. **Método:** Foram analisadas amostras de sangue periférico (SP) para avaliar a atividade das enzimas E-NTPDase e E-ADA em linfócitos de pacientes com LLA ao diagnóstico (D0, n = 38) e após 15 dias de tratamento (D15, n = 21) por método colorimétrico. A expressão de CD39 (n = 6) e CD73 (n = 6) foi avaliada em linfócitos periféricos do grupo D0 por citometria de fluxo. A pesquisa quantitativa de doença residual mínima (DRM) no dia D15 (n = 28) foi feita em amostras de medula óssea por citometria de fluxo (DRM-CF). No grupo controle (C, n = 31) foram feitas as análises da atividade e da expressão das enzimas no sangue periférico. **Resultados:** Em relação à atividade da E-NTPDase, não foi observada variação significativa na hidrólise do ATP entre os grupos, enquanto na hidrólise do ADP houve redução significativa no grupo D0 em relação ao grupo controle. A atividade da E-ADA na desaminação da adenosina mostrou-se aumentada quando comparados os grupos D0 com o controle, enquanto os grupos D15 e controle exibiram valores semelhantes. Em linfoblastos de pacientes do grupo D0, a expressão de CD39 mostrou-se reduzida, enquanto a expressão de CD73 foi maior quando comparada com a do grupo controle. Considerando-se os linfócitos periféricos, a expressão de CD39 e CD73 exibiu em D0 valores semelhantes aos linfócitos do grupo C. Em relação à DRM, dois pacientes apresentaram DRM negativa (< 0,01%), três DRM positiva com valores elevados (> 10%) e os demais apresentaram valores intermediários (≥ 0,01 < 10%). Na comparação, os valores de DRM-CF não apresentaram relação significativa (p > 0,05) com os parâmetros leucemia inicial, blastos no dia 8, hidrólise de ATP, ADP, desaminação da adenosina, assim como com relação à expressão de CD39 e CD73. **Conclusão:** As alterações observadas nas atividades da E-NTPDase e da E-ADA, bem como na expressão de CD39 e CD73 em pacientes com LLA, sugerem uma possível modulação do sistema purinérgico em linfócitos neoplásicos, que pode ser revertida, em parte, pelo tratamento e pela consequente redução do número de leucócitos. Os dados demonstram o valor da análise da DRM-CF, uma vez que identifica uma variável preditiva de risco que não seria identificada na avaliação dos demais parâmetros.

301. ACUTE MYELOID LEUKEMIA FOLLOWING LUNG TRANSPLANTATION: CASE REPORT

Chaves DB

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

A 36 year-old man presented with AML, ten years after lung transplantation due to cystic fibrosis. Cytogenetic showed a t(9;22)(q34;q11.2), but NPM1, CEBPA, FLT3, and C-KIT were negative. The patient is being treated with imatinib and hydroxyurea, without complete response according to the European LeukemiaNet criteria, maintaining blasts in peripheral

blood, but in progressive fall. He also has shown an increase in his platelets levels, with stable anemia, not requiring any transfusion support. The patient remains in good clinical status at the time of this report. It is not known if acute myeloid leukemia following solid organ transplantation is a new entity or just an occasional finding, due to the few reports in literature. The incidence of AML after solid organ transplantation was estimated by Penn in 1993 to be the same as the incidence seen in general population. However, more recent studies showed a higher incidence of AML after solid organ transplantations (liver, kidney, heart, and lung), suggesting they could have a direct association. Rashid et al. demonstrated in a 2014 review article that the incidence of AML post solid organ transplantation is higher than in general population, with worse prognosis, independently of cytogenetic findings. Up to 2013, 51 cases were related, including only two post lung transplantation.

302. BRCA1 PROMOTER HYPERMETHYLATION IS NOT A COMMON EVENT IN DE NOVO ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Bezerra MF^a, Nascimento JCFD^a, Rocha CRC^a, Souto FR^b, Franca PRA^a, Oliveira MM^a, Machado CFC^b, Bezerra MAC^a, Araújo ARL^a, Beltrão EIC^a

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

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

Chromosomal abnormalities are commonly observed in acute myeloid leukemia (AML) patients. Although the molecular mechanism underlying the genesis of such cytogenetic alterations are not elucidated yet, results from previous studies suggest that subexpression of homologous repair (HR) genes, such as BRCA1, due to epigenetic inactivation could be involved in the process. However, published data in the matter still scarce and inconclusive. In this context, this study aimed to evaluate whether BRCA1 promoter hypermethylation occurs as an HR down-regulating mechanism in *de novo* AML. Fifty-five patients with *de novo* adult AML from HEMOPE Foundation (Pernambuco, Brazil) were included. Diagnosis was based on morphological testing, immunophenotyping, and cytogenetic testing. DNA was obtained from bone marrow using a Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega) and then treated with sodium bisulfite using EpiTech Bisulfite Kit® (Quiagen). BRCA1 promoter methylation analysis was performed using nested methylation-specific PCR (nested-MSP) initially. The first round primer set was designed by Grushko, to amplify BRCA1 promoter region, regardless of methylation status. In the second round, separated reactions were performed to distinguish methylated and unmethylated BRCA1 according to Esteller. To confirm the results, the authors also performed Bisulfite direct sequencing (BDS), considered the gold standard test for DNA methylation analysis. BDS was performed using a BigDye® Terminator Cycle Sequencing kit, an ABI 3500® (Applied Biosystems), and the same primer set from nested-MSP (first round). BDS reaction covered twelve methylation sites (CpGs). Positive control for both methods was a random patient DNA sample, globally methylated with Sss1 CpG-methyltransferase (New England Biolabs) and then treated with sodium bisulfite. No patient was found methylated for BRCA1 using nested-MSP method. In BDS, none of the twelve possible methylation sites was found methylated, confirming MSP results. Converted non-CpG cytosine ratio was 100%, indicating that there was no bias in bisulfite treatment. Xie et al. observed reduced HR proteins expression in AML cell lines and patients, but they did not investigate the underlying cause. To the best of the authors' knowledge, three previous studies evaluated BRCA1 methylation in leukemia: supporting the present results, Esteller et al., using MSP, and Bianco et al., using Southern blotting, found no methylation in BRCA1 in leukemia patients. Conversely, Scardocci et al., found BRCA1 hypermethylation in 32% of *de novo* AML patients. Heterogeneity in population genetic background causes different patterns of DNA methylation. This phenomenon may explain why BRCA1 methylation is frequent in Italian patients but not in Brazilians. Another explanation to contrasting results could rely on MSP bias: false-positives, although difficult to detect, are frequent in MSP, resulting in over-estimated DNA methylation. This is due to unspecific amplification of bisulfite-damaged DNA and impartial conversion of non-methylated CpGs. This study demonstrated, using two different methods, that BRCA1 hypermethylation is not a common event in *de novo* AML, at least in Brazilian patients. However, methylation of other HR genes and other gene-silencing mechanisms are still a potential explanation for chromosomal instability in AML and should be investigated in further studies.

303. TP53 R72P POLYMORPHISM IS ASSOCIATED WITH INCREASED ACUTE MYELOID LEUKEMIA RISK AND BETTER PROGNOSIS IN A BRAZILIAN COHORT

Bezerra MF^a, Lima ASM^a, Correia MCB^b, Machado CGF^b, Assis RA^c, Oliveira MM^a, Souto FR^b, Bezerra MAC^a, Lucena-Araujo AR^a, Beltrão EIC^a

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

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

^c Hospital do Câncer de Pernambuco (HCP), Recife, PE, Brazil

Despite the considerable advances made in the comprehension of acute myeloid leukemia (AML) pathogenesis, little is known about the role of inherited genetic variations, known as polymorphisms, in this malignancy. The TP53 R72P polymorphism (G>C) results in an amino acid change from arginine (ARG) to proline (PRO), decreasing TP53 protein capacity to induce apoptosis, and has been associated with many malignant diseases. This study evaluated whether TP53 R72P polymorphism is associated with AML risk and patient outcome. A total of 222 adult AML patients and 224 healthy individuals were genotyped for TP53 R72P using RFLP-PCR method. Patients frequencies for ARG/ARG, ARG/PRO, and PRO/PRO genotypes were, respectively: 32%, 45%, and 23%, while for controls they were: 39.7%, 47.7%, and 12.5%, respectively. PRO allele was associated with increased AML risk both in recessive ($p = 0.0039$), co-dominant ($p = 0.0078$), and allelic ($p = 0.0046$) genetic models. Estimated five-year overall survivals of PRO/PRO, PRO/ARG, and ARG/ARG patients were 47%, 9.5%, and 18%, respectively. Estimated five-year disease-free survivals were 33.2%, 22%, and 48%, respectively. Patients with PRO/PRO genotype had a longer overall survival ($p = 0.021$) than other genotypes; however, no significant difference was observed in disease free survival ($p = 0.751$). The association of PRO/PRO genotype with both AML risk and longer overall survival, together with the lack of association of heterozygote genotype, suggests that the proline allele effect is relevant only when in homozygosis. This finding is in agreement with the two hits hypothesis, which supports that loss-of-function events only in one tumor-suppressor gene allele is not relevant in oncogenesis, because the remaining allele is capable of maintaining basal activity. In conclusion, these data suggest that individuals homozygotes for TP53 proline allele are at increased risk for AML; however, once the disease is established, this genotype is associated with a better clinical outcome. It is important to highlight that this study is preliminary, and larger studies are necessary to confirm these data.

304. ALTERAÇÕES OSTEOARTICULARES EM PACIENTE DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

Medeiros VEX^a, Lomonaco LA^b, Pereira RCR^b, Pinheiro TCP^c, Mantilla RNFA^d

^a Universidade Federal do Acre (UFAC), Rio Branco, AC, Brasil

^b Hospital do Câncer do Acre, Rio Branco, AC, Brasil

^c Centro de Hematologia e Hemoterapia do Acre (HEMOACRE), Rio Branco, AC, Brasil

^d Centro de Diagnóstico por Imagem do Acre (CEDIAC), Rio Branco, AC, Brasil

Introdução: A leucemia linfóide aguda (LLA) é o câncer mais comum na infância, corresponde a 85% das leucemias infantis. Cerca de 40% dos pacientes apresentam dor óssea (difusa ou localizada), inicialmente intermitente, tende a tornar-se persistente, e/ou artralgia e/ou artrite, cujo padrão é bastante variável. Fadiga, letargia, perda de peso e febre fazem parte dos sintomas. Pacientes com essas manifestações frequentemente apresentam hemogramas iniciais normais. Além disso, o envolvimento do aparelho osteoarticular pode ser a primeira manifestação da LLA, muitas vezes simula uma doença reumatológica, fatos esses que contribuem para o atraso diagnóstico. **Objetivo:** Relatar o caso de uma criança portadora de LLA com sintomas osteoarticulares como primeira manifestação da doença. **Relato de caso:** Criança, 4 anos, sexo feminino, procedente de Rio Branco (AC), com queixa de dor articular bilateral de oito meses de evolução com pioria progressiva. Ao exame físico foram evidenciadas deformidade em membros inferiores com padrão em varo, esplenomegalia palpável e equimoses periorbitárias. Diagnosticada, inicialmente, como artrite

reumatoide juvenil e iniciado tratamento com metotrexato e prednisona. Teve melhoria dos sintomas após início do tratamento, mas logo voltou a piorar. Após suspensão das medicações, foi internada com quadro de dores ósseas e pancitopenia. Radiografia de membros inferiores evidenciou espessamento e alteração da transparência em regiões metafisárias. Feito mielograma que apresentou infiltração leucêmica/linfomatosa por blastos tipo linfóide e estudo histoquímico foi compatível com LLA - B (positividade para CD10 e CD 20). Iniciado protocolo BFM 2002 com remissão após a fase 1 de indução. No fim do tratamento, paciente não apresentava alterações em membros inferiores. **Discussão:** Muitas vezes o comprometimento osteoarticular pode se apresentar como a primeira manifestação da neoplasia ou predominar em relação aos demais sinais e sintomas da doença. Pode ser interpretado como manifestação de doença reumatológica. As leucemias apresentam sintomas e sinais inespecíficos que podem simular o quadro clínico de muitas patologias, entre elas artrite reumatoide juvenil, febre reumática, lúpus eritematoso sistêmico, púrpura trombocitopênica idiopática, aplasia medular e mononucleose infecciosa, entre outras, e, se não suspeitadas, podem comprometer o prognóstico do paciente. No caso em questão, a demora do diagnóstico final acarretou deformidades ósseas em membros inferiores, comprometimento da marcha, além da repercussão sistêmica pertinente à doença. Este caso mostra que mesmo pacientes com deformidades ósseas importantes decorrentes de leucemia aguda apresentam melhoria significativa com o tratamento correto instituído.

305. LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B: PERFIL IMUNOFENOTÍPICO DE DOENÇA RESIDUAL MÍNIMA EM UMA COORTE DE PACIENTES PEDIÁTRICOS

Finazzo C^a, Barroso RS^a, Silva HB^b, Silva MCA^a, Konecsni CA^a, Carvalho MAV^a, Souza GA^c, Macedo MF^c, Andréa MLM^c, Sales MM^a

^a Laboratório de Citometria de Fluxo (LIM 03), Divisão de Laboratório Central, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

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

^c Hospital Infantil Darcy Vargas, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: As leucemias linfoblásticas agudas B (LLA-B) são as neoplasias malignas mais frequentes na infância com índice de cura superior a 80%; contudo, a sobrevida em crianças que apresentam recidivas é de 46-56%. A pesquisa de doença residual mínima (DRM) é útil em prever recidiva de doença e permite ajustes à terapia e consequente obtenção de melhores resultados clínicos. A citometria de fluxo (CMF) é uma metodologia consolidada na identificação dos imunofenótipos associados à leucemia (LAIPs) dos blastos em nível residual. Embora muito difundida atualmente, a CMF na pesquisa de DRM é uma técnica de grande complexidade e que exige um alto grau de capacitação técnica para a sua execução. **Objetivo:** Avaliar a frequência e os tipos de LAIPs presentes nas amostras de DRM positivas em pacientes pediátricos com LLA-B. **Material e métodos:** Foram incluídas no estudo 102 amostras de medula óssea, positivas para DRM de 70 pacientes egressos do Hospital Infantil Darcy Vargas diagnosticados com LLA-B. Todos os anticorpos monoclonais usados foram previamente validados em nosso laboratório e o painel incluiu CD10, CD13, CD19, CD20, CD33, CD34, CD38, CD45 e CD58. Foram adquiridos no mínimo 300.000 eventos celulares/tubo no citômetro de fluxo BD FACSCalibur e as análises gráficas foram feitas no software Infinicyt Cytognos™. O valor de corte de positividade foi de $\geq 0,01\%$ de blastos residuais com padrão de dispersão gráfica em cluster. Essa casuística foi composta por amostras coletadas nos seguintes tempos de avaliação: D15 ($n = 21$); D33 ($n = 14$) e em outro período de acordo com a indicação clínica ($n = 67$). **Resultados:** No D15 a positividade foi de 65,6% e no D33 foi de 28,6%. A média de LAIPs foi de 2,71, variou entre 2 e 5 LAIPs. Em 90,2% das amostras foram encontrados pelo menos dois LAIPs semelhantes aos do diagnóstico. Considerando todos os tempos de coleta (D15, D33 e outro), apenas 61,8% das DRMs apresentaram ≥ 3 LAIPs por amostra, as mais prevalentes foram paradas de maturação relacionadas ao CD10 (92,1%). A hiperexpressão do CD58 apresentou-se em 53,7% dos casos, seguida pelo assincronismo de maturação do CD20/CD34 (50,9%) e pela ausência de expressão do CD45 (34,3%). O percentual de expressão aberrante do CD13 e do CD33 foi de 31,5% e 35%, respectivamente. **Discussão e conclusão:** Muitas publicações têm estabelecido diversos LAIPs úteis na avaliação de DRM incluindo combinações de anticorpos de até 10 cores simultaneamente por tubo. Este estudo mostrou a frequência e os tipos de LAIPs

encontrados em amostras pediátricas com painel de quatro cores, condição frequente em países em desenvolvimento. Publicações feitas com amostras de DRM positiva e/ou em recaída mostraram resultados similares aos encontrados nessa coorte. Embora nosso laboratório já tenha incorporado novos marcadores ao painel investigativo de DRM, não apresentados nesta casuística, este levantamento mostrou aplicabilidade adequada do painel adotado na caracterização de precursores B anômalos residuais na LLA-B

306. USO DA RASBURICASE EM PACIENTES COM RISCO DE SÍNDROME DE LISE TUMORAL: O IMPACTO FRENTE À TERAPÊUTICA CONVENCIONAL

Lima RS, Barbosa AA, Guerra AB, Guinguer IC, Tamashiro CY, Archanjo D, Rossi SB, Borducchi DMM

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

Introdução: A síndrome de lise tumoral (SLT) é uma condição de emergência oncológica, define-se como um conjunto de alterações metabólicas resultantes da destruição maciça de células malignas com consequente liberação do conteúdo intracelular para o espaço extracelular. Embora possa ocorrer de modo espontâneo (por necrose tumoral), costuma acometer pacientes oncológicos em decorrência do tratamento quimioterápico. Ocorre em maior frequência nas neoplasias hematológicas, como leucemias e linfomas. As consequências metabólicas da SLT são variadas, mas a lesão renal aguda é a mais comum devido ao acúmulo de ureia e creatinina no tecido renal. A lesão pode levar a uma sobrecarga de líquido e a edema pulmonar, hiperuricemia, hipercalemia, hiperfosfatemia. Essas, quando intensificadas por insuficiência renal, induzem à arritmia cardíaca ou ainda morte súbita. As funções renais podem ser preservadas com expansão volêmica maciça. Porém, quando o paciente apresenta um risco intermediário, adiciona-se à expansão volêmica o alopurinol, droga responsável por bloquear o metabolismo da ureia em nível renal somente, sem ter atuações eficientes na ureia acumulada no sangue. Outra droga usada para inibir o metabolismo da ureia é a rasburicase. Embora preconizada em situações muito específicas para pacientes pediátricos, tem-se mostrado eficaz na redução dos níveis renais e séricos de ureia, diminui mais rapidamente as complicações clínicas derivadas da SLT e favorece a recuperação do paciente. **Objetivo:** Analisar os benefícios clínicos estabelecidos pelo uso da droga rasburicase quando comprados com os da droga alopurinol, em pacientes hematológicos que apresentaram a SLT atendidos no Hospital Estadual Mário Covas de Santo André (SP) (HEMC). **Material e métodos:** Foram analisados os prontuários de 34 pacientes atendidos no serviço de Hematologia do HEMC que apresentaram SLT e fizeram uso de rasburicase entre janeiro de 2013 a maio de 2015. Posteriormente, foram relacionados 37 pacientes que fizeram uso de alopurinol no mesmo período. Ambos os grupos foram pareados na proporção 1:1 para faixa etária e diagnóstico. A partir disso, foram levantados dados laboratoriais, tais como hemograma, função renal e íons marcadores da SLT antes e após o tratamento da doença de base e o uso de uma das duas drogas. **Resultados:** Os valores médios dos dados laboratoriais antes e após uso da rasburicase mostraram decréscimo de 57% em relação ao ácido úrico, de 10% em relação aos níveis de creatinina, de 3% em relação ao cálcio ionizado, de 1,92% em relação ao de potássio e, por fim, de 8,4% em relação ao fósforo. Para o alopurinol, notou-se um acréscimo dos níveis de alguns dados laboratoriais após o seu uso: em relação ao ácido úrico, houve um acréscimo em 198%. Já a creatinina teve aumento de 150%. O potássio teve um aumento de 0,98% e o fósforo de 98,67%. O único índice que se mostrou reduzido após o uso de alopurinol foi o cálcio ionizado, o qual teve um decréscimo em 11,76%. **Conclusão:** Um medicamento foi capaz de prevenir mais eficazmente a síndrome de lise tumoral quando comparado com o outro. Dessa forma, podem-se inferir possíveis mudanças no padrão do tratamento da SLT preconizado convencionalmente.

307. ANÁLISE RETROSPECTIVA DE PACIENTES COM LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA FILADÉLFIA POSITIVO TRATADOS EM UM ÚNICO CENTRO

Penhalver LL, Delamain MT, Duarte GBO, Souza FVP, Campos PM, Duarte BKL, Lorand-Metze I, Souza CA, Pagnano KBB

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

Objetivo: Análise retrospectiva de pacientes com diagnóstico de leucemia linfóide aguda Filadélfia positivo (LLA Ph+) tratados em um único

centro. **Material e métodos:** Foram avaliados 15 pacientes com LLA Ph+ tratados em um único centro entre de janeiro de 2005 e janeiro de 2015. O diagnóstico de LLA Ph+ foi feito por meio da presença do cromossomo Ph detectado por citogenética convencional e/ou rearranjo BCR-ABL por meio de RT-PCR qualitativo. Em 20% dos casos o diagnóstico molecular foi feito somente na recidiva, pois não foi coletado ao diagnóstico. Foram analisados os dados clínicos e laboratoriais ao diagnóstico e os tratamentos feitos e foram avaliadas taxa de remissão hematológica, citogenética, molecular e recaída. Sobrevida global (SG), livre de doença (SLD) e de eventos (SLE) foram calculadas com o método de Kaplan-Meier. SG foi calculada a partir do diagnóstico até morte por qualquer causa ou última avaliação; SLD foi calculada da data da RC até recaída ou morte. SLE foi calculada a partir do diagnóstico até recaída ou morte por qualquer causa. O teste de log-rank foi usado para comparar as curvas. **Resultados:** Foram diagnosticados 15 pacientes com LLA Ph+, com média de 43 anos, 47% do sexo masculino. O fenótipo mais frequente foi o de LLA-B comum (46,6%), seguido do fenótipo pré-B (33,3%). Cariótipo: normal em 20% dos pacientes; presença da t(9;22) em 27%. Nos demais casos não houve metáfases para análise. Os transcritos BCR-ABL detectados foram: e1a2 (67%), b3a2 (26,6%), b2a2 (20%). Os pacientes foram tratados com quimioterapia baseada no protocolo GMALL 2003 (86,6%), LLA-T 98 (6,6%) e um caso de leucemia bifenotípica foi tratado com daunorrubicina e ARA-C (3+7) (6,6%). Em 53% dos casos, o inibidor de tirosina-quinase (ITK) imatinibe foi associado ao tratamento. Após a indução, 80% dos casos obtiveram remissão hematológica. Houve remissão molecular em 33,3%, remissão citogenética em 40%. Os pacientes que apresentaram falha de indução não fizeram uso de imatinibe (20%). Recaída hematológica foi observada em 40% dos pacientes; 73% evoluíram para óbito; 26,6% foram submetidos a transplante alogênico de medula óssea. A sobrevida global foi superior nos pacientes tratados com imatinibe em associação com a quimioterapia (30% vs. 0%; p = 0,03). A sobrevida livre de doença foi superior no grupo tratado com imatinibe (27% vs. 0%), p = 0,01. Não houve diferença significativa na SLD. **Conclusão:** A associação do imatinibe ao tratamento quimioterápico das LLA Ph+ proporcionou um aumento de sobrevida dos pacientes. A pesquisa do rearranjo BCR-ABL ao diagnóstico da LLA é fundamental, pois nem sempre o cariótipo detecta todos os casos. **Palavras-chave:** Leucemia linfóide aguda Filadélfia positivo; Tratamento; Resistência; Imatinibe.

308. LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA RECAÍDA TARDIA COM INFILTRAÇÃO TESTICULAR: RELATO DE CASO

Cruz LGAL, Boechat TO, Rocha LKMS, Ambrósio MBP, Furukawa RO, Gerk EMCR

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

MJS, sexo masculino, 31 anos, sem comorbidades prévias, com diagnóstico de leucemia mieloide aguda subtipo M0 (LMA M0) em março de 2009. Fez esquema quimioterápico de indução da remissão com citarabina e idarubicina seguido de quatro consolidações com altas doses de citarabina, com remissão completa após o tratamento. Seguiu em acompanhamento regular. Em julho de 2014, o paciente procurou serviço de pronto-atendimento após ter observado aumento progressivo do testículo direito. Feita ultrassonografia, que demonstrou lesão nodular mal-definida com característica de infiltração em testículo direito e lesão expansiva no testículo esquerdo. Apresentava hemograma normal, beta-HCG e alfa-feto proteína com valores dentro dos limites da normalidade. A biópsia testicular não foi feita na ocasião. Em outubro de 2014, iniciou quadro de bicitopenia. O mielograma e imunofenotipagem feitos revelaram LMA M0. O paciente encontrava-se inscrito no Registro Nacional de Receptores de Medula Óssea (Rereme), porém ainda sem doador compatível. Em novembro 2014, fez biópsia testicular bilateral. O laudo histopatológico/imuno-histoquímico de ambos os testículos foi compatível com infiltração por LMA. O paciente atingiu remissão após indução com protocolo 7+3 (citarabina e idarubicina) seguido de consolidação com quatro ciclos de citarabina em alta dose, com término em abril de 2015. Após o término do tratamento, novo mielograma e exame de imagem foram feitos, sem evidência de doença tanto medular quanto testicular. Foi encaminhado e fez radioterapia dos testículos, com término em julho de 2015. Paciente segue em acompanhamento ambulatorial, aguarda doador compatível.

309. PANMIELOSE AGUDA COM MIELOFIBROSE TRATADA COM TALIDOMIDA: RELATO DE CASO

Weber D, Vidor S, Pithan CF, Tagliari G, Fassina K, Fenili AC, Moreno FL, Catelli DH, Capra MEZ, Schuh HA, Vilella LP

Hospital Nossa Senhora da Conceição (HNSC), Tubarão, SC, Brasil

Introdução: A panmielose aguda com mielofibrose é definida como uma doença clonal da medula óssea com proliferação de precursores das três séries hematopoiéticas; extremamente rara, corresponde a menos de 1% dos casos de leucemia mieloide aguda (classificação da WHO 2008), embora se postule que seja subestimada por diagnósticos equivocados. A apresentação clássica é de pancitopenia, pequena quantidade de blastos no sangue periférico e pequena esplenomegalia ou mesmo sua ausência. A biópsia de medula óssea demonstra diferentes graus de fibrose e ampla variação de celularidade com presença de formas jovens e série megacariocítica anômala (microformas atípicas, formação de conglomerados e displasias). O curso clínico da doença é rapidamente progressivo e fatal, com uma média de sobrevida em torno de nove meses. Não há consenso terapêutico no tratamento dessa patologia. **Objetivo:** Relatar um caso de panmielose aguda tratado com talidomida em nosso serviço. **Relato de caso:** AL, sexo masculino, branco, 57 anos, previamente hipertenso, encaminhado ao hematologista em fevereiro de 2012 por pancitopenia detectada em exames de rotina. Não apresentava organomegalias, linfadenopatias ou petéquias. A contagem de leucócitos no diagnóstico era de 3.900 células/mm³, plaquetas 67.000 células/mm³ e hemoglobina 7 mg/dL. Um mês após, foram detectados blastos no hemograma, além de uma queda da hemoglobina para 5,7 mg/dL. A biópsia de medula óssea foi feita em mais de um momento da investigação, com aspirado *dry tap* que mostrou mielofibrose intensa associada à marcada hipocelularidade de todos os elementos hematopoiéticos. O cariótipo era masculino normal e a imunofenotipagem de medula óssea evidenciou clone imaturo mielóide com marcadores megacariocíticos em menos de 20% dos eventos adquiridos. O paciente evoluiu com cansaço leve e emagrecimento rapidamente. Optou-se por iniciar tratamento com talidomida em março do mesmo ano, com melhoria parcial das contagens após seis meses de uso aproximadamente. A dose precisou ser ajustada para 150 mg/dia após pioria da anemia e necessidade transfusional. Cerca de três meses após, em janeiro de 2013, o paciente apresentou quadro de diarreia infecciosa, pioria progressiva do estado geral e franca leucemia aguda e foi suspensa a talidomida naquele momento. Foi a óbito em abril de 2013, após novos quadros infecciosos e episódios de sangramento de trato gastrointestinal de repetição. **Conclusão:** A panmielose aguda com mielofibrose é uma patologia de difícil diferenciação diagnóstica e ainda não tem consenso terapêutico até o momento. Infelizmente e como já descrito na literatura, a doença tem evolução rápida e fatal. Neste caso, o tratamento com talidomida não foi capaz de mudar o curso natural da doença, embora tenha demonstrado uma breve resposta terapêutica que melhorou temporariamente as contagens e a necessidade transfusional apresentada pelo paciente.

310. LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA EM PACIENTE TESTEMUNHA DE JEOVÁ: RELATO DE CASO

Weber D, Vidor S, Pithan CF, Catelli DH, Tagliari G, Fassina K, Fenili AC, Moreno FL, Capra MEZ, Schuh HA, Vilella LP

Hospital Nossa Senhora da Conceição (HNSC), Tubarão, SC, Brasil

Introdução: A leucemia promielocítica aguda (LPA) corresponde a cerca de 10% das leucemias mieloides agudas do adulto. Costuma apresentar-se com sintomas inespecíficos e comuns como febre, fadiga, inapetência e perda de peso. Caracteristicamente há uma tendência a eventos hemorrágicos e esses são a principal causa de mortalidade no estágio inicial do tratamento. **Objetivo:** Relatar um caso de LPA em paciente testemunha de Jeová. **Relato de caso:** LPS, sexo feminino, branca, 45 anos, testemunha de Jeová, previamente com transtorno de humor bipolar e anorexia nervosa, chegou à emergência em crise maniaca, agitada e com sintomas constitucionais. A avaliação inicial mostrou hemograma com hemoglobina de 6,5 mg/dL, 4.560 leucócitos/mm³ (com predomínio de blastos e promielócitos) e contagem plaquetária de 22.000 células/mm³. Apresentava hematomas nos quatro membros, mas exames laboratoriais não evidenciaram coagulopatia significativa na chegada (dosagem de fibrinogênio, tempo de protrombina e tempo de tromboplastina parcial ativada normais). Pela suspeita de LPA, prontamente foi iniciado trata-

mento com ácido transretinoico. O diagnóstico foi confirmado subsequentemente por exames complementares da medula óssea e a paciente foi estratificada como risco intermediário pelo protocolo de tratamento Pethema. Pela opção religiosa da paciente e sua família, a equipe médica optou por não fazer quaisquer transfusões de hemocomponentes, mediante assinatura de termo de esclarecimento e responsabilidade, no qual foram expostos todos os riscos inerentes à própria doença e seu tratamento quando não feitas as transfusões de hemocomponentes necessárias e indicadas. Foi submetida a tratamento quimioterápico com o protocolo Pethema adaptado, com a indução composta somente pelo ácido transretinoico e apoio com uso de eritropoietina e ferro parenteral. Para a redução do risco de sangramento, foi adotado somente o cuidado de repouso absoluto no leito. A paciente apresentou uma evolução clínica satisfatória durante a indução, sem complicações maiores, e nos ciclos posteriores de quimioterapia foi adotado o protocolo Pethema padrão, sem modificações. Durante todo o tratamento recebeu acompanhamento psiquiátrico adequado. Fez dois anos de quimioterapia de manutenção, com boa tolerância, e atualmente completou cinco anos de acompanhamento; permanece em remissão hematológica e molecular. **Conclusão:** A LPA é um subtipo de leucemia mieloide aguda com características únicas e com alto índice de mortalidade nos primeiros dias, principalmente devido aos fenômenos hemorrágicos que estão presentes em cerca de 60% a 80% dos casos. Este relato mostra um caso de sucesso do tratamento, com adaptações do tratamento atualmente considerado padrão e sem a feitura de suporte transfusional, que estava indicado, pela decisão religiosa da paciente e de seus parentes. A decisão de manter a vontade da paciente e de seus parentes não foi facilmente tomada, tendo em vista o grande risco adicional de morte ao qual a paciente seria submetida pela decisão de não ser transfundida e exigiu da equipe muito diálogo e o estabelecimento de muita confiança.

311. ERITROLEUCEMIA EM PACIENTE HIV POSITIVO: RELATO DE CASO

Fonsêca AR, Jacomini A, Marques FM, Eduardo JM, Barcelos KC, Pelloso LAF, Chauffaille ML, Pivarro MF

Departamento de Oncologia Clínica e Experimental, Disciplina de Hematologia e Hemoterapia

Introdução: No Brasil, de acordo com o último Boletim Epidemiológico, há 656.701 casos registrados de síndrome da imunodeficiência adquirida (Aids). Desde a introdução da terapia antirretroviral (TARV), em 1996, houve uma melhoria importante do estado imunológico desses indivíduos e redução na incidência de patologias associadas à Aids. No entanto, a incidência de doenças malignas não definidoras de Aids está aumentando e a carga viral não controlada parece ser um dos fatores de risco mais importantes. As principais neoplasias hematológicas relacionadas ao HIV são os linfomas não Hodgkin, mas há descrição também de leucemia mieloide aguda (LMA), linfoma de Hodgkin e leucemia mieloide crônica. Quando levamos em consideração a LMA, não existem evidências suficientes para orientar a abordagem terapêutica nesse grupo de pacientes. O tratamento quimioterápico deve seguir os protocolos validados para pacientes não infectados e o transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) deve ser uma opção. **Objetivo:** Apresentar um relato de caso de uma mulher HIV positiva que desenvolveu leucemia aguda classificada como LMA não categorizada subtipo eritroleucemia. **Relato de caso:** Mulher, 41 anos, HIV/Aids, diagnóstico em 1998, em uso regular com didanosina, efavirenz e lamivudina. Procurou o pronto-socorro do Hospital São Paulo com queixa de tontura e fraqueza iniciada dois meses antes da admissão e pior havia 20 dias, associada a perda de peso. Durante investigação do quadro foi solicitada avaliação da hematologia por bicitopenia: hemoglobina: 7,1; hematócrito: 22,6; leucócitos 1.440 (neutrófilos: 272, eosinófilos: 2, basófilos: 9, linfócitos: 958; monócitos: 199); plaquetas: 355.000. Não havia alterações ao exame físico. Foi feito estudo medular, o mielograma foi de difícil execução, o aspirado era seco e a biópsia de medula óssea mostrou celularidade de 70% que apresentava linhagem mieloide hipoplásica com desvio à esquerda, de formas jovens organizadas em blocos, linhagem megacariocítica em número aumentado com formas displásicas, proliferação reticulínica (fibrose grau II) e as traves ósseas com evidente aposição de osso neoformado. O estudo imuno-histoquímico evidenciou: mieloperoxidase - positiva em várias células; CD34 - positivo em grande número de células; glicoforina - positivo na maioria das células; LCA - positivo

em algumas células; CD20 - positivo em raras células; CD3 - positivo em algumas células. Diagnosticada como portadora de LMA não categorizada subtipo eritroleucemia, foi iniciada quimioterapia com o esquema D3A7, ao qual foi primariamente refratária, tentada reindução com MEC, também sem sucesso. Iniciada segunda reindução com ARA-C em alta dose, também sem sinais de remissão. Optou-se por terceira reindução, dessa vez com o protocolo Flag. Atualmente em remissão parcial, planejado TCTH alogênico aparentado. **Conclusão:** Não é conhecido o prognóstico da associação de leucemia e Aids, nem tampouco há definição do manejo clínico nessas situações. Não sabemos também a influência do vírus na leucemogênese, supomos que essa associação pode aumentar o risco de intercorrências infecciosas graves e isso levou a equipe assistente a manter a TARV, associada às medicações profiláticas. A programação de TCTH levou em conta a gravidade e o comportamento da doença quimio-refratária.

312. RECIDIVA TARDIA DE LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA PRÓ-B COM MUTAÇÃO DO GENE ÍKAROS

Marques RF, Deyl AVS, Gatiboni T, Loss JF, Meneses CF, Selistre SGA, Gregianin LJ, Michalowski MB, Junior MCE, Farias CB

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: Leucemias agudas correspondem a 30% das doenças malignas pediátricas. A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é cinco vezes mais frequente do que a mieloide. Apesar de uma sobrevida de cinco anos estimada em 85%, sabe-se que 10-15% das crianças com LLA falham ao tratamento. Esse percentual é ainda maior (20-30%) nos grupos de alto risco. A recidiva tardia (> 18 meses após diagnóstico, segundo estudo BFM e > 30 meses segundo estudo COG) tem melhor prognóstico. Outra característica cada vez mais associada ao prognóstico é a alteração genética. Na LLA, por exemplo, o BCR-ABL1 e as mutações do gene Íkaros (IKZF1 - "IKAROS family zinc finger 1") estão fortemente associadas (70-80% dos casos) e determinam pior prognóstico. A mutação IKZF1 também pode acontecer isoladamente e causar redução do número de células hematopoiéticas, perda completa das células-B e dos compartimentos de células dendríticas, uma distorção na linhagem linfóide T e malignidades nas células T. **Relato de caso:** BVM, sexo masculino, 15 anos, diagnosticado com leucemia linfoblástica aguda (LLA) de alto risco pela contagem leucocitária (81 mil) em 2003. Ausência de doença no sistema nervoso central (SNC), com imunofenótipo pró-B, 77% de células linfóides B imaturas positivas para CD34, cCD79a, CD19, CD22, CD9, CD58fraco, CD81, CD45fraco, que coexpressavam CD33. Dessas, 13% expressavam CD24fraco. Foram negativas para: CD10, CD13, CD65, CD15, NG2, CD66c, CD7. Pesquisa de BCR/ABL negativa. Cariótipo: 46XY, t(12;17)(p13;q11.2)[4]/46XY[19]. Cumprir protocolo de quimioterapia para alto risco, término de tratamento em 2005. Em 28/11/2014, 11 anos após o diagnóstico, apresentou alteração no hemograma de rotina, além de alteração no cotovelo direito, com edema e dor. Contagem leucocitária de 25.530 com 76% de blastos. Imunofenótipo igual ao da doença inicial. Confirmada recidiva tardia de LLA pró-B. Cumprir uma pré-fase com prednisona, na qual foi mau respondedor e iniciou protocolo específico para recidivas de leucemia na infância. No fim da indução apresentava doença residual mínima (DRM) por citometria de fluxo (citômetro de seis cores) positiva de 3%. Foi alocado para o braço que previa transplante de medula óssea. Após dois blocos, DRM era de 0,2%; prosseguiu por três blocos, ainda com DRM positiva 0,03%. Recebido o resultado da biologia molecular com deleção do gene IKZF1, iniciou então uso associado de mesilato de imatinibe em 10/04/15, dose de 350 mg/m², sem toxicidades associadas. Desde então já cumpriu mais cinco blocos, e a DRM negativou em 12/05/15. Segue em quimioterapia enquanto aguarda vaga para o transplante de medula óssea. **Conclusão:** A recidiva após 10 anos de tratamento é rara e associada a bom prognóstico, o que não se mostrou neste caso, já que paciente respondeu mau ao corticoide e tinha DRM alta no fim da indução. Não podemos afirmar se a mutação no gene IKZF1 já estava presente no primeiro diagnóstico, pois a biologia molecular não estava disponível. Entretanto, percebemos que apesar de melhoria clínica e hematológica com o novo protocolo de quimioterapia, a doença molecular só negativou a partir da introdução do imatinibe. Corroborando a literatura, atingimos maiores taxas de remissão e sobrevida após a introdução dos inibidores de tirosina quinase, seu uso está cada vez mais confirmado e se expande para novas indicações que não somente a LLA Ph+.

313. ASSOCIAÇÃO ENTRE LEUCEMIA MONOCÍTICA AGUDA E SÍNDROME HEMOFAGOCÍTICA

Souza M^a, Farias MG^b, Pedrazzani FS^b, Alegretti AP^b, Freitas PA^b, Bittar CM^c, Taniguchi AN^a, Daudt LE^a

^a Serviço de Hematologia Clínica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^b Unidade de Diagnóstico Personalizado, Serviço de Patologia Clínica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^c Unidade de Bioquímica Clínica, Serviço de Patologia Clínica

Introdução: A hemofagocitose associada à malignidade vem sendo relacionada com frequência na literatura. Porém, poucos relatos são encontrados quando se referem a essa associação com leucemia mieloide aguda M5 (LMA M5) e ainda mais em crianças. Seu papel no prognóstico dessa doença permanece ainda desconhecido. **Objetivo:** Relatar um caso de LMA M5 associado à síndrome hemofagocítica (SHF). **Relato de caso:** Paciente do sexo feminino, branca, 3 anos e 3 meses, previamente hígida, nega alergias, sem internações prévias. Apresentou dor abdominal e febre por mais de duas semanas. Atendida via ambulatório em sua cidade, receitado vermífugo, sem melhoria. Procurou atendimento em hospital terciário, onde hemograma periférico apresentava pancitopenia. Feita biópsia de medula óssea (MO), apresentou infiltração por blastos. Na chegada a nossa Instituição apresentava: hemoglobina 4,2 g/dL (VCM 75,4 fL/HCM 24,6 pg); 1.370 leucócitos/mcL com 86% de linfócitos; 25.000 plaquetas, PCR 69,6 mg/dL e sorologias negativas. Medulograma com infiltração difusa por monoblastos. Na imunofenotipagem foi identificado fenótipo sugestivo de leucemia monocítica aguda. Cariótipo 18/08/15: 46XX, FTL3 negativo. Iniciou tratamento com BFM 2004 HR. Sem envolvimento em SNC. MO D15: 21% de blastos, MO D33: 3% de blastos, DRM 20/02/15: negativa. Manutenção em abril de 2015. Reinternada em junho de 2015 por hematêmese e petéquias. Apresentava 3.000 plaquetas/mcL; 7,3 g/dL de hemoglobina e 2.680 leucócitos/mcL, com 21% de blastos periféricos. Medulograma apresentava monoblastos de grande volume e foi marcada hemofagocitose. Imunofenotipagem de MO identificadas 66% de células monocíticas com o fenótipo do diagnóstico inicial do paciente com a perda da expressão de CD117. Confirmada recaída, tratamento com IDA-FLAG sem resposta. **Discussão:** A hemofagocitose associada à LMA, principalmente em crianças, é pouco descrita na literatura. Os dados são muito limitados (O'Brien et al., 2008). Segundo o estudo de Gurgey et al., 2006, 50% dos casos de SHF secundária resultam em morte. No estudo de Celkan et al., 2009, houve uma avaliação retrospectiva multicêntrica de janeiro de 2000-2006, das 29 crianças diagnosticadas com SHF associada à malignidade, 18 eram LLA e apenas duas eram LMA. No estudo de Lackner et al., 2013, avaliaram-se 10 pacientes com LMA M5, três desenvolveram hemofagocitose, excluídas causas infecciosas. Todos responderam prontamente ao uso de dexametasona, porém todos repetiram SHF após o segundo ciclo de quimioterapia (BFM 93 e BFM 2004). **Conclusão:** Este relato de caso contribui com os poucos dados reportados entre a SHF e LMA M5. O prognóstico da LMA parece piorar na presença dessa associação, porém mais estudos são necessários para melhor caracterização de risco e prognóstico desses pacientes.

314. TRATAMENTO DA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA NO HOSPITAL SANTA MARCELINA

Silva HRC, Ramalho FMM, Junior AMCR, Goncalves NN, Oliveira JSR

Hospital Santa Marcelina, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A leucemia linfoblástica aguda (LLA) no adulto tem prognóstico sombrio, com taxa de cura entre 30-40%. O transplante de medula óssea é única chance de cura na maioria dos pacientes, podendo aumentar a sobrevida para 45-75%. Há diversos protocolos de tratamento, alguns baseados em protocolos pediátricos, com sobrevida maior, mas com maior toxicidade. **Objetivo:** Foram comparadas sobrevida global, mortalidade na indução, taxa de refratariedade/recaída e feitura de transplante de medula óssea entre dois protocolos (GMALL, protocolo alemão para LLA do adulto, e GRAALL, protocolo europeu, inspirado nos protocolos pediátricos). **Materiais e métodos:** Estudo retrospectivo, baseado em prontuários, com 67 pacientes, entre janeiro de 2011 e julho de 2015. A análise dos dados foi feita com SPSS versão 23.

Para análise de variáveis nominais, comparação entre mediana foram usados o teste qui-quadrado e o teste de Mann-Whitney. A sobrevida global (SG) foi estimada com Kaplan-Meier e a comparação por meio log rank. **Resultado:** Dos 67 pacientes, 51 (76,1%) eram do sexo masculino, com mediana de 30 anos (14-69), 51 (76,1%) com LLA B (SG: 57 meses), 12 (17,9%) com LLA T (SG: 93 meses) e quatro (6%) com bifenotípica (SG: seis meses). Dez (16,7%) foram considerados como baixo risco (SG: 109 meses), 30 (50%) como alto risco (SG: 45 meses) e 20 (33%) como muito alto risco (SG: 52 meses). Pacientes com mais de 40 anos (n = 13) tiveram pior prognóstico (75 semanas x 33 semanas, p = 0,003). O tempo para TMO teve mediana de 30 meses (16-142). A sobrevida foi de 51 meses (4-252). GMALL: 42 pacientes, mediana de 26 anos (14-69), 31 (73,8%) do sexo masculino, 33 (78,6%) com LLA B, sete (16,7%) com LLA T e dois (4,7%) com bifenotípica. Cinco (13,1%) eram baixo risco, 23 (60,5%) alto risco e 10 (26,4%) com muito alto risco. Cinco (11,9%) morreram na indução e 18 (42,8%) foram refratários ou recaíram após indução. Vinte e três (54,7%) fizeram TMO com mediana para feitura de 30 semanas (16-142) e dois (8,6%) foram a óbito durante o procedimento. GRAALL: 25 pacientes com mediana de 35 anos (17-63), 20 (80%) do sexo masculino, 18 (72%) com LLA B, cinco (20%) LLA T, dois (8%) com bifenotípica. Cinco (13%) baixo risco, sete (23%) alto risco e 10 (40%) muito alto risco. Oito (32%) morreram durante indução, cinco (20%) foram refratários ou recaíram após a indução. Quatro (16%) fizeram TMO alogênico, com mediana para sua feitura de 20 semanas (23-56), houve um óbito (25%) durante o procedimento. Houve diferença no óbito durante a indução (p = 0,057) e recaída pós-indução (p = 0,044), contudo não houve diferença de sobrevida (58 x 51 semanas, p = 0,315). Houve uma sobrevida maior de pacientes com LLA T que fizeram o GMALL (109 meses com p = 0,026), mas sem diferença quando estratificados em risco. Naqueles que não fizeram TMO não houve diferença de sobrevida, independentemente do protocolo (GMALL: 33 semanas e GRALL 38 semanas, p = 0,870). Aqueles que fizeram TMO apresentaram SG maior (89 x 37 p = 0,020), sem relação com protocolo feito (GMALL: 89 semanas x GRAALL 57 semanas, p = 0,627). **Conclusão:** Notou-se no grupo do GRAALL maior toxicidade (maior número de óbitos durante a indução), mas apresentou-se menor incidência de recaída ou refratariedade ao tratamento. Contudo, a SG não foi alterada. Nota-se que o principal tratamento para LLA no adulto é a feitura do TMO alogênico em primeira remissão.

315. IMPACTO DA ATUALIZAÇÃO DO PROTOCOLO PETHEMA PARA O TRATAMENTO DA LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA

Blumenschein DI, Gusmão BM, Rocha JDA, Reis IND, Santos CD, Santos FPS, Hamerschlag N

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Leucemia promielocítica aguda (LPA) é patologia agressiva que se caracteriza pelo acúmulo de promielócitos na medula óssea. Caracteriza-se também pela presença do gen de fusão PML/RARA. Com o objetivo de diminuir a taxa de recaídas, recentemente se alterou o protocolo assistencial Pethema, o qual se baseia em acréscimo de citarabina em baixas doses na consolidação em pacientes com risco intermediário e grave, quimioterapia intratecal em pacientes que tiveram sangramentos no sistema nervoso central e presença de CD56 ($\geq 20\%$ blastos) indicaria maior risco de recidiva. Apresentamos a experiência de um único centro com a última edição do protocolo Pethema (2012). **Objetivo:** Apresentar quatro casos de pacientes que seguiram esse protocolo. **Resultados:** De janeiro de 2014 a julho de 2015, quatro pacientes (um homem e três mulheres) com mediana de 41,5 anos (23-51) foram diagnosticados e tratados com o protocolo Pethema 2012. Desses, um era de baixo risco, dois com risco intermediário e um com risco alto. Nenhum apresentou marcação CD56 na imunofenotipagem nem sangramento no sistema nervoso central. Todos foram positivos pela técnica de Fish ao diagnóstico e apresentaram negatividade por PCR PML-RARA após término da indução e após consolidação. Todos os pacientes apresentaram neutropenia febril e um deles com infecção fúngica provável. Com o seguimento de 18 meses, 100% dos pacientes seguem vivos e sem evidência de recidiva. **Conclusão:** Em nossa experiência o protocolo Pethema LPA 2012 é seguro e eficaz. A inclusão da citarabina parece não aumentar a toxicidade e proteger de recidivas. Faltam mais estudos que confirmem os resultados.

LINFOMA DE HODGKIN

316. ASSOCIATION BETWEEN CNS HODGKIN LYMPHOMA AND MUCORMYCOSIS IN AN IMMUNOCOMPETENT PATIENT

Vicente AA, Lucena PN, Silva MM, Zing NPC, Rocha TMBS, Fortier SC, Chiattonne CS

Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

Introduction: Mucormycosis, a fungal infection by filamentous members of Mucoraceae, affects immunosuppressed individuals, such as diabetics, the malnourished, and chronic users of corticoids and neutropenics. Clinically, it presents with rhinocerebral, pulmonary, gastrointestinal, and cutaneous involvement. CNS Hodgkin lymphoma (HL) is a very rare disease, representing around 0.02% of all lymphomas. Clinical manifestations are similar to other CNS tumors, causing headache, cranial nerve involvement, cognitive impairment, and sense and motor alterations. Diagnosis should be performed by MR, LRC, and immunohistochemistry, whenever possible. The authors report a unique case of mucormycosis and CNS Hodgkin lymphoma with synchronous presentation in the same patient. **Case report:** Male, 64-years-old, hypertensive and a smoker, admitted due to decreased left visual acuity one week previously. Associated with frontoparietal pulsatile headache, with partial improvement after the use of simple analgesics. Neurological physical exam was normal, with only a left amaurosis. The MRI showed an extensive heterogeneous lesion on tuberculum sellae and sphenoid plane, with involvement of second pair and optic chiasm. Neurosurgery was performed, and material from CNS and paranasal sinus were sent to the pathology laboratory. Immunohistochemistry revealed an infiltration of polymorphic Reed-Sternberg cells (CD15+, CD30+, CD20-, and EBV+). Maxillary sinus culture revealed the presence of mucormycosis. This material was sent to Pires MD, in Spain, who kindly confirmed the diagnosis. The patient underwent 20 sessions of CNS radiotherapy, after completing the fungal treatment with amphotericin B, for four weeks. He achieved complete response and is still in follow-up. **Discussion:** The diagnosis of CNS HL (primary or secondary) should be carefully evaluated, excluding other causes such as non-Hodgkin lymphoma (NHL), infection, and other malignancies. The coexistence of fungal disease and HL can be explained by an immunological dysregulation, involving T lymphocytes occurring in the Hodgkin lymphoma microenvironment. As a rare diagnosis, there is no single standard treatment protocol. Localized treatment with radiation or intrathecal chemotherapy, or systemic chemotherapy with or without the localized treatment can cure most of these patients. CNS involvement by mucormycosis often occurs by contiguous invasion or blood dissemination, especially in patients with lymphoproliferative disease who are submitted to immunosuppressive treatments. It is thought that immunosuppressed patients or EBV infected are the most affected, but the risk factors are not well established. The antifungal treatment of choice still is lipidic formulations of Amphotericin B. With the intent to control both fungal infection and lymphoma, it was decided to treat the fungal infection for four weeks and use a less immunosuppressive approach for Hodgkin lymphoma treatment, utilizing only radiotherapy with success. This case points to the need to investigate fungal infection in all rhinosinusal neoplasm biopsy specimens.

317. LINFOMA DE HODGKIN EM PACIENTE COM CARDIOMIOPATIA ALCOÓLICA: RELATO DE CASO

Mendes PHM, Silva JBCB

Liga Acadêmica de Hematologia e Hemoterapia, Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas, SP, Brasil

Introdução: Linfoma de Hodgkin (LH) é uma patologia linfoproliferativa caracterizada pela presença de células de Reed-Sternberg, associada a ambiente celular inflamatório. Corresponde a aproximadamente 30% dos casos de linfoma e é classificada de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) em cinco tipos: linfocítico nodular predominante, escleroso nodular, rico em linfócitos, celularidade mista e depleto de linfócitos. O tratamento preconizado para LH envolve quimioterapia combinada (QT) e radioterapia. As drogas mais usadas hoje

apresentam como um dos seus principais eventos adversos a cardiotoxicidade, com efeito cumulativo e dose dependente. **Objetivo:** Relatar caso clínico de paciente com diagnóstico de LH escleroso nodular clássico, estágio IIB, com antecedente pessoal de insuficiência cardíaca congestiva (ICC), por miocardiopatia de etiologia alcoólica, atendido em hospital universitário. **Relato de caso:** JCP, 52 anos, sexo masculino, portador de miocardiopatia alcoólica, com fração de ejeção de 25% (Simpson), em uso de cardioversor desfibrilador implantável (CDI), DPOC secundária a tabagismo, apresentou-se ao pronto-socorro de hospital universitário com quadro de pneumonia e ICC perfil B. Relatava perda de 20 kg nos últimos quatro meses. Ao exame físico havia linfonodomegalia supraclavicular à direita. Tomografia computadorizada de tórax evidenciou tumoração em mediastino médio com aspecto de conglomerado linfonodal, optou-se pela biópsia do linfonodo supraclavicular, que revelou LH escleroso nodular. Após compensação clínica, recebeu alta e iniciou QT, no esquema ABVD (adriamicina, bleomicina, vincristina e dacarbazina), em dose reduzida pelas comorbidades do paciente. Vinte dias após a alta e seis dias após primeira dose da QT, retornou ao PS com quadro compatível com descompensação da cardiopatia secundária a sepse de foco pulmonar. Foi internado para tratamento com ceftriaxona, diuréticos de alça e broncodilatadores. Com melhoria do quadro, recebeu segunda dose do primeiro ciclo da QT e alta. Após cinco dias, já com diminuição da linfonodomegalia, retornou ao PS, novamente com piora do quadro cardíaco, apresentava edema agudo de pulmão, hipotensão e edema de membros inferiores. Não houve resposta às medidas clínicas e a QT foi suspensa. Em nove dias, evoluiu com insuficiência respiratória e óbito. **Discussão:** O LH do tipo escleroso nodular é uma doença de prognóstico favorável nos estágios iniciais, em que aproximadamente 80% dos pacientes apresentam remissão da doença. O tratamento quimioterápico combinado hoje com melhor resposta e menor toxicidade é o esquema ABVD. A adriamicina é um agente cardiotoxico, pois induz autofagia e apoptose de cardiomiócitos. Atualmente, ainda existem poucos métodos de cardioproteção para pacientes em uso de derivados de antraciclina, pouco eficazes. O caso descrito é ilustrado com um paciente jovem, com doença neoplásica de bom prognóstico, mas com comorbidades que o tornaram intolerante ao tratamento. Seus eventos adversos fatores determinantes na evolução desfavorável. **Conclusão:** Apesar de o LH ser uma doença de prognóstico bom em estágios iniciais, ainda apresenta tratamento com limitações importantes. No caso relatado, a cardiotoxicidade do tratamento foi fator importante na evolução desfavorável, em vista das comorbidades apresentadas pelo paciente.

318. ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA DE 32 CASOS DE LINFOMA DE HODGKIN EM UM SERVIÇO DE ANATOMOPATOLOGIA EM PONTA GROSSA (PR)

Carneiro FH^a, Grando III^a, Lopes L^a, Lirani W^a, Baller EA^a, Koehler J^{a,b}, Koehler CH^{a,b}, Torres LFB^c, Netto MRM^{a,c}

^a Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Ponta Grossa, PR, Brasil

^b Instituto Sul-Paranaense de Oncologia (ISPON), Ponta Grossa, PR, Brasil

^c Patologia Médica, Ponta Grossa, PR, Brasil

Introdução: O linfoma de Hodgkin caracteriza-se pelo acometimento de uma cadeia única de linfonodos, com disseminação por contiguidade e raro envolvimento extranodal. Ao exame microscópico, a presença de células gigantes neoplásicas, denominadas células de Reed-Sternberg, em um fundo formado por linfócitos T, macrófagos, eosinófilos e fibroblastos, sugere o diagnóstico. No entanto, devido a uma diversidade de diagnósticos diferenciais possíveis, o estudo imuno-histoquímico muitas vezes se faz necessário para confirmação diagnóstica. Na região Sul do Brasil, o linfoma de Hodgkin é o 14º tipo de câncer mais frequente no sexo masculino e o 16º no feminino. O Brasil carece de dados regionais sobre a prevalência e o perfil de incidência dos linfomas de Hodgkin e não Hodgkin. **Objetivo:** Analisar a frequência do diagnóstico de linfoma de Hodgkin e traçar seu perfil de imunomarcagem molecular em um serviço de anatomia patológica em Ponta Grossa (PR) para um período de 11 anos (entre 2002 e 2012). Buscou-se também conhecer a distribuição dos subtipos histológicos e o perfil demográfico da população afetada. **Material e métodos:** Foram selecionados todos os laudos de exames de imuno-histoquímica com diagnóstico de linfoma de Hodgkin feitos de 2002 a 2012 a partir de um banco de exames de um serviço de anatomia patológica em Ponta Grossa. A partir dos laudos foram obtidas informações como gênero e idade do paciente, o sítio da biópsia e o resultado dos marcadores

moleculares. **Resultados:** Foram diagnosticados por imuno-histoquímica no período estudado 32 casos de linfoma de Hodgkin. A doença apresentou discreta predileção pelo sexo masculino, 53% dos casos (n = 17) ocorreram em homens. A média de idade ao diagnóstico foi de 40 ± 19 anos. Aplicando-se a classificação dos subtipos histológicos de linfoma de Hodgkin observou-se que 81,26% dos casos corresponderam ao linfoma de Hodgkin clássico, 12,50% ao linfoma de Hodgkin nodular com predominância linfocitária e 6,25% não puderam ser identificados quanto ao subtipo, foram classificados como indeterminados. Dentre as variantes do linfoma de Hodgkin clássico, destacou-se a ocorrência do subtipo esclerose nodular, que responde por 43,75% dos casos (n = 14), seguido pelo subtipo celularidade mista com 34,38% (n = 11). O subtipo depleção linfocitária correspondeu a 3,13% dos casos (n = 1). Os casos de linfoma de Hodgkin apresentaram distribuição etária bimodal, com 40,62% entre 10 e 30 anos e 34,37% após os 50 anos. O primeiro pico se relacionou com a alta frequência do subtipo esclerose nodular nessa faixa etária. Em relação aos marcadores imuno-histoquímicos, observou-se positividade para CD15 em 83,8% dos casos e para CD30 em 86,6% dos casos. **Conclusão:** As características epidemiológicas encontradas para os linfomas de Hodgkin diagnosticados nessa população se mostraram semelhantes às descritas na literatura médica vigente.

319. HIPERINFECÇÃO POR STRONGYLOIDES STERCORALIS EM PACIENTE COM DOENÇA DE HODGKIN

Flores KYM, Apa A, Nucci F, Praxedes MK, Orlando EP, Mercante D, Lopez LJD, Dumas AH

Serviço de Hematologia, Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP), Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

Introdução: A estrogiloidíase é uma infecção intestinal causada pelo parasita *Strongyloides stercoralis*, caracterizada por várias manifestações clínicas, desde casos assintomáticos até formas graves. O *S. stercoralis* é endêmico em países tropicais e subtropicais. As larvas filariformes penetram a pele humana e por via hematogênica migram para os pulmões, atingem os sacos alveolares, ascendem à faringe e são deglutidas. No intestino delgado evoluem para formas adultas, que podem persistir por décadas. O *S. stercoralis* pode completar o seu ciclo de vida no hospedeiro humano por meio de ciclo de autoinfecção. Em doentes imunodeprimidos, o *S. stercoralis* pode causar doença disseminada, que resulta da hiperinfecção, um aumento do ciclo de autoinfecção com consequente invasão maciça de larvas, potencialmente fatal. **Relato de caso:** RDCM sexo masculino, 60 anos, iniciou sintomas sete meses antes: astenia, cansaço, sudorese noturna, náuseas, vômitos, emagrecimento e as adenomegalias axilar e supraclavicular. A biópsia de linfonodo revelou linfoma de Hodgkin-depleção linfocitária, estágio IV-B. Foi iniciado pulso de prednisona e em seguida feito protocolo ABVD. Feita prévia profilaxia para helmintos com albendazol 400 mg/dia por três dias. Após 45 dias do diagnóstico iniciou dor abdominal e diarreia, que se manteve por semanas, de forma intermitente, sem sangue, muco ou pus, com coloração amarelo esverdeada e períodos curtos de constipação no início. Fez novo ciclo de quimioterapia, apresentou rash cutâneo pruriginoso no tronco e região proximal dos MMII, acompanhado de febre de 38°C, hipotensão, hipoxemia (SpO₂: 92%), FC = 108 bpm, FR = 32 irpm. Tinha crepitações pulmonares bilaterais e sem outras alterações. Exames complementares: Hb = 4.1 g/dL, leucometria = 4.000/μL, PCR = 12,94 mg/dL, ureia = 102, creatinina = 2,66, hipoalbuminemia e hiponatremia. RX de tórax com infiltrados intersticiais bilaterais; RX abdominal com distensão do intestino delgado; EDA revelou hérnia hiatal e lesão ulcerada gástrica; a colonoscopia evidenciou doença diverticular leve pancolônica; coproculturas foram negativas. No exame parasitológico de fezes foi encontrada grande quantidade de larvas compatíveis com *S. stercoralis*. Iniciada antibioticoterapia com levofloxacina e cefepime; ivermectina 12 mg/dia por dois dias e albendazol 400 mg/dia por três dias. Evoluiu com melhoria clínica e laboratorial. **Conclusão:** A estrogiloidíase torna-se relevante no tratamento de neoplasias hematológicas, uso de corticosteroides e HIV, entre outros com deficiência da imunidade celular. Relatamos este caso de estrogiloidíase disseminada visto que se comportou como um quadro de sepse grave e, por ser clinicamente inespecífica, essa condição representa um desafio para os clínicos, que normalmente tratam empiricamente apenas com antibióticos. Foi feita profilaxia com anti-helmínticos e apesar disso teve disseminação. Este caso, provavelmente, ocorreu devido à alta infestação por estrogiloides, que não conseguiu ser coberta com as doses habituais.

Novos estudos que envolvam profilaxia e tratamento de parasitoses deveriam investigar meios de determinar a infestação e sua correlação com a eficácia das drogas antiparasitárias.

320. THE ORAL MTOR INHIBITOR EVEROLIMUS IN RELAPSED AND REFRACTORY HODGKIN LYMPHOMA: COMPASSIONATE USE IN NINE CENTERS IN BRAZIL

Rocha TS^a, Fortier SC^a, Castro NS^b, Torrezan MD^c, Buccheri V^d, Oliveira JS^e, Fogliato L^f, Perinni G^g, Gaiolla RD^h, Laranja Aⁱ, Chiattonne CS^a

^a Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa São Paulo (FCMSCSP), São Paulo, SP, Brazil

^b Hospital de Câncer de Barretos, Barretos, SP, Brazil

^c Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^d Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^e Hospital Santa Marcelina, São Paulo, SP, Brazil

^f Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^g Hospital Albert Einstein, São Paulo, SP, Brazil

^h Hospital das Clínicas de Botucatu, Faculdade de Medicina (FMB), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

ⁱ Hospital Santa Rita Cássia

Purpose: Everolimus is an oral antineoplastic agent that targets the raptor mammalian target of rapamycin (mTORC1). The phosphatidylinositol 3-kinase/mTOR signal transduction pathway has been demonstrated to be activated in tumor samples from patients with Hodgkin lymphoma (HL). The goal of this study was to evaluate the response, time of response, toxicity, and overall survival in patients with refractory disease using everolimus out of a clinical trial setting, in compassionate use. **Patients and methods:** Patients were eligible if they had refractory and active Hodgkin disease. Patients received everolimus 10 mg PO daily. Dose reductions were allowed. Time to response assessment was defined by each center until progression (this was defined by each doctor; some chose to maintain the drug until clinical progression rather than radiological progression of the disease). Patients could remain on drug until progression or toxicity. **Results:** Thirty-three patients were enrolled. Median age at the time of everolimus start was 29 years (range, 20-70). Patients received a median of five prior therapies (range, 3-7), 81% had undergone prior autologous stem cell transplant and four patients had undergone allogeneic transplantation. The ORR was 51% (95% CI: 24-71%) with 14 patients achieving a PR, three patients achieving a CR, and ten with stable disease. Thirteen patients used the drug for more than one year. Patients received a median of 14 cycles of therapy and three remained on therapy at 36 months, showing a great tolerability of the drug. The median DR for the responders (CR/PR) was ten months. The most common site effects were thrombocytopenia and hypercholesterolemia. Three patients had pulmonary toxicity. The grade III and IV adverse events occurred in 30% of the patients. **Conclusions:** Everolimus has single-agent activity in relapsed/refractory HL, even in real life, and clinical practice provides proof-of-concept that targeting the mTOR pathway in HL is clinically relevant.

321. LINFOMA DE HODGKIN: EFEITOS INDESEJÁVEIS DOS TRATAMENTOS QUIMIOTERÁPICOS

Pacheco G, Oliveira AP, Costa ACB, Araújo S, Moita LA, Alencar MS, Lima EBS, Pacífico DM, Miranda IA, Silva FRP

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

Introdução: A doença ou linfoma de Hodgkin (LH) é uma neoplasia monoclonal de células B, que é rara e curável em mais de 75% dos casos. Sua apresentação clínica é caracterizada pelo surgimento de linfonodomegalia isolada ou generalizada, que pode estar associada ao acometimento de outros órgãos do sistema imunológico e órgãos extralinfáticos. O tratamento dessa patologia se baseia em quimioterapia, radioterapia ou, ainda, nas duas terapêuticas em associação. Os esquemas quimioterápicos para LH são feitos a partir da combinação de vários medicamentos. Existem três tipos de esquemas mais usados: o

ABVD (adriamicina, bleomicina, vimblastina e dacarbazina), Beacopp (bleomicina, etoposido, adriamicina, ciclofosfamida, vincristina, procarbazona e prednisona) e Standorf V (doxorubicina, mecloretamina, vincristina, vimblastina, bleomicina, etoposide e prednisona). Esses medicamentos apresentam muitos efeitos indesejáveis, uma vez que os quimioterápicos agem de forma sistêmica, e não apenas contra as células cancerosas. **Objetivo:** Demonstrar os diferentes tipos de tratamentos quimioterápicos, suas particularidades e os efeitos indesejáveis que podem trazer ao paciente portador de LH. **Material e métodos:** Estudo feito por meio de uma revisão de literatura de artigos retirados das bases de dados PubMed, MEDLINE e LILACS publicados de 2010 a 2015. Na análise dos dados foram avaliados: conceito, descrição dos sintomas mais relatados, diagnóstico, tratamentos mais usados e seus efeitos colaterais. **Resultados:** A suspeita clínica de LH ocorre mediante histórico do paciente e exame físico. O diagnóstico definitivo é feito por meio de biópsia, com auxílio da imunofenotipagem e métodos de imagem. O esquema de tratamento dependerá principalmente do subtipo e do estadiamento da doença. Atualmente, o esquema ABVD é considerado padrão-ouro para tratamento de LH e substituiu o regime de mecloretamina, vincristina, procarbazona e prednisona (MOPP), que era usado anteriormente, por ter um menor grau de efeitos colaterais e um aumento da sobrevida. No entanto, o MOPP aumentava o risco de leucemias secundárias e infecções. Entre os efeitos colaterais causados pelo ABVD citam-se anemia, plaquetopenia, leucopenia e neutropenia. Já o Beacopp apresenta uma vantagem sobre o ABVD, melhora a sobrevida dos pacientes relacionados à LH. Por outro lado, estudos demonstram que a sua toxicidade é mais elevada e os pacientes tratados poderão apresentar infecções graves, mucosite, leucemias agudas, tumores sólidos e infertilidade. O Standorf V é um esquema novo, em fase de estudo, que associa a quimioterapia e a radioterapia na busca de reduzir as doses medicamentosas e o tempo de tratamento. O esquema parece trazer vantagens sobre os demais, diminui os efeitos tóxicos para o paciente, porém as desvantagens do tratamento e a sobrevida que traz ao paciente ainda não estão totalmente esclarecidas, carecendo de mais estudos. **Conclusão:** Apesar dos diversos desafios que ainda persistem na busca de uma terapêutica eficaz e que minimize os efeitos colaterais nos pacientes, muitos avanços já foram obtidos no tratamento do LH. Com este estudo, acredita-se que o esquema Standorf V poderá se tornar padrão-ouro para o tratamento do LH, por apresentar menor toxicidade nos pacientes tratados. No entanto, mais estudos serão necessários para garantir a segurança terapêutica desse tratamento.

322. MENSURAÇÃO DE NÍVEIS SÉRICOS DE IL-6 E TNF-ALFA EM PACIENTES COM LINFOMA DE HODGKIN

Lima RS, Mauad VA, Russo R, Borducchi JHM, Borducchi DMM

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

Introdução: O linfoma de Hodgkin clássico (LHC) é uma neoplasia linfóide com características próprias que o distingue do linfoma de Hodgkin predominância linfocitária nodular (HLN) e dos linfomas não Hodgkin (NLH). As células malignas no LHC, células multinucleadas Reed-Sternberg e as células mononucleares de Hodgkin (H-RS) constituem o menor componente do tumor (1%-2%), enquanto a população celular predominante é composta por células reativas ou inflamatórias, tais como células B e T, plasmócitos, macrófagos, eosinófilos, neutrófilos, mastócitos e fibroblastos. Esse aumento no padrão celular inflamatório resulta de disfunções na produção de citocinas inflamatórias. Dessa maneira, têm-se dois tipos de resposta adaptativa do organismo: a resposta humoral, pela estimulação dos linfócitos B a produzirem anticorpos, e a resposta imune celular, em que linfócitos CD8+ com ação citotóxica e os macrófagos são ativados. Os linfócitos CD4+ participam de ambas as respostas pelo reconhecimento do antígeno e pela produção de subpopulações efetoras Th1 (IL-2, INF e TNF) e Th2 (IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10). Com isso, é possível verificar o aumento das concentrações das citocinas derivadas de Th1 e Th2 com a progressão da doença, além de correlacioná-las com variáveis de melhor ou pior prognóstico. Estudos anteriores mostraram que altos níveis de IL-6 estavam correlacionados com variáveis que implicam pior prognóstico (estadiamento III e IV) e o mesmo equivale ao TNF α . **Objetivo:** Mensurar os níveis séricos de IL-6 e TNF α em pacientes com LHC durante seu tratamento e correlacionar seus resultados a fatores prognósticos. **Material e métodos:** Foram incluídos neste estudo 13 pacientes diagnosticados com LHC no Serviço de Hematologia do Hospital Estadual Mário Covas, pertencente à FMABC, em Santo André

(SP), de janeiro de 2013 a abril de 2015. As coletas de sangue periférico foram feitas no D1 de cada ciclo quimioterápico. A metodologia de mensuração baseia-se na centrifugação dos tubos e a separação do soro para determinação das interleucinas seguida do ensaio imunométrico competitivo com leitura quimioluminescente. A luminescência foi efetuada com equipamento Immulite 1000. Posteriormente esses resultados foram correlacionados com doença ao diagnóstico ou em recaída, presença ou não de Bulky disease e IPI. **Resultados:** Foi observado que pacientes ao diagnóstico têm, durante a evolução do tratamento, redução nos níveis de IL-6 (47,5%) e TNF- α (35,8%). No entanto, o grupo em recaída, embora tenha demonstrado uma redução maior na IL-6 (55,2%), aumentou o TNF- α (13,7%). Os pacientes com Bulky tiveram um valor médio inicial de IL-6 superior em relação aos não Bulky (75,85% versus 27,97%) e valores equivalentes de TNF- α . A redução nos valores de IL-6 foi equivalente nos três grupos de IPI (46,33%; 47,5%; 40,25%). No entanto, ao avaliar os níveis de TNF- α , observamos um aumento nos pacientes de alto risco, com acréscimo de 18,35%. Em relação ao IPI e aos níveis séricos de IL-6 ao diagnóstico houve um aumento significativo conforme progressão do risco ($r = 0,85$) e o inverso ocorre com TNF- α ($r = 0,75$). **Conclusão:** Os biomarcadores testados estão correlacionados com fatores prognósticos já bem documentados na literatura. Portanto, pode-se inferir que sejam considerados como potenciais valores preditivos.

323. AVALIAÇÃO DO PERFIL DO FERRO NOS PACIENTES DIAGNOSTICADOS COM LINFOMA DE HODGKIN NO SERVIÇO DA SANTA CASA DE MISERICÓRDIA DE SÃO PAULO

Franco BT, Rocha TS, Fortier SC, Pinto MSG, Mo SG, Chiattonne CS

Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa São Paulo (FCMSCSP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: É sabido que aproximadamente 40% dos pacientes com linfoma de Hodgkin (LH) apresentam anemia no diagnóstico, de moderada intensidade, com níveis de hemoglobina (Hb) geralmente entre 10 e 12 g/dL. Os pacientes com LH apresentam geralmente anemia de doença crônica, que é caracterizada por ferro sérico baixo, redução da capacidade de ligação do ferro e saturação de transferrina subnormal, enquanto o ferro na medula óssea está relativamente preservado. Anormalidades no uso, assim como uso subnormal do ferro, são causas para anemia em pacientes com LH. Os níveis de citocinas, como interleucina 6 (IL-6), estão elevados, o que acarreta aumento da hepcidina, uma proteína que atua como principal “cuidador do portão” para homeostasia do ferro, inibe o fluxo celular do ferro pela ferroportina, resulta no aprisionamento do ferro em macrófagos e absorção do ferro em enterócitos que resulta em redução da disponibilidade do ferro para eritropoiese. A anemia afeta o status físico, diminui a qualidade de vida e também está associada a pior prognóstico e aumento da mortalidade. É mais frequentemente observada nos estágios mais avançados, e usualmente associada a sintomas B. Estudos mostram ainda que o nível sérico de ferritina é proporcional ao estágio da doença e da presença de sintomas sistêmicos. Entretanto, é pouco reconhecida e subtratada. **Objetivo:** Avaliar a incidência de ferro-penia no diagnóstico em pacientes com LH da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo com 19 pacientes diagnosticados com LH. Trabalho feito em centro único, na Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, de janeiro de 2014 a março de 2015, para avaliação do grau de ferro-penia ao diagnóstico de pacientes com LH. **Resultados:** Foram avaliados 19 pacientes em que 10 eram do sexo masculino, com a mediana de 27 anos, em que 68,4% tinha estágio avançado com sintomas B. A medula óssea estava com prometida em apenas 16,7%. A Hb média foi de 11,58; foram encontrados 42,2% de pacientes anêmicos. Já a média do VCM foi de 79,11, e a presença de microcitose foi encontrada em 52,6%. O valor médio do ferro foi de 45,71, e em 76,5% estava abaixo do normal. Já a média da ferritina foi de 1.123,29, alta em 78,6% dos pacientes. A média da capacidade total de ligação do ferro foi de 224,73, abaixo em 72,7% dos pacientes. Apenas 14 pacientes tinham pelo menos dois dos três parâmetros avaliados, 10 com padrão de doença crônica, ou seja, anemia normocítica e normocromica, quatro normais ou apenas um parâmetro alterado, não foi encontrado algum que sugerisse ferro-penia. Dos oito anêmicos seis tinham padrão de doença crônica e dois eram não avaliáveis. Apenas 26,3% dos pacientes com anemia microcítica, quatro com padrão de doença crônica e um com ferritina alta. **Conclusão:** A anemia foi frequente, incluindo microcítica, mas nenhuma ferro-penia e a maioria de doença crônica. Logo, corrobora o processo in-

flamatório comum no LH. A anemia também é fator de pior prognóstico, pois deve estar relacionada com a quantidade e qualidade da doença.

324. FIBRAS COLÁGENAS DETECTADAS POR MICROSCOPIA DE GERAÇÃO DE SEGUNDO HARMÔNICO: NOVO MARCADOR PROGNÓSTICO EM ESCLEROSE NODULAR DE ALTO RISCO?

Mendonça GRA, Natal RA, Murbach BA, Delamain MT, Souza CA, Cesar CL, Vassallo J

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

Introdução: A microscopia por geração de segundo harmônico (SHG) tem fornecido avanços na análise automatizada de fibras de colágeno. Linfomas de Hodgkin do tipo esclerose nodular (EN) com frequência curssam com intensa fibrose, cujo significado biológico é ainda incerto. **Objetivo:** Investigar o possível papel prognóstico do colágeno na EN, por meio da técnica de SHG. **Material e métodos:** Selecionamos 53 casos consecutivos e HIV-negativos de EN, com biópsia nodal do diagnóstico disponível. Onze linfadenites reacionais (LR) foram também usadas como controles. Lâminas de hematoxilina e eosina de casos e controles foram observadas em microscópio Zeiss LSM 780-NLO invertido e fotografadas em seis áreas: três cápsulas e três focos de esclerose intranodal (septos perinodulares – SP – na EN e fibrose ao redor de centros germinativos em LR). Com o programa ImageJ e plugin OrientationJ, avaliamos quantidade, uniformidade e organização das fibras de colágeno em cada imagem. A normalidade dos dados foi avaliada com o teste de Shapiro-Wilk. Testes t e correlações de Pearson foram usados no pareamento entre dois grupos. Na análise de sobrevida (global-SG e livre de evento-SLE), os dados do colágeno foram usados tanto como variáveis contínuas (regressão de Cox) quanto como categóricas (aproveitando-se seus valores médios na divisão entre grupos para curvas de Kaplan-Meier). Consideramos $p < 0,05$ significativo. **Resultados:** Os pacientes foram tratados com ABVD (75,%) e Beacopp (24,5%). A maioria dos doentes (39 ou 73,5%) foi classificada como de baixo risco (0-3 pontos) pelo Escore Prognóstico Internacional (IPS). Os demais (14 ou 26,5%) eram de alto risco (4-7 pontos). À microscopia, os SP apresentaram maior quantidade ($p < 0,01$), organização ($p < 0,01$) e uniformidade ($p = 0,02$) do que a fibrose em LR. As cápsulas tumorais apresentaram somente maior organização ($p = 0,02$) do que as de LR. Restringindo a análise aos casos, houve correlações positivas e significativas da quantidade, organização e uniformidade entre colágenos da cápsula e dos SP, o que sugere processo esclerótico proporcional nesses dois compartimentos. Analisando-se dados clínicos dos pacientes, uma maior organização do colágeno nos SP se associou à presença de IPS de baixo risco ($p = 0,03$), tumores de grau histológico 2 ($p = 0,04$) e doença extranodal ($p < 0,01$). A presença de IPS de alto risco se associou a uma pior SLE ($p < 0,01$), mas não alterou a SG. Em análise univariada de Cox, uma maior quantidade de colágeno nos SP foi o único fator associado a pior SG ($p = 0,4$). Considerando somente casos de alto risco, maior quantidade ($p = 0,3$) e uniformidade ($p < 0,01$) das fibras dos SP foram também associadas a pior SG. O baixo número de pacientes nesse último grupo (14) não permitiu análise multivariada. Ainda, binarizando-se a distribuição da quantidade de colágeno dos SP, pacientes de alto risco com maior quantidade de fibras apresentaram uma tendência ($p = 0,5$) a pior SG quando projetados em curvas de Kaplan-Meier. **Conclusão:** O colágeno na EN apresenta aspectos morfométricos que o distinguem do de LR. Uma maior orientação das fibras intranodais afeta a apresentação clínica da doença, enquanto que uma maior quantidade medida nos SP afeta negativamente a SG. Variáveis ligadas ao colágeno intranodal podem, assim, contribuir para o refinamento prognóstico da EN e demandar estudos em demais coortes.

325. HODGKIN E NOSSA REALIDADE: A DOENÇA AVANÇADA AO DIAGNÓSTICO

Strey Y^a, Fassina K^b, Vanelli T^c, Capra M^{b,c}, Fogliatto L^{a,c}

^a Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSA), Porto Alegre, RS, Brasil

^b Hospital Nossa Senhora da Conceição de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil

^c Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: O linfoma de Hodgkin (LH) é uma doença que acomete adultos jovens e, recentemente, seu tratamento incorporou novas tecnologias para a avaliação de resposta ao tratamento, qualidade da radioterapia e novas drogas. **Objetivo:** Descrever características dos pacientes portadores de LH atendidos em dois hospitais de alta complexidade em Porto Alegre (RS). **Material e métodos:** Revisão dos prontuários de pacientes com LH, com acompanhamento mediano de 109 meses. **Resultados e conclusão:** Foram incluídos 225 pacientes, com mediana de 30 anos e 60% mulheres. Em relação ao LH, 71% apresentava sintomas B, doença volumosa (> 10 cm) em 63/225 e mais de 50% deles com estadiamento III/IV. Em relação ao índice prognóstico internacional (IPS), mais de 50% apresentavam IPS acima de 3. O tratamento em 86% dos pacientes se fez com protocolo ABVD e 9% com Beacopp. Dos 225 pacientes, 62 apresentaram recidiva e 18 recidivaram de forma precoce. A mediana da recidiva foi de 19 meses. Entre os 225 casos, 19 foram ao transplante de medula óssea. A sobrevida global (SG) em 45 meses foi de 78%. Na análise univariada da SG, foi encontrada significância estatística com as seguintes características: idade ao diagnóstico (< 45 anos vs. > 45, 85,7% vs. 58%, $p < 0,001$), presença dos sintomas B (presente vs. ausente, 72% vs. 93%, $p < 0,001$), tratamento com radioterapia (sim vs. não, 94% vs. 73%, $p < 0,001$) e albumina (> 4g/dL vs. < 4g/dL, 92% vs. 68%, $p = 0,049$). Não houve significância estatística na análise do número de leucócitos, linfócitos e taxa de hemoglobina. Esses achados refletem a realidade do LH no Brasil, onde grande parte dos pacientes se apresenta com doença avançada ao diagnóstico. Em relação ao prognóstico e à resposta ao tratamento, os índices foram semelhantes aos descritos na literatura.

326. LINFOMA DE HODGKIN: CARACTERÍSTICAS ANÁTOMO-CLÍNICAS E ANÁLISE DE NOVO BIOMARCADOR (IMP3)

Moraes MPT, Herbst TEG, Domingues MAC

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

O linfoma de Hodgkin (LH) é uma neoplasia hematopoiética que acomete caracteristicamente adultos jovens e apresenta, quando não tratado, curso clínico fatal. O diagnóstico precoce e preciso desse linfoma associado à terapia moderna, por outro lado, tem proporcionado diminuição dramática das taxas de mortalidade. Ainda assim, cerca de 15-20% dos pacientes evoluem de maneira insatisfatória com resistência à terapia primária ou recaída precoce pós-tratamento. Nesse sentido, há na literatura estudos variados na tentativa de buscar perfis prognósticos capazes de selecionar pacientes candidatos a terapias particulares. O IMP3 (*insulin-like growth factor mRNA binding protein 3*) tem sido descrito como biomarcador relacionado a pior prognóstico em diversas neoplasias, especialmente carcinomas, mas ainda pouco estudado em neoplasias hematopoiéticas. Para avaliar seu potencial papel prognóstico no LH, foi estudada a expressão do IMP3 em 61 casos, incluindo estratificação da imunocoloração em intensidades (0, 1+, 2+ e 3+) e relação com status de vida, dados clínicos, aspectos morfológicos e imuno-histoquímicos. A expressão forte (intensidade 3+) para IMP3 foi observada em 61% (34/56) dos LH e apresentou forte indício de associação com melhor sobrevida livre de doença. Nossos achados mostram o IMP3 como potencial biomarcador de melhor prognóstico em LH.

327. USO DE BENDAMUSTINA E GENTITABINA EM PACIENTE PORTADOR DE LINFOMA DE HODGKIN REFRACTÁRIO AO BRENTUXIMABE VEDOTIN: RELATO DE CASO

Silva RL^{a,b}, Villa PR^{a,b}, Santos MFDD^{a,b}, Simões AA^{a,b}, Marques LA^{a,b}, Fernandes PA^{a,b}, Mosquim SAR^a, Geraldo BLSS^b, Macedo MCMA^{a,b}

^a Instituto Brasileiro de Controle do Câncer (IBCC), São Paulo, SP, Brasil

^b Bio Sana's Serviços Médicos, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Aproximadamente 30% dos pacientes portadores de linfoma de Hodgkin são refratários ou apresentam recidiva da doença após tratamento de primeira linha. O tratamento padrão nesses casos é quimioterapia de segunda linha seguida por transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH). Em casos de recaída pós-TCTH o brentuximabe vedotin é opção de primeira linha, porém alguns pacientes são refratários a esse fármaco. A bendamustina é um agente alquilante bifuncional derivado da mecloretamina que tem sido usado associado a outros fárma-

cos ou em monoterapia em pacientes portadores de LH refratários ao brentuximabe vedotin. **Objetivo:** Relatar o uso da associação de bendamustina e gentitabina em paciente portador de LH refratário a brentuximabe vedotin. **Relato do caso:** Paciente de 16 anos, sexo masculino, diagnóstico de LH clássico EN, estágio IIXB em 2007. Tratado com ABVDx6 e RDT em manto, evoluiu com progressão da doença em área irradiada três meses após término do tratamento. Recebeu resgate com DHAPx3 e ICEx2, obteve resposta parcial e foi submetido a TCTH autólogo com condicionamento BEAM. Recaiu após o TCTH, nova biópsia revelou linfoma não Hodgkin difuso de grandes células B (LNHGCB), foi tratado com R-Chop (rituximabe, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona)/RCOP (rituximabe, ciclofosfamida, prednisona), obteve resposta transitória. Houve progressão tumoral em abdome, peri-hepático e mediastino, cuja nova biópsia revisada confirmou LH. Tratado com GIV, não obteve resposta. Fez TCTH haploidêntico e apresentou recaída após 15 meses. Fez 16 ciclos de brentuximabe vedotin com resposta parcial e após quatro meses do último ciclo apresentou progressão da doença. Iniciado esquema com bendamustina 120 mg/m² por dois dias e gentitabina 1.000 mg/m² por um dia a cada 28 dias, fez quatro ciclos e em PET/CT feito um mês após último ciclo não havia evidência de atividade neoplásica. **Conclusão:** Embora haja poucos estudos, os dados existentes indicam que o uso da bendamustina em pacientes refratários a brentuximabe vedotin apresenta boas respostas e pouca toxicidade. O uso de gentitabina associada a outros fármacos é um tratamento que apresenta bons resultados e toxicidades aceitáveis. Essa associação pode ter sido responsável pela toxicidade hematológica, porém a resposta foi satisfatória e o paciente encontra-se em resposta completa seis meses após término do tratamento.

328. APRESENTAÇÃO CUTÂNEA DE LINFOMA DE HODGKIN COMO MANIFESTAÇÃO DE FALHA TERAPÊUTICA: RELATO DE CASO

Pallotta R^{a,b}, Borducchi JHM^a, Vieira ML^b, Jesus PMR^b, Bortolotti P^b, Cardoso P^b, Martin EM^b, Borducchi DMM^{a,b}, Delgiglio A^{a,b}

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

^b Hospital do Servidor Público Municipal (HSPM), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Os linfomas de Hodgkin (LH) compartilham as seguintes características: usualmente acometem os linfonodos, principalmente na região cervical; manifestam-se, na maioria das vezes, em adultos jovens; tecidos neoplásicos normalmente apresentam um número pequeno de células tumorais grandes, difusas, mononucleadas e multinucleoladas (designadas *reed-sternberg cells*), resultam em uma mistura heterogênea de células inflamatórias e acessórias não neoplásicas; as células tumorais são frequentemente circundadas por linfócitos t. Os LH representam cerca de 30% de todos os linfomas. Estudos clínicos e biológicos, nos últimos 30 anos, têm mostrado que os LH são compostos por duas doenças: linfoma de Hodgkin predomínio linfocítico nodular (LHPN) e linfoma de Hodgkin clássico (LHC). Essas se diferem nas manifestações clínicas, na morfologia celular, imunofenotipagem e presença ou ausência da expressão de células B. Dentro do LHC há quatro subtipos: esclerose nodular, celularidade mista, rico em linfócito e depleção linfocitária. Esses subtipos diferem nos sítios envolvidos, na manifestação clínica, no padrão de crescimento, na presença de fibrose, composição celular, no número e/ou grau de atipia de células tumorais e na frequência de infecções por Epstein-Barr vírus, mas não pela imunofenotipagem das células tumorais, que é a mesma para os quatro subtipos. A manifestação cutânea da doença de Hodgkin é uma condição rara que usualmente ocorre em estágio avançado, que nas últimas décadas, devido à eficiência do tratamento, é menos observada. As lesões de pele podem ser específicas ou não específicas. As específicas consistem em infiltrações circunscritas ou pápulas e aparecem nas extremidades e no tronco. Tendem a crescer e podem ulcerar. Frequentemente são acompanhadas por prurido. As lesões não específicas são de natureza tóxica e podem ser eritematosas, urticariformes, vesiculares ou bolhosas, assemelham-se ao eritema multiforme. O envolvimento da pele por linfoma pode ser dividido em acometimento primário (origem na pele) ou secundário (origem em outro sítio e depois acomete a pele). Os linfomas cutâneos primários compõem uma entidade bem-definida e podem ser originados de linfócitos T, mais frequentemente, ou de células B. As manifestações cutâneas secundárias em geral apresentam um pior prognóstico e na sua maioria estão associadas a linfomas de células T/NK (56%), linfomas de células B maduras (35%), doenças linfoproliferativas de células imaturas (8%) e linfoma de Hodgkin (1%). **Relato de caso:** Paciente MCG, sexo feminino, 44 anos, que,

após o diagnóstico de linfoma de Hodgkin, recebeu tratamento com esquema poliquimioterápico clássico ABVD. Logo após, apresentou lesões cutâneas como primeiro sinal de falha terapêutica e evoluiu a óbito, sem chance de esquemas de resgate. **Conclusão:** Por ser rara a apresentação cutânea no linfoma de Hodgkin, é um desafio seu diagnóstico se considerarmos o polimorfismo envolvido.

329. TUBERCULOSE CEREBRAL CONCOMITANTE COM LINFOMA DE HODGKIN

Paiva MF, Catelli DH, Daudt LE, Silla LMR, Soares TB, Burin MM, Bosi GR, Pereira MP, Teixeira BB, Zaltron RF

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: O acometimento de tuberculose (TB) em sistema nervoso central (SNC) é incomum, representa cerca de 5% a 10% dos casos de TB extrapulmonar e tem mortalidade entre 20% e 50%. A concomitância de TB com linfoma de Hodgkin é rara e de difícil diagnóstico devido à similaridade de sinais e sintomas. Indivíduos portadores de leucemia ou linfoma apresentam risco relativo 16 vezes maior de desenvolver TB do que indivíduos hígidos e ocorre devido à ausência de resposta imune celular presente em neoplasias do tecido linfóide. **Objetivo:** Relatar um caso de TB em SNC que evoluiu para óbito em paciente com linfoma de Hodgkin. **Relato de caso:** Paciente masculino, 36 anos, negro, com diagnóstico de linfoma de Hodgkin esclerose nodular, estadiamento clínico IVB, sorologias para HIV, HCV, HBV negativas e EBV IgM positiva, vinha em tratamento havia dois meses com ABVD e apresentava neutropenia febril responsiva a antibióticos. Após C2D15 iniciou com febre diariamente com hemoculturas negativas, galactomanana negativa e tomografia (TC) de tórax que evidenciou lesão em LID de 0,5 cm com opacidade em vidro fosco e espessamento de septos interlobulares adjacentes a essa lesão e adenomegalia mediastinal e subcarinal. Foi iniciada empiricamente anfotericina B precedida de fibrobroncoscopia e lavado broncoalveolar, cujos resultados foram negativos para pesquisa por fungos e micobactérias (PCR para MBT). TCs de tórax de controle constataram redução de lesões pulmonares e de adenomegalias subcarinais e mediastinais e mesmo com melhora tomográfica retornou com quadro febril, iniciou com cefaleia e crise convulsiva tônico-clônica generalizada. TC de crânio constatou lesão nodular de 0,8 cm em lobo frontal esquerdo; punção lombar com glicorraquia e proteinorraquia normais e ausência de germes ou fungos. Devido à manutenção de crises convulsivas fez-se RMN de encéfalo, que evidenciou lesão nodular entre os giros reto e do cíngulo bilateral, precedida de biópsia estereotáxica, cujo resultado inicialmente evidenciava gliose reacional e inflamação crônica sugestiva de processo infeccioso/inflamatório. Nova punção lombar constatou pleocitose com ADA aumentada e foi iniciado RHZE. Paciente evoluiu com espasmos em hemiface direita, permanência de crises convulsivas e rebaixamento do nível de consciência e foi induzido coma barbitúrico. Investigação tomográfica de crânio mostrou edema cerebral difuso, mas sem sinais de hemorragia; eletroencefalograma não evidenciava status convulsivo e após suspensão de sedação foi constatada morte encefálica. Posteriormente ao óbito, os resultados de cultura de líquor e cultura da peça anatomopatológica foram confirmatórios para *Mycobacterium sp.* e *Mycobacterium tuberculosis*, respectivamente. **Conclusão:** Tuberculomas podem desenvolver-se no parênquima cerebral sem ruptura do espaço subaracnóideo e frequentemente podem ocorrer na ausência de tuberculose. Não há achados neurorradiológicos patognomônicos; a análise da cultura do líquor é demorada devido ao tempo de crescimento do bacilo. A sensibilidade do ADA no líquor é superior a 70%, depende do cutoff, e achados patológicos consistem em reação granulomatosa típica de células epitelioides e macrófagos/linfócitos que circunferenciam a área central de necrose caseosa. Devido à raridade de TB em SNC, à dificuldade de diagnóstico precoce e à alta mortalidade, não há na literatura médica dados consistentes que evidenciem melhor esquema terapêutico.

330. ENCEFALITE LÍMBICA ASSOCIADA A LINFOMA DE HODGKIN CLÁSSICO: RELATO DE CASO

Silva DRCF^a, Simabukuro MM^b, Farias MC^a, Sousa MLVE^a, Kerbaury MN^a, Ferreira APS^a, Oliveira LCP^a, Buccheri V^a

^a Departamento de Hematologia e Hemoterapia, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

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

Introdução: As síndromes neurológicas paraneoplásicas (SNL) são definidas como sinais e sintomas decorrentes da lesão dos tecidos ou órgãos do sistema nervoso por um mecanismo imunomediado remoto ao sítio primário de uma determinada neoplasia ou suas metástases. Ocorrem em menos de 1% dos pacientes com diagnóstico de tumor sólido e é mais raramente associada ao linfoma de Hodgkin (LH) e outros linfomas. O diagnóstico das SNL é importante, pois pode preceder o aparecimento de um tumor em meses a anos, são potencialmente tratáveis, o tratamento se baseia na imunoterapia associada à terapia oncológica. **Objetivo:** Descrever caso de encefalite límbica soronegativa associada ao LH. **Relato de caso:** Homem, 46 anos, admitido com quatro episódios de crises convulsivas tônico-clônicas generalizadas. Após diazepam e fenitoína houve melhora das crises com recuperação do nível de consciência. Os exames de imagem da entrada (CT e RNM de encéfalo) eram normais, líquido cefalorraquidiano (LCR) com pleocitose linfomonocitária 79 células/mm³, hiperproteinorraquia, glicorraquia de 32 mg/dL e IF com ausência de células neoplásicas. Sorologias para HTLV e sífilis negativas; PCR para HSV, adenovírus, CMV, toxoplasmose e BK negativos. Iniciado tratamento empírico com ceftriaxona e aciclovir. Evoluiu com TVP em perna direita e durante investigação da causas paraneoplásicas para trombose em paciente jovem foi feita TC de pescoço, que evidenciou linfonodomegalia cervical, cuja biópsia demonstrou LH clássico. PET-CT demonstrou captação em linfonodos cervicais e supraclaviculares D. EC IIA, IPS 4. Dois meses após os sintomas iniciais, apresentou alteração comportamental e amnésia. Pontuava 19 no minixame do estado mental (máximo de 30, MMSE) e o exame neuropsicológico demonstrava disfunção executiva e prejuízo da memória episódica (amnésia límbico-diencefálica). Em nova RNM de encéfalo houve aparecimento de hipersinal em T2/FLAIR nos lobos temporais mesiais, bilateralmente. A pesquisa de anticorpos de superfície neuronal e sinápticos (NMDA, AMPA, GABA-B, mGluR1, mGluR5, LG1, Caspr2) no soro e no LCR resultou negativa, assim como a pesquisa de anticorpos intraneuronais no soro (anti-Hu, anti-Yo, anti-Ri, anfifisina, anti-CV2, anti-Ma2, MGT-30, AGNA, recoverina). Iniciado tratamento com ABVD (doxorubicina, bleomicina, vimblastina e dacarbazina), prednisona (1 mg/kg/dia) e imunoglobulina (0,4 mg/kg/dia cinco dias) pela hipótese de encefalite límbica paraneoplásica. O paciente evoluiu com melhora progressiva dos sintomas cognitivos. Um mês após o início do tratamento apresentava pontuação de 27 no MEEM. **Discussão:** A encefalite límbica é caracterizada por quadro agudo ou subagudo de alteração do comportamento, amnésia e crises epiléticas parciais ou generalizadas. O achado mais comum na RM crânio é hipersinal em T2/FLAIR nos lobos temporais mesiais. Mesmo com anticorpos neuronais negativos, nosso caso fecha critérios para SPN definida (SPN clássica associada a presença de neoplasia). Cerca de 50% das EL paraneoplásicas são soronegativas, e as neoplasias mais comumente associadas são: Ca de pulmão (pequenas células), timoma, mama, testículo e mais raramente LH. **Conclusão:** A encefalite límbica associada ao LH é uma entidade rara, com poucos casos descritos na literatura. É importante seu diagnóstico precoce, visto que ocorre boa recuperação neurológica com o tratamento do linfoma.

LINFOMA DE NÃO HODGKIN

331. LINFOMA NÃO HODGKIN CUTÂNEO CD30+ TRATADO COM SUCESSO COM BRENTUXIMABE

Andrade CS^a, Teixeira FS^a, Candeia AS^a, Sales AKS^a, Andrade BD^a, Botelho LFB^b

^a Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa, PB, Brasil

^b Real Hospital Portugêses de Beneficência em Pernambuco, Recife, PE, Brasil

Introdução: Os linfomas de células T cutâneo (CTCLs) são um grupo raro de linfoma de células T maduras que representam um conjunto de linfomas não Hodgkin (LNH) extranodais, 4% de todos os LNH, dos quais micose fungoide (MF) é a mais comum. A incidência por idade anual global de CTCL é de aproximadamente seis casos por um milhão, é duas vezes mais comum em pacientes do sexo masculino, com incidência maior na

faixa entre 50-60 anos. Os pacientes com doença em estágio inicial, frequentemente, têm um curso clínico indolente, porém aqueles com estágios avançados têm uma sobrevida reduzida. **Objetivo:** Retratar a história de um paciente que foi diagnosticado com linfoma não Hodgkin, foi tratado com brentuximabe vedotin e obteve a regressão de suas lesões, apesar de esse não ser o medicamento de escolha para tratar LNH. **Material e métodos:** Este trabalho foi feito a partir de um relato de caso de um paciente da clínica Oncovida – Serviços Médicos, em João Pessoa. As informações foram obtidas por meio de análise do prontuário do paciente e revisão da literatura a partir das bases MEDLINE, PubMed, SciELO. Na busca, foram usados os descritores “non-Hodgkin’s lymphoma”, “cutaneous” e “CD30” e selecionados trabalhos publicados entre 2005 a 2015. **Relato de caso:** Paciente com 42 anos, sexo masculino, branco, administrador, apresenta histórico de lesão em membro superior esquerdo e inferior direito (MID) cujo estudo histopatológico comprovou LNH cutâneo CD30+ e Alk-, além de ter apresentado ademomegalias na região inguinal e axilar esquerda que evidenciou o mesmo linfoma. O paciente foi encaminhado à radioterapia (RT) local com controle da lesão. Contudo, no local da RT observou-se o surgimento de novas lesões cutâneas, caracterizadas por nodulações eritematosas com cerca de 1 cm em região de braço esquerdo; não houve resposta ao tratamento com corticoides tópicos. Assim, foi feita terapia com Chop (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona) (seis ciclos); houve uma importante redução dos nódulos, porém as lesões remanescentes começavam a progredir após descontinuada a quimioterapia. Em vista da doença recidivada/refretária, optou-se por prosseguir com altas doses de quimioterapia seguida de resgate com células-tronco hematopoiéticas análogas. Foi iniciado o metotrexate semanal, mas apresentou pouca melhoria clínica, persistiu com dor importante. Contudo, após um ciclo, houve regressão significativa da lesão tumoral, evoluiu, porém, com dor neuropática e dermatite semelhante a herpes-zoster. Assim, com a finalidade de melhorar sua qualidade de vida, foi iniciado o brentuximabe. O paciente apresentou, durante as semanas do tratamento, náuseas, diarreia e dores em local de MID. Contudo, houve uma importante melhoria nas lesões. Após o continuado uso de brentuximabe, o paciente evoluiu com melhoria expressiva, com cicatrização da lesão do MID e sem apresentar outras queixas significativas. Após cinco ciclos do brentuximabe, o PET-CT foi negativo, demonstrou resposta completa ao tratamento. **Discussão:** O brentuximabe é um anticorpo monoclonal anti-CD30 conjugado a uma molécula monometil auristina E, tendo com alvo as células tumorais que expressam CD30, é usado para linfoma de Hodgkin e anaplásico de grandes células sistêmico. Assim, o conhecimento deste caso se faz importante, pois vários pacientes podem se beneficiar desse tratamento.

332. CASO DE LINFOMA HEPATOESPLÊNICO DE CÉLULAS T GAMMA-DELTA

Almeida DR^a, Lamaison DB^b, Kaczmarck RJ^b, Pacheco VB^b

^a Hospital São Vicente de Paulo, Passo Fundo, RS, Brasil

^b Universidade de Passo Fundo (UPF), Casca, RS, Brasil

Introdução: O linfoma hepatoesplênico de células T gamma-delta (LHCTGD) é uma neoplasia agressiva com origem nas células T citotóxicas que cursa com proliferação e infiltração linfocítica nos sinusoides hepáticos e da polpa vermelha esplênica, além da medula óssea. **Objetivo:** Relatar o caso de paciente diagnosticado no Hospital São Vicente de Paulo, de Passo Fundo (RS). A raridade e a forma de apresentação dessa patologia justificam a importância de seu relato para a ampliação de seu conhecimento. Existem menos de 100 casos descritos na literatura. **Relato de caso:** Paciente do sexo feminino, 21 anos, negra. Chega à emergência com queixas de fraqueza e sonolência que iniciaram havia três semanas, acompanhadas de dor abdominal. Relata náuseas, vômitos, febre vespertina, emagrecimento, tosse com raia de sangue. Eutrófica, IMC: 21,7, regular estado geral, lúcida, orientada, coerente, mucosas hipocoradas e hidratadas, afebril. Sistema cardiovascular com FC: 120 bpm. Evidenciava hepatoesplenomegalia, baço a 3 cm abaixo do rebordo costal. Investigação laboratorial inicial evidenciou leucometria normal, porém com descrição de linfoblastos (leucócitos: 5.970/mm³, bastonetes 299/mm³, segmentados 2985/mm³, linfócitos 2.448/mm³, blastos 119/mm³, monócitos 119/mm³). Anemia normocrômica e normocítica: hemácias 2,72 milhões/mm³, hemoglobina 7,6 g/dL, hematócrito 24%. Presença de eritroblastos basófilos 17%, policromáticos 6%, ortocromáticos 51%. Plaquetas 85.900/mm³. Desidrogenase lática 846 U/L. Medulograma com infiltrado linfoblástico. A imunofenotipagem de san-

gue periférico compatível com linfoma hepatoesplênico de células T. Cariótipo feminino 46, XX[22]. Ecografia de abdome total com volumosa hepatoesplenomegalia. Instituído tratamento de indução para leucemia aguda baseado em protocolo de tratamento infantil (BFM). Reavaliação medular evidenciou presença de doença resistente. Seguiu-se protocolo intensivo, porém após o segundo bloco persistiu com hiperleucocitose. Devido à internação prolongada e a intercorrências infecciosas, optou-se por seguir protocolo para doença paliativa (protocolo quimioterápico semanal ambulatorial) com necessidades transfusionais frequentes. Após a oitava semana de tratamento paciente reinternou por febre, hiperleucocitose, anemia grave e trombocitopenia. Evoluiu a óbito sete meses após o diagnóstico. **Discussão:** Os linfomas hepatoesplênicos de células T são doenças raras e agressivas, originadas de linfócitos gama delta. Essas células têm papel na resposta imune inata desenvolvidas do precursor tímico na medula óssea CD4-/CD8-. O LHCTGD corresponde a menos de 1% dos linfomas não Hodgkin e tem seu pico de incidência em adolescentes e adultos jovens, média de 20 anos. Os pacientes apresentam sintomas sistêmicos como febre, dor abdominal, fraqueza e hepatoesplenomegalia marcada. Geralmente, manifestam trombocitopenia intensa, com anemia e leucopenia, fase leucêmica e envolvimento da medula óssea em 80% dos casos. A remissão completa com quimioterapia convencional é incomum, a maioria dos pacientes não sobrevive mesmo com o uso de multiagentes quimioterápicos. Existem casos que relatam longa sobrevida após transplante alogênico. A esplenectomia pode ser considerada em alguns casos selecionados para controle da trombocitopenia severa, permite tratamentos mais intensivos. A média de sobrevida é menor do que dois anos.

333. NEOPLASIAS DE CÉLULAS LINFÓIDES B MADURAS: ESTRATIFICAÇÃO PROGNÓSTICA, RESPOSTA AO TRATAMENTO E TEMPO DE SOBREVIDA GLOBAL DOS PACIENTES DIAGNOSTICADOS E ACOMPANHADOS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA ENTRE 2011 E 2014

Cardoso CC, Santos-Pirath IM, Rudolf-Oliveira RCM, Auat M, Del-Moral JAG, Santos-Silva MC

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

Introdução: De acordo com a classificação da OMS (2008), as neoplasias de células linfóides B maduras (NCLBM) abrangem os linfomas de células B (LCB) e as neoplasias de células plasmocitárias (NCP). Estabelecer o diagnóstico com agilidade e exatidão é apenas o primeiro passo para a conduta clínica a ser tomada com o paciente, a qual é muitas vezes influenciada por parâmetros adicionais, como a estratificação prognóstica. **Objetivo:** Avaliar os casos de NCLBM diagnosticados entre 2011 e 2014 e acompanhados no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina (HU-UFSC) em relação à estratificação prognóstica, à resposta ao tratamento e ao tempo de sobrevida global (SG). **Material e métodos:** Os prontuários e os resultados dos exames laboratoriais no momento do diagnóstico foram obtidos do HU-UFSC. Para se determinar o prognóstico dos pacientes portadores de mieloma múltiplo (MM) foi aplicado o sistema de estadiamento International Staging System (ISS); para os portadores de leucemia linfocítica crônica de células B (LLC), os sistemas Rai e Binet; para os portadores de linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) e de linfoma de Burkitt (LB), o International Prognostic Index; e para os portadores de linfoma folicular (LF), o Follicular Lymphoma International Prognostic Index. As categorias de resposta ao tratamento foram definidas como resposta completa/parcial e recidiva/progressão. A SG foi calculada como o intervalo em meses entre o diagnóstico e o óbito ou a data da última consulta médica na Instituição. **Resultados:** Foram incluídos no estudo 93 pacientes adultos portadores de NCLBM. Os subtipos MM, LLC, LDGCB, LF e LB foram os mais frequentes, representaram 23,7%, 15,1%, 12,9%, 11,8% e 7,5% do total, respectivamente. A idade mediana dos pacientes no momento do diagnóstico foi de 58 anos, com um discreto predomínio do gênero masculino (1,3:1). De acordo com os índices prognósticos, observou-se que a maioria dos pacientes portadores de MM foi estratificada como de alto risco (ISS III), enquanto a maioria dos portadores de LLC foi estratificada como de baixo risco (Rai 0 e I e Binet A). Entre os pacientes portadores de LDGCB, LF e LB, 41,7%, 45,5% e 85,7% foram classificados como de risco alto e intermediário-alto, respectivamente. Em relação à resposta ao tratamento, os pacientes portadores de LB foram os que apresentaram maiores índices de recidiva/progressão (83,3%), enquanto os pa-

cientes com LLC apresentaram maiores índices de resposta completa/parcial (87,5%). Para todos os pacientes, a frequência de óbito durante o período de estudo foi de 31,2% e a média de SG foi de 27,6 meses. Foi observada diferença significativa entre os tempos de SG dos pacientes portadores de LB daqueles com LLC, LF e LDGCB. **Conclusão:** O presente estudo demonstrou que a maioria dos pacientes portadores de MM foi estratificada como de alto risco, assim como aqueles com LB, enquanto que perfil diferente foi observado para os pacientes com LLC. Além disso, verificou-se que os pacientes portadores de LB apresentaram maiores índices de recidiva/progressão e menores tempos de SG, o que indica a agressividade desse subtipo de LCB.

334. ENVOLVIMENTO DA CALOTA CRANIANA COMO APRESENTAÇÃO DE LINFOMA NÃO HODGKIN: RELATO DE CASO

Nogueira FL, Ferreira BC, Noguchi K, Vasconcelos JPS, Midega TD

Hospital Alberto Cavalcanti, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: Linfomas não Hodgkin que envolvem e invadem a calota craniana são entidade clínica incomum. Relatamos um caso de linfoma difuso de grandes células B com extensão intracraniana ao diagnóstico. Não há consenso em seu manejo tendo em vista a escassa evidência científica sobre tema. **Relato de caso:** Mulher de 61 anos, natural e procedente da Região do Vale do Jequitinhonha (MG), foi levada ao pronto-atendimento e relatou surgimento, havia quatro meses, de abaulamento em região parietal bilateral. Relacionava o aparecimento da lesão a trauma local. À época, feita drenagem de suposto hematoma subgaleal no município de origem, com informe de saída de secreção enegrecida. Houve, contudo, aumento progressivo da massa e surgimento de linfadenomegalias cervicais. Associou-se à parestesia facial à direita, prurido, cefaleia, perda ponderal, adinamia e sudorese noturna. À admissão apresentava linfadenomegalia submandibular, jugular alto e retroauricular à direita, de consistência endurecida, aderida a planos profundos, o maior de cerca de 3 cm. Propedêutica confirmou presença de linfadenomegalias cervicais, inclusive com centro necrótico, além de descrever lesão expansiva em couro cabeludo em região fronto-parietal alta que media 10,5 x 27,2 x 12,8 cm, associada a lesões osteolíticas fronto-parietais, com extensão intracraniana e meníngea. Não foram evidenciadas lesões em tórax ou abdome. Pesquisa de células neoplásicas em líquor e biópsia de medula óssea foram negativas. Feita biópsia, complicada por posterior ulceração de ferida operatória. Anatomopatológico revelou linfoma difuso de grandes células B que comprometeu o subcutâneo de couro cabeludo. Imuno-histoquímica mostrou positividade para CD20+, CD45 e BCL-2. Sorologias para HIV, hepatite B e C foram negativas, LDH pré-tratamento de 1.053 U/L. Iniciado esquema R-Chop (rituximabe, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona) associado a metotrexate na dose de 3 g/m² a cada 21 dias, com regressão progressiva da lesão. Atualmente encontra-se em terceiro ciclo. **Discussão:** O acometimento da calota craniana por linfomas não Hodgkin é condição rara. Casos descritos na literatura mostram massa indolor no couro cabeludo como manifestação inicial, pode associar-se a cefaleia, déficit neurológico focal ou mesmo convulsões. O linfoma difuso de grande células B é o mais encontrado. O acometimento do sistema nervoso central representa importante desafio terapêutico. Não há consenso sobre o manejo, observam-se abordagens diferentes nos casos já relatados.

335. ANGIOMIRS EXPRESSION PROFILING IN DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA

Borges NM^a, Elias MDV^a, Alves VLF^a, Andrade TA^a, Conti ML^a, Macedo MP^b, Begnami MD^b, Campos AHJFM^b, Etto LY^a, Bortoluzzo AB^c, Alves AC^a, Young KH^d, Colleoni GWB^a

^a Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil

^b A. C. Camargo Cancer Center, São Paulo, SP, Brazil

^c Insper Institute of Education and Research, São Paulo, SP, Brazil

^d MD Anderson Cancer Center, Houston, United States

Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) is the most frequent aggressive non-Hodgkin lymphoma (NHL) and, despite advances in treatment, 30% of cases will be considered refractory or will relapse after chemoimmunotherapy. Currently, the relationship between angiogenesis and angiomiRs in DLBCL is unknown. This study classified 84 DLBCL according to

stromal signatures, using tissue microarray and immunohistochemistry (CD34, CD68, and SPARC). This study also evaluated the expression of pro- and antiangiomiRs in paraffin embedded tissues affected by DLBCL by real-time PCR and correlated them with MVD. 40% of cases were classified as stromal-1, 50% were classified as stromal-2, and 10% were not classified. Increased expression of the pro-angiomiRs Let-7f, miR-17, miR-18a, miR-19b, miR-126, miR-130a, miR-210, miR-296, and miR-378 was observed in 14.3%, 57.1%, 29.8%, 45.2%, 11.9%, 11.9%, 56%, 58.4% and 47.6% of cases, respectively. Among antiangiomiRs, decreased expression was found for miR-16, miR-20b, miR-92a, miR-221, and miR-328 in, respectively, 27.4%, 71.4%, 2.4%, 44%, and 10.7%. When comparing the expression of angiomiRs with molecular subtypes according to the algorithm by Hans et al, association was found between increased expression of pro-angiomiR miR-126, pro-angiomiR miR-130a, and antiangiomiR miR-328, as well as the ABC subtype (non-GCB). However, only in the case of angiomiRs miR-16, miR-221, and miR-328 was it possible to verify expression values compatible with angiogenesis, i.e., higher levels of the three antiangiomiRs in situations of low MVD and stromal-1 signature. The median overall survival has not yet been obtained, with a maximum follow-up of 146.5 months. Worse outcome in groups classified as Ann Arbor III/IV staging, high IPI, and CD34 quartiles III/IV (automated counting). IPI and CD34 confirmed independent impact on survival of the study group. Patients with high-risk IPI showed chance of evolving to death 3.4 times greater than the rest of the group, and patients with higher MVD by automated counting (quartiles III and IV) had chance of evolving to death two times higher than the rest of the group. MicroRNAs showed neither prognostic nor biomarker significance in the independent serum samples' cohort. Four angiomiRs emerged as potential therapeutic targets: pro-angiomiRs miR-17, miR-210, miR-296, and anti-angiomiR miR-20b. An association between the antiangiomiRs miR-16, miR-221, and miR-328 and stromal-1 signature was also confirmed. Although the four microRNAs seem to be important in DLBCL pathogenesis, they do not seem to be useful as biomarkers for DLBCL onset or relapse.

336. LINFOMA PLASMOBLÁSTICO: SÉRIE DE OITO CASOS ATENDIDOS NA SANTA CASA DE SP

Vicente AA, Silva MM, Zing NPC, Brasil SAB, Fortier SC, Rocha TMBS, Chiattonne CS

Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Linfoma plasmoblástico (LPB) é classificado como variante rara do linfoma não Hodgkin difuso de grandes células B, geralmente associado aos pacientes portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida (Aids) e do vírus Epstein-Barr (EBV). Compromete predominantemente a cavidade oral, também reportado em seios paranasais, trato gastrointestinal (TGI) e fígado. Apenas um terço dos casos apresenta HIV negativo e pior prognóstico, com cerca de seis meses de sobrevida (12 meses em pacientes HIV positivo). Ausência da expressão de marcadores de células B (CD20) e forte reatividade para antígenos associados com plasmócitos (MUM1, CD138 e CD38) confirmam o diagnóstico imuno-histoquímico. O índice de proliferação celular (Ki67) é geralmente alto (> 90%) e o Epstein-Barr (EBV) é positivo em 60-75% dos casos. A positividade do EBV se aproxima dos 100% nos casos de acometimento da mucosa oral em associação com HIV. **Material e métodos:** Apresentamos uma série de oito casos de linfoma plasmoblástico acompanhados no ambulatório de linfoma não Hodgkin da Santa Casa de São Paulo, entre 2011 e 2014. Analisamos dados epidemiológicos e clínicos. Toda sorologia (ELISA) positiva para HIV foi confirmada por Western Blot como regulamentado. **Resultados:** Entre os pacientes com LPB da série, quatro apresentavam-se soronegativos para HIV. Desses, três eram do sexo masculino, nenhum com comprometimento de cavidade oral (seis paranasais, TGI, mandíbula e rinofaringe), idade mediana de 46 anos (34-79). Dois pacientes apresentavam doença avançada (um com comprometimento de medula óssea), IPI elevado e pior resposta (um óbito antes do início do tratamento e um refratário ao Chop (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona) e ao DHAP (dexametasona, citarabina e cisplatina). Os outros dois pacientes HIV negativos apresentavam estágio localizado, IPI baixo e atingiram remissão completa com o tratamento instituído (Chop, Epoch [etoposide, prednisona, vincristina, ciclofosfamida e doxorubicina]/Tamo [transplante autólogo de medula óssea]). Os outros quatro pacientes apresentados eram HIV positivos. Dois pacientes com comprometimento de cavidade oral, um do sexo masculino. Os demais eram do sexo

feminino com doença de localização ginecológica (vagina e útero). A idade variava entre 34-65 anos (mediana de 43,5 anos). Três casos eram de estágio avançado e dois desses com IPI elevado faleceram (tratados com Epoch). Os dois pacientes com IPI de 2 foram tratados com Chop e atingiram remissão completa. O diagnóstico imuno-histoquímico foi típico, apresentou forte reatividade para CD38, CD138 e MUM1, em ambos os grupos. **Discussão:** Apesar de apenas oito, nossos casos ilustram bem as características clínicas e epidemiológicas do linfoma plasmoblástico, uma doença incomum em pacientes HIV negativos. Dois de nossos casos apresentavam a forma típica, com comprometimento de cavidade oral e HIV positivo. O diagnóstico geralmente é feito em estágio mais avançado (IPI elevado), confere pior prognóstico (nenhum dos nossos pacientes com doença avançada e IPI elevado sobreviveu). É relatado que os pacientes HIV negativo evoluem de forma desfavorável. Entretanto, em nosso serviço, essa análise não foi comprovada, devido ao número escasso de casos. Nossos pacientes eram cerca de uma década mais novos do que o relatado na literatura (mediana de 55 anos). Doença de prognóstico ruim, sem tratamento padronizado, ainda sem evidências de benefício com tratamentos mais agressivos como Epoch ou Hyper-CVAD, em comparação com Chop.

337. ANÁLISE DE 94 CASOS DE LINFOMAS DIFUSOS DE GRANDES CÉLULAS B A PARTIR DE EXAMES DE IMUNO-HISTOQUÍMICA

Carneiro FH^a, Grando III^a, Lirani W^a, Baller EA^a, Lopes L^a, Koehler J^{a,b}, Koehler CH^{a,b}, Torres LFB^c, Netto MRM^{a,c}

^a Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Ponta Grossa, PR, Brasil

^b Instituto Sul Paranaense de Oncologia (ISPON), Ponta Grossa, PR, Brasil

^c Patologia Médica, Ponta Grossa, PR, Brasil

Introdução: O linfoma difuso de grandes células B é uma espécie agressiva de linfoma e corresponde ao subtipo mais comum de linfoma não Hodgkin nos países ocidentais. A doença acomete principalmente homens na sétima década de vida e ocorre mais frequentemente em sítios nodais. O exame de imuno-histoquímica tem importante papel no diagnóstico e no estudo do prognóstico da doença. **Objetivo:** Determinar para um serviço de anatomia patológica, em Ponta Grossa (PR), a frequência do diagnóstico de linfoma difuso de grandes células B por meio de exames de imuno-histoquímica, bem como o perfil de imunomarcagem expresso nessa população. **Material e métodos:** Analisaram-se todos os exames de imuno-histoquímica feitos de 2002 a 2012. Foram selecionados aqueles com o diagnóstico da doença estudada. Foram coletadas informações sobre localização primária dos linfomas, marcadores imuno-histoquímicos e características da população acometida pela doença. Além disso, aplicou-se o algoritmo prognóstico de Hans, baseado em imunomarcadores para proceder com a classificação dos linfomas difusos de grandes células B em dois grupos: “centro-germinativo” e “não centro germinativo”. **Resultados:** Foram diagnosticados 94 casos da doença nesse serviço, corresponderam a 55% dos casos de todos os linfomas não Hodgkin diagnosticados por imuno-histoquímica e a 3% de todos os diagnósticos imuno-histoquímicos feitos no período. A doença afetou em igual proporção homens e mulheres e a faixa mais acometida foi a de 51 a 60 anos. Houve predomínio discreto de casos nodais e dentre os sítios extranodais o estômago foi o mais afetado. A expressão imuno-histoquímica foi condizente com o esperado, observou-se positividade para marcadores de células B, principalmente o CD20. Aplicou-se o algoritmo prognóstico de Hans et al. e observou-se predomínio de casos centro-germinativos (65%). Porém, essa pesquisa só foi possível em 34 casos (36%), devido à limitação na disponibilidade de marcadores. Observou-se, na amostra estudada, uma alta positividade para o marcador Bcl-2 (82% dos casos), dado que para determinados autores poderia estar associado a um pior prognóstico. **Conclusões:** Para o serviço de anatomopatologia em questão, observou-se uma taxa média de 8,55 casos diagnosticados da doença a cada ano. Observamos um número elevado de casos extranodais (47%), o que pode traduzir um aumento mais acentuado no número de novos casos extranodais em relação aos nodais. De acordo com o ensaio de Hans, o grupo “centro-germinativo”, predominante em nossa amostra, apresenta melhor prognóstico. No entanto, uma das limitações do estudo deriva da dificuldade no custeio da pesquisa de imunomarcadores pelos sistemas público e privado de saúde. Isso faz com que os serviços de anatomia patológica acabem tendo de trabalhar com um número restrito de marcadores. Novos estudos que conciliam a imuno-

histoquímica com dados clínicos poderão ajudar a traçar melhor o perfil dos portadores da doença nessa região.

338. LINFOMA DE CÉLULAS NK TIPO NASAL: RELATO DE CASO

Flores KYM, Orlando EP, Praxedes MK, Apa AG, Mercante D, Lopez LJD, Nucci FM

Serviço de Hematologia, Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP), Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

Introdução: O linfoma de células NK/T tipo nasal antes conhecido como granuloma letal de linha média é um linfoma extranodal raro e agressivo, mais comum na população asiática. É derivado de células NK imaturas ou células T em transformação, que se manifesta na região mediofacial e acomete especialmente o septo nasal e os seios paranasais. A sua patogênese é desconhecida, mas pode estar relacionada à infecção pelo vírus Epstein-Barr (EBV), o qual se associa a um pior prognóstico. Histologicamente há infiltração linfocítica pleomórfica com invasão de pequenos vasos que produzi necrose tecidual. **Relato de caso:** Paciente de 49 anos, sexo feminino, iniciou o quadro em março de 2014 com pápula eritemato-pruriginosa no dorso nasal esquerdo, procurou atendimento no serviço de saúde público, não foi feito diagnóstico. A lesão evoluiu com crescimento progressivo e levou a ulceração e necrose da face lateral esquerda do nariz, expôs concha e septo nasal, com evolução semelhante na ponta nasal direita. Novamente procurou o serviço público, onde foi internada para investigação do caso, com suspeita inicial de esporotricose. Fez uma biópsia de resultado inconclusivo e teve alta do serviço com prescrição de itraconazol 100 mg, duas vezes ao dia, e encaminhamento ao serviço de doenças infecciosas e parasitárias. Evoluiu sem melhoria do quadro, foi internada em janeiro de 2015 para nova investigação diagnóstica. Fizeram-se duas biópsias nasais em fuso, o histopatológico foi compatível com linfoma de alto grau. Fez tomografia computadorizada de cabeça, tórax, abdome e pelve para investigação de disseminação linfática, metástases e estadiamento, sem alterações. A imuno-histoquímica foi compatível com linfoma nasal de células T/NK cutâneo, mostrou alta positividade para CD3, CD4, CD56, CD7 e EBV. Iniciou-se tratamento específico com quimioterapia no esquema Chop (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona). A paciente apresentou melhoria significativa da lesão, com cicatrização da úlcera nasal. Posteriormente, a paciente será encaminhada para consolidação com radioterapia e cirurgia plástica para possíveis reparos nasais que venham a ser necessários. **Conclusão:** O linfoma de células NK/T tipo nasal acomete principalmente adultos do sexo masculino entre a quarta e quinta décadas de vida. Os sintomas iniciais mais frequentes são obstrução e secreção nasal, epistaxe, muitas vezes indistinguíveis de sinusopatias. A progressão da doença ocorre com edema, necrose e destruição óssea, pode infectar e assim gerar odor fétido. Eventualmente estende-se para vias aéreas superiores. Com a evolução, é comum o aparecimento de sintomas como febre, CIVD e síndrome hemato-fagocítica. O diagnóstico é feito por meio do exame histopatológico. A chave é a demonstração dos marcadores celulares NK/T e a identificação do vírus Epstein-Barr. Os diagnósticos diferenciais podem ser doenças infecciosas, autoimunes e neoplásicas, como sífilis, leishmaniose, infecções fúngicas, granulomatose de Wegener, carcinoma e linfoma. Existem diversas modalidades terapêuticas propostas, desde radioterapia isolada até quimioterapia em altas doses. Mas ainda há poucos estudos pela raridade da doença e não há consenso sobre a melhor combinação possível da quimioterapia. Não obstante, o tratamento convencional consiste em Chop. Nova modalidade quimioterápica foi desenvolvida recentemente para estágios avançados, a Smile (dexametasona, metotrexato, ifosfamida, L-asparaginase e etoposido). O prognóstico depende do estágio Ann Arbor da doença.

339. LINFOMA E HIV, A MODIFICAÇÃO DE PARADIGMAS APÓS O ADVENTO DA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL: RELATO DE CASO

Weber D, Tagliari G, Fassina K, Vidor S, Fenili AC, Moreno FL, Pithan CF

Hospital Nossa Senhora da Conceição de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil

B.S.B., 24 anos, sexo feminino, branca, solteira, com história de dor e grande aumento de volume da mama direita havia 30 dias, com neovasculari-

zação local e sintomas compressivos locais. Negou sintomas B. Consultou com a mastologia, com hipótese diagnóstica inicial de tumor fíloides, porém anatomopatológico compatível com proliferação linfóide atípica sugestiva de linfoma não Hodgkin de alto grau. Imuno-histoquímica compatível com linfoma de Burkitt (LB), Ki67 100%. Tomografias evidenciaram linfonodomegalias cervicais, axilares, grande aumento da mama direita, esplenomegalia, grande lesão abdominal na região epigástrica com sintomas compressivos locais e lesões na cauda do pâncreas. Estadiamento: IV-A, IPI (International Prognostic Index) 4, performance status 1 (ecog). Feitas sorologias virais, com sorologia positiva para o vírus da imunodeficiência humana (HIV) e diagnóstico de síndrome da imunodeficiência humana adquirida (Aids). Contagens de CD4 abaixo de 200 células/micrL e carga viral (CV) acima de 180 mil cópias/mL. Iniciada prontamente terapia antirretroviral com esquema tenofovir, lamivudina e efavirenz, além de tratamento quimioterápico com protocolo EPOCH + quimioterapia profilática de doença em sistema nervoso central (uma punção lombar com aplicação de quimioterapia intratecal por ciclo). Feito reestadiamento após quarto ciclo, com remissão completa e melhoria das contagens de CD4 (614 células/micrL) e CV (175 cópias/mL). Completou seis ciclos de tratamento, manteve-se em remissão completa e apresentou CV indetectável e CD4 acima de 400 células/micrL. Os linfomas são um grupo heterogêneo de doenças malignas que acometem o sistema linfo-hematopoiético, são divididos em dois grandes grupos, de acordo com suas características clínicas, microscópicas e imuno-histoquímicas: linfoma de Hodgkin (LH) e linfoma não Hodgkin (LNH). São doenças com prevalência aumentada na população portadora do HIV comparativamente com a população geral, com apresentação inicial mais agressiva e prognóstico mais reservado. O HIV é uma doença com distribuição mundial e o Brasil está entre os países em que é mais frequente, junto com a África do Sul e o Vietnã. Estima-se que no Brasil haja cerca de 430.000 a 520.000 pessoas com HIV. O estado do Rio Grande do Sul é responsável por altas taxas de prevalência de HIV e Aids no país. Dentre as doenças que definem os pacientes com Aids, o linfoma não Hodgkin é a doença maligna mais comum, e os subtipos mais encontrados são o linfoma não Hodgkin difuso de grandes células B (LNHDGCB) e o LB. Esses geralmente cursam com apresentação sistêmica e representam cerca de 70-90% dos casos. Antes do advento da TARV, a neoplasia tinha evolução fatal na maioria dos pacientes, e a quimioterapia, apenas função paliativa. Nos últimos anos, o uso da TARV tem mudado o prognóstico desses pacientes e reduzido a mortalidade relacionada à doença. O tratamento da neoplasia e da infecção viral é complementar. O tratamento da neoplasia depende do controle da replicação viral. Dessa forma, a evolução favorável da paciente em questão é diretamente relacionada com o tratamento conjunto da neoplasia e da infecção viral. O melhor esquema de tratamento quimioterápico, entretanto, ainda permanece controverso, carecendo de novos estudos para melhor compreensão.

340. LESÕES LÍTICAS, UMERAL E DE ARCOS COSTAIS, COM APRESENTAÇÃO INICIAL DE PACIENTE COM LINFOMA DE BURKITT

Junior CRRL^a, Lomonaco LA^b, Pinheiro TCP^c

^a Universidade Federal do Acre (UFAC), Rio Branco, AC, Brasil

^b Hospital do Câncer do Acre, Rio Branco, AC, Brasil

^c Centro de Hematologia e Hemoterapia do Acre (HEMOACRE), Rio Branco, AC, Brasil

Introdução: Linfoma de Burkitt (LB) é uma forma agressiva de linfoma de células B maduras. Dennis Burkitt foi quem primeiro descreveu o tumor em crianças, em 1958. O tumor tem origem em uma célula derivada do centro germinativo que perde a regulação por causa da ativação do oncogen *c-Myc*. A classificação mais recente da OMS para as neoplasias linfóides identifica duas variantes morfológicas do LB: clássica ou atípica (Burkitt-like). **Relato de caso:** Paciente de 69 anos, ex-tabagista e hipertenso, é admitido com história de dor em região deltoide do membro superior esquerdo com evolução havia cerca de três meses associada a sudorese. Sem relato de febre, emagrecimento não intencional ou aparecimento de adenomegalias. Recorreu nesse intervalo de tempo a vários serviços de pronto-atendimento, sempre feita analgesia. Ao exame físico: presença de massa aderida a planos profundos em região do terço proximal do úmero esquerdo. Sem outras alterações ao exame físico. Solicitada tomografia computadorizada de úmero esquerdo e tórax. Evidenciou área osteolítica de limites imprecisos que envol-

veu a medular e cortical posterior da cabeça umeral, sem observação de massa de partes moles, acompanhada de pequeno derrame articular, além de espessamento pleural associado a osteólise permeativa do quarto e do quinto arcos costais posteriores de aspecto neoplásico. Tomografia computadorizada de abdome foi normal e exames laboratoriais mostravam-se sem outras alterações. Exames laboratoriais se mostraram normais e sorologia para hepatite C foi positiva. Biópsia da lesão apresenta infiltração de pequenos linfócitos tipo B difusamente marcados para CD 20, além de ser positivo para CD 10 e Ki-67, sugestivo de linfoma difuso de pequenas células B. Solicitada revisão da lâmina e da imuno-histoquímica, que, após ampliação dos marcadores, mostrou: Ki-67, CD99, Mic2, proteína P30-32, BCL-6, CD20 e CD10 (os dois últimos marcados difusamente), compatível com linfoma de Burkitt. Biópsia de medula óssea não mostrou infiltração. Paciente apresentou toxicidade importante com protocolo de primeira linha e foi iniciado protocolo R-Chop (rituximabe + Chop [ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina e prednisona]) com boa resposta ao regime e remissão do quadro. **Discussão:** No caso relatado, foi encontrado linfoma de Burkitt de manifestação óssea em região umeral em um paciente de 69 anos. Tal neoplasia é classificada em três variantes clínicas: endêmica, esporádica e associada à imunodeficiência. A forma endêmica acomete principalmente crianças de 4 a 7 anos na África Equatorial, que envolve na maioria das vezes a mandíbula. A forma esporádica ocorre mundialmente, abre quadros principalmente com sintomas gastrointestinais. A forma associada à imunodeficiência ocorre majoritariamente em pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana. O rápido crescimento do tumor nesse caso corrobora o diagnóstico de LB, já que essa doença apresenta alto índice de proliferação. Por isso, quimioterapia intensa e de curta duração é necessária. Contudo, tal abordagem acarreta grandes efeitos colaterais. De acordo com novos estudos, a grande sensibilidade do LB a estresse genotóxico apoia o tempo de exposição prolongado a quimioterapia, e não altas doses das drogas, como ponto-chave de seu tratamento.

341. DLBCL WITH CD30+ DOES NOT HAVE A BETTER PROGNOSIS IN A BRAZILIAN COHORT POPULATION

Kinupe AB, Rocha TS, Costa F, Vassalo J, Soares F

A. C. Camargo Cancer Center, São Paulo, SP, Brazil

Background: CD30 is a well-known diagnostic marker in both anaplastic large cell lymphoma (ALCL) and classical Hodgkin's lymphoma (CHL). The chimeric drug brentuximab vedotin, which combines an anti-CD30 monoclonal antibody with the anti-tubulin agent monomethyl auristatin E, demonstrated activity in patients with relapsed CHL, ALCL, and other lymphomas that express CD30+. Previous observational studies have suggested that CD30 may be expressed in 10% to 20% of DLBCLs. It is possible that CD30+ DLBCLs may show different biologic behavior and be amenable to anti-CD30 therapy. The aim of this study was to determine the prevalence of CD30 expression in DLBCL by immunohistochemistry and explore possible relationships with important clinical and biologic variables of DLBCL. **Methods:** The authors retrospectively identified cases of DLBCL diagnosed between January 2007 and March 2014 at this institution. Eligible cases included patients with diagnosis of DLBCL, irrespective of anatomic site or tumor stage. The diagnosis of DLBCL was based on the current WHO 2008 criteria. The following large B cell lymphoma subtypes were excluded from this analysis: post-transplant lymphoproliferative disorders with DLBCL morphology, primary mediastinal large cell lymphoma, and unclassifiable lymphomas with intermediate features, between either DLBCL and Burkitt's lymphoma, or between DLBCL and Hodgkin's lymphoma. Immunohistochemistry was performed with TMA (tissue microarray) in all the cases. Cut-offs of 0%, 5%, (expression between 0 and 10%), 10%, and 20% were used. DLBCLs were classified into germinal center (GC) or non-GC subtypes by applying the Hans algorithm. Logistic regression analysis was performed to assess association between selected variables and CD30 expression. **Results:** A total of 197 cases of DLBCL were eligible for this study; of these 152 cases, (77.1%) had paraffin material available to analyze CD30. Clinical and laboratory characteristics of the entire cohort are shown in Table 1. Fifty-one patients (33.5%) were positive for CD30, using the cut-off > 0%, and 16 patients (10.5%) were positive with the cut-off ≥ 20%. Nine patients (5.9%) were EBV positives and thus were excluded from the survival analyses. With

a follow-up of 34.3 months, according disease free survival, with a cut-off CD30 > 0%, there was no difference between the groups (71.3% vs. 71%, $p = 0.974$). According to cell origin, no difference was found in the GC subgroup (75% vs. 72%, $p = 0.726$) nor APC (68.8% vs. 64.4%, $p = 0.397$). Using the cut-off CD30 $\geq 20\%$, there was also no difference in DFS between groups (75% vs. 70.5%, $p = 0.945$). This also occurred when cell origin was analyzed, GC with or without CD30 (75% vs. 72.7% $p = 0.519$), and for ABC patients with or without CD30 (75% vs. 64.2% $p = 0.524$). According to overall survival, using the cut-off CD30 > 0%, there was no difference between the groups (86.9% vs. 78.2%, $p = 0.257$). GC cell origin patients with CD30+ did not have better outcomes than CD30- patients (81.3% vs. 77.1%, $p = 0.792$). For patients with ABC tumor, there was a slightly better survival for patients with CD30+ (92.3% vs. 74.9%, $p = 0.059$). Using the cut-off CD30 $\geq 20\%$, similar results were found according to CD30 expression. No difference in overall survival was found (87.1% vs. 80.3%, $p = 0.908$). Even vs. 78.7%, $p = 0.292$) nor ABC (90.9% vs. 79.8%, $p = 0.384$).

342. LINFOMA DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS B NO IDOSO COM VÍRUS EPSTEIN-BARR POSITIVO

Tokeshi RN, Souza KJ, Bressa RC, Bressa JAN

Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil

Introdução: O linfoma difuso de grandes células B do idoso com vírus Epstein-Barr positivo (EBV+DLBCL) é um tumor raro do tecido hemotopoiético e linfóide, cuja classificação foi, a partir de 2008, adicionada à Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma entidade provisória. Essa doença é definida como uma proliferação monoclonal de grandes células B com EBV-positivo que ocorre em pacientes acima de 50 anos e que não têm imunodeficiência conhecida ou histórico de linfoma. Estudos relatam maior prevalência da doença no sudeste da Ásia (8-10%), é rara na América (< 5%)¹ e com leve predominância no sexo masculino (razão de 1,4 para 1).¹ Comumente, há a associação de nódulos em diversas áreas do corpo (principalmente em linfonodos) e seu prognóstico é cerca de dois anos de vida. Em comparação com o EBV-negativo, o EBV-positivo apresenta maior agressividade, com uma taxa de mortalidade significativamente maior, além de uma resposta não satisfatória ao tratamento clínico. **Material e métodos:** Levantamento de prontuário, descrição e discussão de relato de casos com revisão bibliográfica em bancos de dados (PubMed e SciELO). **Objetivo:** Descrever caso de paciente com linfoma difuso de grandes células B no idoso (EBV+DLBCL) atendido no Hospital Regional de Presidente Prudente (SP). **Discussão:** Paciente do sexo masculino, 67 anos, diabético e hipertenso. Refere surgimento de linfonodo na região inguinal direita, sem sintomas B. Feita biópsia que confirmou, no perfil imuno-histoquímico integrado ao quadro histológico, linfonodo infiltrado por linfócitos grandes e atípicos, com núcleos irregulares e nucléolos, por vezes evidentes, dispostos em mantos e isoladamente. Essas células eram CD45, CD20, CD30 e MUM-1. Hibridização *in situ* para EBV constituiu positividade. Tomografia computadorizada de tórax apontou linfonodos mediastinais identificados nas cadeias pré-traqueal, subcarinal, paratraqueal, janela aorto-pulmonar e pré-vascular. Tomografias de abdome e pelve apresentaram ausência de linfonodos e esplenomegalia. A biópsia da medula óssea resultou em ausência de infiltração neoplásica. Estadiamento Ann Arbor é III A e IPI foi classificado tipo 2 (intermediário-baixo). Foi iniciado tratamento com R-Chop (rituximabe, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona) por seis ciclos. **Conclusão:** Oyama et al. (2007)² foram os primeiros a relatar a EBV+DLBCL quando 22 pacientes foram submetidos à pesquisa. A maioria tinha mais de 50 anos, 70% apresentavam envolvimento extranodal e mais da metade tinha a doença avançada com um prognóstico pobre. O resultado clínico foi caracterizado por uma baixa taxa de sobrevivência de, aproximadamente, 24 meses. Atualmente, o tratamento-padrão para DLBCL é a combinação de rituximabe, um anticorpo monoclonal quimérico CD20 e Chop (R-Chop). Contudo, pesquisas apontaram uma resposta fraca ao tratamento.

Referências:

- Ok CY, Papatomas TG, Medeiros LJ, Young KH. EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly. *Blood*. 2013;122(3):328-40.
- Oyama T, Yamamoto K, Asano N, Oshiro A, Suzuki R, Kagami Y, et al. Age-related EBV-associated B-cell lymphoproliferative disorders constitute a distinct clinicopathologic group: a study of 96 patients. *Clin Cancer Res*. 2007;13(17):5124-32.

343. LINFOMA NÃO HODGKIN DE CÉLULAS T OCULAR: RELATO DE CASO

Almeida DR^a, Salvador JC^b, Schilling MAR^c

^a Universidade de Passo Fundo (UPF), Casca, RS, Brasil

^b Universidade Federal Fronteira Sul (UFFS), Chapecó, SC, Brasil

^c Hospital São Vicente de Paulo, Passo Fundo, RS, Brasil

Introdução: Os linfomas não Hodgkin constituem um grupo de neoplasias heterogêneo, que pode derivar de proliferação clonal de linfócitos T ou B. Acometem o tecido linfóide, são manifestações extranodais presentes em 25% dos casos. A órbita é um sítio raro da doença, estima-se que ocorra apenas em 1% a 8% dos LNH. O linfoma intraocular primário de células T é ainda mais raro e na maioria das vezes é secundário a um foco inicial cutâneo ou sistêmico de linfoma. **Relato de caso:** Paciente do sexo feminino, 54 anos, agricultora, com quadro de proptose ocular direita e amaurose à esquerda. CT de crânio com lesão expansiva na porção superomedial da órbita direita de 3,9 x 1,6 cm, alteração da densidade de humor aquoso do globo ocular esquerdo com comprometimento retiniano e do nervo óptico. Feita biópsia de conjuntiva ocular com diagnóstico de linfoma T difuso de grandes células, estágio IE. Feito tratamento quimioterápico com protocolo Chop (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona) com redução inicial da massa retro-ocular, mas com progressão de doença após quatro ciclos. RNM com lesão de 3,8 x 1,7 cm com deslocamento lateral da órbita direita e lesão infiltrativa junto à porção posterior do globo ocular esquerdo, que invadiu nervo e globo ocular. Nova biópsia confirmou a mesma histologia inicial. Optou-se pela troca de quimioterapia para protocolo Smile (dexametasona, metotrexato, ifosfamida, L-asparaginase, e etoposido), feitos quatro ciclos com diversas intercorrências infecciosas. Em RNM de reavaliação apresentava regressão completa da massa à direita. **Discussão:** Linfoma intraocular primário é um subtipo de linfoma primário de sistema nervoso central no qual as células do linfoma inicialmente invadem retina, vítreo ou nervo óptico, com ou sem concomitante envolvimento do SNC. Os linfomas oculares mais comuns são Malt, seguido por linfoma de células do manto e folicular. Os tratamentos quimioterápicos, segundo a literatura, não têm demonstrado resultados significativos no tratamento de linfomas oculares. No caso relatado não houve resposta com o protocolo Chop e, após modificação para Smile, obtivemos resposta. Devido à escassez de referências e com dados inconsistentes acerca de evolução da doença, do tratamento, da sobrevida livre de progressão ou da resposta global às terapêuticas, optamos por relatar este caso, a fim de auxiliar no conhecimento da patologia e da opção de tratamento.

344. MACROGLOBULINEMIA DE WALDENSTRÖM EM PACIENTE HIV/AIDS: RELATO DE CASO

Salvador JC^a, Piazzetta K^a, Almeida DR^b, Schilling MAR^a

^a Hospital São Vicente de Paulo, Passo Fundo, RS, Brasil

^b Universidade de Passo Fundo (UPF), Casca, RS, Brasil

Introdução: A macroglobulinemia de Waldenström (MW) é uma doença linfoproliferativa de células B na qual ocorre proliferação de células monoclonais na medula óssea e nos tecidos linfáticos periféricos, associada à produção monoclonal de imunoglobulina M no soro. De acordo com a classificação da OMS, a designação patológica MW é o linfoma linfoplasmacítico. **Relato de caso:** Paciente do sexo masculino, 42 anos, com diagnóstico de HIV/Aids sem tratamento antirretroviral vem à emergência com quadro de febre, cefaleia, astenia, emagrecimento e desorientação. Após investigação, confirmou diagnóstico de meningite criptocócica e foi iniciado tratamento com anfotericina B e flucitosina. Em avaliação radiográfica evidenciou lesão em ápice pulmonar esquerdo. Foi avaliado com TC de tórax que evidenciou lesão pulmonar com contornos espiculados que media cerca de 3,9 x 3,2 cm. Feita biópsia pulmonar com diagnóstico de linfoma não Hodgkin (LNH) linfoplasmacítico. Exames laboratoriais evidenciaram leucopenia/linfopenia, anemia e plaquetopenia. CT de abdome com lesão pélvica 6 x 5,5 cm. Biópsia de medula óssea com plasmocitose, dosagem de IgM 1137 e dosagem de CD4:12. Indicado início de tratamento com protocolo quimioterápico com ciclofosfamida e dexametasona, além do tratamento antirretroviral para a Aids, iniciado 15 dias antes. **Discussão:** A infecção pelo HIV resulta em imunidade celular comprometida, uma condição predisponente para desenvolvimento de neoplasias, 25-40% desses pacientes desenvolverão malignidade, apro-

ximadamente 10% LNHs. Aproximadamente 70-90% dos linfomas relacionados à Aids são altamente agressivos e a maioria é variante imunoblástica do linfoma de grandes células B e do linfoma de Burkitt. Relatamos um caso de linfoma linfoplasmacítico com apresentação de doença indolente com diagnóstico associado a doença infecciosa grave no qual o tratamento quimioterápico deve estar associado aos tratamentos nessa multiplicidade de comorbidades, característica principal dessa população de pacientes.

345. DESORDEM LINFOPROLIFERATIVA PÓS-TRANSPLANTE: RELATO DE DOIS CASOS DIAGNOSTICADOS MAIS DE 10 ANOS APÓS O PROCEDIMENTO

Saito EM^a, Nabhan SK^b, Bendlin RM^a, Parolin MB^a, Sola CBS^c, Coelho JCU^d

^a Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

^b Unidade de Hematologia, Hemoterapia e Oncologia, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

^c Serviço de Transplante de Medula Óssea, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

^d Serviço de Transplante Hepático, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

Introdução: Desordens linfoproliferativas pós-transplante são proliferações linfoides ou plasmacíticas decorrentes da imunossupressão nos receptores de órgão sólido ou células-tronco e podem ter relação com vírus Epstein-Barr (EBV). A manifestação ocorre principalmente no primeiro ano pós-transplante e, conforme o órgão transplantado, em até seis anos na maioria dos casos. **Objetivo:** Descrição de dois casos pós-transplante hepático, ambos do sexo masculino, que desenvolveram desordem linfoproliferativa tardia em 2014. **Relato de casos:** Um dos pacientes, 14 anos pós-transplante, teve diagnóstico de desordem linfoproliferativa pós-transplante (PTLD) confirmado pela imuno-histoquímica. O segundo recebeu diagnóstico 20 anos pós-transplante de linfoma difuso de grandes células B (LDGCB). Ambos os casos em acompanhamento no serviço de transplante hepático do Hospital de Clínicas (UFPR) e em imunossupressão desde a feita de dois transplantes. **Resultados:** O caso de PTLD foi tratado com cinco ciclos de rituximabe isolado e o de LDGCB com seis ciclos de R-Chop (rituximabe, ciclofosfamida, vincristina, doxorubicina e prednisona). Ambos atingiram resposta completa e mantêm seguimento ambulatorial em remissão ainda em uso de imunossupressor. **Conclusão:** Desordens linfoproliferativas pós-transplante são mais comuns nos primeiros anos após o procedimento. Porém, manifestações mais tardias podem ocorrer no contexto de imunossupressão prolongada. O tratamento quimioterápico adequado pode garantir uma boa resposta de acordo com a histologia do linfoma.

346. LINFOMA NÃO HODGKIN DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS B PRIMÁRIO DE MAMA: RELATO DE CASO

Costa EMM^a, Pires EC^a, Costa CSA^a, Pires BC^b, Ribeiro APMR^a, Almeida SBT^a, Nascimento KP^c, Mota LOB^a, Pimentel MO^a, Cruz LA^a

^a Unidade de Alta Complexidade em Oncologia (UNACON), Hospital Dom Pedro de Alcântara (HDP), Feira de Santana, BA, Brasil

^b Centro Diagnóstico Pires (CEDAPI), Feira de Santana, BA, Brasil

^c Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Feira de Santana, BA, Brasil

Introdução: Linfoma não Hodgkin primário de mama (LNHPM) é uma entidade rara com frequência entre 0,04% e 0,54% de todas malignidades mamárias e representa entre 0,38% e 0,7% de todos os linfomas não Hodgkin. Os critérios diagnósticos para o linfoma primário de mama (LPM) incluem apresentação da doença na mama sem história de linfoma prévio e ausência de doença disseminada ao diagnóstico, pode ou não apresentar linfonodos axilares ipsilaterais acometidos. A maioria dos pacientes acometidos é mulher entre 31 e 81 anos. Predomina o LNHPM fenótipo de células B. **Objetivo:** Relatar o caso de uma paciente jovem com linfoma não Hodgkin difuso de grandes células B primário da mama. **Relato de caso:** Paciente do sexo feminino, 23 anos, natural e procedente de Feira de Santana (BA), admitida na Unacon (Unidade de Alta

Complexidade em Oncologia – HDP) em 27 de maio de 2014 para avaliação devido à extensa lesão na mama direita, cerca de 8 cm, com evolução de quatro meses, negava sintomas B. Ao exame físico apresentava apenas lesão mamária extensa na mama direita de 8 cm x 10 cm. Inicialmente foi avaliada pela equipe de oncologia, pois apresentava core-biopsy compatível com carcinoma pouco diferenciado de mama. A imuno-histoquímica foi compatível com proliferação linfóide atípica com predomínio de linfócitos B. A paciente foi submetida a nova biópsia da lesão mamária direita devido a imuno-histoquímica inconclusiva. A biópsia excisional evidenciou lesão de pequenas células redondas e imuno-histoquímica foi compatível com linfoma não Hodgkin difuso de grandes células B (imunofenótipo: CD20 positivo, CD79a positivo, CD3 negativo) com alto índice de proliferação celular de 85%. Feitas tomografias para estadiamento que foram negativas. O estadiamento pela classificação Ann Arbor foi IE. A paciente foi submetida a seis ciclos de quimioterapia com R-Chop (rituximabe, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona) e radioterapia 20 sessões com 36cGy. Evoluiu com resposta completa. Atualmente encontra-se em acompanhamento a cada dois meses no ambulatório de hematologia, sem queixas. **Discussão:** Linfoma primário de mama é uma entidade clínica rara com doença tipicamente observada com uma massa palpável de mama. Os LPM mais frequentes são do tipo não Hodgkin, os tipos histológicos mais comuns são o fenótipo B de grandes células (que corresponde a 50% de todos os LPM e a 2% de todos os linfomas extranodais). A apresentação clínica é muito similar à de pacientes com outras neoplasias mamárias. Biópsia e imuno-histoquímica são essenciais para um correto diagnóstico. A imuno-histoquímica é extremamente importante para diferenciar carcinoma pouco diferenciado ou medular, carcinoma lobular, além de classificar o tipo de linfoma. O tratamento do LNHPM ainda não tem um padrão universal; consiste, na maioria dos casos, no uso combinado de quimioterapia e radioterapia da mama. A cirurgia está reservada para casos selecionados.

347. GRANULOMATOSE LINFOMATOIDE COM ACOMETIMENTO DE SISTEMA NERVOSO CENTRAL: RELATO DE CASO

Bosi GR, Catelli DH, Nervo M, Pereira MP, Zaltron RF, Teixeira BB, Soares TB, Burin MM, Paiva MF, Daudt LE, Silla LMR

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: Granulomatose linfomatoide é uma linfoproliferação B rara, associada ao vírus Epstein-Barr (EBV). Geralmente apresenta-se com acometimento pulmonar, porém pele e sistema nervoso central (SNC) também podem ser afetados. O prognóstico dessa doença é extremamente pobre, com mortalidade de 86% em 14 meses quando há apresentação cerebral. O melhor tratamento ainda é controverso, mas esquemas quimioterápicos com rituximabe ou ainda uso isolado dessa medicação parecem ser as melhores opções. **Objetivo:** Relatar o caso de um paciente com diagnóstico de granulomatose linfomatoide que acometeu SNC e que apresentou resposta ao tratamento com rituximabe isolado. **Relato de caso:** Paciente do sexo masculino, 59 anos, em investigação havia cerca de sete anos para granulomatose de Wegener, por apresentar epistaxe, lesão escavada em pulmão direito, visualizada em tomografia computadorizada de tórax, e injúria renal crônica, porém ANCA não reagente. Já recebera azatioprina, metotrexato, ciclofosfamida, além de prednisona 60 mg/dia, no momento todos sem resposta. Internou-se no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, cushingoide, ECOG 4, devido a quadro de crise convulsiva tônico-clônico generalizada. Fez ressonância magnética de SNC que evidencia lesão arredondada, hipointensa nas sequências em T2 acompanhada de edema vasogênico circunjacente, localizado no lobo occipital direito, com 3,4 x 3 cm axiais. Havia também múltiplas áreas de hiperintensidade em T2/Flair na substância branca subcortical e profunda dos hemisférios cerebrais, das regiões paraventriculares e dos núcleos da base. Paciente foi submetido à biópsia cerebral esterotáxica cujo anatomopatológico demonstrou a presença de infiltrado linfocitário rico em macrófagos com áreas de necrose. Painel imuno-histoquímico evidenciou LCA; CD20; CD68; PAX5; EBV positivos e Ki67 alto índice, sugeriu diagnóstico de granulomatose linfomatoide grau III, segundo classificação da OMS. Dosagem de EBV sérica mostrou-se reagente para IgG, assim como pesquisa de DNA-EBV em líquido. Devido à condição clínica do paciente, optou-se por redução gradual da dose de prednisona e rituximabe isolado. Apresentou regressão total da lesão em SNC após aplicação de quatro doses de rituximabe. **Conclusão:** A granulomatose linfomatoide é

uma condição rara, geralmente agressiva, cuja melhor opção terapêutica ainda não está determinada e com elevada morbimortalidade. No caso relatado, o paciente apresentou resposta ao tratamento proposto, resultado semelhante ao obtido em outros relatos publicados que usaram a mesma terapêutica. Desse modo, consolida-se a ideia de que o rituximabe é efetivo e pode ser considerado como o tratamento de primeira linha para essa condição. No entanto, a manutenção dessa resposta ainda é incerta.

348. COMPOSITE LINFOMA A PROPÓSITO DE UM CASO

Souza KNC, Loureiro AD, Carvalho BRV, Nascimento JS, Thorpe EMS, Oliveira DP, Assis RA, Lima MM

Hospital do Câncer de Pernambuco (HCP), Recife, PE, Brasil

Introdução: Composite linfoma (CL) corresponde a uma situação rara na qual se tem a ocorrência de dois ou mais tipos de linfoma em um mesmo sítio anatômico, simultaneamente ou sequencial. Postula-se que tal ocorrência possa dever-se a uma seleção clonal ou instabilidade genômica, predisposição genética ou presença de uma célula precursora comum ou mesmo resultar da ação de um vírus (principalmente EBV). **Relato de caso:** Paciente do sexo feminino, 54 anos, agricultora, admitida em abril de 2015 em um serviço de onco-hematologia com massa axilar esquerda e mama esquerda de rápido crescimento desde dezembro de 2014 associado a prurido intenso e sudorese noturna. Negava febre e perda de peso. Apresentava massa bulky cervical, axilar e mama esquerdas, linfonodomegalias palpáveis em cadeias anterior, média e posterior direitas e aumento de volume em regiões temporais bilateralmente. Estado geral regular, eupneica, sem sinais de síndrome compressiva ou trombozes. Sorologias negativas. DHL 472, albumina 2,2, anemia e plaquetopenia. Nas tomografias de estadiamento foram incluídos seios da face e flagradas adenomegalias em cadeias periauriculares, intraparotídeas, occipitais, cervicais profundas e superficiais, bucais e supramandibulares um pouco mais exuberantes à esquerda. Além dessas, foram também identificadas linfonodomegalias em todas as cadeias mediastinais, cervicais bilateralmente, a maior à esquerda, que estendia-se até a fossa supraclavicular ipsilateral, englobava vasos centrais com obliteração de planos musculares, gordurosos, tonsilas linguais e parafaríngeas, reduzia a amplitude da coluna aérea de oro e nasofaringe e desviava a traqueia para a direita. Ainda, conglomerados linfonodais em mesentério, interaortocaval e para-aórticos à esquerda, cadeias ilíacas e pélvico inguinais bilaterais. Baço discretamente aumentado e fígado sem alterações. Medula óssea sem infiltração neoplásica. Feita biópsia de gânglio inguinal cujo anatomopatológico sugeriu neoplasia linfoproliferativa e a imuno-histoquímica concluiu por neoplasia linfoproliferativa mista, com componente de doença de Hodgkin e células do manto. Iniciado tratamento com protocolo nórdico (Chop alternando com DHAP [dexametasona, citarabina e cisplatina]), atualmente no sexto ciclo de quimioterapia (terceiro ciclo DHAP), com evolução clínica muito boa e reavaliação de doença com tomografias que mostram resposta parcial muito boa. **Discussão:** No caso em questão, verificamos a ocorrência de dois grupos de células que, na imuno-histoquímica, mostraram um grupo celular compatível com LCM por apresentar CD5, FMC7, CD20, CD43, BCL2 positivos e expressão da ciclica D1 que corresponde a t(11;14)(q13;q32) e envolve o gene da ciclica D1 e a cadeia pesada da imunoglobulina. Já o segundo grupo celular apresentava células positivas para CD30 e CD15 e eram células maiores, em menor número do que as anteriores; trata-se de LH. Do ponto de vista terapêutico, dada sua raridade (há apenas alguns relatos de caso ou de séries de caso), não foi possível determinar prognóstico ou evolução clínica, por isso optamos pelo esquema supracitado, seguido de transplante de células-tronco hematopoiéticas autólogo assim que confirmada resposta completa.

349. LINFOMA DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS B LEUCEMIZADO: A FACE ATÍPICA DE UMA DOENÇA COMUM

Loureiro FZ, Kerbauy MN, Silva DRFC, Hamasaki DT, Barbosa ICV, Oliveira LCP, Brandão AAGS, Lage LAPC, Pereira J

Departamento de Hematologia e Hemoterapia, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Apresentação leucêmica do linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) é rara, sua incidência ainda é desconhecida e manifesta-se pela presença de células morfologicamente imaturas circulantes (centro-

blastos ou imunoblastos) com fenótipo linfóide B maduro e monoclonal. **Objetivo:** Descrever dois casos de LDGCB em fase circulante, com atenção para o diagnóstico e prognóstico associados a essa condição. **Relato de caso 1:** Homem, 74 anos apresenta-se com lesão cutânea em região torácica havia 40 dias, fraqueza em membros inferiores havia 20 dias, incontinência urinária e constipação havia 10 dias. À admissão: força grau II em MMII, hemograma normal, DHL de 2.341 U/L, β 2microglobulina 2,9 μ g/mL e infiltração por células linfóides atípicas em LCR. TC e RNM de coluna: massa paravertebral localmente invasiva de D10 a L2 e PET-CT com captação em massa paravertebral, perirrenal, linfonodo peripancreático, esqueleto axial e apendicular e infiltração de próstata e vesícula seminal. Biópsia de lesão cutânea: LDGCB com IHQ BCL-2, BCL-6, CD20 positivos, CD3, CD10, CD30, ciclina D1 e TdT negativos com Ki67+ (> 90%), confirmando diagnóstico de LDGCB, IPI alto risco (5 pontos), Ann Arbor IVXB e síndrome de compressão medular. Durante internação evoluiu em hemograma com presença de 21% de células com morfologia compatível com centroblastos e imunofenótipo CD45, HLA-DR, CD19, CD20, CD22, CD10 positivos e CD34, CD117, CD13, CD14, CD33, CD64, MPO, CD36, CD7, CD3cy negativos, compatível com LNH em fase circulante. Paciente foi tratado com R-mini-Chop e Madit, porém evoluiu com choque séptico e óbito antes que a continuidade do tratamento pudesse ser aplicada.

Relato de caso 2: Mulher, 67 anos, procurou o pronto-socorro com queixa de dor abdominal, empachamento, perda ponderal de 6 kg em três meses, febre, sudorese noturna e aumento do volume abdominal. À admissão: baço palpável a 5 cm RCE, sem linfonodomegalias, Hb 12,5, Leuco 25.200 (N 20.160, Ly 2.270), Plaquetas 52.000, com 9% de células sugestivas de centroblastos; Cr 3,1, AU 12, Cai 4,61, K 5,3, Mg 2,3 e P 9,3, compatíveis com síndrome de lise tumoral. Feita TC abdome e tórax: hepatoesplenomegalia, conglomerado linfonodal abdominal e linfonodomegalia em múltiplas cadeias mediastinais e cervicais. Imunofenotipagem de medula óssea com 19,92% de células com imunofenótipo linfóide B maduro e anômalo (CD19+, CD20+, CD79b+, CD200-, CD10-, CD23-, FMC7+, CD5-) o que, associado aos achados morfológicos, permitiu concluir tratar-se de LNH de imunofenótipo B em fase circulante, possivelmente LDGCB em fase leucêmica. Biópsia de medula óssea mostrou infiltração por células B pequenas. A paciente evoluiu com choque séptico de foco pulmonar e óbito seis dias após a admissão, antes da feitura de biópsia linfonodal e do tratamento da doença de base. **Discussão:** Ainda são incertos os mecanismos que levam à fase circulante do LDGCB. Desregulação na expressão de moléculas de adesão está associada a alteração do homing linfocitário, favorece a migração do tecido neoplásico para o sangue periférico. Caracteristicamente, os pacientes apresentam-se com doença extranodal e altas taxas de complicações precoces e morte. **Conclusão:** Apesar de raro, o LDGCB deve ser considerado no diagnóstico diferencial de linfoproliferações B em fase leucêmica e tal apresentação parece estar associada a maior morbimortalidade e intolerância ao tratamento quimioterápico usual.

350. LINFOMA DE CÉLULAS T HEPATOESPLÊNICO: RELATO DE CASO EM PACIENTE IDOSA

Barbosa AA, Lima RS, Rossi SB, Luccas PVL, Borducchi DMM, Rigoni L, Martins MP, Sclavi LB

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

Introdução: O linfoma de células T hepatoesplênico (HSTL) é uma condição rara, de natureza extranodal e sistêmica, originado de alteração de células T citotóxicas, acomete receptor do tipo gama-delta ($\gamma\delta$). A Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece esse diagnóstico dentro de duas classificações: o linfoma de células T hepatoesplênico (HSTL) e o linfoma de células T $\gamma\delta$ primário cutâneo (PCGD-TCL). A proliferação das células neoplásicas se localiza principalmente nas áreas dos sinusoides do fígado e da polpa vermelha do baço, bem como também pode estar presente em região sinusal da medula óssea. Os pacientes com essa condição apresentam trombocitopenia acompanhada de anemia, leucopenia e sintomas sistêmicos, como febre, dor abdominal, astenia e importante hepatoesplenomegalia, na ausência de linfadenopatia. **Relato de caso:** CSB, 58 anos, sexo feminino, em novembro/2014 foi internada em nosso serviço para investigação de anemia, plaquetopenia e disfunção hepática, com queixas de mialgia, astenia, febre vespertina e sangramentos espontâneos havia um mês. Ao exame físico, apresentava hepatoesplenomegalia com fígado palpável a 4 cm do rebordo costal direito e baço a 8 cm do rebordo costal esquerdo. Durante a investigação, feita biópsia de MO que foi compatível com linfoma de células T periféricas gama delta.

Iniciado tratamento com esquema Chop (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona) com doses reduzidas devido a alterações de função hepática. Foram feitos quatro ciclos de Chop, o primeiro em dezembro/2014 e o quarto em março/2015. Os intervalos entre os ciclos foram maiores do que 21 dias, por citopenias severas após cada ciclo administrado. No entanto, paciente seguia refratária ao tratamento, manteve alteração de função hepática, icterícia, plaquetopenia e esplenomegalia importante. Sem a resposta esperada ao tratamento, foi proposta radioterapia esplênica, a fim de reduzir as citopenias, porém em 12/04/2015, antes de iniciar a radioterapia, paciente internou com quadro de neutropenia febril de difícil controle e sepse refratária ao tratamento, e evoluiu a óbito em 15 dias. **Discussão e conclusão:** Estima-se que o linfoma hepatoesplênico de células T (HSTL) compreenda menos de 1% de todos os casos diagnosticados de linfomas não Hodgkin (LNH). O pico de incidência dessa entidade é na adolescência e nos adultos jovens, predominantemente no sexo masculino. O caso da paciente relatada, dessa forma, se distancia substancialmente da prevalência desse linfoma. Ademais, esse quadro clínico também está relacionado com notável resistência à quimioterapia. A maioria dos pacientes evolui para óbito em seis meses do diagnóstico, conforme o caso relatado.

351. LINFOMA LINFOBLÁSTICO DE CÉLULAS B COM ACOMETIMENTO EXCLUSIVAMENTE ÓSSEO – A PROPÓSITO DE UM CASO

Lima MM, Souza KNC, Loureiro AD, Thorpe EMS, Nascimento JS, Carvalho BRV, Oliveira DP, Assis RA

Hospital do Câncer de Pernambuco (HCP), Recife, PE, Brasil

Introdução: Linfoma linfoblástico é uma neoplasia de linfoblastos que se apresentam como blastos típicos, de tamanho pequeno a médio, com citoplasma escasso, cromatina dispersa e moderadamente condensada e nucléolo indistinto. São identificados de forma primária, em linfonodos e em áreas extralinfonodais; podem ser de linhagem B ou T, de acordo com o tipo celular acometido. **Objetivo:** Relatar o caso de uma jovem com diagnóstico de linfoma linfoblástico de células B, com acometimento exclusivamente ósseo. **Relato de caso:** Paciente, do sexo feminino, 18 anos, com quadro de dor e fraqueza importante em membros inferiores, que a impediam de deambular. A imagem radiográfica mostrava lesões líticas em toda extensão do esqueleto axial e pelve. Feita biópsia de osso que sugeriu linfoma não Hodgkin de células B, não apresentava adenomegalia nas tomografias de estadiamento. Devido à gravidade do quadro, iniciou terapia de citorredução com Chop (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona), apresentou melhora clínica, fez o seguimento com a oncologia. Fez oito ciclos de Chop, porém voltou a apresentar dores ósseas e fez PET-CT, que evidenciou atividade de doença linfoproliferativa em esqueleto axial, arcabouço costal, membros superiores e membros inferiores. Fez nova biópsia em crista íliaca direita, que evidenciou linfoma linfoblástico de células B, marcando CD4+, CD20+, CD10+, TdT. O mielograma, a imunofenotipagem e o cariótipo foram normais. Foi encaminhada para um serviço de hematologia, foi iniciado o resgate com BFM 2002, para alto risco, além de coletado o HLA da paciente e dos irmãos, com detecção de dois irmãos HLA full-match 10/10. Reavaliada doença após terceira consolidação, manteve o PET-CT positivo e biópsia de medula óssea resultou em quatro linfoblastos, com mielograma normal. A paciente apresentou fratura espontânea de coluna torácica, nível de T10, foi mantida em tratamento conservador. Foi iniciado segundo resgate com protocolo Flag. Paciente apresentou neutropenia febril, evoluiu com candidíase disseminada e óbito em UTI. **Conclusão:** O linfoma linfoblástico é a manifestação extramedular de uma leucemia linfóide aguda, é indicado fazer o mesmo tratamento. É rara a ocorrência de linfoma linfoblástico de células B, é mais agressiva essa forma de apresentação. Nessa paciente, como já havia sido exposta a quimioterapia, definiu-se usar protocolo pediátrico para entrar em remissão e ir para o transplante de células-tronco hematopoéticas alogênico. Infelizmente a doença era agressiva e a paciente não entrou em remissão, foi necessário novo resgate, mas a paciente não resistiu ao tratamento imposto.

352. LINFOMA NÃO HODGKIN FOLICULAR DUODENAL: RELATO DE DOIS CASOS

Cortez AJP^a, Almeida MSS^b, Silva RL^b, Fabbri BC^a, Monteiro CH^a, León JIP^a, Oliveira HSB^a, Miguel ML^a, Machado PO^a, Melice RS^a

^a Liga Acadêmica de Hematologia e Hemoterapia, Centro Universitário São Camilo, São Paulo, SP, Brasil

^b Instituto Brasileiro de Controle do Câncer (IBCC), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O linfoma não Hodgkin (LNH) folicular é uma neoplasia linfóide indolente, derivada de linfócitos B, que sofreram mutação no centro germinativo e exibem padrão histológico do tipo folicular. É raro no trato gastrointestinal, porém quando ocorre nesse local o envolvimento duodenal é frequente. **Objetivo:** Reportar dois casos de LNH folicular de duodeno e sua resposta ao tratamento quimioterápico. **Relato de caso 1:** Mulher, 54 anos, branca, previamente saudável, iniciou em outubro/2013 quadro de dor em queimação na região epigástrica, de moderada intensidade, com períodos de acalmia, sem relação com alimentação. Sem alterações no exame físico. Fez endoscopia digestiva alta (EDA) e observaram-se lesões de aspecto vegetante em duodeno, múltiplas, sem sinais de obstrução ou sangramento. A biópsia local foi compatível com LNH folicular. No estadiamento inicial, as tomografias computadorizadas (TC) de tórax, abdome e pelve foram normais e o PET-CT demonstrou tênue captação em região mesogástrica. **Relato de caso 2:** Homem, 43 anos, branco, relatava plenitude pós-prandial associada a epigastralgia com início havia três meses. Já apresentava gastrite havia cinco, em uso prévio de omeprazol (*Helicobacter pylori* negativo). Sem alterações no exame físico. Na EDA, observaram-se lesões elevadas em duodeno, a biópsia local foi compatível com LNH folicular. As TC foram normais e o PET-CT não evidenciou hipermetabolismo glicolítico. O estadiamento de Lugano ao diagnóstico foi estágio I nos dois casos relatados; foi feito tratamento de quimioterapia com seis ciclos de RCVP (rituximabe, ciclofosfamida, vincristina e prednisona) com remissão completa confirmada em EDA e biópsia local. **Discussão:** Nos dois casos relatados, identificamos sintomas e características endoscópicas semelhantes, com acometimento localizado do linfoma. Ambos não têm o acometimento de linfonodos a distância e ausência de sintomas B. A queixa principal em ambos os casos foi de epigastralgia em queimação e antecedentes de gastrite, sintomas bastante comuns na população e de diagnóstico inespecífico, demandam, assim, investigação por meio da EDA. Por meio dessa, verificou-se, nos dois casos, presença de lesões vegetativas e polipoides difusas, sem sinais de sangramento ou obstruções, o que indicou, novamente, um crescimento indolente da lesão. O PET-CT é um dos exames mais relevantes na caracterização de um linfoma por permitir um estadiamento preciso da doença, e revelou captação positiva em mesogástrio, no primeiro caso, e negativo, no segundo. Ambos os pacientes foram tratados com RCVP, seis ciclos, e evoluíram sem evidências de doença nas últimas endoscopias com seguimento de . **Conclusão:** Na literatura, o tratamento do LNH folicular em duodeno é variável, pode basear-se em observação, radioterapia, rituximabe isolado ou quimioterapia com rituximabe. Observamos resposta completa nos dois casos relatados após tratamento com quimioterapia e rituximabe, além de boa tolerabilidade ao tratamento com o esquema descrito.

353. RELINFO – REDE DE INSTITUIÇÕES SEDIADAS NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO PARA A IMPLANTAÇÃO DO REGISTRO DE LINFOMAS: RESULTADOS PRELIMINARES

Schelig A^a, Hori MY^b, Praxedes MK^c, Monteiro F^a, Almeida AJ^e, Espariz REG^f, Gomes L^g, Conti LA^{h,i}, Guasti GAPⁱ, Elehep S^k, Stefanoff CG^a

^a Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Instituto COI de Educação e Pesquisa, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^c Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP), Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

^d Hospital Federal da Lagoa (HFL), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^e Hospital Universitário Gaffrée e Guinle (HUGG), Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^f Hospital Federal Cardoso Fontes (HFCF), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^g Centro de Pesquisa da Oncologia D'Or, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^h Hospital de Força Aérea do Galeão (HFAG), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

ⁱ Oncoclínica Centro de Tratamento Oncológico Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^j Hospital Central do Exército (HCE), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^k Hospital Central da Polícia Militar do Estado do Rio de Janeiro (HCPM), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Existem escassos dados no Brasil sobre incidência, evolução e prognóstico dos pacientes com linfoma. O principal objetivo deste trabalho foi descrever o perfil clínico dos pacientes com linfoma matriculados nas instituições participantes do Registro de Linfomas (Relinfo) em 2014. O Relinfo (ClinicalTrials.gov: NCT02265497) é um estudo multicêntrico, observacional, prospectivo, com coleta de dados clínicos, histopatológicos, de tratamento e acompanhamento de pacientes (crianças e adultos) diagnosticados com linfoma de Hodgkin (LH) ou linfoma não Hodgkin (LNH). Até o momento, o estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa de 12 centros de referência do Rio de Janeiro (incluindo três centros privados). Os dados foram obtidos dos registros hospitalares com a plataforma web OpenClinica® que emprega modelos de formulários digitais, com dados criptografados e assinaturas eletrônicas, e garante a segurança, rastreabilidade e confiabilidade das informações. A monitoria, o gerenciamento e a auditoria dos dados foram conduzidos pela Área Representativa de Pesquisa Clínica (ARPC) do Instituto Nacional do Câncer (INCA). Dos primeiros 180 pacientes elegíveis, 127 foram diagnosticados com LNH (70%) e 53 com LH (30%), com discreto predomínio do sexo feminino (52,2%). A mediana de idade foi de 47 anos; a maioria < 65 anos (78,3%) e apenas quatro com > 80 anos (2,2%). A coorte incluiu nove pacientes com < 16 anos (5%). Os subtipos mais frequentes de LNH foram: linfoma difuso de grandes células B (LDGCB; 34,6%); linfoma folicular (LF; 17,3%); linfoma difuso de pequenas células (7,9%) e linfoma T periférico (LTP-SOE; 6,3%). O subtipo esclerose nodular foi o mais frequente dentre os LH (64,2%). A maioria dos pacientes apresentou doença avançada (III e IV; 65,2%) e PS < 2 (61%). Doença bulky (> 7,5 cm) foi identificada em 33 pacientes com LNH (7,2%) e em 18 pacientes com LH (6,3%). Foram registrados casos de infecção pelo HIV (7/158; 4,4%), hepatite B (1/145; 0,64%), hepatite C (6/162; 4,5%) e HTLV-I (5/153; 3,3%). Informações sobre consumo de tabaco foram registradas em 31,1% dos casos (56/167) e de álcool em 31,7% (57/168). O tempo mediano entre o início dos sintomas e o diagnóstico foi de 5,3 meses, e o tempo mediano entre o diagnóstico e o início do tratamento, de 24 dias. Do total, quatro pacientes evoluíram para óbito antes de receber qualquer tratamento; eram LDGCB (um), LTP-SOE (dois) e LDGC anaplásico ALK+ (um), todos com doença avançada e PS ≥ 3. Doença primariamente nodal foi observada em 96% dos LH, a região cervical foi o sítio mais frequente (33,8%). Um IPS elevado (3, 4 ou > 5) foi observado em 32% desses pacientes. Nos casos de LNH houve 30 casos (23,6%) de doença primariamente extranodal, medula óssea, osso e pele foram os sítios mais frequentes. O IPI identificou 29,4% (34/116) dos pacientes com riscos alto e intermediário alto. Nos LF, o índice FLIPI foi capaz de identificar pacientes com riscos alto e intermediário alto em 75% dos casos. Durante o primeiro ano do Relinfo foram estabelecidos com sucesso o registro e a coleta de dados clínicos de pacientes com linfoma atendidos nos centros participantes. Espera-se que essa iniciativa possa retratar de forma confiável a doença na região e subsidiar o planejamento de estudos clínico-epidemiológicos com as informações dessa base de dados. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), Proc. E-26/111.429/2012.

354. PRESENCE OF T(14;18) TRANSLOCATION IN HEALTHY INDIVIDUALS VARIES ACCORDING TO ETHNIC BACKGROUND IN THE BRAZILIAN POPULATION

Levy D^a, Bertoldi ERM^a, Ruiz JLM^b, Pereira J^a, Bydlowski SP^a

^a Laboratório de Genética e Hematologia Molecular (LIM 31), Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, PR, Brazil

Introdução: Chromosomal translocation involving the long arms of chromosomes 14 and 18 has been detected cytogenetically in approximately 90% of follicular lymphomas and 20-30% of diffuse large cell lymphomas. The unusually high levels of bcl2 create t(14;18)-positive B lymphocytes that can accumulate and escape from their natural control mechanism. Several groups have demonstrated that healthy individuals can present the t(14;18) translocation. More than 50% of healthy Western European and North American individuals have circulating B-cells that carry this translocation. Nevertheless, the percentage of healthy individuals carrying the t(14;18) translocation varies greatly among different populations. **Objective:** In this report, the presence of the translocation was

examined in healthy blood donors in Brazil, a country considered as an ethnic melting pot. **Methods:** The translocation was detected by nested PCR in 227 peripheral blood samples from individuals with different ethnic backgrounds. **Results:** The t(14;18) translocation was found in 45 of 85 white individuals (52.94%); in 57 of 72 (79.17%) black individuals; and in 68 of 70 individuals (97.14%) of Japanese descent. **Conclusion:** The frequency of the t(14;18) translocation in the Brazilian population varies according to ethnic background. **Funding:** Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Fluidos Complexos (INCT-Fcx).

355. ANÁLISE DO MARCADOR CD30 EM PACIENTES COM LDGCB TRATADOS NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE CURITIBA – UFPR

Spinelli BFB^{a,b}, Saito EM^a, Bortolotto AP^b, Mattar M^b, Vicuate VT^b, Rebutini PZ^a, Nabhan SK^{a,b}, Sola CBDS^a

^a Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

^b Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUC-PR), Curitiba, PR, Brasil

Introdução: O linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) é o linfoma mais comum nos países ocidentais e inclui um grupo bastante heterogêneo de doenças, identificadas pelos seus aspectos morfológicos, imunohistoquímicos (IHQ) e moleculares de acordo com a classificação da Organização Mundial de Saúde. A presença do marcador CD30 pela IHQ tem sido descrita como de bom prognóstico nesses pacientes, correlacionado a um aumento de sobrevivência livre de progressão e global. **Objetivo:** Descrever o perfil clínico de pacientes portadores de LDGCB do Hospital de Clínicas de Curitiba (UFPR), incluindo a análise do marcador CD30 pela IHQ. **Material e métodos:** Análise retrospectiva de 33 pacientes com diagnóstico de LDGCB do HC-UFPR, de 2006 a 2015, em relação às suas características clínicas, laboratoriais e IHQ. **Resultados:** Foram analisados 33 pacientes, 18 homens e 15 mulheres. Mediana de 46 anos (18-88 anos). A presença de doença avançada, caracterizada pelo estágio clínico Ann Arbor III-IV, foi vista em 62,5% dos pacientes e a presença de sintomas B, em 54,5%. A maioria apresentava boa performance status (ECOG 0-1) e IPI baixo (0-1), que corresponderam a 94% e 53,5%, respectivamente. Presença de tumor Bulky ao diagnóstico em 28,5% dos casos e sítio extranodal em 48,3%. O esquema R-Chop (rituximabe, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona) foi o tratamento para a maioria dos pacientes e em 80% resultou em resposta completa. Foram identificadas três pacientes com diagnóstico de HIV/Aids. A pesquisa do marcador CD30 foi feita em somente 23 pacientes e em 13% deles era positiva. A mediana de seguimento do estudo foi de 23,5 meses (4-110). Ocorreram cinco óbitos no período descrito, corresponderam a uma mortalidade de 15%. Apesar de uma mediana de idade mais baixa (46 anos), a maioria das características descritas foi semelhante aos dados descritos na literatura: predomínio do sexo masculino, diagnóstico em EC avançado, presença de sintomas B, IPI baixo e alta taxa de resposta completa ao tratamento. Inclusive a frequência de CD30 positivo em 13% dos pacientes. **Conclusão:** Ainda não foi possível uma correlação prognóstica entre a presença do marcador e os resultados desses pacientes pela IHQ incompleta em 10 dos 33 casos descritos. Essa análise prevê não só a complementação IHQ em relação ao CD30, como também a separação dos LDGCB de acordo com a célula de origem (centro germinativo ou célula B ativada). No futuro, com o advento de novas opções terapêuticas, como a associação de anticorpos monoclonais ou imunomodulares aos esquemas de quimioterapia, essa informação será de suma importância no manejo adequado desse grupo de pacientes.

356. LINFOMA NÃO HODGKIN DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS B CUTÂNEO PRIMÁRIO LEG TYPE COM APRESENTAÇÃO ATÍPICA: RELATO DE CASO

Vidal DR, Guaraná M, Araújo AC, Baptista RL, Medeiros J, Solza C

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

Introdução: Os linfomas cutâneos primários de células B correspondem a 1% de todos os linfomas não Hodgkin. De acordo com a classificação WHO 2008, são subdivididos em: linfoma cutâneo primário da zona marginal, linfoma cutâneo primário do centro folicular e linfoma cutâneo primário de grandes células B leg type (LCPGCB, leg type). O LCPGCB leg type

corresponde a 4% de todos os linfomas primários de pele e a 20% de todos os linfomas primários cutâneos de células B. Ocorre tipicamente em pacientes idosos, em torno da sétima década, e preferencialmente no sexo feminino, com uma relação de homens:mulheres de 1:3-4. O quadro clínico cursa habitualmente com nódulos violáceos ou avermelhados, de crescimento rápido, que frequentemente acometem membros inferiores. Porém, em 10-15% dos casos as lesões surgem em outros locais. A disseminação extracutânea pode ocorrer, o que confere pior prognóstico. A morfologia e a imuno-histoquímica definem o diagnóstico e o habitual é CD10-, bcl2+, MUM1+, bcl6+ (poucos casos). O tratamento deve ser baseado no estadiamento da neoplasia; podem ser usadas desde radioterapia em casos de doença localizada até quimioterapia sistêmica. **Objetivo:** Relatar o caso de um paciente com LCPGCB *leg type*, com apresentação clínica atípica. **Relato de caso:** RCC, masculino, 59 anos, admitido no serviço de hematologia e hemoterapia do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) em dezembro de 2013, com história de lesão em pálpebra inferior direita havia 11 meses, inicialmente tratada como celulite. Durante o período evoluiu com aumento progressivo da lesão. Negava febre, emagrecimento e sudorese noturna. Ao exame físico apresentava edema de pálpebra inferior direita, sem linfonodomegalias ou esplenomegalia. A biópsia da lesão descrevia neoplasia pouco diferenciada e a imuno-histoquímica revelou positividade para CD20, Bcl2, Bcl6, MUM1. Já CD3, CD10, S100 e citoqueratina AE1/AE3 foram negativos, com Ki67 50%. O laudo histopatológico da lesão foi LCPGCB *leg type* e a biópsia de medula óssea não mostrava infiltração por células neoplásicas. O estadiamento do paciente era T1N2M1 ou IVA (Ann Arbor) e o tratamento proposto foi o R-Chop (rituximabe, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona), devido ao acometimento sistêmico. Após a feitura do quarto ciclo, o paciente ainda apresentava evidência de doença (resposta parcial) e completou-se o tratamento com mais quatro ciclos de quimioterapia, no total oito ciclos de R-Chop em outubro de 2014. Atualmente, encontra-se em acompanhamento no nosso serviço, em remissão completa. **Conclusão:** Os linfomas de células B primários da pele são raros, podem ser indolentes ou agressivos e com localizações cutâneas atípicas. Até o momento, o sistema de estadiamento mais usado é o TNM, visto que auxilia na escolha do tratamento, porém não tem valor prognóstico. Descrevemos acima um paciente com LCPGCB *leg type*, com lesão primária em face e acometimento sistêmico para mostrar o comportamento atípico e agressivo dessa doença, assim como a importância do diagnóstico precoce para definição do esquema terapêutico e prognóstico.

357. SÍNDROME DE SÉZARY: RELATO DE CASO

Madeira PNM, Almeida MNCS, Barros MPB, Lara LA, Silva MM, Souza MMRS, Muzzi GC, Costa AL, Oliveira HM, Lodi FM

Hospital Felício Rocho, Belo Horizonte, MG, Brasil

CNS, 77 anos, apresentou eritrodermia pruriginosa difusa e linfadenomegalia generalizada havia dois meses. Ao exame físico evidenciava-se eritrodermia esfoliativa edematosa, distrofia ungueal em mãos e pés, hiperqueratose palmoplantar, linfadenomegalia em região supraclavicular, axilar e inguinal, com abscedação em região axilar esquerda. Hemograma: Hb: 12,1, GL: 114.500, segmentados: 18.320, linfócitos: 50.380, plaquetas: 210.000. Presença de linfócitos com lobulação do núcleo (*Flower Cell*). Mielograma: 71% de células linfóides maduras. Cariótipo de medula óssea com rearranjos cromossômicos complexos e alterações numéricas. Imunofenotipagem de sangue periférico: perfil compatível de células T maduras, com presença da expressão de CD7 e CD25 e ausência das células CD8+. A síndrome de Sézary é um tipo raro de linfoma cutâneo de células T, de ocorrência exclusiva em indivíduos adultos. Apesar do comportamento agressivo da doença e do prognóstico reservado, foi proposto tratamento quimioterápico com esquema E-POC (etoposide, prednisona, vincristina e ciclofosfamida), porém a paciente evoluiu com sepse grave e óbito, antes do início da quimioterapia.

358. LINFOMA DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS B EM JOVEM ÍNDIO DA TRIBO ZO'É, UMA DAS ÚLTIMAS TRIBOS AUTÓCTONES DA AMAZÔNIA BRASILEIRA

Junior ABDS, Silva WM, Borges KOR, Martins M, Silva ACS, Trindade L, Rodrigues GCS, Nunes KKS, Freitas LX, Castro NPS

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

Introdução: O linfoma difuso de grandes células B é um linfoma não Hodgkin agressivo segundo a classificação da OMS. Apresenta-se geralmente com massas linfonodais de crescimento rápido. Corresponde a mais de 90% de linfomas agressivos e 30% dos linfomas não Hodgkin. É proveniente dos linfócitos B blásticos do centro germinativo que apresentaram contato antigênico. A média de idade de apresentação é na faixa dos 40 a 70 anos, com ligeiro predomínio do sexo masculino (1,2:1). Os Zo'é são uma tribo pequena e isolada que vive nas profundezas da floresta amazônica no Norte do Brasil. São protegidos pela Funai e mantêm pouco ou nenhum contato com a sociedade externa. **Objetivo:** Relatar o caso de um indígena da tribo Zo'é diagnosticado com linfoma difuso de grandes células B. **Relato de caso:** Paciente de 25 anos, sexo masculino. Deu entrada no Hospital Regional do Baixo Amazonas em julho de 2015 acompanhado por uma intérprete que referia esplenomegalia e desconforto abdominal, sem outros sintomas sistêmicos. Ao exame físico, apresentava esplenomegalia de grande monta com bordas bem delimitadas, palpadas na linha medial próximo à cicatriz umbilical, que alcançava a fossa ilíaca esquerda. Sem linfadenopatias cervicais, axilares e inguinais. Os exames laboratoriais da ocasião não demonstravam anemia, leucocitose ou plaquetopenia (Hb 13,9 mg/dL; leuco 10.200 mil/uL com 80% de segmentados e plaquetas de 221.000/uL). Nos outros exames laboratoriais não se constataram alterações (ureia 51 mg/dL; creatinina 1,4 mg/dL; TGO 90 U/L; TGP 42 U/L E glicemia 86 mg/dL). Nos exames de imagem constatou-se esplenomegalia heterogênea. Foi solicitada tomografia computadorizada de pescoço, tórax e abdome para fazer estadiamento clínico. Além das sorologias para HIV, HCV, EBV e citomegalovírus. Fez-se biópsia do baço para o anatomopatológico e imuno-histoquímica. No anatomopatológico os cortes histológicos demonstram fragmentos de tecido com proliferação de células atípicas, grandes ou médias, com citoplasma escasso e núcleos arredondados hiper cromáticos com nucléolo. Na imuno-histoquímica constataram-se os seguintes marcadores: CD20 positivo e Ki-67 positivo maior do que 95%. Os outros marcadores, CD3, CD10, bcl-2 e CD163, foram negativos. Ambos os exames são compatíveis com diagnóstico de linfoma difuso de grandes células B. O esquema quimioterápico instituído foi o R-Chop (rituximabe, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona). **Conclusão:** No mundo, o linfoma difuso de grandes células B é o mais comum, com incidência de aproximadamente 30% de todos os linfomas. O interesse desta apresentação está no fato de ser a primeira incidência de LDGCB esplênico no grupo étnico de índios brasileiros da tribo Zo'é. Além disso, a média de idade do paciente em questão não é convergente com a média habitual.

359. LINFOMA FOLICULAR E SCHWANNOMA SACRAL BENIGNO CONCOMITANTES: RELATO DE CASO

Vivas YAV, Oliveira AG, Martins AVC, Zouain DS, Neves MCA, Uhebe LQ, Oliveira LM, Menezes JO

Hospital Madre Teresa, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: O linfoma folicular é um tumor de células B indolente que corresponde a 22% dos linfomas não Hodgkin e é o segundo tipo mais comum de linfoma em adultos nos países do Ocidente. A mediana de idade dos pacientes no momento do diagnóstico é de 60 anos e a doença é ligeiramente mais comum no sexo feminino. É geralmente diagnosticada em estádios avançados (III/IV) e o curso clínico é variável. Há casos descritos de remissão espontânea (15% a 20%), de curso indolente e de recaída, apresenta uma sobrevida média de nove a 10 anos, para os casos clínicos com padrões mais agressivos. Por outro lado, o schwannoma da coluna vertebral compreende 25% de todos os tumores da coluna vertebral. O mais comum é o torácico, seguido pelo cervical e lombar. Schwannomas sacrais são muito raros e menos vistos, 1% a 5% de todos os schwannomas espinhais. **Objetivo:** Descrever um caso de linfoma folicular em que foi constatado o surgimento de um schwannoma sacral benigno concomitante a essa neoplasia, caso acompanhado pelo Serviço de Hematologia do Hospital Madre Teresa (HMT), Belo Horizonte, Minas Gerais. **Relato de caso:** GAAF, sexo feminino, 80 anos, hepatopata, diabética e hipertensa, procurou atendimento no Hospital Madre Teresa devido ao aparecimento de nódulo em região cervical esquerda, em setembro de 2013, e queixa de quedas frequentes. Negou febre ou perda ponderal na ocasião. O USG cervical de setembro de 2013 evidenciou formações mistas predominantemente sólidas, isoecogênicas, com contornos regulares, de pequenas áreas císticas que mediam 0,44 x 0,41 x 0,44 cm (em terço médio direito), 0,42 x 0,22 x 0,3 cm e 1,42x 0,75x 0,83 cm (em terço médio esquerdo) e 0,87 x 0,71 x 0,8 cm (em terço inferior à esquerda), além

de pequenos cistos colóides esparsos bilateralmente, linfonodos globosos, hipocogênicos, com hilo ecogênico obliterado, fluxo periférico não usual ao doppler, na região cervical esquerda. O primeiro PET SCAN evidenciou linfonodomegalias hipermetabólicas supra e infradiaphragmáticas compatíveis com doença linfoproliferativa em atividade; destacam-se conglomerados no retroperitônio. Lesões hipermetabólicas no parênquima esplênico compatíveis com doença linfoproliferativa em atividade. Lesão hipermetabólica comprometia o sacro à direita, centrada no forame de S1, compatível com disseminação extranodal da doença de base. O estudo anatomopatológico definiu linfoma folicular confirmado por imuno-histoquímica, apresentava positividade para CD20, com índice de proliferação de 40%. Submetida a seis ciclos de R-COP (rituximabe, ciclofosfamida, prednisona), com última QT em janeiro de 2015. Foi feita uma ressonância magnética de coluna lombar, na qual encontramos lesão expansiva na região superior da asa sacral direita, compatível com etiologia neoplásica. A biópsia da lesão sacral diagnosticou schwannoma benigno. Feito o tratamento com radioterapia (RT) na dose de 500 CGY em 25 frações (última RT em 26/06/15). Paciente apresentou remissão dos sintomas. Assim, foi feita uma revisão do estágio da doença (Ann Arbor), com a mudança de IVA para IIIA, seguida de resposta quimioterápica completa. **Conclusão:** A raridade do acometimento duplo de linfoma folicular e schwannoma explica a importância da divulgação deste caso, já que a constatação de massa extranodal compromete o estadiamento da doença e modifica o planejamento terapêutico.

360. LINFOMA DE GRANDES CÉLULAS ANAPLÁSICO ALK-1 NEGATIVO PRIMÁRIO DE TESTÍCULO: RELATO DE CASO

Barbosa ICV, Kerbauy MN, Oliveira LCP, Silva DRFC, Visnadi H, Santos FO, Lage LAC, Pereira J

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

Introdução: O linfoma primário de testículo é uma forma incomum e agressiva de linfoma não Hodgkin (LNH) extranodal, com incidência inferior a 5% das neoplasias malignas primárias do testículo e de 1% a 2% de todos os LNH. **Objetivo:** Relatar um caso de linfoma de grandes células anaplásico ALK-1 negativo primário de testículo. **Relato de caso:** Paciente do sexo masculino, 42 anos, com antecedente de infecção por HIV e sem indicação de uso de TARV, notou aumento indolor do testículo direito em novembro de 2014. Em janeiro de 2015, evoluiu com febre e crescimento da lesão testicular. Foi submetido à orquiectomia direita, cujo anatomopatológico foi compatível com o diagnóstico de seminoma com componente de carcinoma embrionário. Foi iniciado TARV na ocasião. Em abril de 2015, o paciente voltou a apresentar febre, linfonodomegalia inguinal direita e nodulação endurecida em subcutâneo em topografia de fossa ilíaca direita. Em maio de 2015, devido à febre persistente, procurou o pronto socorro do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP). Foi feita pesquisa de marcadores tumorais para neoplasia germinativa de testículo que resultou negativa. Nessa ocasião, optou-se por fazer biópsia linfonodal e revisão do produto da orquiectomia prévia. Ambos revelaram células neoplásicas com expressão dos marcadores CD30, EMA e Ki67 de 80% e negativas para ALK-1, CD2, CD3, CD5, CD20 e PAX-5, compatível com linfoma de grandes células anaplásico ALK-1 negativo. O paciente foi então avaliado com tomografias computadorizadas de crânio, pescoço, tórax, abdome e pelve, biópsia de medula óssea e punção lombar com citologia oncológica, e confirmou-se estadiamento de Ann Arbor IVB pelo acometimento de pele. LCR e medula óssea sem evidência de linfoma. As sorologias para hepatite B e C foram negativas. Subsequentemente, foram programados seis a oito ciclos de Choep (Chop [ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona] + etoposídeo 100 mg/m² D1) e profilaxia de sistema nervoso central com quatro ciclos de methotrexate 12 mg mais citarabina 60 mg e dexametasona 2 mg e dois ciclos de methotrexate 3 g/m² seguidos de radioterapia em testículo contralateral após término da quimioterapia sistêmica. **Discussão:** O tipo histológico mais comum no linfoma primário de testículo é o LNH difuso de grandes células B. Entretanto, outros subtipos, como linfoma de células do manto, linfoma de células T periféricas e linfoma da zona marginal, também foram descritos. O quadro clínico típico é uma lesão testicular indolor e endurecida, eventualmente bilateral, associada ou não a hidrocele. Sintomas sistêmicos estão relacionados com doença disseminada. O linfoma primário de testículo frequentemente recidiva em SNC quando não se faz profilaxia adequada, assim como na pele, no testículo contralateral e na pleura. No estadiamento, além da avaliação habitual para LNH, deve-se complementar com exame de imagem de testículo, SNC e com LCR. Os fatores de prognósticos não são totalmente conhecidos devido à sua baixa incidência, principalmente nos subtipos histológicos distintos do LDGCB. O trata-

mento envolve profilaxia de SNC, quimioterapia sistêmica e irradiação do testículo contralateral. **Conclusão:** O linfoma primário de testículo é uma doença extranodal incomum que necessita de avaliação cuidadosa e tratamento adequado pelo alto tropismo para SNC. Há poucos casos descritos com tipos histológicos diferentes do LDGCB; desconhece-se o impacto do subtipo histológico em seu prognóstico.

361. ASSOCIAÇÃO LINFOMA E HIV: SÉRIE DE NOVE CASOS ACOMPANHADOS EM UM HOSPITAL DE REFERÊNCIA ONCO-HEMATOLÓGICO NO ESTADO DE PERNAMBUCO

Nascimento JS^a, Lima MM^a, Souza KNC^a, Thorpe EMS^a, Loureiro AD^{a,b}, Carvalho BRV^a, Assis RA^a, Oliveira DP^a, Ramos PSA^b, Silveira VM^b

^a Hospital do Câncer de Pernambuco (HCP), Recife, PE, Brasil

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

Introdução: Desde o início da pandemia da Aids há uma evidente relação do vírus da imunodeficiência humana (HIV) com o aparecimento de determinados cânceres, principalmente o sarcoma de Kaposi (SK) e os linfomas. Antes do advento da terapia antirretroviral (TARV) foi reportado um risco 1.000 vezes maior para o desenvolvimento de linfomas primários de sistema nervoso central e linfomas de Burkitt (LB) em pacientes com HIV, assim como 8-30 vezes maior para os linfomas de Hodgkin (LH) e 60-200 vezes maior para os linfomas não Hodgkin (LNH). Após a introdução da TARV, ocorreu uma queda na morbidade e mortalidade associada ao HIV, no entanto o impacto no declínio da incidência de LNH foi menor do que o observado para os sarcomas de SK e infecções oportunistas, o que transformou o linfoma no câncer mais frequentes no HIV. Avanços no tratamento quimioterápico aumentaram o número de pacientes com resposta completa (RC) e fizeram com que a sobrevida livre de doença e sobrevida global em dois anos varie de 36% a 84% e de 43% a 68%, respectivamente. Em 2012 o Brasil notificou 39.185 casos de Aids; no Nordeste observou-se um aumento na taxa de detecção em 62,6% de 2003 a 2012. Dados do Boletim Epidemiológico de Aids, do primeiro semestre de 2014, apontam que 75% dos casos de Aids em Pernambuco localizam-se na Região Metropolitana. **Material e métodos:** Levantamento de dados em prontuário médico dos pacientes com linfoma associado a infecção por HIV atendidos desde julho de 2014 a julho de 2015. As variáveis coletadas foram sexo, idade, estadiamento ao diagnóstico, tipo de linfoma, terapêutica instituída e resposta ao tratamento. **Resultados:** Dos nove casos, cinco eram do sexo feminino e quatro do masculino. A mediana de idade foi de 38 anos (de 28 a 48). No diagnóstico, havia massa bulky em oito dos nove casos (88%) e envolvimento extranodal estava presente em quatro pacientes (44%). O estadiamento de Ann Arbor foi bastante variável sendo um caso em estágio I, 3 em estágio II, 2 em estágio III e 3 em estágio IV, porém 8 apresentavam sintomas B ao diagnóstico. O LB foi o tipo histológico mais frequente-5 casos, seguido pelo Linfoma Difuso de Grandes células B-3 casos, apenas um era LH. O ABVD foi usado para tratar o LH, o qual foi refratário e submetido a esquema de resgate com ICE, houve resposta completa e foi encaminhado para o transplante autólogo. Os casos de LDGCB e LB foram tratados com Epoch (etoposídeo, prednisona, vincristina, ciclofosfamida e doxorubicina) sem rituximabe. Quatro pacientes evoluíram para óbito no primeiro ano do tratamento. Uma paciente apresentou recaída e está em esquema de segunda linha com CODOX-M/IVAC e apenas um caso teve resposta completa e encontra-se em seguimento há três meses. Os outros dois seguem em quimioterapia de primeira linha curativa. **Conclusão:** Os casos apresentados corroboram a literatura e tiveram uma apresentação clínica e resposta ao tratamento bastante grave com elevada mortalidade. No entanto, devemos ter em mente que o anticorpo monoclonal anti-CD20 (rituximabe) não integra a portaria para tratamento dos pacientes com linfomas não Hodgkin e sorologia positiva para HIV do Sistema Único de Saúde, apesar de alguns estudos já comprovarem sua efetividade.

362. LINFOMA DA ZONA CINZENTA: RELATO DE CASO

Pereira MP, Catelli DH, Bosi G, Teixeira BB, Zaltron RF, Américo AD, Nervo M, Schaefer PG, Soares TB, Burin MM, Daudt L, Paiva M, Silla L

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Linfoma da Zona Cinzenta (LZC) é um linfoma mediastinal raro, com características intermediárias entre linfoma de células B primário do me-

diastino (LBPM) e linfoma Hodgkin clássico esclerose nodular (LHCEN). Por ser uma doença recentemente descrita, tanto as características clínicas como o tratamento para esse tipo de linfoma ainda não são bem estabelecidas. **Relato de caso:** Paciente de 30 anos iniciou com dor torácica e dispnéia na 16ª semana de gestação. RNM de tórax com lesão mediastinal anterossuperior direita com 11 x 12 cm no seu maior eixo, linfonodos hilares aumentados à direita e derrame pleural bilateral. Biópsia da lesão mediastinal diagnosticou LBPM. Biópsia de medula óssea negativa, que configurou estadiamento clínico IIX. Após discussão multidisciplinar, iniciado protocolo R-Chop (rituximabe + ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona) em abril/2014, com manutenção da gestação. Por reiniciar com dor torácica durante o tratamento, foi feita tomografia de tórax no terceiro ciclo de quimioterapia, com lesão de 9,4 x 6,4 cm. Mantido protocolo com novo estadiamento após sexto ciclo, em agosto/2014, com lesão mediastinal de 11 cm no seu maior eixo, configurou refratariedade ao esquema R-Chop. Interrompida gestação com 36 semanas optou-se por iniciar protocolo ICE em outubro, finalizou-se o quarto ciclo em dezembro. Na época, paciente reiniciou com dor torácica, LDH aumentado e progrediu-se para esquema quimioterápico GDP. PET-CT após primeiro ciclo de GDP com captação de radioisótopo em lesão mediastinal de 11,9 x 7,5 cm. Feito segundo ciclo de GDP e planejamento para tratamento com radioterapia e plano de consolidação com transplante autólogo de medula. Na época, foi solicitada revisão de lâmina com ampliação de marcadores, a qual descrevia positividade para CD20, CD30, PAX5, CD23 e negatividade para LCA, o que sugeria possibilidade de linfoma B, inclassificável, com características intermediárias entre LBPM e LHCEN. Fez 4.000 cGy em 20 frações de radioterapia de janeiro a abril de 2015, com boa tolerância e melhoria clínica após a 11ª aplicação. Duas semanas depois, paciente procurou ambulatório por surgimento de massa pétreo cervical bilateral e TC de tórax com volumosas linfonodomegalias com centro necrótico em regiões supraclaviculares e cervicais inferiores, bilateralmente. Nova biópsia confirmou diagnóstico, optou-se por iniciar protocolo quimioterápico Beacopp em abril de 2015. PET-CT após RDT e após primeiro ciclo de Beacopp com lesão expansiva em mediastino 9,4 x 5 x 3,2 cm, o que sugeria resposta metabólica provavelmente completa ao tratamento (Escore de Deauville = 3) e resposta morfoestrutural parcial. Atualmente paciente está bem, no terceiro ciclo de Beacopp, aguarda obtenção de anticorpo monoclonal CD30 (everolimus ou brentuximabe), com plano de avaliação para transplante alogênico. **Conclusão:** Características moleculares e biológicas do LZC são pouco conhecidas por ser uma doença recentemente descrita. Estudos mostraram que R-EPOCH é efetivo em pacientes nunca tratados. Porém, esse tipo de linfoma parece ser mais refratário aos tratamentos, dificulta decisões terapêuticas. Apesar de se acreditar que LZC recaído deva ser manejado similarmente a recidiva de LBPM, este foi um caso no qual a paciente está em remissão com protocolo para LH. Estudos com anticorpo monoclonal CD30 apresentaram bons resultados para LH recaído e LBPM com expressão variada de CD30, pode ser uma boa opção de tratamento para essa paciente como “ponte” para um transplante alogênico.

363. LINFOMA E HIV, A MODIFICAÇÃO DE PARADIGMAS APÓS O ADVENTO DA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL: RELATO DE CASO

Weber D, Tagliari G, Pithan CF, Fassina K, Fenili AC, Moreno FL, Vidor S, Catelli DH, Shuh H, Capra M, Vilella LP

Hospital Nossa Senhora da Conceição de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: Os linfomas são um grupo de doenças malignas que acometem o sistema linfo-hematopoiético e divididos em dois grupos: linfoma de Hodgkin (LH) e linfoma não Hodgkin (LNH). São doenças com prevalência aumentada na população portadora do vírus da imunodeficiência humana (HIV) comparativamente com a população geral, com apresentação inicial mais agressiva e prognóstico mais reservado. O HIV, por sua vez, é uma doença com distribuição mundial e o Brasil está entre os países em que a doença é mais frequente, junto com a África do Sul e o Vietnã. Entre os estados brasileiros, o Rio Grande do Sul é responsável pelas maiores taxas de prevalência da doença. O LNH é a doença maligna mais comum dentre as patologias que definem a síndrome da imunodeficiência humana (Aids). Os subtipos mais encontrados são o LNH difuso de grandes células B e o linfoma de Burkitt (LB), que juntos representam 70-90% dos casos e, geralmente, cursam com apresentação sistêmica. Antes do advento da TARV, a neoplasia tinha evolução fatal na maioria

dos pacientes e a quimioterapia, função paliativa. Nos últimos anos, o uso da TARV tem mudado o prognóstico desses pacientes e reduzido a mortalidade relacionada à doença. O tratamento da neoplasia e da infecção viral é complementar, o tratamento da neoplasia depende do controle da replicação viral. **Objetivo:** Relatar um caso de LNH agressivo em paciente com Aids, com evolução favorável pelo tratamento concomitante das duas doenças em questão. **Relato de caso:** BSB, 24 anos, sexo feminino, branca, com história de dor e grande aumento da mama direita havia 30 dias, com neovascularização cutânea e sintomas compressivos locais. Nega sintomas B. Consultou com a mastologia, com hipótese diagnóstica inicial de tumor flocidos, porém anatomopatológico compatível com proliferação linfoide atípica sugestiva de LNH de alto grau e imuno-histoquímica compatível com LB, com Ki67 de 100%. Tomografias que evidenciaram linfonodomegalias difusas, grande aumento da mama direita, escleromegalia, lesão > 10 cm na região epigástrica com compressão de estruturas adjacentes e lesões na cauda do pâncreas. Estadiamento Ann Arbor IV-A, IPI (international prognostic index) 4, performance status 1 (Ecog). Sorologia positiva para HIV, com diagnóstico de Aids na mesma internação. Contagens de CD4 abaixo de 200 células/microL e carga viral (CV) acima de 180 mil cópias/mL. Iniciada prontamente TARV com esquema tenofovir, lamivudina e efavirenz, além de tratamento quimioterápico com protocolo Epoch associado a quimioterapia profilática de doença em sistema nervoso central (uma punção lombar com aplicação de quimioterapia intratecal por ciclo). Feito reestadiamento após quarto ciclo, com remissão completa e melhoria das contagens de CD4 (614 células/microL) e CV (175 cópias/mL). Completou seis ciclos de tratamento, manteve-se em remissão completa e apresenta CV indetectável e CD4 acima de 400 células/microL. **Conclusão:** Os LNH são as neoplasias definidoras de Aids mais comuns, o tratamento quimioterápico e a TARV são complementares. Dessa forma, a evolução favorável da paciente em questão, é diretamente relacionada com o tratamento conjunto da neoplasia e da infecção viral. O melhor esquema de quimioterapia, entretanto, ainda permanece controverso. São necessários novos estudos para melhor compreensão.

364. ABORDAGEM E TERAPÊUTICA DA FORMA MULTICÊNTRICA DA DOENÇA DE CASTLEMAN – SÉRIE DE CASOS

Monteiro CRA, Barbosa AA, Sclavi LB, Susanna CN, Tavares HDA, Borducchi DMM

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

Introdução: A doença de Castleman multicêntrica (MCD) é uma condição rara e pouco conhecida, com conceitos em interseção na hematologia, oncologia, reumatologia e virologia. MCD descreve um grupo heterogêneo de distúrbios que demonstram sintomas inflamatórios sistêmicos, proliferação reacional linfocitária até falência de múltiplos órgãos, que pode ser fatal se não diagnosticada ou tratada de forma adequada. O HHV-8 está bem estabelecido como a causa dos altos níveis de citocinas em todos os casos de pacientes com MCD/HIV positivo e em alguns dos pacientes MCD/HIV negativo. Na doença multicêntrica associada ao HHV-8, à infecção pelo HIV ou a outros tipos de imunodeficiências, o HHV-8 torna-se hábil a escapar do controle imunológico, permite-se sua replicação em linfonodos e liberação do sinal de IL-6 e outras proteínas pró-inflamatórias. O tratamento da MCD tem estratégia baseada no uso de anti-inflamatórios hormonais, terapia imunossupressora e rituximabe (anti-CD20). **Relato de caso:** Reportaremos uma série de casos da MCD tratados com anti-CD20. **Caso 1:** Paciente sexo masculino, 44 anos, diagnóstico de Aids, com quadro de febre intermitente, sudorese noturna, fadiga e linfonodomegalias. Submetido à biópsia de gânglio cervical, que revelou hiperplasia linfoide angiofolicular CD20+ e HHV8+. Paciente apresenta remissão completa mantida há oito anos. **Caso 2:** Paciente sexo masculino, 48 anos, diagnóstico de Aids, apresenta quadro de insuficiência renal e pancitopenia de origem autoimune. Demostrava linfonodomegalia mediastinal, cuja biópsia revelou hiperplasia angiofolicular linfoide CD20+ e HHV8+. Paciente em remissão completa há oito anos. **Caso 3:** Paciente sexo masculino, 51 anos, diagnóstico de Aids, com sintomas constitucionais B. Biópsia de gânglio inguinal com resultado de hiperplasia angiofolicular linfoide, CD20+ e HHV8+. Paciente em remissão há seis anos. **Conclusão:** O rituximabe como primeira linha de tratamento para doença de Castleman multicêntrica mostrou-se eficaz, bem tolerado e pouco tóxico; garante longo período de remissão completa da doença.

365. PERFIL CLÍNICO E CORRELAÇÃO ANATOMOCLÍNICA DOS CASOS DE LINFOMA EM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

Zanluchi GH^a, Amaral AV^a, Silva JBCB^b, Baffa AM^a, Teixeira CO^a, Teixeira MAB^a

^a Grupo de Estudo em Correlação Anátomo-Clínica, Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas, SP, Brasil

^b Liga Acadêmica de Hematologia e Hemoterapia, Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas, SP, Brasil

Introdução: Linfomas são divididos em Hodgkin (LH) e não Hodgkin (LNH), esse último o mais frequente. A incidência dos LNH vem crescendo nos últimos anos, mas, por outro lado, a incidência do LH permaneceu constante. **Objetivo:** Demonstrar o perfil clínico de pacientes com linfoma em hospital universitário (HU), analisar a distribuição dessa neoplasia em relação a idade, sexo, sinais e sintomas acompanhantes e exames complementares. **Material e métodos:** Foram identificados 87 casos de linfoma entre janeiro/2000 e junho/2012, provenientes do arquivo do serviço de Hematologia de HU, da anatomia patológica do mesmo hospital e do arquivo do Grupo de Estudo em Correlação Anátomo-clínica (GECAC) atuante no HU. Os dados da história clínica, de exame físico e de exames complementares foram coletados dos prontuários dos pacientes. Os casos foram biopsiados, com análise por meio da coloração de hematoxilina e eosina e 32 deles foram estudados com imuno-histoquímica. Os casos provenientes do GECAC e da anatomia patológica tiveram informações coletadas do relatório de necropsia. **Resultados:** Dos 87 pacientes, 49 apresentavam LNH e 38 LH, com distribuição próxima entre homens e mulheres (1,18:1). O LH ocorreu principalmente em indivíduos entre 21 e 49 anos (60%), enquanto o LNH mostrou predileção pela faixa de mais de 60 anos (31%). A queixa mais comum foi a presença de massa palpável (59%). O achado de exame físico mais comum foi a linfonodomegalia (63%). Em relação aos exames de imagem, na tomografia computadorizada (TC) de tórax, linfonodomegalia foi o achado mais comum nos pacientes com LH (81%), porém o mesmo exame foi normal na maior parte (57%) dos pacientes com LNH. Na TC de abdome, o achado mais frequente novamente foi a linfonodomegalia (44%). Dos 12 casos necropsiados, seis foram diagnosticados *post mortem* e, nos outros seis, após o confronto anatomorradiológico, foi confirmada a presença da linfonodomegalia vista em TC; entretanto, a extensão das lesões era maior do que a revelada radiologicamente. **Discussão e conclusão:** Em relação aos aspectos epidemiológicos, foi constatada a proximidade da incidência de LNH e LH, que se contrapõe à literatura, que elucida a maioria de LNH nas populações. Houve predomínio de LH e LNH no sexo masculino, o que concorda com as bases. Quanto à faixa etária, os casos de LH não se mostraram na clássica conformação bimodal, mas sim com um pico entre 21 a 49 anos (60%); no entanto, nos LNH a maioria dos pacientes encontrava-se na faixa após 60 anos, de acordo com a literatura. Sobre os aspectos clínicos, a linfonodomegalia mostra-se um importante dado coletado, já que se encontra em cerca de 60% dos pacientes, novamente como nas referências. Em relação aos achados de TC, há escassez de dados prévios e a maior parte dos trabalhos publicados envolve um número pequeno de pacientes. Todavia, em contraste dos números do presente estudo com o de outros artigos, verificamos que a ocorrência da maior parte dos achados específicos do nosso trabalho é divergente dos encontrados naqueles artigos; porém, a ordem de incidência, do mais para o menos frequente, é semelhante. Por fim, ressaltamos que, a partir do estudo necroscópico, foi possível confirmar os diagnósticos e correlacionar os achados clínicos e radiológicos com os anatomopatológicos, que mostraram, em todos os casos, uma extensão maior do que a esperada.

366. ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE ASSOCIADA A LINFOMA NÃO HODGKIN: RELATO DE CASO

Dalla LM, Guimarães JM, Caberlin RR, Zanetta GK, Silva JBCB

Liga Acadêmica de Hematologia e Hemoterapia, Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas, SP, Brasil

Introdução: Anemia hemolítica autoimune (AHA) é uma condição na qual há uma desregulação do sistema imune, que leva a perda da tolerância a autoantígenos. Da mesma forma, acredita-se que a desregulação imunológica tenha um papel importante no desenvolvimento de linfomas. Muitas doenças autoimunes são associadas ao aumento de risco de linfoma não Hodgkin (LNH), assim como diversas doenças linfoproliferativas têm maior risco de desenvolver autoimunidade. **Objetivo:** Relatar

caso clínico de AHA como primeira manifestação de LNH. **Relato de caso:** EAM, sexo masculino, 46 anos, com diagnóstico de AHA aos 17 anos, fez tratamento e perdeu seguimento em 2013. Nesse mesmo ano, iniciou quadro de fraqueza intensa e icterícia, baço palpável. Exames laboratoriais demonstraram pancitopenia (Hb: 7,7g/dL; leucócitos: 1.280/mm³; plaquetas: 64.000/mm³), bilirrubinas total e frações aumentadas, Coombs direto positivo. Retomou tratamento com prednisona, ácido fólico e complexo B, com posterior suspensão do uso por melhoria dos sintomas e do hemograma. Há dois meses, notou aparecimento de nodulação em região cervical esquerda de crescimento progressivo, indolor, acompanhada de tontura intermitente e emagrecimento. Na biópsia da lesão obteve-se resultado compatível com linfoma linfocítico de pequenas células. Por isso, atualmente, faz tratamento quimioterápico com rituximabe, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona (R-Chop). **Discussão e conclusão:** LNH é mais comum em pacientes com doenças autoimunes do que na população geral. Embora a associação entre AHA e LNH seja descrita em diversos trabalhos, sua fisiopatologia ainda é pouco conhecida. Sabe-se que ambas as doenças surgem como consequência da falha de um processo de inibição e destruição de células indesejadas, como a proliferação descontrolada de células B ou linfócitos autoimunes. Nas síndromes autoimunes, acredita-se que o fator ativador de células B (família TNF-BAFF) é mais expressado, aumenta a proliferação celular. Mutações no gene FAS, responsável pela apoptose celular, também estão associadas com ambas as doenças, fortalecem a relação, chamada de síndrome linfoproliferativa autoimune. Apesar de o aparecimento de AHA ser mais comum após o diagnóstico de LNH, nosso paciente abriu quadro de AHA aos 17 anos, o que é raro. Seu diagnóstico de linfoma é feito na faixa etária mais comum, alguns anos depois. Dessa forma, quando diagnosticada AHA se faz necessária a exclusão diagnóstica de doenças linfoproliferativas e, mesmo assim, manter um acompanhamento desses pacientes com exames laboratoriais, periodicamente, para identificação de maiores riscos de malignidade ou a detecção dela em si.

367. LINFOMA PRIMÁRIO DE EFUSÃO EM PACIENTE HIV POSITIVO: RELATO DE CASO CLÍNICO

Villarim CC, Carvalho LM, Fischer TRC, Leite JM, Lucena PN, Bueno FT, Palhares RB, Paes RAP, Brasil SAB, Chiattone CS

Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Linfoma primário de efusão (LPE) é um subtipo raro de linfoma não Hodgkin (LNH), associado ao vírus da imunodeficiência humana (HIV), herpes vírus tipo 8 (HHV-8) e ao Epstein-Barr (EBV). Descreve-se ainda a ocorrência em transplantados de órgãos sólidos e idosos. Corresponde a aproximadamente 4% dos LNH de pacientes HIV positivo e 0,4% desses na população em geral. **Caso clínico:** Homem, 46 anos, com antecedente pessoal de infecção por HIV desde 1996, uso irregular de terapia antirretroviral, insuficiência renal crônica dialítica e hipertensão arterial sistêmica. Procurou atendimento médico com quadro de tosse, dispnéia aos mínimos esforços, dor precordial, sudorese noturna e emagrecimento havia duas semanas. À avaliação, apresentava sinais clínicos e ecocardiográficos sugestivos de tamponamento cardíaco e derrame pleural. Inicialmente foram feitas as hipóteses diagnósticas de tuberculose sistêmica e uremia. No entanto, após análise dos líquidos cavitários, evidenciou-se padrão exsudativo e presença de células atípicas sugestivas de malignidade. A imuno-histoquímica demonstrou elementos linfoides atípicos, CD45 e CD20 negativos, VS38C e CD138 positivos e sugeriu doença linfoproliferativa. Prosseguiu-se então a investigação clínica com exames de imagem que não demonstraram massa tumoral, e as biópsias de pleura e pericárdio não foram conclusivas. Paciente evoluiu com choque séptico refratário de provável foco pulmonar e óbito dois meses após admissão. A necropsia evidenciou espessamento pericárdico e pleural bilateral, com lesões nodulares diminutas, caracterizadas por proliferação linfóide polimorfa infiltrativa de grandes células (Imunomarcagem: CD45, CD20 e AE1/AE3 negativos; CD138, MUM1 e HHV-8, positivos) e concluiu tratar-se de LPE. A maioria dos casos de LPE é encontrada em pacientes jovens ou de meia-idade, com infecção pelo vírus HIV. Apresenta-se de forma peculiar, com envolvimento característico de serosas, e, em geral, não há linfonodomegalias ou visceromegalias. Na maioria dos casos, a cavidade pleural é a mais comprometida, seguida do peritônio e pericárdio. É incomum o acometimento de mais de uma dessas estruturas. Além disso, o prognóstico é desfavorável, com sobrevida mediana de seis meses. O caso ilustra a apresentação típica descrita na literatura, em paciente HIV positivo e com evolução agressiva; no entanto, diverge quanto ao

comprometimento de mais de uma serosa. O diagnóstico de LPE geralmente é estabelecido pela avaliação do líquido cavitário, por meio de suas características citológicas, imunofenotípicas ou imuno-histoquímicas. O material é, na maioria das vezes, um exsudato, com celularidade global aumentada, predomínio linfocítico e presença de células atípicas. Do ponto de vista citológico, a morfologia das células malignas impõe o diagnóstico diferencial com linfoma difuso de grandes células B (variante imunoblástica) ou com linfoma anaplásico. Com relação à imunofenotipagem, tem geralmente marcadores pan-B, como CD19, CD20 e CD79a negativos, imunoglobulina citoplasmática e de superfície ausentes e positividade para HLA-DR, CD30, CD38, VS38C e CD138. No caso em questão, suspeitou-se de doença linfoproliferativa pela citologia do líquido pleural. No entanto, a confirmação diagnóstica só pôde ser feita por meio da necropsia, o que demonstra a dificuldade diagnóstica, pela ausência de sítios primários nodais ou extranodais.

368. PAPILEDEMA BILATERAL ASSOCIADO A TROMBOSE DE VEIA JUGULAR INTERNA: UMA RARA APRESENTAÇÃO DE LINFOMA FOLICULAR

Souza LB^a, Baptista LR^a, Almeida BIA^a, Braga LP^b, Gomes NMF^b, Filho JTDS^a

^a Faculdade de Medicina de Campos (FMC), Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

^b Hospital Escola Álvaro Alvim (HEAA), Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

Introdução: A trombose de veia jugular interna é doença vascular de apresentação incomum. Pode ser causada por diversas condições clínicas, como complicação de infecções e trauma de cabeça e pescoço, catecterização venosa central prolongada, abuso de drogas intravenosas, compressão extrínseca ou efeito trombogênico consequente à neoplasia. Por sua vez, papiledema secundário à oclusão da veia jugular é extremamente raro, há relatos de poucos casos, ocorre por redução ou obstrução da drenagem venosa intracraniana. **Objetivo:** Relatar um caso de papiledema bilateral associado à trombose de veia jugular interna em uma paciente com linfoma folicular. **Relato de caso:** Paciente do sexo feminino, 41 anos, apresentava havia nove meses quadro de adenomegalia indolor e móvel em regiões submandibular e cervical bilaterais, com crescimento lento e progressivo. Após oito meses de evolução, apresentou turvação visual bilateral, fotofobia e diplopia. Ao exame físico não apresentava alterações, exceto pela presença de linfonodomegalias. Exame oftalmológico: acuidade visual OD 20/20, OE 20/20 (turvação visual à direita); tonometria normal; fundo de olho: edema de disco óptico bilateral. Exames laboratoriais sem alterações relevantes, exceto por LDH elevado (611 U/L). O exame líquido foi normal, sem alteração citológica ou bioquímica. A angiografia e retinografia evidenciaram olhos com papilas borradas, edemaciadas, hiperfluorescentes, com hemorragias em chama de vela, em quadro de papiledema bilateral, mais acentuado em olho direito. A biópsia ganglionar foi compatível com linfoma folicular de baixo grau. As tomografias computadorizadas (TC) de crânio, pescoço, tórax, abdome e pelve mostraram crânio normal, linfonodomegalias cervicais que acometiam os níveis IB e II, bilateralmente, conglomerado linfonodal na região supraclavicular direita, de aspecto irregular, observou-se falha de enchimento no interior da veia jugular interna desse lado, múltiplas linfonodomegalias na cadeia axilar direita, baço de dimensões normais, com lesões nodulares hipodensas e hipocaptantes. A ressonância magnética (RM) e a angiressonância (AR) de crânio e órbitas mostraram dilatação bilateral das bainhas dos nervos ópticos retrobulbares e edema dos mesmos, sinais de trombose de aspecto oclusivo de veia jugular interna direita cervical, trombo filiforme e alongado no seio transverso e sigmoide direitos, sem oclusão. Foi iniciado tratamento com corticoide, anticoagulação com heparina de baixo peso molecular e tratamento quimioterápico (R-Chop [rituximabe, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona]). A paciente evoluiu com redução dos linfonodos e melhoria progressiva da acuidade visual. **Discussão:** A grande maioria dos quadros de papiledema relacionado aos linfomas é consequente à meningite linfomatosa e à hipertensão intracraniana pela infiltração do linfoma no sistema nervoso central. Devido à baixa casuística da trombose de veia jugular interna associada aos linfomas, esse diagnóstico é raramente considerado, acarreta um retardo na elucidação dos casos, e pode culminar em complicações tais como o papiledema. O tratamento imediato com anticoagulação seguida da terapia quimioterápica para o linfoma permitiu a reversão do quadro, evitando-se a lesão neuro-oftalmológica definitiva.

369. LEUCEMIA/LINFOMA DE CÉLULAS T DO ADULTO: TRATAMENTO COM INTERFERON E ZIDOVUDINA

Tagliari G, Fassina KZ, Weber D, Pithan CF, Catelli DH, Moreno FL, Vilella LP, Fenili AC, Schuh H, Capra MEZ

Hospital Nossa Senhora da Conceição de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: A leucemia-linfoma de células T do adulto (LLTA) é uma neoplasia de linfócitos T maduros, associada à infecção pelo HTLV-I. Ocorre mais frequentemente onde a infecção pelo HTLV-I é endêmica, como Japão e Caribe. Organomegalia, envolvimento da pele, linfócitos atípicos no sangue periférico (*flower cell*) com um fenótipo CD4 + CD25 + e hipercalemia são as características mais comuns. As células da LLTA, principalmente do fenótipo T CD4 + CD7-, associadas às frequentes anormalidades cariotípicas estruturais e numéricas, conferem às células da LLTA uma resistência intrínseca a vários quimioterápicos e contribuem para um prognóstico reservado, com uma sobrevida média de seis, 10 e 24 meses para as formas aguda, linfomatosa e crônica, respectivamente. O tratamento pode ser feito com quimioterapia de altas doses associada ou não à terapia antirretroviral com zidovudina (AZT) + interferon (IFN). Atualmente, se investiga o papel do transplante alogênico e da terapia molecular para melhorar as taxas de sobrevida. **Objetivo:** Relatar dois casos de leucemia/linfoma T do adulto, forma crônica, que apresentaram boa resposta ao tratamento com AZT/IFN. **Relato de caso 1:** CRS, sexo feminino, 30 anos, evolução de seis meses com lesões cutâneas eritematopapulares, sudorese e prurido, adenomegalias inguinais bilaterais, edema em membros inferiores e parede abdominal, 40.000 leucócitos, 13.000 linfócitos e 12.000 eosinófilos, mononucleares atípicos, LDH elevado (680 U/L) e cálcio normal, TC abdominal com esplenomegalia, linfonodomegalias retroperitoneais e inguinais. Anatomopatológico de medula óssea com maturação megaloblastoide, aumento de promielócitos, eosinofilia moderada, 3% de plasmócitos e 2% de células linfoides imaturas. Ausência de população imatura e/ou imunofenótipo aberrante na imunofenotipagem de medula óssea. Cariótipo normal. Imunofenotipagem de sangue periférico: leucemia/linfoma T do adulto. HTLV1 reagente, demais sorologias negativas. Iniciou tratamento com AZT + IFN-alfa 5.000.000 UI/dia, com regressão das lesões cutâneas e remissão completa após 11 meses. Segue em remissão com um seguimento de 22 meses. **Relato de caso 2:** MVP, sexo masculino, 38 anos, lesões cutâneas eritematopapulares disseminadas, sudorese noturna e astenia. Anemia moderada e leucocitose com linfocitose (83.000 leucócitos, 50.000 linfócitos), LDH elevado (1.230 U/L) e cálcio normal. TC com esplenomegalia discreta e linfonodomegalias mediastinais. Medulograma: hiperplasia dos três setores hematopoéticos, normomaturativa e 4% de células linfoides imaturas. Imunofenotipagem de medula óssea: ausência de população imatura e/ou imunofenótipo aberrante. Cariótipo sem alterações. Imunofenotipagem de sangue periférico: leucemia/linfoma T do adulto. HTLV1 reagente, demais sorologias negativas. Tratado com AZT + IFN-alfa 5.000.000 UI/dia obteve normalização do hemograma e desaparecimento das lesões cutâneas após seis semanas. Segue em remissão com um seguimento 18 meses. **Conclusão:** A LLTA é uma doença pouco prevalente, principalmente nas regiões onde a infecção por HTLV-I não é endêmica. O tratamento com AZT + IFN sem quimioterapia apresentou sucesso nos dois pacientes apresentados. Como, no entanto, os índices de sobrevida ainda não são satisfatórios, novas estratégias de tratamento, como consolidação com TMO e agentes moleculares, devem ser mais bem pesquisadas.

370. SÍNDROME DE RAMSAY HUNT COMO COMPLICAÇÃO INFECCIOSA EM UM PACIENTE COM LINFOMA PLASMABLÁSTICO E SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA

Guaraná M, Melo KV, Chedier B, Coelho H, Santos R

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

Introdução: Pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV) têm um risco de aproximadamente 100 vezes de desenvolver linfoma. Dentre os vários tipos associados, o linfoma plasmablástico (LPB) tem incidência estimada em 2% e é considerado um subtipo de linfoma não Hodgkin difuso de grandes células B. A apresentação clínica geralmente ocorre de forma agressiva com acometimento extranodal, princi-

palmente em cavidade oral e trato gastrointestinal, porém pode acometer testículo e sistema nervoso central. O diagnóstico pode ser um desafio; é importante um diferencial com outras neoplasias de células plasmáticas. A imunofenotipagem demonstra positividade para CD79a, CD138, CD38 e MUM-1 e negatividade em CD19 e CD20. O Ki-67 é alto, denota a agressividade da doença. O MYC é expresso em quase 50% dos casos. Trata-se de doença rara com patogênese pouco compreendida e o tratamento é baseado em esquemas quimioterápicos agressivos. Considerando a imunodepressão causada pelo HIV e LPB associado à quimioterapia, esses pacientes tornam-se muito suscetíveis a outras infecções oportunistas. A síndrome de Ramsay Hunt consiste na paralisia facial periférica secundária à reativação do vírus varicela zoster no gânglio geniculado, com surgimento de lesões pleomórficas vesicobolhosas no complexo auricular. A remissão completa do déficit neurológico é inferior a 10% dos casos, a despeito da reversão das lesões cutâneas. **Objetivo:** Relatar o caso de um paciente HIV positivo com linfoma plasmablastico e síndrome de Ramsay Hunt. **Relato de caso:** FM, 34 anos, sexo masculino, com diagnóstico de HIV e linfoma plasmablastico em agosto de 2014 e acometimento de palato, testículo e sistema nervoso central. Iniciou tratamento com o esquema DA-Epoch associado à quimioterapia intratecal. Após término do sexto e último ciclo de QT, foi internado com relato de, havia sete dias, ter iniciado quadro de febre alta, constante, sem remissão com o uso de antipiréticos, consorciada a otalgia, otorreia purulenta, plenitude auricular e redução da acuidade visual, em dimídio direito, bem como diplopia intermitente e horizontal. Ao exame, apresentava paralisia facial periférica, com lagofthalmia e sinal de Bell, ambas à direita, pavilhão auricular direito com sinais flogísticos intensos, com pleomorfismo lesional (vesículas/úlceras/crostas/pústulas), que se estendiam para a topografia retroauricular e de couro cabeludo e atingiam as regiões parietotemporais direita e esquerda. Diagnosticado com infecção por herpes zoster complicada com síndrome de Ramsay Hunt, iniciou tratamento com aciclovir, corticoide e antibiótico sistêmicos. O paciente evoluiu com boa resposta, porém com sequelas neurológicas. **Conclusão:** A síndrome de Ramsay Hunt é uma doença neurológica rara, definida pelo acometimento do nervo facial associado a lesões eritematovesiculares no canal auditivo em decorrência do herpes zoster. O diagnóstico é clínico e o tratamento é baseado no início precoce de antivirais e corticoide. Em virtude do maior risco de infecção dos pacientes portadores de neoplasias hematológicas, é preciso estar atento às diversas apresentações clínicas de tais doenças, visto que algumas vezes será necessário o diagnóstico diferencial com infiltração do sistema nervoso central, além do uso de profilaxias durante a quimioterapia como prevenção.

371. PROGNOSTIC ANALYSIS OF LYMPHOCYTE-TO-MONOCYTE RATIO IN PATIENTS WITH DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA IN A BRAZILIAN COHORT

Fogliatto L^{a,b}, Strey Y^a, Andreoli D^a, Vanelli T^b, Capra M^b

^a Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSA), Porto Alegre, RS, Brazil

^b Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil

Introduction: Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) is the most common type of non-Hodgkin's lymphoma and is a very heterogeneous disease. The absolute lymphocyte count (ALC), the absolute monocyte count (AMC), and the lymphocyte to monocyte ratio (LMR) have been shown to predict the prognosis of DLBCL patients who are treated with immunochemotherapy. This study analyzed the impact of the LMR on survival of these patients and its relation with other prognostic factors. **Methods:** This was a retrospective study in a cohort of patients who were diagnosed with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) from January 2010 to May 2014 in a South Brazilian hospital. All patients received at least one treatment with CHOP chemotherapy (cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone) with or without rituximab. The LMR cutoff value used was 2.6, extracted from previous studies. Fisher's exact test was applied to assess differences between groups. Overall survival (OS) was estimated using the Kaplan-Meier method and were compared using the log-rank test. **Results:** Data from 156 patients were analyzed. The median follow-up was 18 months (range 1-54 months). The male-to-female ratio was 1.02:1 and the median age at diagnosis was 64 years old (range 19-93). Eighty-five patients (55%) were ≥ 60 years old. The median absolute lymphocyte count (ALC) was $1.26 \times 10^9/L$ ($0.2 \times 10^9/L$ to $74.5 \times 10^9/L$) and 85 patients (67%) had $\geq 1.0 \times 10^9/L$. The median absolute monocyte

count (AMC) was $0.72 \times 10^9/L$ ($0.02 \times 10^9/L$ to $8.05 \times 10^9/L$) and 77 patients (62%) had $\geq 0.63 \times 10^9/L$. The median lymphocyte to monocyte ratio (LMR) was 1.9 (0.4-32.6). Thirty-nine patients (31%) were included in the high LMR group (> 2.6), whereas the other 86 patients (69%) were in the low LMR group (≤ 2.6). In this cohort, a low LMR was found in a higher proportion in the males (77% vs. 60%, $p = 0.04$). No difference was observed in age or elevated LDH. Univariate survival analysis showed no difference in the OS between the low and high LMR groups ($p = 0.51$, with 2-year OS of 70% vs. 67%, respectively). Further analysis revealed that a low LMR was associated with a higher OS rate in the male group (77% vs. 43% for 2-year OS, $p = 0.014$). In the female group, although not significant, there was a tendency of lesser OS rate associated with low LMR when compared with a high LMR (60% vs. 82% for 2-year OS, $p = 0.25$). **Conclusion:** In this population of patients with DLBCL, a low LMR was associated with greater survival in males. This finding was different from previous published data, which demonstrated shorter OS in DLBCL patients with low LMR. Although this was a univariate analysis, it is believed that such a finding should be considered when using only LMR as a prognostic factor.

372. MICOSE FUNGOIDE E MANIFESTAÇÕES CUTÂNEAS EM PACIENTE POUCO RECEPTIVO À QUIMIOTERAPIA: RELATO DE CASO

Zaltron RF, Silla LMR, Daudt LE, Lira FE, Bosi G, Teixeira BB, Pereira M, Soares TB, Paiva M, Catelli DH

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Paciente do sexo masculino, DRR, motorista, natural de Sapucaia do Sul (RS) e procedente de Esteio (RS), tabagista desde os 20 anos (10 cigarros/dia), sem histórico familiar de câncer ou dermatoses, procurou em maio de 2014 o Ambulatório de Dermatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA); referia lesões cutâneas havia 12 anos. Relatava que na época apresentava lesões eczematosas que iniciaram em regiões fotoprotetidas (nádegas, abdome, porção superior da coxas) para as quais recebeu tratamento para dermatite atópica com médico provado. Em 2011, não percebeu melhoria no quadro; com aumento das lesões (extensão para membros e extremidades), procurou serviço de dermatologia na cidade de Porto Alegre, já com quadro de eritrodermia. Nessa avaliação fez exames, como anatomopatológico (AP) da pele do antebraço e da região cervical. Apresentou dermatite psoriasiforme, que dentro do contexto clínico poderia corresponder a outras patologias. A imuno-histoquímica (IHQ) da peça mostrava positividade para CD3 e CD4 e negativa para CD8 e CD2 e CD20, compatível com a hipótese da micose fungoide. Foram solicitadas TCs, as imagens do tórax e abdome mostravam linfonodomegalias, provavelmente relacionadas à doença linfoproliferativa. No hemograma, apresentava leve leucocitose (não há dados sobre contagens diferenciais). VHS 12, função renal e parâmetros hepáticos normais, sologias, FAN e FR negativos. Pesquisa de células de Sézay negativa. Encaminhamento para tratamento com PUVA + interferon. Por motivações logísticas, foi encaminhado para fazer tratamento no Ambulatório de Dermatologia do HCPA. Na época, em maio de 2014, apresentava eritema difuso e áreas de desnudamento da pele com desprendimento, com algumas áreas de fissura e aderências cutâneas (em região perioral e periorcular, com ausência de sinais sugestivos de infecção secundária). Foi então internado no HCPA. Nesse momento, o hemograma era normal, TC apresentava adenomegalias em região cervical, axila e região ilíaca no AP do linfonodo axilar achado de linfadenite dermatopática, acompanhada de IHQ com CD2, CD 3, CD 4, CD 5 e CD 7 positivos, o que caracterizava comprometimento parcial do linfonodo por linfoma T (micose fungoide). BMO: sem evidência de infiltração por neoplasia linfoproliferativa (T4 N2 M0). Com dificuldade de acesso venoso, foram iniciadas em julho de 2014 ciclofosfamida e dexametasona VO, e após 30 dias, com alguma melhoria da descamação, troca por gencitabina EV e dexametasona (menor risco de extravasamento até condições de portocath e início de Chop [ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona]). Boa tolerância ao esquema, melhoria das lesões e do prurido. Mesmo assim, não se mostrou receptivo ao tratamento, até com ausência em algumas seções de QT. Procurou atendimento, justificou tais ocorridos por quadro depressivo e foi remarcado para novas seções de QT, bem como oferecido apoio psicológico. Novamente houve ausências e fez apenas quatro ciclos em mais de um ano de acompanhamento. As lesões progrediram, tornaram-se maiores e disseminadas, mas ainda com aspectos como os iniciais. Atualmente, internado com quadro séptico de foco em acompanhamento com nossa equipe, sem condições atuais de nova QT.

373. TERAPIA COM PROTOCOLO EPOCH E IVAC EM LINFOMA T GAMA-DELTA PRIMÁRIO DE PELE

Recova VL^a, Silva ACC^a, Reckziegel DA^a, Fontes DC^a, Xavier FD^a, Pereira J^b, Levy D^b

^a Hospital de Base do Distrito Federal (HBDF), Brasília, DF, Brasil
^b Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O linfoma T gama-delta primário de pele é uma variante rara do linfoma T e corresponde a aproximadamente 1% dos casos. É conhecido pela agressividade, refratariedade a quimio e a radioterapia com prognóstico inferior a 15 meses. **Objetivo:** Relatar o caso de paciente com linfoma T gama-delta primário de pele. **Relato de caso:** Paciente feminina, 33 anos, com múltiplos nódulos cutâneos em membros inferiores de até 3 cm, dolorosos, alguns com ulcerações e/ou necrose central havia oito meses. Ausência de sintomas B. Exames de estadiamento (TC e biópsia de medula) demonstraram lesão restrita à pele. Hemograma e bioquímica sem alterações. Sorologias negativas para EBV, HIV, hepatites B, C e leishmaniose. Biópsia da margem da úlcera foi compatível com doença linfoproliferativa de alto grau e comprometia toda a extensão da pele com imunofenótipo T, positiva para LCA, CD3, CD56, Granzyme B e CD99 e negativa para CD4, CD8, CD10, CD20, CD30 e BCL6. Ki-67 foi de 90%. O rearranjo do TCR por RT-PCR foi positivo para gama-delta. Submetida a quimioterapia sistêmica com seis ciclos de Epoch infusional (etoposídeo, prednisona, vincristina, ciclofosfamida, doxorubicina) com resposta completa. Apresentou recidiva dois meses após término do tratamento enquanto aguardava consolidação com transplante de medula óssea autólogo. Houve progressão de doença com extensão das lesões para membros superiores e dorso durante a segunda linha com Gemox (gemcitabina, oxaliplatina). Apresentou segunda resposta completa após resgate em terceira linha com IVAC (ifosfamida, citarabina e etoposídeo) e aguarda consolidação com transplante alogênico de medula óssea. **Discussão:** O linfoma T gama-delta primário de pele é uma entidade rara com poucos casos publicados, até 2009 somente 40, e não há um tratamento padrão bem estabelecido. O prognóstico é reservado, com sobrevida global em cinco anos inferior a 11%. Esquema Chop (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona), Chop-like ou à base de gencitabina, ciclosporina A, denileukin difitox semanal com ou sem radioterapia local pode resultar em resposta completa, porém fugaz. Outros estudos mostram que o uso de radiação ultravioleta (NB-UVB) associado com metrotexato em baixas doses pode ser uma opção em pacientes idosos. Willemze et al., 2008, e Shalom G et al., 2015, publicaram casos de resposta completa após transplante alogênico com duração de resposta superior a 18 meses. Em metanálise Go, SR; Wester, SM, 2004, observaram que o tratamento com altas doses de quimioterapia seguidas de transplante alogênico em pacientes com doença refratária ou recorrente atingiu resposta completa em 92% dos casos, com duração média de resposta de 14 meses. Não há relatos na literatura sobre o uso de Epoch infusional ou IVAC para tratamento de linfoma T gamadelta cutâneo. Na paciente em questão esses esquemas foram capazes de induzir RC, como ponte para o transplante alogênico de medula óssea. **Conclusão:** Neste trabalho apresentamos os protocolos Epoch infusional e IVAC com terapias possíveis para o tratamento do linfoma T gama-delta primário de pele.

374. LINFOMA DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS B PRIMÁRIO TESTICULAR

Bragatto FB, Carvalho LM, Fischer T, Brasil SAB, Chiattonne CS

Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O linfoma difuso de grandes células B primário testicular (LDGCBPT) é uma entidade rara, corresponde a 1-2% dos casos de linfomas não Hodgkin. De acordo com a literatura, a maioria dos casos ocorre em pacientes acima de 60 anos. O quadro clínico normalmente consiste em aparecimento de uma massa testicular de consistência firme, sem preferência por lado e indolor. Normalmente não há queixa de sintomas constitucionais como perda de peso, febre e astenia. Apesar de não haver dados que sugiram fatores de risco específicos para o aparecimento da doença, pacientes HIV positivos têm maiores chances de linfomas mais agressivos e portanto mais frequentemente apresentam comprometimento de sítios extranodais, como os testículos. Além disso, há tendência a comprometer outros sítios extranodais como o testículo contralateral, sistema nervoso central, pele e pulmão. O diagnóstico definitivo

normalmente é feito pela análise patológica e pela imuno-histoquímica do material obtido após orquiectomia. Em 80-90% dos casos, a histologia é compatível com linfoma difuso de grandes células B, apresenta marcadores típicos para essas células (CD19, CD20, CD79a e PAX5). BCL2 e MUM1/IRF4 são positivos em cerca de 80% dos casos e uma minoria (cerca de 17%) apresenta CD10 positivo. Logo, a maioria dos casos de LDGCBPT tem fenótipo de centro germinativo. Apesar do tratamento preconizado atualmente para esse tipo de linfoma incluir cirurgia, quimioterapia, quimioterapia intratecal e radioterapia, a maioria dos casos tem um desfecho desfavorável. Recidivas são frequentes, mesmo em pacientes que aparentemente estão em remissão, e com envolvimento do sistema nervoso central, a média de sobrevida global para esses pacientes é menor do que cinco anos. Por tratar-se de uma entidade com prognóstico desfavorável, ter baixa frequência na população e a consequente ausência de grandes estudos randomizados, revisões sobre a experiência dos serviços especializados na condução desses pacientes são importantes para o aprimoramento das terapias atuais. **Objetivo:** Comparar os dados dos pacientes atendidos no ambulatório de hematologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo com diagnóstico de LDGCBPT com a literatura mundial. **Material e métodos:** Revisão dos prontuários dos pacientes com biópsia compatível com LDGCBPT entre 2000 e 2015 atendidos no Serviço de Hematologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo. **Resultados:** Dos cerca de 800 pacientes atendidos no período com diagnóstico de linfoma não Hodgkin, seis foram diagnosticados com LDGCBPT (0,75%). A mediana de idade ao diagnóstico era de 65,5 anos, com estágio de Ann Arbor IEA em um paciente, IEB em dois, IIE B em um e IVB em dois. Metade dos casos apresentava comprometimento de outros sítios extranodais além do testículo. Cinco pacientes receberam tratamento com quimioterapia, orquiectomia e radioterapia. A mediana de sobrevida foi de 16,5 meses. **Conclusão:** O LDGCBPT é uma entidade rara, mesmo em serviços especializados. Os pacientes acometidos que foram acompanhados no Serviço de Hematologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo apresentam epidemiologia semelhante a outros estudos publicados, acomete indivíduos acima de 60 anos, que, apesar de receber múltiplas modalidades de terapia, têm um prognóstico desfavorável, principalmente em indivíduos com estadiamento avançado ao diagnóstico.

375. SARCOMA HISTIOCÍTICO: ANÁLISE DO PERFIL DE MICRORNA, AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA

Herbst TEG^a, Domingues MAC^a, Huasne H^b, Rogatto SR^a, Martorelli S^b

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

^b A. C. Camargo Cancer Center, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O sarcoma histiocítico (SH) é uma neoplasia maligna caracterizada pela proliferação de células grandes que têm aspecto morfológico e imunofenotípico semelhantes ao histiócito maduro tecidual. É uma neoplasia rara, perfaz menos do que 1% dos linfomas não Hodgkin. Tal raridade pode ser explicada pela dificuldade de sua caracterização diagnóstica e morfológica, confunde-se com outras neoplasias malignas pleomórficas. **Objetivo:** Avaliar o perfil de MicroRNA (miRNA), apontar os principais critérios morfológicos e marcadores imuno-histoquímicos (IMH) que venham a definir essa entidade e identificar quais entidades que erroneamente podem levar a subdiagnóstico. **Material e métodos:** Foram revisados 7.600 laudos anatomopatológicos e, desses, foram selecionados 47 casos possíveis de SH, com apresentação nodal. Somaram-se a esses quatro casos sabidamente com diagnóstico de SH. Foram avaliados 12 critérios morfológicos e cinco marcadores IMH. Dos 47 casos, foram localizados sete SH, cujo diagnóstico inicial foi de neoplasia indiferenciada metastática (carcinoma indiferenciado) ou melanoma metastático. **Resultados:** Os marcadores IMH que se mostraram mais eficientes para complementação diagnóstica foram CD163 e CD68. A avaliação do perfil de 377 miRNAs demonstrou clusterização de 51 miRNA, quando comparado ao controle, 44 hiporexpressos e sete hiperexpressos, os mais relevantes: miR-10b-5p, miR-455-5p e miR-19 (hiperexpressos); miR-486-5p, miR-92a, miR-15b-5p (hiporegulados). Tais miRNA estão envolvidos nas vias da apoptose, crescimento e proliferação celular. **Conclusão:** Os principais genes envolvidos na patogenia e candidatos a validação com futuros estudos são: ERBB2, TGFβ1, TNF (ativados) e TP53 e PD98059 (inibidos). Tais genes podem corresponder a futuros alvos terapêuticos.

376. LINFOMAS DOUBLE-HIT EM CASUÍSTICA DE LINFOMAS NÃO HODGKIN B DE ALTO GRAU: ESTUDO CLÍNICO, MORFOLÓGICO, IMUNO-HISTOQUÍMICO E CITOGENÉTICO

Oliveira CC^a, Herbst TEG^a, Domingues MAC^a, Niero-Melo L^a, Quevedo FC^b, Werneck IC^c, Soares FA^c, Guerra HM^a, Kucko L^a, Hirama E^a, Brilhante AD^c, Brilhante AD^c

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

^b Hospital do Câncer Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil

^c A. C. Camargo Cancer Center, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Linfomas *double-hit* (LDH) são neoplasias de alto grau raras caracterizadas pela translocação do gene *MYC* concomitante à de outros genes (*BCL2* e *BCL6*) e representam aproximadamente 15% dos casos de linfoma de células B inclassificável com aspectos intermediários entre linfoma difuso de grandes células B (LDGCB) e linfoma de Burkitt (LB) (OMS 2008). **Objetivo:** Caracterizar o LDH em conjunto com LNH-B de alto grau e avaliar a correspondência citogenética com a expressão imunohistoquímica (IHQ) de *MYC*, *BCL2* e *BCL6*. **Material e métodos:** Revisão clínico-morfológica de 120 pacientes com LDGCB e LB. Avaliação imunofenotípica (CD20, CD79a, PAX5, CD10, Bcl6, Bcl2, MUM1, TDT e *c-Myc*) e hibridação por fluorescência *in situ* (Fish) em Tissue Microarrays para detecção de translocações dos genes *c-MYC*, *BCL6* e *BCL2*. **Resultados:** Detectaram-se três pacientes portadores de LDH: dois com translocações de *MYC* e *BCL2* e um com translocações de *MYC* e *BCL6*, todos evoluíram para óbito em menos de seis meses. Entre 90 amostras com citogenética avaliável, houve associação entre IHQ e Fish para *MYC* ($p = 0,036$) e *BCL2* ($p = 0,001$), porém com teste de concordância regular. No grupo de LDGCB ($n = 72$), as translocações de *MYC*, *BCL6* e *BCL2* representaram 4,1%, 12,5% e 15,2%, respectivamente, a morfologia de céu estrelado foi fortemente associada a positividade para *MYC* ($p = 0,01$). **Conclusão:** LDH são entidades raras e agressivas identificadas somente por citogenética. O padrão céu estrelado e as positivities imunohistoquímicas para *MYC* e *BCL2* podem representar fatores selecionadores de candidatos à feitura da complementação por Fish. Contudo, estudos mais amplos ainda são necessários.

377. LINFOMA NÃO HODGKIN PLASMABLÁSTICO EM PACIENTE IMUNOCOMPETENTE – BOA RESPOSTA AO REGIME DE PROTOCOLO CHOEP

Thorpe EMS, Souza KNC, Oliveira DP, Carvalho BRV, Nascimento JS, Loureiro AD, Lima MM, Assis RA

Hospital do Câncer de Pernambuco (HCP), Recife, PE, Brasil

O linfoma plasmablástico é um subtipo raro e agressivo de linfoma não Hodgkin, descrito inicialmente em 1997. Predomina em pacientes HIV positivos e a apresentação clínica mais comum se dá com lesões em cavidade oral. Apresenta baixas taxas de resposta terapêutica, configura um prognóstico reservado e sobrevida média de seis meses. Relatamos um caso de paciente feminina, 28 anos, com tumoração bulky 8 x 7,5 x 6,5 cm em corpo da mandíbula e da maxila direita, com sorologias negativas para hepatite B e C, HIV e HTLV, cujo anatomopatológico e imunohistoquímica foram compatíveis com linfoma não Hodgkin subtipo plasmablástico - Ki67: 90% (com expressão de CD20; CD3, CD23, CD45, BCL6, CD30 negativos e CD138, BCL2 focal, CD56, Kappa e lambda positivos); estágio clínico Ann Arbor: IIIIXB, IPI: intermediário baixo. Iniciado quimioterapia com protocolo Choep, com excelente evolução clínica e desaparecimento da lesão tumoral, pós-segundo ciclo, está no momento em remissão completa tomográfica e o planejamento terapêutico envolve seguimento com protocolo quimioterápico instituído seguido de resgate com transplante autólogo de células-tronco hematopoiéticas. Trabalhos reportam que a resposta terapêutica é pior em pacientes HIV negativos e os regimes terapêuticos para esse subtipo de linfoma ainda não estão bem definidos, mas, em geral, são tratados prioritariamente com quimioterapia que pode ser associada à radioterapia. Regimes baseados em Chop (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona) ou CVADs são os mais amplamente usados, entretanto não há consenso sobre o melhor protocolo. Os casos devem ser estudados quanto ao acometimento de sistema nervoso central e devem receber quimioprofilaxia intratecal com metotrexate. O transplante autólogo ou alogênico deve ser considerado nos casos de refratariedade ou de recaídas, porém, devido à gravidade da doença, alguns autores demonstraram benefício em primeira remissão completa.

378. MACROGLOBULINEMIA DE WALDENSTRÖM: RELATO DE CASO

Pereira LP^a, Neto GCP^a, Silva IV^a, Ferreira VHS^a, Tokeshi RN^a, Souza KJ^b, Bressa RC^{a,b}, Bressa JAN^{a,b}

^a Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil

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

Introdução: A macroglobulinemia de Waldenström (MW) é uma patologia rara dos linfócitos B, caracterizada pela produção monoclonal de IgM e que pode manifestar-se clinicamente com fadiga, astenia, perda de peso, sangramento de mucosas e do trato gastrointestinal, linfonodomegalias, hepatoesplenomegalia e alterações neurológicas. A doença é mais comum em pacientes idosos e seus sintomas são decorrentes da hiperviscosidade sanguínea. Na MW observa-se hipergamaglobulinemia com pico monoclonal de IgM e demais imunoglobulinas normais ou diminuídas, imunofenotipagem com linfócitos B CD 19+, CD 20+ e CD 24+, aspirado de medula óssea hiperclerular e biópsia de medula óssea hiperclerular com infiltração difusa de linfócitos, linfócitos plasmocitoides e plasmocitoides. Atualmente, anticorpos monoclonais são usados na terapêutica da MW com grande sucesso. O rituximabe, anticorpo monoclonal anti-CD20, tem mostrado resultados satisfatórios no tratamento da MW. **Relato de caso:** Paciente do sexo masculino, 47 anos, com quadro de astenia e esplenomegalia, devido à histoplasmoze, e que após o tratamento manteve quadro de esplenomegalia. Feita biópsia de medula óssea, compatível com linfoma linfoplasmocítico, fez oito ciclos de quimioterapia com R-Chop (rituximabe, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona), obteve remissão parcial. Retornou após oito meses do término do tratamento com quadro associado de dispnéia aos esforços, dor em flanco esquerdo havia cinco dias e náuseas, com um episódio febril não aferido. Após ultrassonografia com doppler e ecografia de abdome total, verificou-se hipertensão portal incipiente, esteatose hepática grau 1, esplenomegalia homogênea e hepatomegalia discreta e aumento do pico monoclonal IgM. Constatada recaída do linfoma plasmocítico, optou-se pelo tratamento de resgate com seis sessões de rituximabe associado a fludarabina. **Conclusão:** Como a síndrome se apresenta na sexta ou sétima década de vida, tem-se o relato acima mais relevante, não vai de encontro à literatura. As três principais escolhas para tratamento de pacientes sintomáticos incluem: agentes alquilantes, análogos nucleosídicos e o anticorpo monoclonal, esses os chamados agentes de primeira linha no tratamento da MW. Para escolha de monoterapia ou associação entre os agentes citados deve-se levar em consideração idade, presença de comorbidades, citopenias, necessidade de rápido controle da doença e pacientes candidatos a transplante autólogo. Atualmente, os pacientes recebem terapia adicional de acordo com sua resposta ao uso de rituximabe. Assim, uma série de pequenos estudos demonstra que a monoterapia com rituximabe induz boa resposta aos pacientes com MW resistente a outras terapias. Demonstra, ainda, que induz boa resposta em aproximadamente 30% a 40% de pacientes previamente tratados, dados esses que contrapõem nosso relato. Vários agentes podem ser usados isoladamente ou em associação com outras drogas ou anticorpos monoclonais. Contudo, há dificuldade quando comparados com diversos estudos retrospectivos e prospectivos feitos devido à raridade da doença, inclui assim pequeno número de pacientes nos referidos estudos, não os torna adequadamente confiáveis.

379. DOENÇA LINFOPROLIFERATIVA PÓS-TRANSPLANTE MONOMÓRFICA PLASMOCITOMA SÍMILE: RELATO DE CASO

Barbosa ICV, Oliveira LCP, Armijos CAL, Ferreira APS, Farias MC, Lage LAC, Martinez GA, Pereira J

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

Introdução: A doença linfoproliferativa pós-transplante (DLPT) caracteriza-se por um espectro de doenças do tecido linfático relacionadas com o uso de imunossuppressores em pacientes submetidos a transplante de órgão sólido ou de células-tronco hematopoiéticas. A DLPT é classificada como precoce, polimórfica, monomórfica e linfoma de Hodgkin clássico símile. A incidência está relacionada com o tipo de transplante e com o regime imunossupressor usado. DLPT com diferenciação plasmocitária é considerada uma forma rara de DLPT monomórfica de células B com poucos estudos descritos na literatura. **Relato de caso:** Paciente do sexo feminino, 29 anos, foi submetida a transplante hepático em 2000 devido

à deficiência de alfa-1 antitripsina, em uso de imunossupressão com tacrolimus desde então. Em 2010, apresentou linfonodomegalia indolor em região cervical e inguinal, sem perda ponderal ou sudorese noturna. Nessa época, submeteu-se a biópsia de linfonodo cervical que foi compatível com hiperplasia linfoide reacional. Em maio de 2015, foi internada no HC-FMUSP para tratamento de pneumonia e relatou aumento de linfonodomegalia nos últimos meses, associado a febre, porém, sem perda ponderal ou sudorese noturna. Feitas tomografias computadorizadas de pescoço, tórax, abdome e pelve que evidenciaram múltiplos linfonodos cervicais, torácicos e abdominais e esplenomegalia heterogênea, sugestivos de doença linfoproliferativa. Feita nova biópsia de linfonodo inguinal que mostrou a presença de células neoplásicas, com marcação para Bcl-2, CD138, MUM-1, CD20 (focal) e Lambda; e negativo para CD10, CD3, CD56 e Kappa, compatível com DLPT monomórfica plasmocitoma-símile. A pesquisa de EBV por hibridização *in situ* cromogênica foi negativa e o PCR para EBV de sangue periférico positivo, com 286 cópias. Na avaliação complementar, observou-se Hb de 8,8g/dL, creatinina 0,92 mg/dL, cálcio total de 8,3 mg/dL, β_2 microglobulina 7,8 μ g/mL, albumina 2,4 g/dL, ausência de lesões líticas, pico gama monoclonal sérico de 2,2 g/dL, IgG/Lambda na imunofixação, dosagem de IgG de 4.770 mg/dL, IgA de 37,1 mg/dL e IgM de 58,5 mg/dL. A análise da urina de 24 horas mostrou proteinúria de 0,27 g/L e pico beta monoclonal de 0,04 g/L (imunofixação em análise). Mielograma sem infiltração por plasmócitos e biópsia de medula em andamento. Como medida inicial, optou-se por reduzir imunossupressão com tacrolimus e observar a resposta para discutir tratamento sistêmico com quimioterapia. **Discussão:** O caso descrito encontra algumas similaridades com outros relatos de caso. Alguns pacientes apresentam a DLPT monomórfica plasmocitoma-símile anos após o transplante, geralmente sem infiltração na medula óssea, com apresentação nodal associada ou não a doença extranodal, eventualmente com lesão óssea lítica concomitante. O prognóstico ainda é desconhecido e o manejo clínico consiste na redução de imunossupressão e na quimioterapia sistêmica semelhante à usada no tratamento de mieloma múltiplo. **Conclusão:** A DLPT monomórfica plasmocitoma símile é uma entidade pouco conhecida, com apenas alguns relatos de casos na literatura. Ainda são necessários estudos para definir fatores prognósticos e a melhor abordagem terapêutica desses pacientes.

380. EFEITOS CITOTÓXICOS DA HALOFUGINONA EM LINFOMA DE CÉLULAS DO MANTO: ESTUDOS *IN VIVO* E *IN VITRO*

Santos MG^{a,b}, Pacheco LZC^a, Rizzatti EG^b, Kerbaury DMB^{a,b}

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

^b Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O linfoma de células do manto (LCM) é o subtipo de linfoma não Hodgkin de pior prognóstico clínico na atualidade. O LCM caracteriza-se pela t(11;14), que leva à hiperexpressão da ciclina D1 e consequente ativação do ciclo celular. Dois terços dos pacientes têm doença avançada ao diagnóstico e mais da metade tem infiltração da medula óssea ou sangue periférico. Os pacientes têm boa resposta aos tratamentos de primeira linha, mas a recidiva é a regra. A doença passa a ter respostas mais curtas ou torna-se resistente, torna-se incurável com quimioterapia convencional. Por isso, novas drogas que combatam a resistência e proporcionem respostas duradouras são claramente necessárias. **Objetivo:** Investigar os efeitos da halofuginona (um antifúngico com atividade anti-TGF- β) em linhagens de LCM, por meio de experimentos *in vitro* e *in vivo*. **Material, métodos e resultados:** Ensaios de citotoxicidade demonstraram que a halofuginona tem significativo efeito citotóxico em linhagens celulares de LCM, mesmo em concentrações nanomolares, com valores de IC50 que variaram de 72 nM, para a linhagem Mino (considerada sensível à ação da halofuginona), até 142 nM, para a linhagem HBL-2 (considerada resistente à ação da droga). Em estudos de ciclo celular e apoptose temporais, foi evidenciado que a exposição à halofuginona induz apoptose e parada do ciclo celular em G1, em concentrações de 50 ng/mL por 24 horas, no caso das células Mino, e em concentrações de 200 ng/mL por 24 horas, no caso das células HBL-2. Para estudos de eficácia da droga em animais, desenvolveu-se um modelo *in vivo* de LCM com linhagens celulares. Foram usados 90 camundongos, alocados entre experimentos de injeção intrafemoral ou subcutânea das linhagens de LCM. Nos camundongos submetidos à injeção intrafemoral, foram feitos estudos de desenvolvimento de um modelo de LCM *in vivo*. Ensaios de citotoxicidade demonstraram que, para ambas as linhagens, houve “pega” do trans-

plante, demonstrada pela presença dessas células em sangue periférico e medula óssea dos animais. Nos camundongos que receberam injeção subcutânea, foram feitos estudos de eficácia da droga, por meio de injeções intraperitoneais de halofuginona. Os animais foram divididos em grupos: controle ou tratado, para cada uma das linhagens, e o efeito da halofuginona foi mensurado por meio da diminuição do volume do tumor subcutâneo desenvolvido. Para os animais que receberam injeção subcutânea de HBL-2, a média de tempo para desenvolvimento do tumor foi de 11,5 dias, para o controle, e 12,7 dias, para o tratado. A média de tempo para sacrifício dos animais foi de 19,5 dias, para o controle, e 20,2 dias, para o tratado. Para os animais que receberam Mino, o tempo de desenvolvimento do tumor foi de 15,1 dias, para o controle, e 16,5 dias, para o tratado. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as médias dos volumes dos tumores nos grupos tratado e controle, nos dias 21, 23 e 26 após a injeção subcutânea. O tempo para sacrifício foi de 28 dias, para o controle, e 30,2 dias, para o tratado ($p < 0,05$). **Conclusão:** Os estudos *in vitro* e *in vivo* demonstraram os efeitos citotóxicos da halofuginona em linhagens celulares de LCM, com destaque para a maior sensibilidade das células Mino à ação da droga, em contraponto com a maior resistência das células HBL-2 aos efeitos da halofuginona. Tais dados suportam uma melhor exploração do efeito da halofuginona em LCM.

381. LINFOMA EXTRANODAL DE CÉLULAS NK/T TIPO NASAL: RELATO DE CASO

Carneiro FH^a, Grandó IIL^a, Baller EA^a, Lopes L^a, Lirani W^a, Koehler J^{a,b}, Trentini AP^c, Koehler CH^{a,b}, Torres LFB^d, Netto MRM^{a,d}

^a Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Ponta Grossa, PR, Brasil

^b Instituto Sul Paranaense de Oncologia (ISPON), Ponta Grossa, PR, Brasil

^c Santa Casa de Misericórdia de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR, Brasil

^d Patologia Médica, Ponta Grossa, PR, Brasil

Introdução: O linfoma extranodal de células NK/T tipo nasal (LECNKTN) consiste em um tipo agressivo de linfoma originado de células T e NK que acomete principalmente adultos do sexo masculino. Trata-se de uma doença rara na Europa e América do Norte, porém frequente em países asiáticos e em nativos da América Latina. **Relato de caso:** Paciente feminina, aos 20 anos, com queixa de obstrução nasal à esquerda e edema em região nasal lateral à esquerda com evolução de seis meses. Ao exame, notava-se tumoração ulcerada em narina esquerda, com cerca de 3 cm de diâmetro, associada a obstrução nasal e endurecimento em face lateral do nariz. Linfonodomegalias de cerca de 2 cm eram palpáveis bilateralmente nos ângulos da mandíbula. A ressonância magnética de crânio mostrou formação expansiva e infiltrativa com epicentro em asa nasal e em região jugal à esquerda, que media 5,2 x 4,3 x 3,5 cm. Ao exame anatomo-patológico, constataram-se fragmentos de mucosa respiratória com extensão necrose e áreas focais de proliferação linfoide atípica. O estudo imuno-histoquímico exibiu positividade para CD3 e CD20 em linfócitos de permeio, negatividade para Bcl-2 e CD10, positividade para CD30 e índice de ki-67 de 100%. Os diagnósticos apontados incluíam LECNKTN ou linfoma anaplásico de grandes células. Devido à gravidade e progressão do quadro, a paciente recebeu o primeiro ciclo de Choep (etoposide + ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona). Apresentada excelente resposta inicial. No entanto, evoluiu com mielotoxicidade, abscesso pulmonar e choque séptico. Ficou 45 dias impossibilitada de continuar o tratamento quimioterápico, apresentou progressão da doença. Nova imuno-histoquímica demonstrou positividade para granzima B, CD56 e CD2 e negatividade para ALK, mieloperoxidase e EBV-LMP-1, o que corroborou o diagnóstico de LECNKTN. Até o presente momento, a paciente está sendo tratada com cisplatina semanal associada à radioterapia. **Discussão:** Devido ao seu comportamento infiltrativo e destrutivo e à sua localização médio-facial, o LECNKTN era anteriormente chamado de granuloma letal da linha média. Os principais sítios acometidos são cavidade nasal e áreas paranasais e os sintomas iniciais mais frequentes são obstrução nasal, secreção nasal e epistaxe. A apresentação clínica dos tumores inclui lesões papulosas e nodulares eritematovinosas, que ulceram rapidamente, formam extensas áreas de necrose. O diagnóstico é firmado pela associação de características clínicas e patológicas, pela identificação de marcadores celulares NK/T e pela identificação do vírus Epstein-Barr. O imunofenótipo da doença é semelhante ao das células NK, as células neoplásicas normalmente são positivas para CD2, CD56 e CD3 citoplasmático e negativas para CD3 de superfície. Na maioria dos casos, as células expressam grânulos citotóxicos como a granzima B.

O tratamento tem sido feito com radioterapia e/ou quimioterapia associada ou não a transplante de células-tronco hematopoiéticas. No entanto, a doença geralmente apresenta curso rápido e agressivo com altas taxas de recidiva e mortalidade. **Conclusão:** O LECNKTN é uma doença rara para a qual não existe uma abordagem consensual definida por grandes ensaios clínicos. No caso relatado, observamos que, embora tenha respondido primariamente de maneira satisfatória, a doença voltou a progredir de forma extremamente rápida, o que denota seu caráter agressivo.

382. LINFOMA NÃO HODGKIN DA ZONA DE CÉLULAS DO MANTO: RELATO DE TRÊS CASOS

Carvalho AJ

Universidade Paulista (UNIP), São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: Relatar três casos de pacientes com linfoma não Hodgkin da zona de células do manto, acompanhados em um estudo clínico, conduzidos no Departamento de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFG, com observação de suas particularidades frente à progressão clínico-laboratorial da doença. **Material e métodos:** Foram analisados dados secundários por meio de prontuários médicos e estudos clínicos. **Resultados:** Três pacientes recém-diagnosticados com linfoma de células do manto, idosos, incluídos em um estudo clínico que tinha como objetivo a análise experimental de um inibidor da tirosina quinase de Bruton que afeta a maneira como os linfócitos crescem e sobrevivem nos pacientes, que ainda não receberam tratamento para a doença, em combinação com dois quimioterápicos, usualmente usados nesse tipo de neoplasia. Os três casos relatados chamam a atenção para as evoluções em relação ao estadiamento de Ann Harbor (II, III e IV) e apresentam em comum CD20, CD5 e Ciclina D1 positivos na imuno-histoquímica. O índice de proliferação celular Ki-67 é considerado um dos parâmetros mais importantes em relação ao prognóstico do LCM, mostrou positividade nos três casos, chamou a atenção para um dos casos, no qual o índice mitótico foi de 50-60% das células, com rápida progressão da doença e evolução para o óbito em janeiro de 2015. Dois pacientes seguem no estudo e mantêm resposta completa. **Conclusão:** Dada a biologia única, a relativa raridade e a dificuldade de conseguir remissões prolongadas com tratamentos convencionais, os pacientes com LCM devem ser instigados a participar de ensaios clínicos, conceder possibilidades futuras e métodos terapêuticos que favoreçam a esses pacientes uma sobrevida melhor.

Referências:

1. Bassig BA, Lan Q, Rothman N, Zhang Y, Zheng T. Current understanding of lifestyle and environmental factors and risk of non-Hodgkin lymphoma: an epidemiological update. *J Cancer Epidemiol.* 2012;2012:978930.
2. Williams ME, Bernstein SH, Jares P, Kahl BS, Witzig TE, Gordon LI. Recent advances in mantle cell lymphoma: report of the 2012 Mantle Cell Lymphoma Consortium Workshop. *Leuk Lymphoma.* 2013;54(9):1882-90.

383. LINFOMA DE CÉLULAS NK /T TIPO NASAL AVANÇADO: RELATO DE CASO

Reis IN, Sobrinho JIN, Campêlo DHC, Mattos VRP, Silveira MP

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O linfoma de células NK/T tipo nasal (LNKN) é raro e agressivo. Atinge a cavidade nasal e o trato aéreo e digestivo alto no início, com sintomas semelhantes a sinusopatias, muitas vezes é diagnosticado em estádios avançados devido à baixa suspeição clínica. Quando o diagnóstico é precoce apresenta boa evolução, com necessidade apenas de radioterapia. Porém, quando já se encontra disseminado e com acometimento extranodal exige tratamento quimioterápico e a taxa de resposta completa é baixa com os esquemas usuais. O LNKN é mais prevalente em asiáticos e predomina em homens. O diagnóstico é feito por meio de biópsia de linfonodos ou estruturas paranasais, com análise imunofenotípica com expressão de CD2+, CD3+(citoplasmático), CD56+ e CD3-(superfície). Usualmente o vírus Epstein-Barr é identificado por hibridização *in situ*. As opções terapêuticas variam de acordo com a extensão da doença, podem limitar-se à radioterapia ou exigir quimioterapia associada a transplante de células-tronco hematopoiéticas. Entre os quimioterápicos, o esquema mais usado é o Chop (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona), porém esse apresenta baixos índices de resposta completa, princi-

palmente devido à refratariedade da doença à antraciclina. Um protocolo que vem sendo testado como primeira linha é o Smile (dexametasona, metotrexate, ifosfamida, L-asparaginase, etoposídeo). **Objetivo:** Relatar o caso de uma paciente com LNKN em estágio muito avançado, que apresentou resposta completa após o tratamento, mesmo diante do prognóstico inicial muito desfavorável. **Relato de caso:** Paciente do sexo feminino, 48 anos, branca, encaminhada ao Hospital Israelita Albert Einstein devido a quadro de sinusopatia recorrente, edema facial e linfonodomegalia cervical anterior de crescimento progressivo havia 45 dias, associado a dor cervical e febre. Em outro serviço havia feito biópsia de um linfonodo cervical, com achados morfológicos e imuno-histoquímicos compatíveis com linfoma de células NK/T, tipo nasal, com os seguintes marcadores: CD3 e CD56, EBV+ por hibridização *in situ*, KI67+ 90%, TIA1+. Ao exame, apresentava-se em mau estado geral, dispneica, com linfonodomegalias cervicais à direita, baço não palpável, com necessidade de cuidados intensivos. Foi então submetida a exames de imagem e PET-CT para estadiamento, que evidenciaram acometimento de múltiplos sítios extracervicais (partes moles de cavidades nasais, rino, orofaringe, células etmoidais e seio maxilar direito, com extensão para espaço bucal, além de tireoide, mamas, pulmões, linfonodos mediastinais, trato gastrointestinal e região anexial direita). Além disso, apresentava infiltração de sistema nervoso central, com 5% de células neoplásicas no exame de líquido, porém sem envolvimento de medula óssea. Foi classificada como estágio IVB, optou-se pelo início do tratamento com o protocolo Smile. Paciente evoluiu com redução da massa cervical, melhoria dos sintomas e fez novo PET-CT após término da quimioterapia, que evidenciou regressão do hipermetabolismo glicolítico nas diversas áreas de neoplasia anteriormente descritas, compatível com efetiva resposta ao tratamento até o momento. Em seguida, fez mobilização de células-tronco hematopoiéticas e aguarda o transplante autólogo de medula óssea. **Conclusão:** É importante atentar para a possibilidade de novos protocolos para LNKN com diagnóstico tardio.

384. LINFOMA CUTÂNEO DE PEQUENA E MÉDIA CÉLULA T CD4+ PLEOMÓRFICA: RELATO DE CASO

Carneiro FH^a, Guedes AA^b, Werner B^c, Netto MRM^{a,c}

^a Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Ponta Grossa, PR, Brasil

^b Santa Casa de Misericórdia de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR, Brasil

^c Patologia Médica, Ponta Grossa, PR, Brasil

Introdução: O linfoma cutâneo de pequena e média célula T CD4+ pleomórfica (LCPMCT) foi incluído como uma entidade provisória na classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS) para os tumores do tecido hematopoiético e linfóide de 2008. Caracteriza-se clinicamente pela presença de uma única ou múltiplas placas e tumores que ao exame anatomopatológico demonstram um infiltrado nodular ou difuso de células T pleomórficas pequenas e médias associado a uma pequena quantidade de células pleomórficas grandes (< 30%). **Relato de caso:** Paciente feminina, aos 41 anos, com lesão de pele em região frontal à direita, com dois meses de evolução. A lesão era pruriginosa, indolor e exibia crescimento lento. Ao exame, apresentava-se com aspecto nodular, com cerca de 2 cm de diâmetro, com bordos perolados e elevados e limites bem definidos. Outras lesões menores eram encontradas no nariz, no lóbulo da orelha e no dorso. O exame anatomopatológico demonstrou um processo linfoproliferativo atípico de pele, foi indicado estudo imuno-histoquímico. Os resultados dos imunomarcadores foram: CD3 positivo na maioria dos linfócitos da derme; CD20 positivo na minoria dos linfócitos da derme, que formava agregados irregulares, provavelmente em arranjo folicular com centros germinativos; Bcl-6 positivo em poucos linfócitos no interior dos agregados descritos anteriormente; CD10 positivo em poucos linfócitos no interior dos mesmos agregados; Kappa e Lambda positivos em ocasionais plasmócitos esparsos no tumor dérmico; ki-67 positivo difusamente em torno de 15% dos linfócitos, com áreas de intensa positividade (70-80%) no centro de alguns agregados de linfócitos B (prováveis centros germinativos). A imuno-histoquímica teve como conclusão o diagnóstico de linfoma cutâneo de pequena e média célula T CD4+ pleomórfica. Ao presente momento, a paciente faz exames de estadiamento da doença, com vistas à escolha do tratamento mais adequado. **Discussão:** Por se tratar de uma doença incomum e por não haver critérios precisos para fazer o diagnóstico diferencial com infiltrados linfóides benignos (pseudolinfomas), muito tem sido discutido na literatura acerca da classificação nosológica do LCPMCT. As características patológicas consideradas

mais preocupantes incluem a presença de infiltrados densos de linfócitos pleomórficos com citologia alarmante, invasão de estruturas anexas, ulceração, fenótipo aberrante e presença de uma população de células T monoclonais. No entanto, a maioria dos casos publicados tem sido caracterizada por um comportamento benigno, independentemente da presença ou ausência desses critérios. Alguns autores advogam que a excisão cirúrgica das lesões em estágios iniciais possa ser um tratamento curativo. Regressões espontâneas na ausência de terapia também têm sido descritas. Os pacientes com lesão solitária ou localizada, que representam a grande maioria dos casos publicados, têm geralmente um bom prognóstico, diferentemente dos pacientes com múltiplas lesões disseminadas, que parecem apresentar uma doença mais agressiva. **Conclusão:** O LCPMCT consiste em uma entidade de difícil caracterização quanto ao seu caráter benigno ou maligno. Dessa forma, dados publicados mais recentemente apoiam uma estratégia terapêutica inicial não agressiva com acompanhamento estritamente regular, especialmente para pacientes com lesões únicas.

385. LINFOMA ESPLÊNICO DIFUSO DE PEQUENAS CÉLULAS B DA POLPA VERMELHA – UM DESAFIO DIAGNÓSTICO

Gonçalves MV^{a,b}, Faria MF^a, Barbosa MCR^a, Sandes AF^b, Guirao FP^a, Silva MRR^a, Baiocchi O^a, Arrais C^{a,c}, Yamamoto M^a

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

^b Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

^c Hospital Sírio-Libanês, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O linfoma esplênico da polpa vermelha (LEPV) é entidade provisória da Classificação da Organização Mundial de Saúde 2008, que se diferencia do linfoma de zona marginal esplênico (LZME) principalmente pelo padrão de infiltração esplênica, acomete polpa vermelha e sinusoides, sem a formação de folículos com zona marginal, característica do LZME. Ambos cursam com esplenomegalia, linfocitose com linfócitos vilosos, invasão da medula óssea (MO) e curso indolente. A imunofenotipagem (IMF) de ambos mostra positividade para marcadores pan B (CD19, CD20, CD22) e negatividade para CD5, CD10 e CD123 e expressão negativa a moderada de CD11c e CD25; ambos podem ser sigM; IgG é mais comum no LEPV. A invasão da MO tende a formar folículos no LZME e ser difuso e intrasinusoidal no LEPV. **Objetivo:** Discutir dois casos suspeitos de LEPV e as dificuldades diagnósticas. **Caso 1:** Feminino, 74 anos, linfocitose detectada em exames rotina e esplenomegalia a 3 cm rebordo costal esquerdo (RCE). Exames iniciais: Hb = 10,9 g/dL; Leuco = 95 x 10⁹/L, 88% de linfócitos com projeções citoplasmáticas curtas, plaquetas = 155 x 10⁹/L. Mielograma com 84% de linfócitos, alguns vilosos. IMF foi (+) para CD19, CD20 forte, CD22, CD23 parcial, CD79b, FMC-7, CD49d, LAIR, IgG, cadeia leve kappa e BCL2, e (-) para CD5, CD10, CD11c, CD25, CD123, CD103. À biópsia (Bx) de MO, infiltrado difuso de pequenos linfócitos, também (-) para ciclina D1, BCL6 e anexina. Assintomática, optou-se por manter acompanhamento e o quadro segue estável há seis meses. **Caso 2:** Feminino, 48 anos, em consulta de rotina apresentava esplenomegalia a 2 cm do RCE, assintomática. Exames iniciais: Hb = 12,2 g/dL; Leuco = 6,3 x 10⁹/L, 25% de linfócitos, alguns com projeções curtas, plaquetas = 165 x 10⁹/L. Mielograma com 16% de linfócitos maduros, raros com projeções e IMF (+) para CD19, CD20 forte, CD22, CD79b, FMC-7, sigM e IgD, e (-) para CD5, CD10, CD11c e CD25. BxMO com infiltrado linfóide de cerca de 15%, intersticial e raras formações nodulares intertrabeculares. Cariótipo normal. Apesar de estável, iniciou-se rituximabe devido à intensa ansiedade da paciente: boa resposta com normalização dos exames e tamanho do baço. **Discussão:** A IMF excluiu doenças mais comuns que poderiam causar hepatoesplenomegalia, como LLC, manto e tricoleucemia (e variante) e deixa aberta a possibilidade de linfoma originalmente esplênico. Em ambos, apesar da leucometria, o quadro era indolente e a infiltração de MO não era a comumente observada no LZME, o que sugere LEPV. O perfil fenotípico poderia corresponder aos dois subtipos e a esplenectomia, que seria diagnóstica, não foi feita, devido ao curso indolente da doença e ao risco inerente ao procedimento. A perda do 7q31-32 poderia favorecer o LZME; está presente em 40% dos casos. Faltam dados para favorecer o procedimento cirúrgico em relação a tratamentos menos agressivos como rituximabe monoterapia. Faltam dados de diferença prognóstica entre ambos que justifiquem a diferenciação ao diagnóstico. **Conclusão:** A diferenciação LZME/LEPV pode ser difícil na prática clínica. A IMF e a BxMO são exames menos invasivos que, além de afastar outras linfoproliferativas, podem sugerir o diagnóstico. A esplenec-

tomia pode ser reservada para recidivas ou progressão com sintomas importantes. O melhor conhecimento sobre o comportamento biológico poderá trazer contribuições para o diagnóstico.

386. LINFOMA PLASMABLÁSTICO: RELATO DE CASO

Melero AF^a, Souza KJ^a, Tokeshi RN^b, Pereira LP^b, Bressa RC^{a,b}, Bressa JAN^{a,b}

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

^b Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil

Introdução: O linfoma plasmablástico (LP) é um linfoma de células B muito agressivo e de baixa incidência, que inicialmente foi descrito na cavidade oral de indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). No entanto, recentes artigos têm relacionado o LP em pacientes soronegativos e imunocompetentes. Com a tendência de acometimento extraganglionar, seu principal sítio é a cavidade oral, pode acometer ovário, estômago, pulmão e seios paranasais. **Objetivo:** Apresentar um caso de LP de seios paranasais com invasão para lobo frontal em paciente jovem HIV-negativo. **Material e métodos:** Levantamento de prontuário, descrição e discussão com revisão bibliográfica em banco de dados (PubMed). **Relato de caso:** Paciente do sexo masculino, 29 anos, presidiário, atendido no pronto-socorro com quadro de primeira crise convulsiva tônico-clônica com liberação esfinteriana e epistaxe com melhora espontânea. Negou conhecimento de patologias prévias. Ao exame físico geral encontrava-se em regular estado geral, ativo, lúcido e orientado no tempo e espaço, hipocorado ++/4, acianótico e anictérico. Exame físico especial apontou no neurológico Glasgow de 12 e pupilas isofotorreagentes. Nos antecedentes pessoais nada digno de nota. Os exames laboratoriais: eritrócitos: 5,10 M/uL, hemoglobina (Hb): 13,9 g/dL, hematócrito (Ht): 40,9%, plaquetas: 265 K/uL, leucócitos: 22,27 K/uL, basífilos: 01%, segmentados: 84%, neutrófilos totais: 85%, linfócitos: 07%, monócitos: 08%, sorologias para hepatite B, hepatite C e HIV negativas. Tomografia de crânio evidenciou uma lesão expansiva com densidade de partes moles, que sofre realce pelo meio de contraste endovenoso, acomete o seio maxilar à direita, promove remodelamento ósseo e aflamento da cortical e estende-se para células etmoidais e seio frontal ipsilateralmente, bem como para o espaço extradural na região frontal direita. Na biópsia foi feito painel imuno-histoquímico ampliado para CD45, CD138, Mum-1, kappa e lambda, que evidenciou neoplasia linfoproliferativa de células plasmocitárias agressivas. Feita hibridização *in situ* na pesquisa de EBV que mostrou positividade e sugeriu diagnóstico de linfoma plasmablástico. **Conclusão:** O LP é composto por células que expressam CD20 e CD45, conforme observado no painel imuno-histoquímico. Apesar de descrita inicialmente em pacientes HIV, essa não é uma condição para seu desenvolvimento.

387. PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DOS LINFOMAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA: 12 MESES DE EBSERH

Louzada LBS

Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brasil

Introdução: O Serviço de Onco-Hematologia (Cacon) do Hospital Universitário de Brasília (HUB) foi reaberto há pouco mais de um ano com a criação da Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares (Ebserh). A primeira quimioterapia foi feita em 06/06/2014. Nesse período (12 meses), contou com dois médicos hematologistas em 71,4% do período e com um médico nos demais, além de um (71,4% do tempo) a dois residentes de clínica médica. Apesar da limitação da equipe, o Cacon-HUB conseguiu tratar 36 pacientes com linfoma, 72,3% não Hodgkin (LNH) e 27,8% Hodgkin (LH), além de pacientes com síndromes mieloproliferativas crônicas, mielomas, mielodisplasias e doenças hematológicas benignas. **Objetivo:** Reportar o perfil clínico-epidemiológico dos pacientes com linfoma seguidos no HUB desde a reabertura do serviço em 2014, bem como a resposta ao tratamento. **Resultados:** Respectivamente para os LNH e LH, a mediana de idade foi de 58 anos e 29,5 anos; sexo masculino representou 61,5% e 50%; Ecog < 2 em 57,7% e 80%; estágio clínico avançado (III/IV) em 78,9% e 20%. Todos os LH eram do subtipo esclerose nodular. Dos LNH 61% eram imunofenotipo B (37,7% difuso de grandes células B, 25,2% manto e 12,6% folicular). Todos os LH foram tratados com ABVD, 71% com remissão completa no fim do tratamento. Os

protocolos para LNH B variam entre RCHO(M)P e DA-R-Epoch, 84,6% dos pacientes atingiram remissão completa e nenhum deles recaiu por ora. Dos linfomas T, excluindo-se os casos de micose fungoide, a maioria foi tratada com Choep-símile, somente 33% alcançaram resposta completa. A sobrevida global dos LNH foi de 73,6% em um ano e dos LH foi de 100% no primeiro ano. **Discussão e conclusão:** O perfil epidemiológico dos pacientes tratados no HUB é um pouco diferente da literatura do Ocidente, em que cerca de 75-90% dos pacientes têm imunofenótipo B, cerca de 40% de linfomas difusos de grandes células B, há um aumento da incidência de linfomas T no nosso serviço. Apesar da limitação numérica da equipe do Cacon-HUB, o tratamento feito em nosso serviço alcançou boas taxas de remissão completa para LNH B e LH. Atribuímos a pior resposta dos linfomas T ao Ecog ruim a que alguns pacientes chegaram, não toleraram a quimioterapia. Além disso, no diagnóstico e no encaminhamento para o serviço de referência, parecem impactar na mortalidade precoce.

388. DIAGNÓSTICO E ABORDAGEM DE MICOSE FUNGOIDE APÓS LINFOMA DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS B EM PACIENTE COM AIDS

Oliveira AC, Barbosa AA, Rezende FC, Rossi SB, Lima RS, Borducchi DMM

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

Introdução: O estado de imunossupressão consequente à infecção pelo HIV somado às alterações genéticas constitucionais ou decorrentes da infecção viral é a possibilidade já existente para a prevalência estabelecida de linfoproliferações em pacientes HIV+. Atualmente, as pessoas infectadas pelo HIV na era HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy) continuam a ter elevado risco de linfoma não Hodgkin (LNH), ainda responsável por cerca de 20% dos óbitos relacionados a HIV em países desenvolvidos. Estudos epidemiológicos mostram que LNH tem uma incidência de 60 a 200 vezes maior em população HIV+. Concomitantemente, manifestações clínicas do linfoma tendem a ter um comportamento agressivo em pacientes HIV+. Por sua vez, a micose fungoide é considerada como condição clínica rara como manifestação cutânea primária de linfoma de células T, sua etiologia é relacionada a infecção pelo vírus HTLV-I. Pouco se sabe sobre a relação e prevalência de micose fungoide e infecção pelo HIV-1, é mais rara ainda sua manifestação em pacientes com LNHGCB. **Relato de caso:** ESN, masculino, 38 anos, diagnosticado com HIV em 2002, em uso regular de terapia antirretroviral (lamivudina, tenofovir, atazanavir e ritonavir), além de Bactrim. Em acompanhamento com a hematologia por histórico de linfoma difuso de grandes células B diagnosticado em 2010 e tratado até 2011 com seis ciclos de R-Chop (rituximabe + ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona). Histórico de meningite criptocócica em uso de fluconazol. Em julho de 2014 apresentava carga viral indetectável e CD4 igual a 20 células/mm³, quando iniciou com lesões de pele difusas em membros inferiores e superiores. O hemograma revelou leucócitos e plaquetas abaixo do limite inferior da normalidade e ausência de linfócitos atípicos. Bilirrubinas totais, GGT, DHL e TSH aumentados. Sorologias não reagentes para toxoplasmose, citomegalovírus, sífilis, HTVL, hepatites B e C. O estudo histopatológico de lesão no braço esquerdo e na coxa direita revelou estrutura folicular pilosa com dissociação celular por mucina, acompanhada por infiltrado linfóide com algumas células atípicas de perimeio. Essas células atípicas apresentavam núcleos hiperprômáticos e contorno nuclear irregular e também permeavam focalmente a epiderme. A imuno-histoquímica demonstrou CD3 positivo quase na totalidade das células linfóides e CD4 positivo em 70% das células linfóides (predomínio nas células epidermotrópicas). O diagnóstico foi definido como micose fungoide/foliculotrópica em paciente com Aids. O tratamento proposto da micose fungoide foi fotoquimioterapia com PUVA (psoraleno + raios ultravioleta A). Houve regressão significante das lesões. **Discussão e conclusão:** É importante atentarmos para a possibilidade de associação entre a micose fungoide e o HTLV-1 no paciente relatado. Muitos métodos usados para a detecção de anticorpos anti-HTLV não são sensíveis o suficiente. Além desse fato, o paciente portador do HIV pode não ter desenvolvido defesa contra o vírus HTLV, portanto a falta de uma resposta imune ao vírus não exclui sua presença. As lesões e os linfomas concomitantes nesses pacientes têm comportamento mais agressivo do que em pacientes imunocompetentes e exigem acompanhamento próximo e regular, bem como adequada adesão ao tratamento, para que a progressão do quadro clínico aumente a sobrevida do paciente.

LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA E OUTRAS SÍNDROMES MIELOPROLIFERATIVAS CRÔNICAS, INCLUINDO AS POLICITEMIAS

389. L-AMINO ACID OXIDASE OF CALLOSELASMA RHODOSTOMA EFFECT IN JAK2 POSITIVE CELLS

Tavares CFF^a, Maciel TF^a, Burin SM^a, Ambrósio L^a, Ghisla S^b, Sampaio SV^a, Castro FA^a

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

^b University of Konstanz, Konstanz, Germany

Background: Myeloproliferative neoplasms (MPN) are hematological diseases characterized by a myeloaccumulation and myeloproliferation of mature myeloid cells. MPN are Philadelphia chromosome negative diseases and may have tyrosine kinase, Janus kinase 2 (JAK2), MPL, or calreticulin mutations. Besides all the knowledge about MPN pathogenesis, there is no curative treatment for MPN patients. Thus, potential new drugs have been investigated to improve MPN therapy. In this context, the *Calloselasma rhodostoma* L-amino acid oxidase (CR-LAAO), a toxin isolated from snake venom capable of inducing apoptosis in various tumor experimental *in vitro* models, was tested in a JAK2 positive cell line from MPN patients. **Aims:** 1) To determine the potential of CR-LAAO against HEL 92.1.7, a JAK2 positive cell line; 2) To detect which apoptotic pathway is stimulated by CR-LAAO on JAK2 mutated cell lines. **Material and Methods:** The CR-LAAO cytotoxicity potential in HEL 92.1.7 was performed by MTT and the results were expressed as percentage of cell viability. Briefly, 100,000 cells were treated with CR-LAAO in different concentrations (0.05; 0.15; 0.25; 0.35; 0.5; 0.75; 1.0; 1.5, and 2.5 µg/mL) for 12 h. The apoptosis of HEL92.1.7 JAK2V617F positive cell line cultured with different concentrations of CR-LAAO was also quantified by hypotonic fluorescent solution (HFS) method using flow cytometry. The results were expressed as the percentage of cells with hypodiploid nuclei. HEL 92.1.7 apoptosis induced by CR-LAAO was confirmed by caspase 3, 8, and 9 activation and cleaved PARP expression by western blot. **Results:** The CR-LAAO presents a cytotoxic effect in HEL 92.1.7 cell line with of IC₅₀ of 0.15 µg/mL. This study observed a decrease in CR-LAAO cytotoxic effect in HEL 92.1.7 cell line when cells were treated with catalase, indicating that H₂O₂ is partly responsible for CR-LAAO cytotoxicity CR-LAAO was able to induce apoptosis in the HEL 92.1.7 cell line mainly in the concentrations of 0.05; 0.15; and 0.25 µg/mL, in a dose dependent manner. HEL 92.1.7 cell line apoptosis was confirmed by the detection of caspase 3 and 9 cleaved forms, and cleaved PARP. **Conclusions:** The results indicate that CR-LAAO presents an anti-neoplastic potential against HEL 92.1.7 JAK2 positive cells by activating the apoptosis pathway. This result may contribute to describe new drugs for MPN treatment. **Funding:** NAP-TOXAN, FAPESP 2011/23236-4 and 2014/19127-3.

390. HEMORRAGIA RETROPERITONEAL PÓS-BIÓPSIA DE MEDULA ÓSSEA

Tavares FS, Dobner S, Boetcher C, Gastal GR

Clínica de Hematologia e Oncologia (CHO), Joinville, SC, Brasil

Biópsia de medula óssea (BMO) é um procedimento amplamente usado no diagnóstico e estadiamento da maioria das doenças onco-hematológicas. Procedimento relativamente seguro, com rara ocorrência de complicações e nesses casos raramente com risco de vida. Descrevemos o caso da paciente IXR, 79 anos, submetida à biópsia de medula óssea para investigação de um quadro de trombocitose. Após o exame, evoluiu com quadro de choque hipovolêmico em menos de 24 horas, foi manejada na Unidade de Terapia Intensiva, seguido de múltiplas intercorrências graves, com grande risco de vida. Conclui-se que a feitura de BMO deverá ser avaliada individualmente quanto a indicação, riscos e prevenção de eventos adversos, bem como necessidade de um claro esclarecimento ao paciente e aos parentes quanto aos possíveis efeitos colaterais, mesmo que raros. **Palavras-chave:** Biópsia de medula óssea; Indicações; Procedimento e complicações; Hemorragia retroperitoneal; Doença mieloproliferativa crônica.

391. EXPRESSÃO DE DIDO 1, 2 E 3 NA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA

Coeelho MGB^a, Marsola APZC^a, Burin SM^a, Junior MCR^b, Ferreira AF^b, Kashima S^b, Panepucci RA^b, Covas DT^b, Simões BP^c, Figueiredo-Pontes LL^c, Castro FA^a

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

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

^c Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: A literatura relata que o gene *DIDO 1* participa da ativação do processo de apoptose via estímulo de caspases, enquanto que alterações da expressão de *DIDO 2* e *DIDO 3* parecem estar associadas a fisiopatologia de neoplasias mieloides. O presente estudo avaliou a expressão das isoformas do *DIDO* (*DIDO 1, 2 e 3*) na leucemia mieloide crônica (LMC). A LMC é uma doença mieloproliferativa caracterizada pela presença do gene *BCR-ABL1*, que codifica a proteína Bcr-Abl com atividade tirosina-quinase constitutiva, responsável pela mieloproliferação e resistência das células leucêmicas Bcr-Abl+ à apoptose. **Objetivo:** Quantificar a expressão dos genes *DIDO 1, 2 e 3* em controles e pacientes com LMC nas diferentes fases da doença e tratados com o inibidor de tirosina-quinase mesilato de imatinibe (MI). **Material e métodos:** Foram estudados 60 pacientes com LMC nas diferentes fases da doença (41 em fase crônica e 19 em fases avançadas, tratados ou não com mesilato de imatinibe) e 57 indivíduos controles. Dentre os pacientes, 25 eram do sexo feminino e 35 do masculino, com idade média de 45 anos. Dentre os controles, foram 22 do sexo feminino e 35 do masculino, com idade média de 45 anos. As células mononucleares de sangue periférico dos pacientes e controles foram isoladas pelo método de Ficoll-Paque[®], o RNA extraído com o emprego da metodologia do trizol[®], o cDNA sintetizado com o kit High Capacity cDNA reverse transcription[®] e a quantificação da expressão gênica de *DIDO 1, 2, 3* foi feita por meio de PCR em tempo real (qPCR). **Resultados:** A expressão gênica de *DIDO 1* foi maior nos pacientes na fase crônica da LMC tratados com MI do que nos controles ($p = 0,0028$; medianas dos valores de expressão = 6,921 e 2,092, respectivamente). Os pacientes na fase crônica da LMC tratados com MI expressaram mais *DIDO 1* do que os pacientes na fase crônica sem tratamento ($p = 0,0184$; medianas = 6,921 e 2,557, respectivamente). A expressão de *DIDO 3* também foi maior nos pacientes na fase crônica tratados com MI do que em pacientes na fase crônica sem tratamento ($p = 0,0357$; medianas = 7,124 e 2,338, respectivamente). Houve correlação positiva entre a expressão de *BCR-ABL1* e a expressão de *DIDO 2* ($r = 0,5824$; $p = 0,0184$) e entre o índice de Sokal dos pacientes e a expressão de *DIDO 2* ($r = 0,2592$; $p = 0,0303$). **Conclusão:** O tratamento com mesilato de imatinibe parece aumentar a expressão de *DIDO 1* e a isoforma *DIDO 2* correlaciona-se positivamente à expressão de *BCR-ABL1* e ao índice de Sokal dos pacientes com LMC.

392. LATS 1 AND LATS2 DIFFERENTIAL EXPRESSION IN ESSENTIAL THROMBOCYTHEMIA

Cacemiro MC^a, Nunes NS^a, Tognon R^b, Souto EX^c, Traina F^d, Pontes LL^d, Perobelli L^c, Prata PHL^d, Simões BP^d, Castro FA^a

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

^b Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, MG, Brasil

^c Hospital de Transplantes Euryclides de Jesus Zerbini, São Paulo, SP, Brasil

^d Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Background: The Hippo pathway, recognized as a tumor suppressor pathway, regulates cell number by modulating cell proliferation, cell death, and cell differentiation. This pathway is composed by MST1/2, WW45, Lats1/2, Mob1 and, YAP/TAZ. This study investigated the relation between Hippo pathway deregulation and essential thrombocythemia (ET) pathogenesis. ET is a nonreactive, myeloproliferative disorder in which sustained megakaryocyte proliferation leads to an increase in the number of circulating platelets. About 80% of ET patients have an acquired gene mutation contributing to the disease. This may involve Janus kinase 2 (JAK2), calreticulin (CALR), or MPL gene mutation. The JAK2V617F muta-

tion, present in 40–50% of ET cases, is associated to apoptosis resistance and myeloproliferation. **Aims:** To quantify the MST1, MOB1B/A, YAP, TAZ, LATS1, and LATS2 gene expression in ET patients and controls (CTRL), and to correlate the gene expression results to JAK2V617F allele burden. **Subjects and Methods:** Peripheral blood leukocytes were obtained from 36 ET patients (median age = 57.8 years; ten men and 26 women) and 62 controls (median age = 56 years; 22 men and 40 women). RNA was extracted by the Trizol[®] method and the cDNA were synthesized using a High Capacity[®] cDNA reverse transcription kit. The gene expression was assessed by a real time PCR by using the TaqMan[®] gene expression assays, and the results were expressed as relative units of expression. **Results:** The LATS1 (median = 183.8; $p = 0.0324$) and LATS2 (median = 466.9; $p = 0.0164$) expression was lower in ET patients in comparison to controls (median = 262.5 and median = 826.5, respectively; $p < 0.05$). There was a negative correlation between LATS2 expression and JAK2V617F mutation allele burden ($r = -0.5727$; $p = 0.0163$). No difference was observed in MST1, MOB1B/A, and TAZ expression between ET patients and controls ($p > 0.05$). **Conclusion:** The results indicate that deregulated LATS 1 and LATS2 expression may contribute to ET pathogenesis, since these genes control the Hippo tumor suppressor pathway. **Keywords:** Essential thrombocythemia; JAKV617F; LATS1; LATS2; Hippo pathway. **Funding:** FAPESP (2014/04234-9) and CNPq.

393. CONCOMITÂNCIA DE POLICITEMIA VERA E LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA COM EXPRESSÃO P190: RELATO DE CASO

Peniche FF^a, Datoguiu TS^a, Nascimento VM^a, Neto EB^{a,b}, Cerqueira-Neto AB^a, Nicolau JE^{a,b}

^a Irmandade da Santa Casa da Misericórdia de Santos, Santos, SP, Brasil

^b Universidade Metropolitana de Santos (UNIMES), Santos, SP, Brasil

Introdução: A ocorrência de neoplasia mieloproliferativa Ph negativa em conjunto com LMC em um mesmo paciente é um evento raro. Descrevemos o caso de uma paciente encaminhada à SCMS com diagnóstico de PV desde 2002 e evolução após oito anos para LMC com rearranjo BCR-ABL p190. **Relato de caso:** M.L.S.M., 63 anos, feminina, branca, encaminhada em 2014 com diagnóstico de policitemia vera desde 2002. O cariótipo inicial mostrava a presença de trissomia do 9 em 50% das células analisadas, sem a detecção do cromossomo Ph. Durante os oito anos iniciais de acompanhamento em outro serviço foi tratada com flebotomia, AAS e Hydrea. Em 2010, em novo exame de cariótipo, foi observada a presença de cromossomo Philadelphia em uma única metafase: 48,XX,+8,+9(12)/46,XX,t(9;22)(q34;q11.2)(1)/46,XX(17). A pesquisa do PCR BCR-ABL P210 na ocasião se mostrou negativa. Entre 2010 e 2013, ainda em outro serviço, fez sessões de radioterapia em região de baço por esplenomegalia importante. Em 2013, em decorrência de novo aumento do baço e evolução com anemia crônica, foi suspenso o uso de Hydrea e encaminhada a paciente para o nosso serviço. Novo cariótipo, em 2014, mostrou o seguinte: 48,XX,+8,+9(14)/46,XX,t(9;22)(q34;q11.2)(14)/46,XX(2). Exames laboratoriais demonstravam Hb: 10,9 g/dL, Ht: 34,4%, leucócitos: 15.090 mm³ com desvio à esquerda até promielócitos, 11% de basófilos, 5% de eosinófilos, 16% de linfócitos, 6% de monócitos, 1% de blastos e plaquetas: 91.000/mm³. O PCR BCR-ABL (p210) quantitativo foi negativo e a pesquisa de mutação JAK2V617F, positiva. Optou-se, então, por solicitar PCR BCR-ABL qualitativo para o p190, com o seguinte resultado: detectado na primeira fase. Em janeiro de 2015 foi iniciado tratamento com imatinibe 400 mg/dia. Paciente evoluiu durante os seis primeiros meses de tratamento com queda da hemoglobina e necessidade de várias transfusões de hemácias, diminuição da leucocitose inicial, porém com manutenção do desvio à esquerda, plaquetopenia e, ao exame físico, redução discreta da esplenomegalia. Suspenso imatinibe por um mês com reintrodução na dose de 300 mg/dia para posterior reavaliação da paciente. **Discussão:** A associação de duas doenças mieloproliferativas ou a evolução de uma NMP para LMC é infrequente na literatura. Poucos casos de concomitância da mutação JAK2V617F e fusão BCR-ABL foram descritos. Dentre os casos relatados, a apresentação simultânea da mutação JAK2V617F e rearranjo BCR-ABL foi a mais frequente, seguida do aparecimento de LMC na evolução de uma NMP ou vice-versa. A PV foi a NMP mais frequente associada à evolução para LMC e o intervalo médio entre os diagnósticos de sete anos. Yamada et al. (2014) demonstraram em nível celular a aquisição da translocação BCR-ABL como um evento secundário aos clones JAK2V617F positivos. A fusão BCR-ABL pode ter uma vantagem proliferativa celular quando comparada com aquela provoca-

da pela mutação JAK2V617F, fato observado com a mudança de fenótipo do paciente para LMC e de volta para a NMP após resposta molecular com inibidor de tirosinoquinase. A paciente em questão apresenta um outro evento raro, que é a expressão da oncoproteína p190, com prevalência de 1% na LMC e apenas com um caso relatado em associação com a mutação JAK2V617F. **Conclusão:** A LMC com BCR-ABL p190 pode representar uma LMC atípica, caracterizada por resposta terapêutica reduzida aos ITK e maior evolução para a fase blástica.

394. SÍNDROME MIELOPROLIFERATIVA CRÔNICA EM PACIENTE JOVEM – RELATO DE CASO NO INTERIOR DA AMAZÔNIA BRASILEIRA

Borges KOR, Silva ACS, Trindade L, Rodrigues GCS, Martins M, Junior ABDS, Nunes KKS, Lessa HE, Fortes MF

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

Introdução: A leucemia mieloide crônica é uma síndrome mieloproliferativa de células maduras, que representa 20% de todas as leucemias. Tem seu pico de incidência entre 45 e 55 anos, com discreto predomínio no sexo masculino. É caracterizada pela anomalia citogenética denominada cromossomo Filadélfia, presente em 95% dos pacientes, uma translocação entre os braços longos do cromossomo 9 (banda 34) e 22 (banda 11). A oposição dos genes forma um oncogene híbrido, chamado bcr/abl, que produz má proteína denominada de P210, uma tirosina quinase que aumenta a divisão celular e bloqueia a apoptose. **Relato de caso:** Paciente do sexo masculino, 27 anos, pardo, solteiro. Compareceu ao ambulatório de Onco-Hematologia do Hospital Regional do Baixo Amazonas em junho de 2014, por apresentar quadro de fraqueza, astenia, febre, cansaço e tontura e exame que apresentou leucocitose com neutrófilos de 62.000 com desvio à esquerda e presença expressiva de blastos (2% de eosinófilos, 5% de mielócitos, 15% de metamielócitos, 40% de segmentados, 23% de bastonetes, 7% de linfócitos, 8% de monócitos), com hemoglobina de 13,90 g/dL e contagem de plaquetas 245.000/mm³. Foi então internado para investigação por 16 dias, quando foi feita citoredução com hydroxiureia, que estabilizou o paciente. Posteriormente, a citogenética para BCR-ABL apresentou-se positiva para translocação 9;22. A conduta instituída foi o tratamento com uso de mesilato de imatinibe 400 mg uma vez ao dia e acompanhamento ambulatorial. O paciente apresenta atualmente normalização dos neutrófilos para 3.700 e ótima resposta clínica ao tratamento. **Conclusão:** A leucemia mieloide crônica é uma neoplasia hematológica que acomete adultos na quinta e sexta década de vida predominantemente, não pode ser afastada, entretanto, do diagnóstico diferencial em pessoas jovens, especialmente do sexo masculino. Dessa maneira a citogenética é fundamental para o diagnóstico.

395. AVALIAÇÃO DE EVENTOS CARDIOVASCULARES EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA TRATADOS COM INIBIDORES DE TIROSINO QUINASE

Assunção PM, Zulli R, Delamain MT, Duarte GO, Metzke IGHL, Souza CA, Oliveira LC, Fernandes EMSA, Paul P, Pagnano KBB

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

Introdução: O tratamento com inibidores de tirosino quinase (ITK) aumentou a sobrevida global de pacientes com leucemia mieloide crônica (LMC). ITKs de segunda geração associam-se a aumento na incidência de eventos cardiovasculares. **Objetivo:** Avaliar a incidência de eventos cardiovasculares em pacientes com LMC tratados com ITKs e sua correlação com o risco cardiovascular desses pacientes. **Material e métodos:** Entre 2005 e 2013, pacientes tratados com nilotinibe e dasatinibe foram comparados com pacientes tratados com imatinibe durante o mesmo período. Fatores de risco cardiovasculares foram avaliados retrospectivamente ao início do tratamento, incluindo idade, hipertensão arterial sistêmica (HAS), dislipidemia, obesidade, hipotireoidismo, tabagismo, diabetes mellitus (DM), doença arterial coronariana (DAC) e insuficiência renal crônica (IRC). Foram considerados eventos cardiovasculares: infarto agudo do miocárdio, angina instável, doença arterial periférica, acidente vascular encefálico (AVE), arritmias, elevação da pressão arterial e insuficiência cardíaca. O risco cardiovascular foi calculado por meio do gráfico Score da Sociedade Europeia de Cardiologia, que classifica os pacientes em riscos baixo, moderado, alto e muito alto. **Resultados:** Foram analisados 117 pacientes com LMC tratados com dasatinibe (n = 91) ou nilotinibe (n = 60) e 117 pacientes tratados com imatinibe (n = 117). No grupo dos ITKs de

segunda geração, 34 pacientes receberam dasatinibe e nilotinibe durante o estudo. O tempo médio de seguimento foi de 748 dias no grupo imatinibe, 519 dias no dasatinibe e 851 dias no nilotinibe. Conforme o gráfico Score, 92 pacientes (39,3%) classificaram-se em risco baixo, 64 (27,3%) moderado, 42 (18%) alto e 36 (15,4%) muito alto. Comorbidades: 90 pacientes (38,5%) apresentavam HAS, 34 (14,5%) DM, 67 (28,6%) dislipidemia, 51 (21,8%) obesidade, 22 (9,4%) hipotireoidismo, 14 (6%) DAC, 21 (9%) insuficiência cardíaca sistólica (ICS), quatro (1,7%) AVE, 20 (8,5%) IRC e 36 (15,4%) tabagismo. A incidência de eventos cardiovasculares foi de 4,1% (95% IC), maior no grupo dos ITKs de segunda geração: cinco (5,5%) eventos no grupo dasatinibe (p = 0,015) e seis (10%) no nilotinibe (p = 0,001), não foram reportados eventos no grupo imatinibe. A incidência desses eventos foi maior nos grupos de risco alto e muito alto, 10 (10,8%), enquanto apenas um foi reportado nos grupos de risco baixo e moderado (0,52%) (p ≤ 0,001). A incidência de eventos arteriais isquêmicos foi de seis eventos (10%) com nilotinibe, dois (2,2%) com dasatinibe e nenhum com imatinibe, com diferença significativa no grupo nilotinibe (p ≤ 0,001). Tais eventos foram exclusivos dos grupos de risco alto e muito alto, oito (8,7%) (p ≤ 0,001). Os fatores de risco associados à maior cardiotoxicidade foram HAS, dislipidemia, DAC, ICS e IRC. Progressão de doença foi a principal causa de óbito em todos os grupos. **Conclusão:** Eventos cardiovasculares foram mais prevalentes em pacientes tratados com ITKs de segunda geração e eventos arteriais isquêmicos foram mais frequentes no grupo nilotinibe e restritos a pacientes de risco alto e muito alto. A estratificação do risco cardiovascular é recomendada para seleção da melhor terapia e identificação dos pacientes de alto risco, a fim de reduzir a morbimortalidade associada aos eventos cardiovasculares.

396. LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA CONCOMITANTE COM LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA

Nascimento VM^a, Datogúia T^a, Peniche FF^a, Cerqueira-Neto AB^a, Neto EB^b, Nicolau JE^b

^a Irmandade da Santa Casa da Misericórdia de Santos, Santos, SP, Brasil

^b Universidade Metropolitana de Santos (UNIMES), Santos, SP, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide crônica (LMC) e a leucemia linfocítica crônica (LLC) são duas das neoplasias hematológicas mais comuns diagnosticadas no mundo. A LLC é a mais comum em adultos do Ocidente e entre os brancos corresponde a 25-30% de todas as leucemias. Já a LMC é a síndrome mieloproliferativa mais frequente. A concomitância das duas neoplasias ao diagnóstico é um evento raro com poucos casos relatados na literatura. Ambas diagnosticadas simultaneamente é ainda mais incomum, 12 casos relatados. Esses casos levantam a dúvida de uma possível relação entre suas fisiopatologias, como, por exemplo, a possibilidade de surgirem de um clone neoplásico comum ou outra ligação ainda desconhecida. **Objetivo:** Relatar o caso de uma paciente diagnosticada com LLC/LMC e concomitantemente apresentou cromossomo Ph positivo e marcadores imuno-histoquímicos para a linhagem linfocítica. **Relato do caso:** Paciente, sexo feminino, com 64 anos foi encaminhado ao serviço de investigação de hemograma alterado e queixa de perda involuntária de 5kg em cinco meses. Apresentava 30.800 leucócitos/mm³ com 41% de neutrófilos segmentados com desvio à esquerda (2% mielócitos, 3% metamielócitos, 3% bastonetes) e 50% de linfócitos. Sua contagem plaquetária era de 727.000/mm³. Foi feita citogenética, a qual apresentou translocação 9;22 em todas as células analisadas. Foi então solicitado o teste da reação em cadeia da polimerase (PCR), que se mostrou positivo. Além disso, sua imunofenotipagem apresentava células de linhagem B maduras, clonais, que coexpressavam os antígenos CD19 e CD5, em associação com os antígenos CD23, CD20 e imunoglobulina de cadeia leve KAPPA. Os linfócitos clonais não expressavam os antígenos FMC-7, CD79 e CD38. Assim, a paciente foi diagnosticada com LLC (Binet A) concomitante com LMC (Sokal intermediário). Foi iniciado tratamento com imatinibe 400 mg e após 12 meses de acompanhamento paciente apresenta resposta molecular completa e ainda não tem critérios para tratamento de LLC. **Discussão:** O caso relata a ocorrência de uma rara concomitância entre dois diagnósticos distintos em uma mesma paciente. O fato de ambas terem sido diagnosticadas juntas faz o caso ser ainda mais distinto, já que a maioria dos casos ocorre a partir de uma LLC de longa duração e precede a LMC. Em alguns casos de doença concomitante foi possível estudar no nível genômico a associação dessas duas doenças e foi levantada a hipótese de ambas terem um mesmo clone comum. Essa premissa foi negada a partir do fato de não se encontrarem ambos os marcadores moleculares em uma única célula. Em vista do tratamento, foi decidido

iniciar imatinib 400 mg e acompanhar a resposta terapêutica para LMC e seguir acompanhando se haveria evolução da LLC nos próximos meses, já que no momento do diagnóstico a paciente não apresentava critérios para o tratamento da doença da série linfóide. Os estudos da comunidade científica apontam para o uso do inibidor de tirosina quinase de segunda geração (dasatinib) para o tratamento desses casos de simultaneidade de doenças. **Conclusão:** Descrevemos um caso de LMC concomitante a LLC que está em tratamento inicial com imatinib e apresenta boa resposta à doença mieloide e sem evolução da doença linfóide até o presente momento. Aguardamos mais estudos na área para assegurarmos do benefício de usar o dasatinib como primeira linha nesses pacientes.

397. NOVOS AVANÇOS NO MONITORAMENTO MOLECULAR DA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA

Capannacci J^a, Bertolucci B^a, Colturato V^a, Hokama NK^b, Hokama POM^b

^a Hospital do Câncer Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil

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

O tratamento de pacientes portadores de leucemia mieloide crônica (LMC) em fase crônica (FC), a partir do diagnóstico, com inibidores de tirosina quinase BCR-ABL 1 tem mostrado excelentes resultados em longo prazo. Apesar do alcance rápido da resposta hematológica e do desaparecimento do cromossomo Filadélfia (Cr Ph) abaixo do nível de detecção (resposta citogenética completa), níveis de RNA mensageiro (RNAm) de BCR-ABL1 permanecem detectáveis durante muitos anos, o que desafia as estratégias terapêuticas. Os avanços na biologia molecular nos permitem monitorar a doença residual mínima na LMC e, conseqüentemente, buscar estratégias de tratamento mais eficientes. O padrão ouro para o teste de monitoramento molecular é a quantificação absoluta em tempo real por RT-PCR (q-RT-PCR) do transcrito BCR-ABL1 (BCR-ABL/gene controle). Assim, análises moleculares normalizadas, precisas e reprodutíveis são fundamentais no acompanhamento clínico desses pacientes e na definição da abordagem terapêutica mais apropriada. Com base nessas necessidades clínicas, é amplamente reconhecido que a reprodutibilidade laboratorial é uma questão crucial que requer padronização e alinhamento rigoroso dos valores BCR-ABL na escala internacional (IS), conforme estabelecido pelo estudo IRIS (2003). Com esse objetivo, o Laboratório de Biologia Molecular do Hospital Amaral Carvalho (Jaú, SP) concluiu em junho de 2015, seu alinhamento com o Laboratório de Adelaide, Austrália, e validou seu fator de conversão para a escala internacional. Adicionalmente a esse processo de alinhamento internacional, o Laboratório de Biologia Molecular do Hospital Amaral Carvalho testou 30 amostras por meio da metodologia Xpert® BCR-ABL Monitor, desenvolvido e fabricado pela Cepheid (Sunnyvale, CA). Xpert® BCR-ABL Monitor é um ensaio automatizado de q-RT-PCR, baseado no cartucho para quantificação de RNAm BCR-ABL1, reporta os resultados em escala internacional. Esse teste integra o processamento da amostra, a extração e amplificação de ácidos nucleicos e a detecção da sequência alvo (b2a2, b3a2, ABL) em amostras de sangue periférico. No presente estudo, avaliamos 90 amostras pelo método padrão do laboratório (Branford and Hughes, 1999). Dessas 90 amostras, 60 foram enviadas para o Laboratório de Adelaide e 30 testadas em Jaú pelo método Xpert® BCR-ABL Monitor, a fim de comparar os resultados expressos dentro da escala internacional. Foram usados como critérios de comparação os propostos por Muller et al. (Leukemia, 2009). Os resultados desse estudo demonstraram uma ótima correlação dos valores de expressão do transcrito BCR-ABL1 obtidos no Laboratório do Hospital Amaral Carvalho e no Laboratório de Adelaide. Os valores dos fatores de conversão para a escala internacional foram, respectivamente 1,19 e 1,25. Foi observada uma alta concordância dos resultados entre o método padrão do Laboratório do Hospital Amaral Carvalho e o Xpert® BCR-ABL Monitor. Por se tratar de uma técnica automatizada, o tempo gasto em bancada foi de aproximadamente 15 minutos e o resultado liberado em duas horas. Em conclusão, Xpert® BCR-ABL monitor demonstrou ser um método rápido, de fácil execução e preciso para o monitoramento dos níveis de expressão do transcrito de BCR-ABL1.

398. SÍNDROME HIPEREOSINOFÍLICA BCR-ABL EM PACIENTE COM SINTOMAS HÁ 20 ANOS

Neto MPQ

Hospital Metropolitano Norte Miguel Arraes (HMA), Paulista, PE, Brasil

Introdução: Hipereosinofilia é definida como eosinofilia persistente (> 1.500 x 10⁹/L) em pelo menos duas aferições em um intervalo mínimo de quatro semanas. A maioria das hipereosinofílias é secundária; as causas mais comuns são as helmintíases, as reações alérgicas e medicamentosas e as atopias; e as menos comuns são as leucemias e os linfomas linfoblásticos por produção de IL-5 e IL-3.^{1,3} As hipereosinofílias primárias, são, entretanto, mais raras, com eosinófilos clonais, causadas por leucemias mielógenas e síndromes mielodisplásicas.^{1,3} Para a classificação de uma síndrome hipereosinofílica, é necessário que haja hipereosinofilia, lesão de órgão-alvo e ausência de outra causa que explique o quadro clínico.^{1,4} **Objetivo:** Relatar uma síndrome hipereosinofílica diagnosticada como leucemia mieloide crônica com eosinofilia (LMC-eo) em um paciente com sintomas havia 20 anos. **Relato de caso:** Paciente com 30 anos se apresentou na emergência com queixa de dispnéia, febre e tosse produtiva havia três dias. Fazia uso, havia 10 anos, de 20 mg de prednisona por dia após internamento em hospital do Recife. Na ocasião, referia edema de membros inferiores e urina espumosa. Porém, perdeu seguimento. Referia lesões de pele desde os 10 anos, de caráter cíclico – resolução espontânea em uma semana e recidiva após uma a duas semanas – e pruriginosas. As lesões ressurgiam após retirada do corticoide. Após desmame de corticoide para 15 mg/dia, surgiram lesões papulo-eritemato-violáceas pustulosas em face, couro cabeludo, membros superiores, tórax, dorso e abdome. Apresentou eritrodermia, artrite de joelhos e eosinofilia crescente, com valores acima de 6.000 eosinófilos x 10⁹/L que perfaziam 30 a 50% da celularidade total. Blastos não foram flagrados no hemograma. Foi solicitado ANCA para avaliar vasculite, cujo resultado foi negativo. Biópsia de pele demonstrou foliculite eosinofílica. Mielograma visualizou 20% de eosinófilos. Teste rápido para HIV teve resultado não reagente. Tomografia de tórax e abdome com contraste evidenciou linfonodomegalias em cadeias inguinais, axilares e cervicais. Foram então solicitadas citometria de fluxo e pesquisas de mutação JAK2, BCR-ABL e FIP1L1-PDGFR α . O BCR-ABL foi positivo, enquanto a JAK2 foi negativa e a citometria de fluxo não observou clonalidade linfocitária. O resultado da FIP1L1-PDGFR α até o término desta edição ainda não estava disponível. Hidroxiureia foi iniciada e desmame de prednisona foi mantido. Recebeu alta para acompanhamento no Centro de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (Hemope) e início de imatinib. **Conclusão:** Este trabalho demonstrou o diagnóstico de um caso raro de LMC-eo, em que o paciente apresentou início dos sintomas 20 anos antes do diagnóstico.

Referências:

1. Valent P, Klion AD, Horny HP, Roufosse F, Gotlib J, Weller PF, et al. Contemporary consensus proposal on criteria and classification of eosinophilic disorders and related syndromes. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;130(3):607-12.
2. Montgomery ND, Dunphy CH, Mooberry M, Laramore A, Foster MC, Park SI, et al. Diagnostic complexities of eosinophilia. *Arch Pathol Lab Med.* 2013 Feb;137(2):259-69.
3. Valent P, Horny HP, Bochner BS, Haferlach T, Reiter A. Controversies and open questions in the definitions and classification of the hypereosinophilic syndromes and eosinophilic leukemias. *Semin Hematol.* 2012;49(2):171-81.
4. Medves S, Demoulin JB. Tyrosine kinase gene fusions in cancer: translating mechanisms into targeted therapies. *J Cell Mol Med.* 2012;16(2):237-48.

399. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DAS HIPEREOSINOFILIAS: RELATO DE TRÊS CASOS

Lisboa VCS, Braga FO, Lóss SR, Prata PHL, Catto LFB, Simões BP, Palma LC, Traina F, Chahud F, Figueiredo-Pontes LL

Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: Hipereosinofilia (HE) é a presença persistente de eosinófilos acima de 1.500/mm³ no sangue periférico, pode ser classificada em hereditária ou familiar, primária ou clonal, secundária ou reacional, idiopática ou de significado indeterminado. Qualquer uma dessas condições, quando associada à lesão tecidual, passa a ser denominada de síndrome hipereosinofílica (SHE). A variedade de apresentações clínicas, bem como das contagens de eosinófilos relatadas na literatura, de 1.500 a 400.000/mm³, reflete a heterogeneidade da fisiopatologia dessa condição. O prognóstico é igualmente variável e depende do grau de eosinofilia e da infiltração de órgãos. Ao longo dos anos, embora esforços tenham sido feitos para estabelecer fluxogramas de investigação, o conhecimento sobre a HE é ainda

escasso, o que reforça a necessidade de estudo dessa rara condição em busca de melhores desfechos. **Relato de casos: Caso 1:** Paciente do sexo feminino, 49 anos, previamente hígida, havia seis meses com lesões cutâneas papulares, eritematosas e pruriginosas disseminadas. A uma semana da admissão hospitalar, evoluiu com tosse, sibilância e dispneia. Os exames complementares evidenciaram eosinofilia ($63.000/\text{mm}^3$), infiltração pulmonar difusa, derrame pleural bilateral, derrame pericárdico acen-tuado com necessidade de punção de Marfan. A biópsia de pele eviden-ciou vasculite de pequenos vasos, permitiu o diagnóstico de síndrome de Churg-Strauss, configurou uma SHE secundária. **Caso 2:** Paciente do sexo masculino, 52 anos, previamente hígido, com história de adenomegalia generalizada havia três meses, evoluiu com febre, sudorese profusa, prurido e astenia. Durante a investigação, foi evidenciada leucocitose impor-tante ($148.000/\text{mm}^3$) à custa de eosinófilos ($130.240/\text{mm}^3$), além de linfodomegalia disseminada, esplenomegalia e massa bulky em abdome. A biópsia de linfonodo inguinal revelou o diagnóstico de linfoma de Hodgkin clássico, tipo celularidade mista, que levou à HE secundária. Após o início do tratamento com o esquema quimioterápico ABVD, houve redução das adenomegalias e normalização da eosinofilia. **Caso 3:** Paciente do sexo feminino, 70 anos, previamente hipertensa, com história de hiporexia, perda ponderal, astenia e dispneia progressiva havia um mês. Foi admitida com febre, eosinofilia de $97.000/\text{mm}^3$ e infiltrado pulmonar bilateral. Foram excluídas causas de eosinofilia familiar, reacion-al, neoplasias mieloides e neoplasias mieloproliferativas com rearranjo *FIP1L1-PDGFR*, foi feito diagnóstico de SHE idiopática. A paciente apre-sentou boa resposta à corticoterapia, porém evoluiu com recidiva e óbito após quatro meses de tratamento, durante o desmame da droga, apesar da introdução do inibidor de tirosina quinase imatinibe em associação com o corticoide. **Conclusão:** Apesar dos avanços na definição das desor-dens eosinofílicas, o diagnóstico de HE continua a ser um desafio na prá-tica médica, devido à grande variedade de diagnósticos diferenciais. Os casos 1 e 2 aqui relatados reforçam que é indispensável a exclusão de causas secundárias antes de se considerar a hipótese de uma doença he-matológica primária, independentemente da contagem de eosinófilos. Nos casos secundários, o tratamento se baseia na resolução da causa de base. Por outro lado, nos casos em que a doença é primária, o tratamento permanece limitado, com respostas variadas às terapias existentes.

400. LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA EM FASE ACELERADA: RELATO DE CASO

Domingos FC, Silva JBCB

Liga Acadêmica de Hematologia e Hemoterapia, Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide crônica (LMC) caracteriza-se por leuco-citose com desvio à esquerda, esplenomegalia e a presença do cromosso-mo Philadelphia (Ph). A evolução da doença ocorre em três fases: crônica (FC) – na qual ocorre proliferação clonal maciça das células granulocíti-cas e a capacidade de diferenciação está mantida, pode ser assintomática ou apresentar hepatoesplenomegalia e leucocitose com desvio à esquer-da – acelerada (FA) –, ocorre perda da variedade de diferenciação, há res-istência à terapêutica citorrredutora e é de difícil controle – aguda –, há crise blástica (CB) e o quadro clínico é mais exacerbado. Essa doença é mais frequente em pacientes a partir dos 50 anos, sua incidência é de um a dois casos para cada 100 mil habitantes por ano e corresponde de 15% a 20% dos casos de leucemia. **Objetivo:** Relatar caso clínico de LMC com apresentação atípica da FA. **Relato de caso:** DPS, feminina, 55 anos, fez hemograma de rotina em dezembro/2013, o qual apresentou leucocitose com desvio até mielócitos; havia também esplenomegalia ao exame físi-co. Foi solicitada biópsia de medula óssea (MO) e cariótipo; foi confirmado o diagnóstico de LMC (FC) e iniciado tratamento com imatinibe. Em abril/2014, aproximadamente um mês após o início do imatinibe, apre-sentava resposta hematológica completa. Paciente vinha bem até feverei-ro/2015, quando foi constatada pioria da função renal por síndrome de lise tumoral (SLT) e hipercalemia da malignidade. Foi aventada a hipóte-se de uma segunda neoplasia, foi feita nova punção de MO, cujo resultado mostrou doença mieloproliferativa com presença de células mais imaturas. A hipótese diagnóstica passou a ser LMC em FA. Após dois meses, paciente retornou com uremia, hipercalemia, anemia e vômitos; duran-te a internação evoluiu bem e recebeu alta com troca de terapêutica para dasatinibe. Em maio, retornou com queda do estado geral e inapetência, hipercalemia, hiperuricemia, foi tratada com prednisona, pamidronato, hidratação vigorosa, alopurinol e hemodiálise. No hemograma havia

pancitopenia. Sem melhoria, paciente evoluiu para óbito. **Discussão e conclusão:** Segundo a OMS, a FA da LMC é caracterizada por aumento de 10 a 19% de blastos e maior ou igual a 20% de basófilos, presença de evolu-ção clonal, trombocitose, mielofibrose, leucocitose persistente e esple-nomegalia não responsiva ao tratamento. No entanto, nesse caso, a pa-ciente apresentava apenas 2% de blastos e 0% de basófilos, leucopenia, trombocitopenia e a esplenomegalia presentes no início não reaparece-ram. Percebe-se, portanto, que a progressão da doença nessa paciente ocorreu de forma atípica, não apresentou exame físico e hemograma esperados e o diagnóstico foi possível pela punção da MO. Há alguns estu-dos que relatam que fármacos capazes de inibir a tirosina quinase BCR-ABL, como o imatinibe e o dasatinibe, causam SLT. Contudo, nesse caso não é possível fazer essa afirmação, pois a SLT ocorreu quando a paciente estava em tratamento havia mais de um ano, e não logo após o início; a doença havia passado para uma fase mais avançada e estava em plena atividade, além de não ter sido possível conter a SLT com o tratamento usual com alopurinol e hidratação vigorosa. Assim, não se pode concluir que a SLT neste caso foi uma consequência do tratamento com inibidor de tirosina quinase, mas pode ter ocorrido por outras causas, como a re-fratariedade da doença.

401. SEIZURES AND EXTREME THROMBOCYTOSIS AS THE FIRST CLINICAL PRESENTATION OF CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

Alves MC^a, Silva MN^b, Russo R^a, Santos RMD^a, Preto DD^a, Ikedo AS^a, Costa RO^{a,b}

^a Hospital Guilherme Álvaro, Santos, SP, Brazil

^b Faculdade de Ciências Médicas de Santos, Centro Universitário Lusíada (UNILUS), Santos, SP, Brazil

Introduction: Chronic myeloid leukemia (CML) is a chronic myeloprolif-erative disorder (MPD) characterized by proliferation of granulocytic line-age and presence of Philadelphia chromosome, forming the BCR-ABL fusion gene in 95% of patients. The clinical diagnosis is generally straight-forward, with 85% of cases in chronic phase. In symptomatic patients, systemic symptoms are the most common findings. Although extreme thrombocytosis and seizures are more easily correlated to essential thrombocythemia (ET), molecular techniques are required for correct dif-ferential diagnosis. This report describes a case of CML with features of ET. **Case report:** Male patient, 63 years of age, attended to at this service due to thrombocytosis and seizures. No hepatosplenomegaly was found. Laboratory tests showed Hb14.1g/dL, leukogram $30,580/\text{mm}^3$, $28,439/\text{mm}^3$ neutrophils, $1,223/\text{mm}^3$ rods, 0% myelocytes, $1,865/\text{mm}^3$ lympho-cytes, $306/\text{mm}^3$ monocytes, 0% eosinophils, 0% basophils, $2,670 \text{ mil}/\text{mm}^3$ LDH 292 U/L (135 and 225 U/L). Hydroxyurea 500 mg/day, phenytoin, ASA, hydrocortisone 300 mg/day, and allopurinol were already prescribed. At this institution, MPD was hypothesized, with probable ET. Corticotherapy was discontinued due to suspected secondary neutrophilia. WBC re-duction to $12,650/\text{mm}^3$ was seen. ASA was also discontinued. No secondary cause of thrombocytosis was found, and bone marrow aspiration and bi-opsy showed granulocytic hyperplasia with mature forms (10:1 G:E) 80% cellularity, moderate eosinophilia, small-sized megakaryocytic hyperpla-sia, hypolobulated nuclei and clusters, fibrosis stage 2-3, and CD34+ blasts between five and 10%. After 48 h new seizures developed, and hy-droxyurea was increased to 2.0 g/day. Plateletpheresis was indicated but not performed due to logistic problems. After seven days, the result for BCR-ABL p210 was positive and diagnosis of the CML accelerated phase was made. After 600 mg/day imatinib introduction, there was significant platelet reduction and resolution of seizures. After ten days, the patient was discharged with Hb11g/dL, $5,360/\text{mm}^3$ leukocytes, and $1,639 \text{ mil}/\text{mm}^3$ platelets. During follow-up, after a III/IV pharmacodermia due to imatinib, nilotinib was introduced and patient is doing well, with normal-ization of blood counts and complete quantitative molecular response. **Discussion:** CML is an MPD characterized by clonal proliferation of ma-ture granulocytic lineage. Common clinical manifestations are asthenia, weight loss, and sweating. Absolute basophilia and eosinophilia are found in almost all patients. Thrombocytosis is found in about 35% of the patients. Isolated thrombocytosis is more frequently found in ET rather than CML and is defined by clonal expansion of megakaryocytes, plate-lets above $450 \times 10^9/\text{L}$, and exclusion of reactive causes, myelodysplasia, and other MPDs. As these diseases may have overlapping clinical and blood findings, cytogenetic and molecular studies are mandatory. In the present patient, diagnosis was made by the presence of the BCR/ABL fu-

sign gene with RT-PCR. Although tyrosine kinase inhibitors are the treatment of choice for in chronic phase, acute and blastic phases experience significant relapse rate and bone marrow transplantation must be considered. In conclusion, the authors highlight the importance of researching all the reactive and clonal causes when facing a patient with thrombocytosis and seizures, even when clinical and laboratorial findings have findings more typical of ET.

402. MICRORNAS CIRCULANTES COMO MARCADORES TERAPÊUTICOS NA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA

Ferreira LAM^a, Capannacci J^b, Hokama NK^a, Dadalto J^a, Hokama POM^a

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

^b Hospital do Câncer Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil

Os estudos atuais em leucemia mieloide crônica (LMC) estão em busca da assinatura de micro-RNAs em pacientes resistentes ao tratamento e/ou com evolução desfavorável. Por acreditar na importância da descoberta de novos marcadores prognósticos e possíveis alvos terapêuticos, optamos por desenvolver um trabalho em busca do perfil de micro-RNAs dos pacientes responsivos ao tratamento que evoluíram para resposta citogenética completa (RCC) e avaliar possíveis diferenças/semelhanças do perfil de micro-RNAs entre pacientes distribuídos nas duas modalidades terapêuticas de primeira linha: aqueles tratados com inibidores de tirosinaquinase e os tratados com transplante alogênico de células-tronco hematopoéticas (TCPH-alo). O nosso estudo avaliou, por meio do qPCR array, 768 micro-RNAs em amostras de sangue periférico de 41 pacientes, portadores de LMC em fase crônica: 14 recém-diagnosticados, virgens de tratamento; 14 em uso de mensilato de imatinibe (IM), em RCC, após 12 meses de tratamento; e 13 submetidos a TCPH-alo, em RCC. A extração de RNA total foi a partir de 5 mL de sangue periférico, pelo QiAamp RNA Blood Mini[®] kit da Qiagen. A miRNA PCR array foi feita por meio do kit TaqMan[®] Human MicroRNA Array A e B. A RT-qPCR foi feita na plataforma ViiA7 (ABI[®]). A quantificação relativa da expressão gênica dos micro-RNAs foi calculada, individualmente, de acordo com a fórmula $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ (Livak, KJ & Schmittgen, TD; 2001), por meio do programa Expression Suite Software V1.0.1 (ABI[®]). As etapas de retrotranscrição e miRNA PCR foram validadas com controles positivos e negativos inclusos nos kits. O grupo controle foi constituído a partir de um pool de leucócitos totais de 14 doadores saudáveis. A comparação dos dados entre os grupos avaliados foi feita por meio do teste t de Student. Uma diferença de 5% foi considerada estatisticamente significativa. A comparação do perfil de micro-RNA dos dois grupos de LMC-FC tratados com o grupo virgem de tratamento demonstrou a presença de 81 micro-RNAs no grupo tratado com imatinibe e 39 no grupo submetido ao transplante, com expressão alterada. Desses, 120 micro-RNAs (81 do grupo IM e 39 grupo TCPH), 19 foram comuns aos dois grupos. São eles: mir1290, mir520c-3p, mir10b, mir1274b, mir550, mir601, mir18a, mir1260, mir572, mir1274a, mir638, mir625-002431, mir625-002352, mir489, mir196b, mir422a, mir212, mir140-3p e mir342-3p. Todos os 19 micro-RNAs se encontravam com expressão diminuída, estatisticamente significativa ($p < 0,05$) nos dois grupos tratados. No grupo de pacientes transplantados, o mir1233 e o mir519b apresentaram expressão reduzida e os mir432, mir409-3p, mir766, mir222 e mir342-3p apresentaram expressão aumentada em relação aos casos virgens de tratamento. No grupo de pacientes tratados com imatinibe apenas o mir451 apresentou uma alta expressão em relação aos pacientes virgens de tratamento. Os demais micro-RNAs se encontravam menos expressos em relação ao grupo sem tratamento. Análises de bioinformática estão em andamento para identificar os genes alvos desses micro-RNAs e nos auxiliar na compreensão dos mecanismos de regulação gênica.

403. IMPACTO ECONÔMICO DA DESCONTINUAÇÃO DO IMATINIBE

Burin MM, Vanelli T, Pereira MP, Soares TB, Paiva MF, Bosi G, Silva EG, Daudt LE, Silla LMR, Fogliatto LM

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: O advento dos inibidores de tirosinaquinase mudou a história natural da leucemia mieloide crônica (LMC) e possibilitou a remissão molecular em uma proporção significativa dos pacientes. Estudos indi-

cam que 40-60% dos pacientes com resposta molecular profunda (RM 4,5 ou maior) em uso de imatinibe há pelo menos 24 meses são capazes de sustentar essa resposta após a suspensão da medicação. Além de melhorar a qualidade de vida dos pacientes, a descontinuação da medicação poderia ter impacto na economia do sistema público de saúde. **Objetivo:** Projetar o impacto econômico da descontinuação do imatinibe nos pacientes portadores de LMC fase crônica, tratados por no mínimo 36 meses com imatinibe (IM) e com RM profunda e mantida por no mínimo 24 meses. **Material e métodos:** Estudo observacional retrospectivo baseado na revisão de prontuários. Foram incluídos pacientes com diagnóstico de LMC, em fase crônica, confirmado por exame citogenético ou molecular, atendidos no ambulatório do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Todos os pacientes receberam IM em primeira ou segunda linha. Foram considerados candidatos para suspensão do IM os pacientes com tempo de tratamento igual ou superior a três anos e que atingiram RM profunda sustentada por no mínimo dois anos comprovada por monitorização molecular regular (RT-PCR). Para o cálculo do custo anual com cada paciente, foram estimados o custo dos exames moleculares e do tratamento com o IM na rede pública. **Resultados:** Foram analisados dados de 169 pacientes com um tempo mediano de seguimento de cinco anos (1-13). Desses, 26 (15%) seriam candidatos a interromper a medicação e obedecer aos critérios citados. Considerando a necessidade de monitorização com PCR mensal no primeiro ano, a cada dois meses no segundo ano e trimestral posteriormente, foi estimado que o gasto com esses pacientes seria em torno de 5.400 reais/paciente ano, no primeiro ano, que baixaria para 2.700 e 1.800 reais/paciente ano. Já nos pacientes que seguiriam com a medicação e a monitorização semestral do PCR o gasto anual seria de 108.900 reais/paciente ano. A descontinuação do tratamento poderia gerar uma economia de 95% no manejo desses pacientes. **Discussão:** A descontinuação do IM ainda é objeto de estudo clínico e não é indicada na prática clínica. A análise aqui apresentada faz uma projeção do impacto econômico, considera pacientes cujas características clínicas e laboratoriais se assemelham às descritas na literatura nos estudos de descontinuação de IM. Caso a descontinuação, uma vez comprovada segura, seja aplicada na prática clínica, a redução dos gastos relacionados ao tratamento da LMC será significativa. Além do ganho econômico para o sistema de saúde, devemos considerar os benefícios em qualidade de vida para os pacientes, como ausência de efeitos adversos, dificuldades na adesão à medicação e a possibilidade de gestação em mulheres jovens. O andamento dos estudos de descontinuação devem esclarecer melhor os dados de economia e qualidade de vida (sem perda de segurança) nos pacientes com LMC. Esse dado sugere que a feitura de estudo com esse delineamento, controlado dentro das regras de pesquisa clínica, dever ser incentivada no Brasil.

404. SARCOMA MIELOIDE/MONOCÍTICO COMO EVOLUÇÃO DE POLICITEMIA VERA

Resende LSR^a, Sabaini CS^a, Silva FR^a, Coello FXJ^b, Torres MJJ^c, Fadel AV^a, Cantadori LO^a, Moraes MP^d, Domingues MAC^d

^a Hematologia, Faculdade de Medicina (FMB), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

^b Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador

^c Universidad del Azuay, Cuenca, Ecuador

^d Patologia, Faculdade de Medicina (FMB), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

Introdução: Sarcomas mieloides são neoplasias extramedulares raras que se apresentam como massas tumorais isoladas compostas por células imaturas (mieloblastos, promielócitos, monoblastos, promonócitos). São classificados em sarcomas granulocíticos e sarcomas mieloides. Em geral, precedem ou ocorrem simultaneamente a leucemias mieloides agudas (LMA), embora raramente possam ocorrer na evolução de síndromes mielodisplásicas e outras doenças mieloproliferativas. **Objetivo:** Relatar ocorrência de sarcoma mieloide/monocítico na evolução de caso de policitemia vera (PV). **Material e métodos:** Estudo clínico-laboratorial retrospectivo do caso. **Relato de caso:** Masculino, branco, 64 anos, com diagnóstico de PV (Hb = 18,7 g/dL; Ht = 58%; mutação JAK-2 positiva; eritropoietina sérica < 1 mU/mL; biópsia de medula óssea com panmielose), em tratamento com hidroxiureia e warfarina sódica, encontrava-se clínica e laboratorialmente controlado quando apresentou dor na face lateral da coxa esquerda, que dificultava a deambulação. Ressonância magnética mostrou grande massa tumoral na região proximal do fêmur esquerdo,

que invadia as partes moles e os feixes vâsculo-nervosos adjacentes. Biópsia local revelou tumor mielóide extramedular (sarcoma mielóide/monocítico). O hemograma e a medula óssea excluíram transformação leucêmica simultânea. Antes de qualquer novo tratamento, notou nódulo endurecido, indolor e de crescimento rápido na raiz da coxa esquerda, acompanhado de edema progressivo, frio, indolor e depressível em todo o membro inferior esquerdo, foi confirmada trombose venosa profunda (veias femoral superficial, femoral profunda e fibulares). O paciente recebeu filtro de veia cava inferior e foi tratado com um ciclo de citarabina + idarrubicina; um ciclo de *high dose* de citarabina; 15 sessões de radioterapia na lesão femoral; dois ciclos de ICE (ifosfamida + carboplatina + etoposídeo), sem resposta satisfatória e que resultaram em neutropenias prolongadas com infecções bacterianas e fúngicas graves. Foi colocado em tratamento paliativo com ciclofosfamida + etoposídeo, encontra-se estável. Até o momento não houve leucemização. **Discussão:** A taxa estimada de transformação leucêmica de uma PV com 20 anos de evolução é < 10%. Ocorrência de sarcoma mielóide pré-leucêmico na PV, como observado no presente caso, é ainda mais rara, há poucas publicações relacionadas. Sarcomas mielóides tendem a leucemizar, a literatura preconiza indução quimioterápica de forma similar à de uma LMA. Apesar de estudos apontarem até 65% de remissão completa de tais tumores após quimioterapia, associada ou não à radioterapia, não observamos resposta satisfatória no nosso paciente após vários regimes terapêuticos. Diante de riscos maiores do que benefícios, foi colocado em tratamento paliativo.

405. ANÁLISE DOS CASOS DE LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA (LMC) COM MUTAÇÃO T315I DO SERVIÇO DE HEMATOLOGIA DO HC-FMUSP-SP

Ferreira AM, Inowe EK, Abdo ANR, Maciel FVR, Medina AB, Seguro FS, Bendit I

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

Na leucemia mielóide crônica (LMC) a presença da mutação T315I no gene ABL confere resistência aos inibidores de tirosina quinase (ITKs) de primeira e segunda geração. É considerada a mais temida forma de resistência à terapia com ITKs, visto a disponibilidade escassa de opções terapêuticas. Foi feita uma revisão e análise de 12 casos identificados de mutação T315I em nosso serviço de 1999 a 2015. Quanto à fase da doença ao diagnóstico, quatro casos apresentavam-se em fase crônica e oito em fase acelerada no momento do diagnóstico da LMC. O tempo médio entre o início da terapia com ITK e a detecção da mutação foi de 24 meses, pois apenas em 66% dos casos a mutação T315I foi identificada no contexto de resistência primária aos ITKs. Entretanto, 33% dos pacientes não fizeram uso de ITK de segunda geração. A conduta adotada, uma vez detectada a mutação T315I, foi inicialmente suspensão da terapia com ITK seguida de terapias opcionais, como interferon e hidroxiureia, e avaliação imediata quanto à viabilidade para o transplante alogênico de medula óssea. Apenas um paciente teve acesso ao uso do ponatinibe, porém o tratamento foi suspenso devido à toxicidade hematológica importante. Em três casos foi tentado novamente o uso de ITK em momentos em que a mutação T315I foi ausente, porém sem obtenção de resultado. Em um caso optou-se pela associação de interferon e imatinibe, visto o paciente ter apresentado benefício, apesar da mutação. Em relação ao desfecho clínico, houve óbito de seis pacientes (quatro diagnosticados em fase acelerada e dois em fase crônica), três fizeram transplante alogênico de medula óssea, dois apresentaram resposta hematológica completa com hidroxiureia (apesar da viabilidade do transplante, optaram por não fazê-lo) e um paciente apresentou resposta ao imatinibe, atualmente está em resposta molecular maior. As opções terapêuticas atualmente disponíveis para os casos de mutação T315I consistem no inibidor de tirosina quinase de terceira geração ponatinibe, na droga mepesuccinato de oxametacina (inibidor reversível da síntese proteica, com efeito antileucêmico independente da presença de mutações BCR-ABL) e no transplante alogênico de medula óssea. No Brasil e no nosso serviço, apenas a opção do transplante está disponível para casos selecionados, o que dificulta o tratamento na maioria dos casos.

406. ASSOCIATION OF TNF POLYMORPHISM WITH JAK2 V617F MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS IN BRAZILIAN PATIENTS

Macedo LC^a, Quintero FC^a, Silva SPE^a, Pagnano KBB^b, Rodrigues C^a, Almeida D^b, Alencar JB^a, Sell AM^a, Visentainer JEL^a

^a Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, PR, Brazil

^b Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

The classical chromosome Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms (MPNs) are a group of disorders which share clinical, hematological, and histological features, including polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET), and primary myelofibrosis (PMF). Proinflammatory cytokines, such as TNF- α , are elevated in patients with MPN, although their contribution to disease pathogenesis remains unknown. Genetic polymorphisms in the promoter region of the TNF gene are involved in the regulation of expression levels of TNF- α and the JAK kinases proteins, helping propagate intracellular signals of activation to their production. The aim was to verify whether the JAK2 V617F mutation and two polymorphisms in the promoter region of the TNF gene (-308 and -238) affect the development of MPN in the Brazilian population. Blood samples were collected from 123 patients of three Brazilian hospitals, diagnosed with MPN according to the 2008 WHO diagnostic criteria, and from 123 blood donors. DNA genotyping for JAK2 V617F mutation and both TNF (-238 and -308) promoter polymorphisms was performed by PCR-RFLP. The statistical analysis was performed using the chi-squared test or Fisher's exact test. Considering all the subjects from this study, there were 50 men (40.66%) and 73 women (59.34%), 33 (26.8%) with PV, 35 (28.7%) ET, 22 (17.7%) PMF, and 33 (26.8%) unclassified. The JAK2 V617F mutation was detected in 94 (76.42%) patients. When the allele and genotype frequencies of TNF were compared, -238GA was more frequent in MPN patients than the control group (OR = 2.21, CI = 1.02-4.80, $p < 0.04$). The -308A and -308GA frequencies were significantly higher among the MPNs (OR = 1.62, CI = 1.03-2.54, $p = 0.03$; OR = 1.82, CI = 1.07-3.10, $p = 0.02$, respectively), JAK2 V617F positive (OR = 1.76, CI = 1.10-2.82, $p = 0.01$; OR = 2.12, CI = 1.21-3.72, $p = 0.008$, respectively), PV (OR = 2.18, CI = 1.13-4.23, $p = 0.02$; OR = 2.56, CI = 1.17-5.63, $p = 0.01$, respectively) and PMF patients (OR = 2.15, CI = 1.03-4.48, $p = 0.03$; OR = 3.49, CI = 1.37-8.88, $p = 0.008$, respectively) when comparing to controls. In contrast, TNF GG-308 was more frequent in controls compared to MPNs (OR = 0.53, CI = 0.31-0.9, $p = 0.02$). When the haplotype frequencies were analyzed, -238G/-308A was more frequent in patients with MPNs (OR = 1.54, CI = 1.12-2.11, $p = 0.007$), even as to -238G/-308A (OR = 1.64, CI = 1.17-2.29, $p = 0.003$) and -238A/-308A (OR = 6.00, CI = 1.29-27.97, $p = 0.02$) in MPN patients positive for JAK2 V617F mutation than in controls. However, -238G/-308G was more frequent in controls when compared with MPNs patients overall (OR = 0.66, CI = 0.49-0.87, $p = 0.004$) and with MPN patients with positive JAK2 V617F mutation (OR = 0.63, CI = 0.47-0.85, $p = 0.003$). These data demonstrated that -238GA, -308A, -308GA, and -238G/-308A polymorphisms of TNF were significantly associated with susceptibility in the MPNs population. The susceptibility was also seen when the MPNs positive JAK2 V617F mutation and MPN disease entities (PV and PMF) were analyzed. However, TNF -308GG decreased risk for MPNs patients, including patients with positive JAK2 V617F, PV, and PMF. Moreover, the TNF -238G/-308G haplotype protects the MPNs population, triggered by JAK2 V617F mutation. In conclusion, larger studies would probably clarify the contribution of these genes to the clinical and hematological features in patients with MPN.

407. ANÁLISE DA FLUTUAÇÃO DE BCR-ABL EM PACIENTES COM FC-LMC E RM 4.5

Pereira MP, Fogliatto LM, Vanelli T, Silva EG, Burin MM, Américo AD, Soares TB, Bosi GR, Zaltron RF, Teixeira BB, Teixeira BB, Daudt LE, Silla LMR, Paiva MF

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: O tratamento com imatinibe, inibidor da enzima tirosina-quinase, revolucionou o tratamento da leucemia mielóide crônica (LMC). Considerando que atualmente se discute a eficácia e segurança da interrupção de imatinibe em pacientes há mais de dois anos com resposta molecular (RM) $\geq 4,5$, acreditamos ser importante definir preditores de recaída de resposta molecular maior (RMM) nesses pacientes. Acredita-se que grandes flutuações de BCR-ABL predizem perda de resposta molecular, porém ainda não se sabe o impacto de pequenas flutuações do BCR-ABL em pacientes que estão com RM 4,5 ou mais. **Objetivo:** Correlacionar flutuações de BCR-ABL e perda de resposta molecular maior em pacientes com RM $\geq 4,5$, bem como estabelecer fatores associados com a ocorrência de flutuações. **Material e métodos:** Análise retrospectiva com revisão dos prontuários dos pacientes com LMC em fase crônica tratados

com imatinibe como primeira ou segunda linha em resposta molecular $\geq 4,5$ (RM 4,5, definida como queda de pelo menos 4,5 log na escala internacional – IS). Em média, o PCR foi feito a cada três meses até a RMM ser atingida e após a cada seis meses. Pacientes com apenas um PCR de seguimento após atingir a RM $\geq 4,5$ foram excluídos, a não ser quando o próximo PCR fosse considerado uma flutuação. Consideramos flutuação o aumento de 0,5 log ou mais na IS. A interrupção do tratamento foi considerada se superior a 15 dias em qualquer ponto do seguimento. A presença de comorbidades foi avaliada pelo índice de Charlson. **Resultados:** Análises dados de 58 pacientes que atingiram RM $\geq 4,5$ em um tempo mediano de seguimento de sete anos. Em relação ao perfil dos pacientes analisados, 32 (55,2%) eram homens e 28 (44,8%) mulheres, a mediana de idade ao diagnóstico foi de 46 anos (18-93), a maioria menor de 60 anos (75,9%). Dos 32 pacientes analisados para escore de risco Sokal, 97,5% se encontravam em baixo e médio risco; 26 apresentaram ao menos uma flutuação de BCR-ABL. Em relação à distribuição das flutuações, 18, cinco e três pacientes apresentaram uma, duas e três flutuações, respectivamente. Não houve diferença significativa quanto ao risco de flutuação do BCR-ABL para o sexo, a idade, o Sokal ou a presença de comorbidades. No grupo que apresentou ao menos uma flutuação de BCR-ABL, 3/27 (11%) dos pacientes apresentaram perda de RMM, enquanto que no grupo sem flutuação não houve caso ($p = 0,15$). Entre os casos de perda de RMM, dois pacientes tiveram pelo menos uma flutuação que atingiu RM 3 e no terceiro caso a paciente tinha história prévia de interrupção da tratamento durante gestação. No grupo que apresentou interrupção do tratamento, houve uma tendência maior de apresentar flutuação do BCR-ABL quando comparado com o grupo que não interrompeu (78% versus 50%, $p = 0,11$). **Conclusão:** Pequenas flutuações de BCR-ABL em pacientes que estão em RM ≥ 4 , não parecem estar correlacionadas com perda de RMM. Consideramos interessante o fato de que dois dos três pacientes que perderam RMM flutuaram para uma RM 3 durante o seguimento. Entretanto, acreditamos que são necessários estudos com uma amostra populacional maior para melhor avaliação desses dados.

408. IMPLICAÇÕES DOS GENÓTIPOS DA CYP3A4 ENTRE OS PACIENTES COM LMC TRATADOS COM IMATINIBE EM GOIÂNIA, GOIÁS, BRASIL

Matos AV, Barbosa ADP, Ghedini PC, Santos RS, Cunha LC

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

Introdução: O mesilato de imatinibe (MI), inibidor da tirosina quinase, revolucionou o tratamento da leucemia mieloide crônica (LMC), pois apresenta biodisponibilidade via oral, alta tolerância com baixa incidência de efeitos adversos e ótimos resultados terapêuticos. Porém, são observados casos de refratariedade ao tratamento, cujas causas podem ser: fase avançada da doença, índice de risco de Sokal alto, má adesão medicamentosa, mutações do gene BCR-ABL, além de variações farmacocinéticas na metabolização e transporte do fármaco. O MI é metabolizado pelo citocromo P450, principalmente pelas isoformas CYP3A4 e CYP3A5. Apesar de existir controvérsia, muitos estudos apontam que alterações nessa via de metabolização possam estar relacionadas às baixas respostas terapêuticas de alguns pacientes. **Objetivo:** Avaliar o impacto das mutações de alelos da CYP3A4 no tratamento com mesilato de imatinibe de pacientes com leucemia mieloide crônica em acompanhamento no ambulatório de hematologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás. **Material e métodos:** Foram estudados 65 pacientes com LMC, comparados os resultados da genotipagem da isoforma CYP3A4 (PCR) com a resposta molecular (RT-PCR) e a dosagem sérica do MI (HPLC-PDA). **Resultados:** Dos pacientes, 44 (67,7%) apresentaram o genótipo selvagem (AA) da CYP3A4, enquanto 21 (32,3%) mostraram mutação, 19 (29,2%) heterozigotos (AG) e dois (3,1%) homozigotos (GG). Em relação à resposta molecular, 56 pacientes (86,1%) tinham pelo menos resposta molecular maior. A média da dosagem sérica do MI encontrada nos 65 pacientes foi de $1.414,72 \pm 715,73$ ng/mL. Aplicando-se a análise univariada, não foi verificada correlação estatisticamente significativa entre os genótipos da CYP3A4 e as duas variáveis: resposta molecular e dosagem plasmática do MI. A análise multivariada de correspondência múltipla também não relacionou os genótipos da CYP3A4 à resposta molecular, porém, quanto à dosagem sérica do fármaco, separou três grupos de pacientes. O primeiro, com 31 pacientes (47,7%), mostrou alta correlação entre concentração de imatinibe abaixo da média e genótipo AA. O grupo 2, com 13 pacientes (20%), exibiu alta correlação entre concentração de MI acima da média e genótipo AA. Já no terceiro grupo, com 21 pacientes

(32,3%), foi verificada alta correlação entre nível plasmático de imatinibe abaixo da média e genótipo mutado (AG ou GG). **Conclusão:** Nesse grupo de pacientes com LMC, o genótipo com mutação AG ou GG da CYP3A4 esteve fortemente associado a menores níveis plasmáticos de imatinibe, porém sem correlação com resposta molecular.

409. UM PROVÁVEL CASO DE POLICITEMIA VERA MASCARADA

Resende LSR^a, Silva FR^a, Sabaini CS^a, Coelho FX^b, Torres MJJ^c, Fadel AV^a, Cantadori LO^a, Moraes MP^d, Domingues MAC^d

^a Hematologia, Faculdade de Medicina (FMB), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

^b Universidad de Cuenca, Cuenca, Equador

^c Universidad del Azuay, Cuenca, Equador

^d Patologia, Faculdade de Medicina (FMB), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

Introdução: No que se refere à hemoglobina (Hb) e ao hematócrito (Ht), a OMS (2008) define policitemia como Hb $> 18,5$ g/dL em homens e $> 16,5$ g/dL em mulheres e o British Committee for Standards in Haematology e o Polycythemia Vera Study Group os definem como um Ht $> 52\%$ em homens e $> 48\%$ em mulheres. Entretanto, vários autores sugerem que indivíduos com Hb normal e Ht limítrofe, mas com positividade para a mutação JAK2, medula óssea com panmielose e níveis baixos de eritropoetina sérica, apresentam o que se conhece como policitemia vera mascarada (PVM). Acreditamos que isso aconteceu com o presente paciente, pelo menos oito anos antes de sua admissão na hematologia. **Objetivo:** Relatar provável caso de PVM que apresentou quatro eventos trombóticos num período de oito anos antes do diagnóstico definitivo de PV. **Material e métodos:** Estudo clínico-laboratorial retrospectivo do caso. **Relato de caso:** Masculino, branco, 64 anos, encaminhado à hematologia devido à observação de poliglobulia ao hemograma (Hb = 18,7 g/dL; Ht = 58%; GV = 7.450.000/mm³). Não referia sintomas relacionados. Apresentava os seguintes antecedentes pessoais: 1- infarto agudo do miocárdio (IAM) havia oito anos, o que resultou em hipocinesias segmentares no ventrículo esquerdo, e iniciara uso de carvedilol, ácido acetilsalicílico e sinvastatina (exames da ocasião: Hb = 17,3 g/dL; Ht = 51,7%; GR = 7.030.000/mm³; VCM = 73,6 fL); 2- ataque isquêmico transitório (AIT) havia seis anos, sem complicações ou sequelas, com manutenção dos mesmos medicamentos (exames da ocasião: Hb = 17,2 g/dL; Ht = 50,8%; GR = 6.870.000/mm³; VCM = 74 fL); 3- aneurisma apical com trombo mural no ventrículo esquerdo (observado em ecocardiograma de rotina), foi associada varfarina sódica; 4- novo IAM havia dois anos, sem novas complicações, com medicamentos mantidos (exames da ocasião: Hb = 17 g/dL; Ht = 50%; GR = 6.860.000/mm³; VCM = 73 fL). Exames laboratoriais feitos à admissão na Hematologia confirmaram o diagnóstico de PV: mutação JAK-2 positiva; eritropoetina sérica < 1 mU/mL; biópsia de medula óssea com panmielose. Feitas três sangrias isotômicas, seguidas de introdução de hidroxiureia com manutenção da varfarina sódica, foi encaminhado para seguimento ambulatorial. **Discussão:** O presente paciente pode ter sido portador de uma PVM desde seus eventos trombóticos vasculares prévios. IAM e AIT costumam figurar entre os mais comuns tipos de oclusões arteriais observadas na PV. Vale ressaltar que apresentou VCM baixo (microcitose) durante os eventos trombóticos vasculares, o que sugere eventual ferrodeficiência não investigada/tratada como fator limitante da eritropoese. O risco de PVM determina que homens com Hb de 16,5 a 18,5 g/dL e/ou Ht entre 49-52% também devam ser investigados para PV, devido ao impacto terapêutico que isso pode causar na enfermidade. Tal informação deve ser amplamente divulgada entre médicos, para se evitarem atrasos diagnósticos/terapêuticos dessa neoplasia e, conseqüentemente, para minimizar a ocorrência de intercorrências trombóticas graves e potencialmente fatais, como ocorrido nesse caso.

410. TROMBOCITEMIA ESSENCIAL FAMILIAR. RELATO DE DUAS IRMÃS PORTADORAS

Fujiki RHM^a, Pugliesi TB^a, Takao GM^a, Campos FM^a, Cliquet GB^b, Corvelloni L^a, Vecina AC^a, Assis JR^a, Goncalves MA^c, Cliquet MC^a

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

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

^c Conjunto Hospitalar de Sorocaba (CHS), Sorocaba, SP, Brasil

Introdução: A trombocitemia essencial é classificada como pertencente ao grupo de distúrbios mieloproliferativos clássicos BCR/ABL negativos. Caracteriza-se pela hiperproliferação megacariocítica de natureza clonal com consequente trombocitose periférica, favorece fenômenos trombo-hemorrágicos. A incidência varia de 0,2 a 2,5 por 100.000 e há uma leve preponderância feminina (2:1). Está associada à mutação JAK2V617F em aproximadamente 50% dos casos, também descrita em outros distúrbios mieloproliferativos, assim como mutações nos genes CALR e MPL. A forma familiar do distúrbio também parece estar associada a essas mutações. Estudos indicam que sua incidência em parentes de indivíduos afetados por algum distúrbio mieloproliferativo pode chegar a sete vezes o valor da população geral, com transmissibilidade compatível com modelo de herança recessiva. Apresentamos a seguir um relato de duas irmãs com diagnóstico de trombocitemia essencial. **Objetivo:** Relatar o caso de duas irmãs com diagnóstico de trombocitemia essencial, portadoras da mutação JAK2 (V617F). **Material e métodos:** As informações foram obtidas por meio de revisão de prontuário. **Relatos de caso: Caso 1:** Paciente com 75 anos, sexo feminino. Com plaquetose inicial, portadora da mutação da JAK2, BCR/ABL negativo, tratada com hidroxiureia e AAS, evoluiu com anemia e neutropenia secundárias ao uso de hidroxiureia. **Caso 2:** Paciente com 72 anos, sexo feminino. Encaminhada ao Ambulatório de Hematologia da FCMS-PUC/SP por plaquetose em agosto de 2014. Hemograma prévio (2007) com plaquetose acima de 1.000.000/mm³. Na investigação, presença da mutação da JAK2 V617F, BCR/ABL negativo e hemograma com contagem de plaquetas 1.745.000/mm³, leucócitos 17.200/mm³, neutrófilos 13.244/mm³ e bastonetes 1.032/mm³. Feito então o diagnóstico de TE e iniciado tratamento com hidroxiureia (HU) e AAS. Evoluiu também com toxicidade à HU e apresentou hemograma feito em maio de 2015 com contagem de plaquetas em 203.000/mm³, 1.280 neutrófilos e Hb de 9,2 g/dL. **Conclusão:** Relatamos os casos de duas irmãs com diagnósticos confirmados de trombocitemia essencial, ambas com mutação da JAK2 V617F. O relato ora apresentado tem como objetivo lembrar a possível hereditariedade dessa doença. Sabe-se que o diagnóstico precoce pode prevenir eventos trombóticos que são complicações graves e frequentes nesses pacientes e consideramos interessante a investigação dos parentes, com a feitura de um simples hemograma.

411. HEMATOMA SUBDURAL CRÔNICO EM IDOSO COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA EM USO DE MESILATO DE IMATINIBE. RELATO DE CASO

Jf P^a, Ds L^a, Vecina AFC^a, Assis JR^a, Gonçalves MA^b, Davila VLNB^a, Cliquet MG^a

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

^b Conjunto Hospitalar de Sorocaba (CHS), Sorocaba, SP, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma neoplasia mieloproliferativa que corresponde a cerca de 15% das leucemias em adultos. A doença é causada pela translocação dos braços longos dos cromossomos 9 e 22, que une os genes BCR e ABL1. O primeiro inibidor seletivo da tirosina-quinase BCR-ABL foi o mesilato de imatinibe (MI), o qual revolucionou o tratamento da doença. Os efeitos colaterais principais são edemas, câibras, náuseas, diarreia e citopenias. **Objetivo:** Relatar um caso com sangramento subdural sem causa definida que pode estar relacionada ao MI. **Relato de caso:** Homem de 66 anos, branco, foi atendido no Pronto-Socorro do Complexo Hospitalar de Sorocaba com queixa de confusão mental, desvio de rima labial, cefaleia e fraqueza havia 10 horas. Referia que a dor era em pontada, sem fator de melhoria ou pioria, de grande intensidade, sem irradiação e acompanhada de náuseas e vômitos. Negava traumatismo cranioencefálico. Relatava hipertensão arterial havia seis anos em uso de propranolol 20 mg duas vezes ao dia e leucemia mieloide crônica havia cinco meses em uso de mesilato de imatinibe 400 mg ao dia. Negava etilismo e tabagismo. Após o exame inicial, foi solicitada tomografia computadorizada do crânio sem contraste, que revelou hematoma subdural crônico à esquerda, e hemograma, que não mostrou plaquetopenia. Dessa forma foi suspenso o mesilato de imatinibe. Fez drenagem cirúrgica do hematoma e foi levado para unidade de terapia intensiva, onde ficou internado por quatro dias. Após alta da unidade

de terapia intensiva, foi encaminhado à enfermaria da neurologia, teve alta hospitalar após três dias. Introduzido inibidor de segunda geração no lugar do MI sem novos episódios hemorrágicos. **Conclusão:** Embora se acredite que sangramentos em pacientes em uso de mesilato de imatinibe ocorram devido à plaquetopenia, há indícios de que inibidores da tirosina-quinase provoquem disfunção da agregação plaquetária por mecanismos não bem conhecidos. Relatamos um caso de hematoma subdural crônico relacionado ao uso de mesilato de imatinibe na dose de 400 mg por dia, na ausência de plaquetopenia e de anticoagulação. Não há como atribuímos relação causal entre o hematoma e o MI, mas diante da possibilidade devemos ficar atentos a esse tipo de ocorrência.

412. PACIENTES ONCO-HEMATOLÓGICOS E MICOSES OPORTUNISTAS: MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO E SUA IMPORTÂNCIA

Moita LA, Oliveira AP, Pacheco G, Araújo S, Lima EBS, Costa ACB, Alencar MS, Silva FRP, Souza LKM, Araújo TSL

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

Introdução: O paciente onco-hematológico em tratamento quimioterápico é acometido, muitas vezes, por imunossupressão. Nesse contexto, diversos microrganismos oportunistas se beneficiam da situação para se instalar e desencadear patologias nos seus hospedeiros. Entre esses agentes destacam-se os fungos. Uma das principais causas de morbidade e mortalidade entre os pacientes onco-hematológicos é a infecção fúngica invasiva, que está relacionada principalmente com a candidíase, a aspergilose e a murcomicose, essas as três micoses mais frequentes, respectivamente. **Objetivo:** Enfatizar a importância do rápido diagnóstico diferencial das principais micoses oportunistas, com o intuito de melhorar o prognóstico do paciente acometido por essas patologias. **Material e métodos:** Revisão bibliográfica, que tem como fonte a pesquisa nas seguintes bases de dados: Lilacs, PubMed e Medline, de 2010 a 2015, com o uso dos descritores: “mycosis hematology” e “mycosis hematology oncology”. **Resultados:** O diagnóstico da murcomicose pode se dar por meio de exames radiológicos, biópsia e biomarcadores. Quando não diagnosticada precocemente, a micose pode ocasionar febre e dispnéia, além de uma neutropenia prolongada. Caso isso ocorra, se faz necessária uma tomografia computadorizada com aumento de contraste e uma cintilografia para a detecção de possível embolia pulmonar. Quando o diagnóstico é tardio, a taxa de mortalidade por mucormicose invasiva pode chegar a 79% na maioria dos pacientes. Em relação à aspergilose, o principal método para o diagnóstico precoce é também a tomografia computadorizada de tórax, na qual se encontrará o sinal do halo, além de nódulos, consolidações, derrame pleural e espessamento septal. Com o diagnóstico precoce é possível iniciar a terapia antifúngica e melhorar o prognóstico do paciente. Por outro lado, a candidíase não apresenta sinais ou uma sintomatologia específica e os métodos laboratoriais para o diagnóstico desse fungo são onerosos e podem demorar cerca de três a 15 dias para a obtenção do resultado. Nesse tempo de espera, muitas vezes, o paciente pode vir a óbito. Assim, para o diagnóstico diferencial, rápido e direto fazem-se necessários testes cromogênicos e de alta sensibilidade, além da PCR, que tem especificidade elevada. **Conclusão:** Com este estudo, a importância do diagnóstico precoce e diferencial das micoses oportunistas em pacientes onco-hematológicos tornou-se mais evidente. Além disso, os métodos diagnósticos mais eficazes foram explicitados e destacados, o que possibilita um melhor prognóstico para os portadores dessas patologias.

413. USO DE INIBIDORES DE TIROSINA QUINASE NO TRATAMENTO DA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA EM PACIENTES ATENDIDOS EM UM HOSPITAL DE UBERABA (MG)

Abreu MTCL, Rezende MS, Valente FC, Silva JAM, Mendes M

Universidade de Uberaba (UNIUBE), Uberaba, MG, Brasil

A resistência de origem multifatorial ao imatinibe, inibidor de tirosina-quinase (ITK) de primeira geração, faz com que pacientes passem a usar ITKs de segunda geração, como o dasatinibe. O dasatinibe é um duplo inibidor Src/Abl e é um forte inibidor da enzima tirosina quinase. Este estudo descreve o uso de ITKs, de primeira e segunda geração, em 12 pacientes com LMC que estavam sob tratamento em um hospital de assistência na área oncológica, em Uberaba (MG). Foram observados pacientes

com média de 48 anos e prevalência do sexo masculino. A maioria dos pacientes era assintomática ao diagnóstico. Um terço dos pacientes apresentou resistência ao imatinibe em pouco tempo de uso desse ITK e passou a usar o dasatinibe. Várias foram as reações adversas apresentadas pelo uso desses ITKs. Esses resultados afirmam a importância do acesso a exames laboratoriais específicos para definição do ponto de mutação no BCR-ABL na LMC que justifiquem a resistência ao imatinibe e que poderiam ajudar na indicação de um ITK de segunda geração como primeira linha terapêutica.

414. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, LABORATORIAIS E MOLECULARES DE UMA COORTE DE PACIENTES COM POLICITEMIA VERA ACOMPANHADOS EM DOIS HOSPITAIS UNIVERSITÁRIOS DO RIO DE JANEIRO

Solza C^a, Guaraná M^a, Ayres-Silva JP^b, Dandrea MG^c, Daumas AH^d, Monte-Mor B^c, Zalberg I^e

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

^b Laboratório de Patologia, Instituto Oswaldo Cruz (IOC), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^c Laboratório de Biologia Molecular, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^d Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP), Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

Introdução: A policitemia vera (PV) é uma neoplasia mieloproliferativa (NMP) caracterizada por eritrocitose que pode estar associada à trombocitose e leucocitose. A apresentação clínica é diversa e que os principais sintomas estão relacionados à síndrome de hiperviscosidade e a eventos trombóticos. Aproximadamente 90% dos pacientes apresentam a mutação no gene JAK2, dos quais 96% são mutações somáticas no exon 14 e apenas 3% no exon 12. De acordo com a classificação da World Health Organization 2008 (WHO), a PV está incluída na subcategoria das NMP com BCR-ABL1 negativo, juntamente com a trombocitemia essencial e a mielofibrose primária (incluindo a fase pré-ibrótica). A progressão da doença está associada principalmente à transformação para leucemia mieloide aguda (LMA) e mielofibrose secundária. **Objetivo:** Caracterização clínica, laboratorial, molecular e acompanhamento de uma coorte de pacientes com PV de dois hospitais universitários (HU) do Rio de Janeiro; comparação do perfil desses pacientes com o descrito na literatura.

Material e métodos: Análise de prontuário de 45 pacientes diagnosticados com PV acompanhados nos HU Pedro Ernesto (HUPE/Uerj) e Antônio Pedro (HUAP/UFF) de janeiro de 2010 até junho de 2015 e revisão da literatura. **Resultados:** Dos 45 pacientes avaliados, 19 (42%) eram do sexo masculino e 26 (58%) do feminino. A mediana de idade foi de 68 anos. Todos foram tratados com hidroxiureia e aspirina. Ao diagnóstico, as medianas de hemoglobina, leucócitos e plaquetas foram respectivamente de 18,5 g/dL (13,8 a 23,5 g/dL), 11.100/mm³ (3.060 a 27.800/mm³) e 493.000/mm³ (157.000 a 1.180.000/mm³). Apenas quatro (8,9%) não apresentaram mutação em JAK 2 (dois são triplo negativos e dois aguardam resultados de CALR e MPL), enquanto 41 (91,1%) apresentaram JAK2 mutado. Dos 41 pacientes com mutação em JAK2, dois (4,8%) tinham mutação no exon 12 e 41 (95,2%) no exon 14 do JAK2 (V617F). Ao diagnóstico, 10 (22,2%) apresentavam esplenomegalia, seis (13,3%) emagrecimento, seis (13,3%) eventos trombóticos e um (2,2%) evento hemorrágico. A dosagem de eritropoetina (EPO) sérica só foi feita em 15 (40%) pacientes. A mediana da EPO foi de 2,9 mU/mL (0,6 a 28,3). Durante os cinco anos de acompanhamento, sete (15,6%) pacientes apresentaram eventos trombóticos e três (6,7%) eventos hemorrágicos. Além disso, nesse período quatro (8,9%) dos pacientes evoluíram com mielofibrose secundária e até o momento nenhum evoluiu com transformação para LMA. **Conclusão:** A maioria dos dados dessa coorte está de acordo com aqueles descritos na literatura, com 99% dos pacientes compostos por idosos e mais de 90% apresentam mutação JAKV617F ou outras mutações em JAK2. Também não houve diferença em relação à literatura no que diz respeito às medianas de hemoglobina, plaquetas, leucometria e presença de esplenomegalia ao diagnóstico. Em contrapartida, relatamos uma frequência de eventos trombóticos ao diagnóstico maior do que o habitual (13,3% x 7,4%, respectivamente) e predomínio discretamente maior em mulheres do que em homens. Porém, para avaliar se o risco de progressão para mielofibro-

se ou LMA da nossa coorte está em concordância com a literatura, assim como identificar aqueles com elevado risco para eventos trombóticos e hemorrágicos, é necessário aumentar a coorte de pacientes e o tempo de acompanhamento.

415. CRISE BLÁSTICA MEGACARIOCÍTICA EM GESTANTE SEM O DIAGNÓSTICO PRÉVIO DE LMC

Maioli MCP^{a,b}, Chaves TS^c, Lisboa VC^d, Alvim FNT^b, Quaresma PRL^b, Sant'anna LP^b, Pêssego H^b, Zalberg I^e, Thiago LS^f, Bastos EF^g

^a Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Ciências Médicas (FCM), Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

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

^c Laboratório de Citogenética do Serviço de Hematologia, Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE), Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^d Laboratório de Imunofenotipagem, Faculdade de Ciências Médicas (FCM), Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^e Laboratório de Biologia Molecular, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^f Laboratório de Pesquisa Translacional, Programa de Pesquisa Clínica, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^g Serviço de Genética Humana, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma neoplasia mieloproliferativa que se origina da célula-tronco pluripotente da medula óssea (MO). Representa 15% das leucemias e pode ocorrer em qualquer idade com maior incidência entre a quinta e sexta década de vida. Foi a primeira neoplasia associada a uma alteração citogenética, o cromossomo Filadélfia (Ph), que deu origem ao gene de fusão BCL-ABL no cromossomo 22. Sua história natural inclui uma fase crônica indolente (FC) que, sem tratamento, evolui num período de cinco a 10 anos para uma crise blástica (CB). A grande maioria dos pacientes (80%) se apresenta na FC e a progressão para a CB compromete comumente a linhagem mieloide (60%), linfóide (16-30%) e eritróide (10%). A crise blástica megacariocítica (CB Meg) é extremamente rara, ocorre em menos de 3% das LMC em transformação. **Objetivo:** Apresentar um caso de CB Meg como primeira manifestação de LMC. **Relato de caso:** Gestante de 31 anos, G:III/P:II, deu entrada na maternidade de alto risco do HUPE, na 36ª semana de gestação, com quadro hemorrágico importante (equimoses, epistaxe, gengivorragia), febre iniciada três dias antes e desconforto respiratório, fizera o pré-natal em outro serviço. Ao exame: taquicardia, epistaxe, baço e fígado aumentados, FU 35cm e BCF +. O hemograma revelou Hb 8,9 g/dL, Ht 29,3%; leucócitos 125,8 x 10⁶/L; Baso 10/Blastos 41/Pmc 5/Mielo 3/Meta 8/Bastões 3/Segm 14/Linf 12/Mono 4; plaquetas 93x10⁶/L. Os blastos pequenos, citoplasma basofílico, apresentavam blebs, sugestivos de megacarioblastos. Alguns binucleados, além de micromegacariócitos e figuras de mitose. Presença de 21% de eritroblastos, e megatrombócitos, com diminuição ou ausência da granulação. TAP 13,9⁺; INR 1,12; PTTa 59,2⁺; Relação 2,23; Fibrinogênio 397 mg/dL; ácido úrico 9,9 mg/dL; LDH 3.336 UI/L. Em dezembro de 2014 apresentava hemograma com anemia leve (Hb 11g/dL, Ht 33,4%) e leucocitose 208x10⁶/L; Baso 2/blastos 2/Pmc 1/Mielo 18/Meta 16/Bastões 13/Segm 4/Linf 5/mono 2; plaquetas 310 x 10⁶/L. O resultado da imunofenotipagem em sangue periférico (SP) confirmou a linhagem megacariocítica dos blastos. A análise citogenética em Banda-G feita em SP pela técnica direta revelou um cariótipo complexo com pelo menos quatro cromossomos diferentes, definidos como: 46,XX, t(8;9;17;22)(q24? ;q34;q? ;q11) [14]/47,XX, t(8;9;17;22)(q24? ;q34;q? ;q11) + Ph [06]. A análise molecular confirmou a presença de rearranjo BCL-ABL (B3A2). Após estabilização do quadro hemorrágico, no segundo dia de internação, a paciente foi submetida a parto cesariano com a retirada de feto natimorto, apresentava sangramento abundante no per e pós-operatório imediato apesar a reposição de plaquetas, hemácias e plasma fresco, evoluiu para falência múltipla de órgãos e veio a falecer 24 horas após. **Discussão:** A CB Meg manifestação da LMC é muito rara e sempre fatal. O diagnóstico de LMC em gestantes não é incomum, corresponde a 10% das leucemias, com uma incidência anual de um caso para 100.000 grávidas. Em nosso caso, a paciente apresentava aos três meses de gestação sinais laboratoriais de LMC em provável FC, o que por si não seria indicativo de suspensão da gravidez e poderia ter iniciado o tratamento com

leucaferese seguida de interferon- α . Sem uma abordagem específica a doença evoluiu para uma crise blástica devastadora que culminou lamentavelmente com a morte do feto e da mãe.

416. GENETIC POLYMORPHISMS OF INTERLEUKIN-17F IN ASSOCIATION WITH JAK2 V617F MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS IN BRAZILIAN PATIENTS

Macedo LC^a, Quinteiro FC^a, Manjurma D^a, Almeida D^b, Pagnano KBB^b, Silva SPE^a, Sell AM^a, Visentainer JEL^a

^a Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, PR, Brazil

^b Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

BCR-ABL–negative myeloproliferative neoplasms (MPN), including polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET), and primary myelofibrosis (PMF), arise from a genetically transformed hematopoietic stem cell, characterized by clonal proliferation and resulting in increased peripheral blood counts of mature cells. Clonal myeloproliferation in MPN is accompanied by secondary changes in bone marrow stroma and plasma cytokine profile, especially in the setting of PMF or post PV/ET myelofibrosis. Abnormal cytokine expression in MPN is believed to represent an inflammatory response and contributes to the clinical phenotype, including bone marrow fibrosis, angiogenesis, extramedullary hematopoiesis, and constitutional symptoms. Interleukin-17 is a newly described cytokine that bridges the adaptive and innate immune system. IL-17 induces multiple proinflammatory mediators, including chemokines, cytokines, and metalloproteinases, which are important for neutrophil recruitment and activation, as well as stimulating T cells and enhancing the maturation of dendritic cells. Previous studies revealed that a large group of human malignant tumors have abnormally high IL-17 expression. To evaluate the influences of interleukin 17A (IL17A) G197A (rs2275913) and IL17F T7488C (rs763780) polymorphisms on the susceptibility of MPN, a case-control study was conducted with Brazilian patients. Blood samples were collected from 106 patients of three Brazilian hospitals diagnosed with BCR-ABL-negative cMPN according to the 2008 WHO diagnostic criteria, and from 106 healthy controls. DNA genotyping for JAK2 V617F mutation and IL17A/F gene polymorphisms was performed by PCR-RFLP. The statistical analysis was designed using the chi-squared test or Fisher's exact test. Considering all the subjects from this study, 43 were men (40.66%) and 63 were women (59.34%), 27 (25.47%) with PV, 29 (27.35%) ET, 19 (17.94%) PMF, and 31 (29.24%) were unclassified patients. The JAK2 V617F mutation was detected in 81 (76.41%) patients. Compared to the controls, the mutant allele C for IL17F rs763780 was significantly more common in MPN patients (OR = 2.51, CI = 1.07–5.04, $p = 0.033$) and was associated with positive JAK2 V617F (OR = 3.38, CI = 1.44–7.95, $p = 0.005$); however, this variant of IL17F was not found association with any specific clinical phenotype, such as PV, TE, or PMF. For IL17A (rs2275913), no significant difference was observed in patients with MPN and a specific clinical phenotype when compared to the control groups. In conclusion, the results indicate that allele C for IL17F (rs763780) polymorphisms was associated with an increased risk for the development of JAK2 V617F MPN in a Brazilian cohort. However, it remains unknown how these SNPs exert their influence in the diseases. Further mechanism studies and patients are needed to elucidate the clinical implications of these findings.

417. LEUKOCYTOSIS CAN PREDICT THROMBOTIC EVENTS IN MYELOFIBROSIS

Vassalli LC, Malafaia EC, Chauffaille ML, Kerbauy DMB

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

Thrombotic events are the main complication of Philadelphia-negative chronic myeloproliferative neoplasms (MPN). In polycythemia vera (PV) and essential thrombocythemia (ET), risk factors for thrombosis are well established, such as age greater than 60 years and previous thrombosis. However, the role of the JAK2 V617F mutation and leukocytosis at diagnosis as risk factors for thrombosis is still controversial. The authors' aim was to identify factors related to the risk for thrombotic events in the studied population. This study was a retrospective non-interventional cohort. All of the analyses were performed using the database of 142 patients with MPN regularly followed at the Hematology Division (at UNIFESP-SP) from 1992 to 2014.

Diagnosis was established according to WHO criteria. The authors analyzed the JAK2 V617F mutation, hemoglobin (g/dL), hematocrit (%), white blood cells ($\times 10^9/L$), and platelets ($\times 10^9/L$) at the diagnosis and the DIPSS-Plus risk score (International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment, 2009). These variables were associated with thrombotic event at any time. Of the 142 patients, 54 had diagnosis of PMF, 28 of PV, 33 of ET, and 27 of post-essential thrombocytopenic myelofibrosis (post-ET MF) or post-polycythemic myelofibrosis (post-PV MF). The latter group was included in myelofibrosis group for statistical purposes. Thrombotic events were more frequent in PV patients (39.2%), followed by ET (33.3%) and PMF (20.9%). From those in which JAK2 mutation was obtained, it was positive in 92.4% of PV patients, 62% of PMF, and 50% of ET. In none of the three groups was the presence of JAK2 V617F mutation related to increased risk of thrombosis. In myelofibrosis, leukocytosis was higher among thrombotic patients (median of 13.7 in thrombotic group vs. $9.7 \times 10^9/L$; $p = 0.0379$). None of the other parameters – hemoglobin, hematocrit, platelets and DIPSS-Plus – were statistically significant. In ET, the hemoglobin level at diagnosis was significantly higher in the presence of thrombosis (mean of 14.57 in thrombotic group vs. 13.03 g/dL in the non-thrombotic group, $p = 0.0428$). The other parameters – hematocrit, white blood cells, and platelets – were not relevant. The median WBC in the thrombotic group was 9.4 in the non-thrombotic group, $9.3 \times 10^9/L$. Finally, in polycythemia vera, none of the variables were related to thrombosis. Among the studied population, leukocytosis was increased in patients with thrombotic event in MF. Thus, monitoring leukocyte count in MF is essential to predict thrombosis risk and should be further studied in order to define therapeutic goals in these patients.

418. CARDIOVASCULAR (CV)-RELATED HOSPITALIZATION IN PATIENTS WITH CHRONIC-PHASE CHRONIC MYELOID LEUKEMIA (CP-CML) IN SIMPLICITY, A PROSPECTIVE OBSERVATIONAL STUDY

Paquette R^a, Mauro M^b, Simonsson B^c, Abruzzese E^d, Andorsky D^e, Hansen R^f, Subar M^g, Turner M^h, Zyczynski T^g, Mohamed H^g, Goldberg Sⁱ

^a UCLA Medical Center, Los Angeles, United States

^b Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York, United States

^c Uppsala Universitet, Uppsala, Sweden

^d S. Eugenio Hospital, Rome, Italy

^e Rocky Mountain Cancer Centers, Denver, United States

^f Privat Practice for Hematologia and Oncology, Kaiserslautern, Germany

^g Bristol-Myers Squibb Co, Princeton, United States

^h ICON Plc, San Diego, United States

ⁱ John Theurer Cancer Center, Hackensack University Medical Center, Hackensack, United States

Background: SIMPLICITY is an ongoing observational study of CP-CML patients designed to understand the use of first-line (1L) imatinib (IM), dasatinib (DAS), or nilotinib (NIL) in the United States (US) and Europe (EU) outside clinical trials (NCT01244750). Previous SIMPLICITY data (ASH 2013) showed patients had 3.3 (± 2.8) comorbidities (mean \pm standard deviation [SD]) at start of 1L tyrosine kinase inhibitor (TKI; $n = 949$); ≥ 1 baseline comorbidity reported in $> 75\%$ of patients, with > 3 comorbidities in the majority. It was found that 40.6% had cardiovascular (CV) comorbidities at start of 1L TKI. Baseline comorbidity did not affect initial TKI selection, although cautions regarding risks for specific adverse events (e.g. cv and pulmonary) have been described for individual TKIs in patients with pre-existing conditions. **Aims:** This analysis focuses on the frequency of CV-related hospitalizations in SIMPLICITY patients and describes these events by 1L TKI and TKI received at time of hospitalization. Demographics and clinical characteristics of hospitalized patients are compared with the total SIMPLICITY population. **Methods:** SIMPLICITY includes three prospective patient cohorts treated with IM, DAS, or NIL as 1L therapy since 2010, and a historical cohort treated with IM since 2008. Among hospitalizations reported through 22 Sept 2014, CV-related hospitalizations were identified using preferred MedDRA terms in the CV category. Based on events reported, events were categorized as follows: valvular disease; arrhythmia; cardiac failure; cardiac ischemic disease; and pericardial disorder. TKI exposure was calculated from total duration on specified TKI regardless of initial TKI. **Results:** There

were 1,460 patients enrolled prospectively on IM (n = 415), DAS (n = 416), or NIL (n = 376), and data was collected retrospectively for IM (n = 253). Over half of patients were males (54.7%) and over half were from the US (66.7%). Median age (interquartile range [IQR]) at 1L TKI was 56.0 (45.0–67.0) years and 31% of patients were \geq 65 years. Overall, 329 patients (22.5%) were hospitalized and 46 patients (3.2%) had CV hospitalizations (retrospective IM: n = 21; prospective IM: n = 6; DAS n = 8; NIL: n = 11). Multiple CV hospitalizations were reported in 21.7% of CV hospitalized patients. Of patients with CV hospitalizations, median (IQR) age at 1L TKI was 70.8 (57.1–74.8) years; 60.9% were \geq 65 years. Most patients were male (60.9%) and from the US (82.6%); 62% were on 1L TKI at first admission. Median follow-up from start of TKI to hospitalization was 370 days (retrospective IM, 484; prospective IM, 847; DAS, 105; NIL, 239 days) compared with 29.3 months for the total SIMPLICITY population. The most frequent causes of CV hospitalization were cardiac ischemic disease (34.6%), arrhythmia (30.8%), and cardiac failure (26.9%). The rate of CV hospital admissions per 100 patient-years of exposure was 1.46 for all hospitalized patients and was highest in the NIL-treated cohort (NIL: 2.61 compared with 0.77 [retrospective IM], 1.15 [prospective IM] and 1.15 [DAS]). The mean (\pm SD) duration of hospitalization was 5.9 (\pm 7.2) days. **Conclusion/Summary:** In SIMPLICITY, few patients overall were hospitalized for CV-related events. Patients with CV-related hospitalizations were older than the total SIMPLICITY population. The highest rate of CV hospitalizations per 100 patient-years was in NIL-treated patients, while the observed rates for DAS and IM patients appeared similar. Analysis of pre-existing CV co-morbidities in hospitalized patients will be described.

419. EXPRESSÃO DO GENE ATP CITRATO LIASE (ACLY) COMO INDICADOR DE ERITROPOESE E RESPOSTA AO TRATAMENTO COM MESILATO DE IMATINIBE EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA

Maia Al^{a,b,c}, Ramos IB^{a,b}, Sarmento CS^b, Azevedo TCB^d, Castro JAA^a, Amaral CEM^a, Nunes CAM^d, Lemos JAR^{a,b}

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

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

^c Faculdade Metropolitana da Amazônia (FAMAZ), Belém, PA, Brasil

^d Hospital Ophir Loyola (HOL), Belém, PA, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma neoplasia caracterizada pela presença do cromossomo Philadelphia (Ph), o qual tem uma translocação que dá origem ao gene híbrido, que codifica a proteína BCR-ABL. Essa participa de numerosas vias de transdução de sinais, como a via PI3K/AKT, que por sua vez está ligada à fosforilação da enzima ATP citrato liase (ACLY) envolvida em importantes vias biossintéticas, como a lipogênese. De modo geral as células tumorais têm um comportamento anormal por reprogramar várias vias metabólicas. Várias etapas da biossíntese de lipídios têm sido consideradas como metas para o tratamento do câncer, visto que contribuem tanto para a construção de massa (membrana celular) quanto para a geração de energia (betaoxidação), a fim de compensar o aumento da taxa de proliferação. **Objetivo:** Quantificar a expressão do gene ACLY em pacientes com LMC tratados com mesilato de imatinibe (MI). **Material e métodos:** Foram analisados os dados de expressão do ACLY no transcriptoma de medula óssea e sangue periférico de pacientes com LMC e de indivíduos normais, obtidos por meio da técnica de sequenciamento de nova geração no SOLiD™ System 3 Plus (Applied Biosystems, CA, USA). Também foi feita a análise da expressão desse gene em sangue periférico por meio da técnica de PCR em tempo real, com 160 pacientes diagnosticados como portadores de LMC, no Hospital Ophir Loyola (Belém, Pará), 150 tratados regularmente com MI e 10 sem tratamento com MI. Todos os pacientes foram atendidos regularmente na Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará (HEMOPA) para monitoração molecular do BCR-ABL. Foram usados, como amostras controle 40 indivíduos não portadores de LMC. Tanto nos pacientes como nos controles foram coletados 5 mL de sangue periférico para feita a PCR em tempo real e hemograma completo. Os dados estatísticos da expressão gênica e hemograma (média, mediana, regressão e correlação) foram analisados no programa Biostat 5.0., no qual foram considerados significativos os valores de $p \leq 0,05$. **Resultados:** Os dados da análise do transcriptoma mostraram a diferença entre a expressão do

gene das amostras de pacientes portadores de LMC e amostras controles tanto na medula óssea quanto no sangue periférico. Na medula óssea a expressão do ACLY em pacientes foi quatro vezes maior do que nos indivíduos controles; no sangue periférico, a proporção foi exatamente o inverso. Na avaliação do ACLY nas amostras de sangue periférico observou-se que os pacientes em tratamento com o MI apresentaram um aumento da expressão do ACLY em relação aos pacientes que não iniciaram o mesmo tratamento ($p < 0,0001$). Para avaliar a relação entre a resposta ao tratamento dos pacientes e a expressão do ACLY foi usado o teste de regressão, que obteve um $R^2 = 0,98$ ($p = 0,05$), e o teste de correlação, que revelou uma forte associação entre a expressão desse gene e o número de eritrócitos ($R = 0,83$). **Conclusão:** O ACLY encontra-se envolvido na hematopoese e pode ser um candidato a marcador de resposta ao tratamento com MI em pacientes com LMC.

420. METFORMINA POTENCIALIZA A REDUÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR INDUZIDA POR RUXOLITINIBE EM CÉLULAS JAK2 V617F

Machado-Neto JA, Fenerich BA, Scopim-Ribeiro R, Alves APNR, Fernandes JC, Scheucher PS, Rego EM, Traina F

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

Introdução: A via de sinalização JAK2/STAT é constitutivamente ativada nas neoplasias mieloproliferativas (NMP), incluindo a trombocitemia essencial, policitemia vera e mielofibrose primária (MFP). Ruxolitinibe é um inibidor seletivo de JAK1/2 aprovado para tratamento da MFP de risco intermediário ou alto, é bem tolerado, reduz citocinas inflamatórias e esplenomegalia, ameniza sintomas constitucionais, mas não reverte a fibrose na medula óssea, sugere a necessidade de novas abordagens terapêuticas. A metformina é um ativador de AMPK, um sensor energético intracelular que inibe a atividade de mTOR. Estudos pré-clínicos que combinam a metformina com quimioterápicos indicam que essa combinação é muito promissora no tratamento de alguns tumores sólidos. Como a metformina tem sido amplamente usada há muito tempo para o tratamento de doenças como a diabete, estudos pré-clínicos para verificar o efeito da combinação do ruxolitinibe e metformina podem ser interessantes, uma vez que esses achados têm potencial para ser incorporados na prática clínica. **Objetivo:** Investigar os efeitos do tratamento de ruxolitinibe, metformina e a combinação de ambas as drogas na viabilidade celular e apoptose em linhagens celulares JAK2^{V617F} positivas. **Material e métodos:** Foram usadas as linhagens celulares HEL e SET2, ambas positivas para mutação JAK2^{V617F}. As linhagens celulares foram cultivadas de acordo com as recomendações da ATCC (Philadelphia, EUA) e da DMSZ (Braunschweig, Alemanha). Células HEL e SET2 foram tratadas ou não com ruxolitinibe (300 nM) e/ou metformina (5 e 10 mM). A viabilidade celular foi avaliada por ensaio de methylthiazolotetrazolium (MTT) e a apoptose por marcação de Anexina V/PI após 48 horas de tratamento. A análise estatística foi feita pelo teste t de Student ou Mann-Whitney. Um valor de p menor do que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo. **Resultados:** Em células HEL e SET2, o tratamento com ruxolitinibe foi capaz de reduzir significativamente a viabilidade celular ($p < 0,03$) e induzir a apoptose ($p \leq 0,005$). O tratamento com metformina (5mM e 10 mM) reduziu significativamente a viabilidade celular em ambas as linhagens avaliadas ($p < 0,05$), no entanto apenas em células SET2 a metformina foi capaz de induzir níveis significativos de apoptose (5 mM: $p < 0,0006$; 10 mM: $p < 0,0001$). Fato notável foi que a combinação de ruxolitinibe (300 nM) e metformina (10 nM) reduziu significativamente a viabilidade celular quando comparada com as células tratadas apenas com ruxolitinibe ou metformina nas mesmas doses ($p < 0,05$). Em células SET2, mas não em células HEL, o tratamento combinado (ruxolitinibe 300 nM e metformina 10 mM) aumentou significativamente a apoptose em relação às células tratadas com apenas uma das drogas na mesma concentração (porcentagem de células SET2 apoptóticas: controle - 16%, ruxolitinibe 300 nM - 42%, metformina 10 mM - 36% e ruxolitinibe 300 nM mais metformina 10 mM - 55%; $p < 0,05$). **Conclusão:** Em células HEL, a metformina apresentou um efeito predominantemente citostático, enquanto que em células SET2, a metformina apresentou efeito citotóxico. Entretanto, em ambas as linhagens celulares a combinação de ruxolitinibe e metformina reduziu significativamente a viabilidade celular, sugere que a combinação dessas drogas pode ser uma abordagem promissora para o tratamento das NMP. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

421. CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE PACIENTES COM MIELOFIBROSE – MUTAÇÕES FENOTÍPICAS, REGULADORES EPIGENÉTICOS E TP53

Monte-Mór BC^a, Coutinho DF^a, Ayres-Silva J^b, D'andrea MC^a, Bonamino M^c, Dumas A^d, Solza C^e, Zalberg IR^a

^a Laboratório de Biologia Molecular, Centro de Transplante de Medula Óssea (CEMO), Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Laboratório de Patologia, Instituto Oswaldo Cruz (IOC), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^c Programa de Carcinogênese Molecular, Centro de Pesquisas (CPQ), Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^d Serviço de Hematologia, Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP), Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

^e Unidade Docente Assistencial de Hematologia, Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE), Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

As neoplasias mieloproliferativas (NMPs) BCR-ABL negativas são doenças hematopoiéticas clonais, com presença de células aparentemente maduras no sangue periférico. Policitemia vera (PV), trombocitemia essencial (TE) e mielofibrose (MF) primária têm apresentação clínica distinta, embora todas as NMPs possam evoluir para leucemia mieloide aguda. Nas NMPs, o fenótipo mieloproliferativo está associado a mutações nos genes JAK2, CALR ou MPL. Além disso, foram descritas, principalmente em MF, mutações em genes reguladores epigenéticos, como DNMT3A (10-15%), TET2 (20%), ASXL1 (7-17%), EZH2 (5-13%) e IDH1/2 (4%); e em TP53, na transformação leucêmica. O significado clínico e biológico dessas mutações ainda é incerto, mas estudos recentes sugerem que algumas tenham impacto prognóstico na doença. Se considerarmos a diversidade de mutações em NMPs, o objetivo deste trabalho foi descrever de forma abrangente as características moleculares de uma coorte de pacientes brasileiros com MF. Foram estudados pacientes com MF primária ou secundária, diagnosticados de acordo com os critérios da OMS (2008) e acompanhados nos hospitais universitários Pedro Ernesto (Uerj) e Antônio Pedro (UFF). Amostras de sangue periférico foram enviadas ao Laboratório de Biologia Molecular do Centro de Transplantes de Medula Óssea (CEMO), do Instituto Nacional do Câncer (Inca). O DNA genômico de granulócitos foi testado para os marcadores moleculares de diagnóstico, JAK2-V617F (PCR alelo específico), MPL-W515/S505N (sequenciamento direto) e inserções/deleções (InDels) no éxon 9 de CALR (análise de fragmentos). Dos 23 pacientes estudados, 13 apresentaram a mutação JAK2-V617F, um paciente apresentou a mutação MPL-W515L, seis a deleção de 52pb em CALR, dois foram triplo-negativos e para um paciente a análise está em andamento. As amostras também foram analisadas por sequenciamento de próxima geração (NGS) na plataforma Ion Torrent para um painel personalizado de 37 marcadores descritos em neoplasias mieloides, incluindo suas regiões exônicas e de fronteira de íntrons. A mediana de alterações encontradas por paciente foi de 54 (16-101), com cobertura média das alterações de 76X. De 1.273 alterações, cerca de metade foram substituições de nucleotídeos únicos (SNPs). Dentre as SNPs (623), 75% foram substituições sinônimas, 24% missense, somente duas eram de tipo nonsense e três em sítios de splicing; 90,2% das SNPs corresponderam a polimorfismos, 7,4% foram de significado ainda não conhecido e apenas 2,4% (15) eram mutações somáticas já descritas. Com relação aos genes reguladores epigenéticos, não foram encontradas mutações em IDH1/2 e EZH2. Dois pacientes apresentaram mutações em ASXL1 (insA em g.31022287 e R693X) e quatro, mutações em TET2 (G1361S, 118896 G>A, insG c.3812_3813, e R1216X). Um dos pacientes com mutação em TET2 apresentou também uma mutação em DNMT3A (Y735S). Com relação à TP53, um dos pacientes apresentou a mutação G245D. Apesar de a coorte ser ainda pequena, as frequências das mutações encontradas estão de acordo com a literatura. A organização de coortes maiores de pacientes brasileiros molecularmente anotados vai permitir o estudo do impacto prognóstico de certas mutações na nossa população. Além disso, é provável que certas alterações, como em ASXL1, de prognóstico adverso, integrem a rotina de diagnóstico molecular na MF. Nesse sentido, o desenvolvimento de estratégia em larga escala, como a descrita neste trabalho, será fundamental para caracterização molecular abrangente da MF.

422. PADRONIZAÇÃO DO TESTE MOLECULAR PARA PESQUISA DA MUTAÇÃO NO EXON 9 DO GENE CALR E IMPLANTAÇÃO DO TESTE NO DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Carvalho FP, Petroni RC, Rosa SEA, Santana RAF, Magueira CLP, Pinho JRR, Campregher PV

Laboratório Clínico, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Mutações no éxon 9 do gene CALR estão presentes em cerca de 67% e 88% dos pacientes portadores de trombocitemia essencial e mielofibrose primária sem mutação no gene JAK2, respectivamente. A pesquisa dessa mutação em um paciente com quadro clínico compatível estabelece o diagnóstico de síndrome mieloproliferativa crônica, a segunda mutação mais frequente depois do JAK2 em trombocitemia essencial ou mielofibrose primária. Além disso, mutações em CALR estão associadas a diminuição do risco de trombose em trombocitemia essencial e melhor sobrevida em mielofibrose primária em comparação com mutações em JAK2. **Objetivo:** Padronizar a metodologia para detecção de mutações no éxon 9 do gene CALR em sangue periférico e medula óssea de pacientes portadores de neoplasias mieloproliferativas para implantação do teste em um serviço de diagnóstico clínico. **Material e métodos:** Foram usadas para padronização do teste 40 amostras de sangue periférico e medula óssea de pacientes com neoplasias mieloproliferativas. Foi extraído o DNA por meio do kit Qiamp DNA Mini Kit (Qiagen) e submetido a PCR (reação em cadeia da polimerase) com o uso de iniciadores específicos. O produto de PCR foi submetido à análise de fragmentos na plataforma ABI 3500 XL em um mix com formamida HI DI e padrão interno GS-500 Liz. **Resultados e conclusões:** Dentre as amostras estudadas, 16 (40%) apresentaram mutação no gene CALR. Dessas, sete (43,75%) apresentaram a mutação tipo 1 (inserções de cinco pares de base) e nove (56,25%) a mutação tipo 2 (deleção de 50 pares de base), dados que corroboram a literatura. Assim, torna-se relevante a detecção dessa mutação para o diagnóstico e manejo clínico de pacientes portadores de neoplasias mieloproliferativas. A pesquisa de mutação no gene CALR foi padronizada com sucesso em nosso laboratório e o teste foi incluído no diagnóstico clínico.

Referências:

1. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, Nivarthi H, Rumi E, Milosevic JD, et al. Somatic mutation of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med.* 2013;369:2379-90.
2. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, Nice FL, Gundem G, Wedge DC, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with non-mutated JAK2. *N Engl J Med.* 2013;369(25):2391-405.

423. CARACTERIZAÇÃO DAS CÉLULAS NATURAL KILLER NAS NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS BCR-ABL1 NEGATIVAS

Arantes AQ^a, Leal CT^a, Silva CA^a, Scheucher P^a, Welner RS^b, Mullaly A^b, Kobayashi S^b, Rego EM^a, Figueiredo-Pontes LL^a

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

^b Harvard Stem Cell Institute, Harvard Medical School, Boston, Estados Unidos

As células Natural Killer (NK) desempenham um papel crítico na defesa contra infecções e transformação maligna. Quando estimuladas por meio de seus receptores, produzem citocinas que podem afetar a função das células-tronco hematopoéticas (CTHs). Acreditamos que a desregulação das células NK favoreça a transformação maligna da CTH. Na leucemia mieloide crônica (LMC), neoplasia mieloproliferativa (NMP) portadora do rearranjo BCR-ABL1, demonstrou-se redução do número e função das células NK a despeito do tratamento com o inibidor de tirosina-quinase. Entretanto, pouco se sabe sobre o papel dessas células na origem e progressão das NMPs BCR-ABL1 negativas. Objetivamos com este trabalho caracterizar células NK murinas e humanas de NMP. Células NK e receptores foram quantificados por citometria de fluxo com o uso de células esplênicas do modelo murino condicional da mutação Jak2V617F (Jak2VF), cujos animais desenvolvem uma doença muito semelhante à policitemia vera (PV) humana, bem como células do sangue periférico de pacientes com NMP. Para a imunofenotipagem dos linfócitos murinos, células esplênicas foram isoladas e marcadas com anticorpos contra Ter119, CD19, CD4, CD8, CD3, NK1.1, NKG2A, NKG2D,

Ly49H e Ly49D. Para a análise dos linfócitos humanos, células mononucleares foram isoladas e marcadas com anticorpos contra CD45, CD19, CD3, CD16, CD56. Quando comparados com os controles Jak2WT, camundongos Jak2VF apresentaram números inferiores de células NK (2,09% versus 22,7% das células esplênicas, $p = 0,022$) bem como de NKG2A (0,57% versus 2,47% das células NK, $p = 0,037$) e NKG2D (0,17% versus 0,46% das células NK, $p = 0,020$). Trinta e oito pacientes com NMP que não estavam em uso de terapia citorredutora foram incluídos e classificados como portadores de PV ($n = 11$), trombocitemia essencial (TE, $n = 11$), mielofibrose primária (MFP, $n = 11$) ou NMP inclassificável (NMPi, $n = 5$). Amostras de sangue de 34 doadores saudáveis foram usadas como controles. Os pacientes portadores da mutação JAK2VF apresentaram número reduzido de células NK CD16+ quando comparados com os pacientes negativos e controles saudáveis (0,73% versus 1,06% versus 1,54%, $p = 0,038$, respectivamente). Dentre os pacientes com JAK2 mutada, aqueles com PV e MFP tiveram menor número de células NK. Em concordância, menor número de células NK foi detectado em pacientes com PV JAK2VF do que em pacientes com PV JAK2VF negativos e controles (0,39% versus 1,42% e 1,54%, $p = 0,047$). Os pacientes com MFP apresentaram menores números de linfócitos NK do que os controles independentemente da mutação da JAK2 (0,35%, 0,49% e 1,54% para JAK2VF positiva, negativa e controles, respectivamente, $p = 0,025$). Em resumo, os linfócitos NK se mostraram reduzidos em pacientes com NMP, particularmente nos casos com a mutação JAK2VF. Ademais, detectamos menor expressão dos receptores NK nos animais Jak2VF, isso sugere que essas células são disfuncionais nas NMP. Estudos que permitam a identificação de mecanismos da deficiência NK nas NMP e da interação entre essas células e a CTH maligna estão em andamento e podem contribuir para estabelecer novas estratégias de terapia combinada mais efetivas para o controle da doença, já que o tratamento das NMP permanece não curativo com as estratégias atualmente disponíveis, apesar do desenvolvimento de drogas inibidoras da JAK2.

424. IMPACTO CLÍNICO E LABORATORIAL DE MUTAÇÕES NO GENE ASXL1 EM PACIENTES COM NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS

Coelho-Silva JL^a, Franca-Neto PL^a, Araujo GVS^b, Melo GDL^b, Costa AM^b, Correia MCB^c, Assis RA^c, Machado CGF^c, Bezerra MAC^{a,c}, Lucena-Araujo AR^{a,c}

^a Programa de Pós Graduação em Genética, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

^b Curso de Graduação em Biomedicina, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

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

Algumas evidências destacam mutações no gene ASXL1 como eventos importantes na evolução clínica de pacientes com neoplasias hematológicas, em particular as leucemias agudas. Contudo, seu impacto prognóstico em neoplasias mieloproliferativas (NMP) ainda é pouco explorado. Aqui, caracterizamos 102 pacientes com NMP cromossomo Filadélfia (Ph) negativo, policitemia vera (PV), trombocitemia essencial (TE) e mielofibrose primária (MFP), de acordo com mutações no gene ASXL1, e correlacionamos esses achados com o desfecho clínico e com características clínico-laboratoriais desses pacientes. A pesquisa das mutações foi feita por sequenciamento capilar e polimorfismos somáticos e mutações sinônimas foram excluídas das análises. Mutações no ASXL1 foram detectadas em 13/102 pacientes (13%), das quais cinco (13%) foram observadas em pacientes com PV (5/38), seis (11%) em pacientes com TE (6/56) e dois (25%) com MFP (2/8). As características clínicas e laboratoriais foram similares entre pacientes com ASXL1 mutado e não mutado. Quando as entidades foram avaliadas individualmente (PV, TE e MFP), houve uma tendência ao desenvolvimento de algumas manifestações clínicas em pacientes com ASXL1 mutado, como hemorragia ($p = 0,134$) e baixa contagem de leucócitos nos pacientes com PV ($p = 0,123$) e TE ($p = 0,061$) e idade mais avançada nos pacientes com MFP ($p = 0,071$). Com uma mediana de seguimento de 12 anos (IC95%: 10-14 anos), 54 pacientes (53%) desenvolveram algum tipo de manifestação clínica: a mais frequente foi esplenomegalia ($n = 24$; 24%), seguida por eventos hemorrágicos ($n = 21$; 21%) e trombóticos ($n = 13$; 13%). Mutações no gene ASXL1 não foram associadas com o desenvolvimento das referidas manifestações. Dentro desse seguimento, apenas três pacientes evoluíram

para síndrome mielodisplásica ($n = 2$) e para leucemia mieloide aguda ($n = 1$), todos sem mutações no gene ASXL1. Dessa maneira, mutações no ASXL1 são frequentes em pacientes brasileiros com NMP. Os estudos de mutações nesse gene em diferentes coortes são importantes para definir a incidência de mutações e auxiliar a estratificação prognóstica. Um maior tempo de seguimento permitirá a avaliação de seu impacto no curso clínico dos pacientes incluídos em nossa coorte. **Financiamento:** Programa de Pós-Graduação em Genética (Universidade Federal de Pernambuco), Fundação de Apoio à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (Facepe), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

425. INIBIÇÃO FARMACOLÓGICA DE IRS1/2 AUMENTA A APOPTOSE E REDUZ A FOSFORILAÇÃO DE STAT3 EM CÉLULAS JAK2 V617F

Fenerich BA^a, Alves APNR^a, Machado-Neto JA^a, Scopim-Ribeiro R^a, Fernandes JC^a, Campos PM^b, Scheucher PS^a, Rego EM^a, Traina F^a

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

^b Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: JAK2 representa um importante alvo terapêutico em neoplasias mieloproliferativas (NMP). Ruxolitinibe, um inibidor seletivo de JAK1/2, tem sido empregado no tratamento da mielofibrose primária. No entanto, a ausência de uma resposta clínica completa na maioria dos pacientes indica a necessidade de estudos com inibidores farmacológicos de outras proteínas envolvidas na via de sinalização JAK2/STAT. Nosso grupo identificou a associação entre a proteína adaptadora IRS2 (Insulin Receptor Substrate 2) e JAK2 V617F, mas não com JAK2 selvagem em modelos de linhagem leucêmica. Em células HEL JAK2 V617F, a inibição do IRS2 por meio de lentivírus potencializou o efeito do ruxolitinibe na redução da proliferação celular e na indução da apoptose. Esses dados sugerem que o IRS2 representa um potencial alvo no tratamento das NMP JAK2 positivas. O composto NT157 foi desenvolvido para inibir IRS1/2 por meio da fosforilação em serina e apresenta efeitos antineoplásicos em estudos *in vitro* e *in vivo* em neoplasias sólidas. **Objetivo:** Caracterizar os efeitos do tratamento com NT157 em células HEL V617F na viabilidade, apoptose, ciclo celular, clonogenicidade e modulação das vias de sinalização JAK2/STAT e MAPK. **Material e métodos:** Células HEL foram tratadas ou não com NT157 em diferentes concentrações (0,2; 0,4; 0,8; 1,6 e 3,2 μM) por 24, 48 e 72 horas e submetidas avaliação da viabilidade (MTT), apoptose (anexina V/PI e clivagem de caspase 3, 8 e 9), clonogenicidade (formação de colônias), ciclo celular (PI) e expressão e ativação proteica (western blot). A comparação entre o controle e os grupos tratados foi feita por meio do teste *t* e o valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. **Resultados:** Em células HEL, o tratamento com NT157 em doses $\geq 0,4 \mu\text{M}$ reduziu a viabilidade celular de forma tempo e dose-dependente ($p < 0,05$). O IC50 foi de 3,1 μM para 24 horas, 0,68 μM para 48 horas e 0,72 μM por 72 horas. NT157 também induziu significativamente a apoptose em doses $\geq 0,8 \mu\text{M}$ em todos os tempos testados como verificado por AnexinaV/PI ($p \leq 0,008$) e confirmado pelo aumento da clivagem das caspases 3, 8 e 9. No ensaio clonogênico, o tratamento com NT157 em doses $\geq 0,8 \mu\text{M}$ reduziu o número de colônias; redução de 16% a 0,8 μM , 23% a 1,6 μM e 36% a 3,2 μM . A análise do ciclo celular após 24 horas de tratamento revelou parada do ciclo celular em G2/M, associada com uma diminuição na população G0/G1 ($p \leq 0,01$). O tratamento com NT157 por 24 horas inibiu a fosforilação de STAT3 de forma dose-dependente; doses $\geq 0,8 \mu\text{M}$ foram suficientes para abolir totalmente a fosforilação de STAT3. Adicionalmente, NT157 inibiu a fosforilação de ERK; os níveis da proteína total se mantiveram estáveis. **Conclusão:** O tratamento com o composto NT157 resultou em notáveis efeitos antineoplásicos em linhagem hematológica JAK2 V617F, como demonstrado pelo aumento da apoptose, diminuição da viabilidade celular e crescimento clonal, mesmo nas doses mais baixas. Nessas células, a apoptose foi mediada pelas vias intrínseca e extrínseca, como evidenciado pelo aumento do nível das caspases clivadas 8 e 9, respectivamente. Os efeitos antineoplásicos foram possivelmente mediados pela inibição de IRS1/2 e pela redução da fosforilação de STAT3 e ERK. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

426. DELEÇÃO 5Q EM MIELOFIBROSE PRIMÁRIA: RELATO DE CASO

Fonsêca ARBM^a, Jacomini A^a, Simoes CP^a, Eduardo JM^a, Barcelos KC^a,
Chauffaille ML^a, Pivaro MF^a, Junior MJFS^a, Silva MRR^b

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

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

Introdução: As neoplasias mieloproliferativas crônicas (NMP) são doenças nas quais há proliferação clonal das células-tronco hematopoéticas e culminam com fibrose da medula óssea (MO), hematopoese extramedular e propensão a transformar em leucemia aguda. Segundo a OMS, para o diagnóstico de mielofibrose primária (MFP) são necessários os três critérios maiores e pelo menos dois menores: Maiores: 1. Proliferação megacariocítica e atípica, geralmente acompanhada de fibrose reticulínica e/ou colagênica; ou, na ausência fibrose significativa, presença de megacariócitos com aumento da celularidade da MO, devido à proliferação granulocítica com diminuição da eritropoese, 2. Ausência de critérios da OMS para outras neoplasias mieloides, 3. Presença de JAK2 V617F ou outro marcador clonal; ou, na ausência desses, nenhuma evidência de fibrose medular ou outras alterações secundárias. Menores: 1. Leucocitose. 2. Aumento de DHL sérico. 3. Anemia. 4. Esplenomegalia.

Relato de caso: Paciente MPGOP, 51 anos, feminina, encaminhada em novembro de 2013 por trombocitose em exames de rotina. Apresentava-se em BEG, corada, sem linfadenomegalias, fígado não palpável, baço a 10 cm RCE, comprovado por US de abdome. Exames laboratoriais descartaram causas secundárias (alterações tireoidianas, reumatológicas, infecciosas ou carenciais). Hb: 14,5 g/dL Ht 44,2% VCM: 88 fL HCM 83,1 pg RDW: 14,4% Leuco: 5.930/mm³ (0/66/3,8/2,5/22/5,4) Pla: 554.000/mm³ DHL: 379 U/L. Mielograma: Normocelular, G:E = 2,7:1. Série megacariocítica pouco representada e com alguns micromegacariócitos e megacariócitos unilobulados. BMO: 80% de células hematopoéticas; relação L: E = 5:1. Megacariócitos em número aumentado, apresentavam alterações displásicas, alguns com núcleos grandes e hiperlobulados e outros com núcleos contraídos e hiperromáticos e tendência a agregação, fibrose grau 3 e osso neoformado, característico de MFP fase fibrótica. Cariótipo: 46 XY, del(5)(q32;q35) [5]. Pesquisa de Jak2 V617F (+) com 56% de alelos mutados e BCR/ABL1-negativo. Classificada como MPF com del(5q). IPSS baixo risco e DIPSS baixo risco. Paciente segue assintomática e em acompanhamento clínico-laboratorial. **Discussão:** A classificação das NMP é baseada nas alterações clínico-laboratoriais, avaliação do mielograma, BMO, exames citogenéticos e moleculares. Em algumas situações, há dificuldade na classificação da doença corretamente devido à sobreposição de achados, como no caso descrito. Não havia citopenias ou displasia exuberantes para classificar como SMD a despeito da del(5q) comumente observada nesse conjunto de doenças. Por outro lado, a presença de trombocitose com fibrose medular direcionou para o diagnóstico de MFP, corroborado pelos critérios da OMS supracitados, entre eles a mutação JAK2V617F. Diante disso, fica claro que a fronteira entre as diferentes doenças mieloproliferativas/mielodisplásicas é tênue e melhores definições com base na fisiopatogenia ou na etiogênese são necessários para tal diferenciação.

427. INIBIÇÃO FARMACOLÓGICA DOS SUBSTRATOS DO RECEPTOR DE INSULINA INIBE A PROLIFERAÇÃO CELULAR E AUMENTA A APOPTOSE DE CÉLULAS BCR-ABL1 POSITIVAS

Scopim-Ribeiro R^a, Machado-Neto JA^a, Campos PM^b, Duarte ASS^b,
Scheucher PS^a, Góes A^a, Saad STO^b, Simões BP^a, Rego EM^a, Traina F^a

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

^b Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A resistência aos inibidores da atividade tirosinoquinase de BCR-ABL1 no tratamento da leucemia mieloide crônica (LMC) exige a identificação de outras proteínas importantes nas vias de sinalização de BCR-

ABL1. A expressão de IRS1 foi previamente identificada como positivamente correlacionada com a sobrevida em leucemia linfóide aguda BCR-ABL1+. Em células K562, IRS1 associa-se com BCR-ABL1 e ativa a via PI3K/Akt/mTOR e MAPK. NT157 foi desenvolvido como um inibidor farmacológico de IRS1/2 e reduziu a viabilidade celular em tumores sólidos. **Objetivo:** Investigar a expressão gênica de IRS1 e IRS2 e os efeitos da inibição de IRS1/2 por meio de NT157 na proliferação celular, apoptose e clonogenicidade em células hematopoéticas normais e BCR-ABL1+. **Material e métodos:** Foram incluídos no estudo indivíduos normais (n = 11) e pacientes com LMC ao diagnóstico (n = 24). Expressão gênica foi avaliada por PCR quantitativo em células totais de medula óssea. Células K562 foram submetidas à inibição farmacológica de IRS1/2 por meio do tratamento com NT157 (0,2; 0,4; 0,8; 1,6; 3,2 e/ou 6,4 µM) por 24, 48 e 72 horas e avaliadas quanto à viabilidade celular, proliferação, apoptose e expressão proteica. Alternativamente, células K562 foram submetidas ao silenciamento de IRS1 e IRS2 com o uso de shRNA específico e então submetidas a ensaios funcionais. Os efeitos do tratamento com NT157 foram avaliados por meio de ensaio in vitro de formação de colônias de células de medula óssea de dois pacientes com LMC ao diagnóstico e de sangue de cordão umbilical de um indivíduo saudável. Análise estatística foi obtida por meio do teste t de Student ou teste de Mann-Whitney. **Resultados:** Expressão de IRS1 e IRS2 não diferiu entre indivíduos saudáveis e pacientes com LMC. O tratamento com NT157 reduziu a viabilidade celular em K562 de maneira tempo e dose-dependente (p < 0,05); o IC50 foi 9,8; 0,6 e 0,68 µM para 24, 48 e 72 horas. Após 48 horas, NT157 reduziu a proliferação celular em 10% a 0,8 µM, 40% a 1,6 µM, e 75% a 3,2 µM (p < 0,05). O tratamento com NT157 por 48 horas aumentou a clivagem de caspase 3 e 9 e a % de células apoptóticas; 15%, 38% e 61% AnexinaV+ para controle, NT157 0,8 e 3,2 µM (p < 0,05). Para NT157 0,8; 3,2 e 6,4 µM, a formação de colônias de células de pacientes com LMC teve redução de 7%, 36% e 78% para o paciente #1 e de 29%, 19% e 62% para o paciente #2. NT157 não inibiu a formação de colônias em células de sangue de cordão normal; o número de colônias para o controle, NT157 0,8; 3,2 e 6,4 µM, foi 88, 84, 97 e 92. O silenciamento de IRS1 mediado por lentivírus, mas não o de IRS2, reduziu significativamente a viabilidade celular em K562. **Conclusão:** Embora a expressão de gênica de IRS não tenha diferido entre controles e pacientes com LMC, os estudos funcionais indicam que a ativação das proteínas IRS está implicada na biologia das células BCR-ABL1+. A inibição farmacológica de IRS1/2 por meio de NT157 diminuiu a formação de colônias em células primárias de LMC, mas não células normais; diminuiu a viabilidade e proliferação celular e aumentou a apoptose de células K562 de maneira tempo e dose-dependente. Uma vez que o silenciamento de IRS2 não reduziu a viabilidade em K562, a inibição de IRS1 deve ser o principal mecanismo pelo qual NT157 exerce seus efeitos em células BCR-ABL1+. **Financiamento:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

428. LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA E TRISSOMIA DO CROMOSSOMO 8: RELATO DE CASOS

Vasconcelos AP^a, Azevedo IF^b, Azevedo AA^c, Melo RAM^{b,c}

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

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

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

Introdução: A trissomia do cromossomo 8 é frequentemente relatada em distúrbios da linhagem mieloide, o que sugere seu papel na progressão neoplásica. É provável que seja um evento secundário modulador da doença, contribuiu para a heterogeneidade clínica e o prognóstico. **Objetivo:** Apresentar três casos de trissomia do 8, ao diagnóstico, em pacientes com leucemia mieloide crônica (LMC) atendidos na Fundação HEMOPE. **Relato de casos: Caso 1:** MBO, 65 anos, feminino, encaminhada em 2012, cujo hemograma mostrou hemoglobina de 9,5 g/dL, leucócitos de 330 x10⁹/L, plaquetas 450 x10⁹/L e 5% de blastos. O rearranjo BCR-ABL1 foi positivo para o transcrito e13a2 e o cariótipo mostrou 46,XX,inv(9)(p12;q13),t(9;22)(q34;q11.2)[8]/47, idem, +8[12]. A paciente foi diagnosticada na fase crônica da doença, classificada como alto risco (índice de Sokal) e tratada com imatinibe. Após plaquetopenia intensa, o tratamento foi suspenso por 20 dias e aos seis meses, ao apresentar relação BCR-ABL1/ABL1 de 29%, optou-se por trocar o medicamento por um inibidor de segunda geração, o nilotinibe. Até o presente momento, a paciente encontra-se sem evidências de evolução clonal e em remissão molecular com queda de 5 log (RM5). **Caso 2:** JPS, 57 anos, masculino, encaminhado

em 2012, com hemoglobina de 10,9 g/dL, leucócitos de $251 \times 10^9/L$, plaquetas $168 \times 10^9/L$, 4% de basófilos e ausência de blastos. O rearranjo BCR-ABL1 foi positivo para o transcrito e13a2 e o cariótipo mostrou 46,XY,t(9;22)(q34;q11.2)[18]/47,idem,+8[2]. O paciente foi diagnosticado na fase crônica da doença, classificado como risco intermediário e tratado com imatinibe. Após plaquetopenia, a dosagem do medicamento foi reduzida de 400 para 200 mg/dia e até o presente momento o paciente encontra-se em remissão molecular com relação BCR-ABL1/ABL1 de 0,009%. **Caso 3:** JAC, 30 anos, masculino, encaminhado em 2013, com hemoglobina de 9,9 g/dL, leucócitos de $333 \times 10^9/L$, plaquetas $242 \times 10^9/L$, com 8% de basófilos e 42% de blastos no sangue periférico. O mielograma apresentou 76% de mieloblastos, o rearranjo BCR-ABL1 foi positivo para o transcrito e14a2 e o cariótipo mostrou 46,XY,t(9;22)(q34;q11)[10]/48, idem,+8,del(22)t(9;22)[15]. O paciente foi diagnosticado na fase blástica da doença e tratado com imatinibe. Após resposta insatisfatória e diversas suspensões por neutropenia, optou-se por trocar o medicamento por um inibidor de segunda geração, o dasatinibe, combinado com quimioterapia 3+7 (daunorrubicina + citarabina). O último evento foi em out/13 e atualmente o paciente encontra-se perdido de vista. **Discussão:** Entre jan/2009 e maio/2015, foram diagnosticados 203 pacientes com LMC por meio da técnica molecular da reação em cadeia da polimerase pela transcrição reversa. Desses 99 foram estudados citogeneticamente pela técnica de bandeamento G e a incidência da trissomia do 8 foi de 3%. Relatada em até 25% dos casos, a trissomia do 8 representa a principal alteração genética relacionada com evolução clonal e progressão da doença para fase acelerada ou crise blástica, seguida da aquisição de um segundo Ph¹. Entre os genes localizados no cromossomo 8, com possível significado na leucemogênese, incluem *c-myc* em 8q24, *C-MOS* em 8q22, *MOZ* em 8p11 e *ETO* em 8q22. No entanto, as consequências moleculares dessa trissomia requerem investigação mais aprofundada. Os casos descritos reforçam o caráter de prognóstico desfavorável associado à trissomia do 8 na LMC.

429. MANEJO DA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA DURANTE A GRAVIDEZ: ANÁLISE RETROSPECTIVA DE UM ÚNICO CENTRO

Moura AC, Pagnano KBB, Delamain MT, Lorand-Metze I, Duarte GBO, Souza CA

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

Introdução: O diagnóstico da LMC na gravidez é uma situação rara e desafiadora, assim como o manejo das pacientes quando a gravidez ocorre durante o tratamento. **Objetivo:** Fazer uma análise retrospectiva de pacientes com LMC que apresentaram gestação, com descrição do tratamento feito, complicações durante a gestação, dados do parto e do recém-nascido. **Resultados:** Entre 2000 e 2015 foram detectados nove casos de gravidez em sete pacientes com LMC. Em três pacientes a LMC foi diagnosticada durante a gestação, durante os exames de pré-natal. Características clínicas ao diagnóstico da LMC: as pacientes tinham em média 25 anos (13-38 anos); cinco na fase crônica e dois na fase acelerada; Sokal: baixo risco (n = 3), intermediário (n = 2), alto risco (n = 1), não avaliado (n = 1). Quatro pacientes engravidaram durante o tratamento, em uso de dasatinibe (n = 2), imatinibe (n = 3) e hidroxiureia (n = 1). Os inibidores de tirosquinase (ITK) foram interrompidos durante a gravidez, em todos os casos. Três pacientes apresentavam resposta citogenética completa (RCC) e duas resposta molecular maior (RMM). Uma das pacientes tratadas com imatinibe estava no início do tratamento e perdeu a resposta hematológica após a suspensão da droga e atualmente está na 32ª semana de gravidez, em uso de IFN. Uma das pacientes tratadas com dasatinibe também tinha anemia falciforme. Essa paciente já havia engravidado durante o uso de hidroxiureia para tratamento da anemia falciforme, época na qual foi diagnosticada a LMC. Na segunda gestação, em uso de dasatinibe, perdeu a resposta hematológica após a suspensão da droga e necessitou ser tratada com hidroxiureia a partir da 24ª semana até o parto, evoluiu com progressão da doença e foi a óbito sete meses após o parto. Outra paciente tratada com dasatinibe perdeu a RMM e RCC após a suspensão, mas recuperou ambas as respostas após a reintrodução da droga após o parto. Uma das pacientes teve duas gestações na vigência de imatinibe e manteve a RMM após as duas interrupções, voltou a receber imatinibe após o parto. Tratamento durante a gravidez: interferon-alfa (IFN) foi usado em todos os casos (n = 7); três casos apresentaram efeitos adversos: cefaleia, mialgia e náuseas. Leucocitoaférese foi usada em dois casos. A HU foi usada em dois casos. Foram obtidos dados

de oito partos: cinco foram pré-termo, três a termo, seis cesarianas e dois partos normais. Não houve intercorrências maternas e nenhum caso de má formação ou morte fetal. **Discussão:** O IFN mostrou ser um tratamento seguro e eficaz no tratamento da LMC durante a gravidez. A hidroxiureia, apesar de não ser recomendada na gravidez, é uma opção para os casos que apresentam grande leucocitose e pode ser usada após o segundo trimestre, se não houver resposta com a leucocitoaférese e/ou IFN. O uso de ITKs não é recomendado na gravidez pelo risco de teratogenicidade. Nos nossos casos não houve malformação fetal, apesar de as pacientes terem sido expostas por um curto período aos ITKs no primeiro trimestre. Os casos de gravidez em pacientes que estão há mais tempo em tratamento com ITKs e com RMM têm menor risco de perda da resposta após a interrupção. Nos nossos casos, essas pacientes não perderam a RMM ou então rapidamente recuperaram a resposta após a perda. Em contrapartida, a gravidez na fase inicial do tratamento, ainda sem obtenção de RMM, apresenta o risco de ter desfecho não favorável, como ocorreu com um dos casos, no qual houve progressão de doença.

430. TROMBOCITEMIA ESSENCIAL: RELATO DE CASO DE PACIENTE RESISTENTE À HIDROXIUREIA COM RÁPIDA RESPOSTA AO ANAGRELIDE

Vecina AFC^a, Assis JR^a, Goncalves MA^b, Marcondes GCBA^a, Chaib PS^a, Cliquet MG^a

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

^b Conjunto Hospitalar de Sorocaba (CHS), Sorocaba, SP, Brasil

Introdução: Trombocitemia essencial (TE) é uma neoplasia mieloproliferativa Philadelphia-negativa, caracterizada por plaquetose e hiperplasia megacariocítica na medula óssea, com a presença da mutação V617F da JAK2 em 50-60% dos casos. Pacientes considerados de alto risco (> 60 anos, trombose prévia e plaquetas > 1.500.000/mm³) devem ter o tratamento iniciado com terapia citorrredutora. A hidroxiureia (HU) é considerada de primeira escolha e o anagrelide geralmente é indicado para pacientes intolerantes ou resistentes à HU. **Objetivo:** Relatar caso de paciente com o diagnóstico de TE que após resistência à HU atingiu rapidamente normalização do número de plaquetas com a introdução do anagrelide. **Relato de caso:** Paciente masculino, iniciou o acompanhamento no ambulatório de hematologia do Conjunto Hospitalar de Sorocaba aos 76 anos, com queixa de turvação visual e os seguintes exames: Hb = 20,7 g/dL, Ht = 65%, leucócitos = 18.500/mm³, segmentados = 15.170/mm³ e plaquetas 757.000/mm³. A análise da medula óssea revelou hiperplasia megacariocítica e posteriormente o BCR-ABL foi negativo e a pesquisa da mutação V617F da JAK2 positiva. O paciente foi tratado com AAS e HU, alternou dose dessa para obter controle plaquetário. Por atingir mais de um milhão de plaquetas (03/12/14 Hb = 11,1g/dL, leucócitos = 4.600/mm³, plaquetas = 1.163.000/mm³), a dose de HU teve de ser aumentada, comprometeu as demais séries hematológicas (25/02/15 Hb = 5,8 g/dL, leucócitos = 1.120/mm³, plaquetas = 120.000/mm³). A introdução do anagrelide na dose de 1mg de 12/12 horas ocorreu em 27/03/15, quando após transfusões de hemácias o paciente apresentava Hb = 10,3 g/dL, leucócitos = 7.100/mm³ e plaquetas = 1.037.000/mm³. Em 06/04, após 10 dias de anagrelide, o paciente trouxe HMG que revelou Hb = 10,9g/dL, leucócitos = 8.500/mm³ e plaquetas = 330.000/mm³. Na última consulta em 24/06 mantinha-se assintomático e exibia 14,8 g/dL de Hb, 25.600 leucócitos/mm³, com 20.300 segmentados/mm³ e plaquetas de 220.000/mm³. **Conclusão:** Avaliar precocemente a troca do tratamento no paciente com TE que persiste com plaquetose, ou evolui com anemia e/ou leucopenia, considerado resistente ou intolerante à HU, pelo agente seletivo plaquetário, anagrelide.

431. HIPOEXPRESSÃO DO GENE SUPRESSOR TUMORAL PAR-4 NA LMC AO DIAGNÓSTICO E NA RESISTÊNCIA AO IMATINIBE E DASATINIBE

Ribeiro BF^a, Ferreira R^a, Carvalho FCF^a, Silveira RA^a, Fachel A^b, Verjovski-Almeida S^b, Albuquerque D^b, Souza CA^a, Pagnano KBB^a

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

^b Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O gene *PAWR* ou *PAR-4* (*prostate apoptosis response protein 4*) é um supressor tumoral capaz de induzir apoptose em células cancerígenas enquanto mantém as células normais intactas. Muitos estudos destacaram a importância do *PAR-4* não apenas em prevenir o desenvolvimento ou recaída do câncer, mas também como um promissor agente terapêutico. Recentemente *PAR-4* foi associado ao *THAP1* na indução de apoptose em células de leucemia linfoblástica aguda de células T. Um estudo prévio do nosso grupo, com o uso de uma plataforma de microarranjos, identificou o gene *PAR-4* como diferencialmente expresso em pacientes com LMC resistentes ao dasatinibe (após falha ao imatinibe) em comparação com amostras de pacientes responsivos coletadas antes do início do tratamento com dasatinibe. O papel do *PAR-4* na patogênese da LMC é desconhecido. **Objetivo:** Avaliar a expressão de *PAR-4* na linhagem celular K562, em pacientes com LMC e em doadores saudáveis (controles). **Material e métodos:** RNA foi extraído de leucócitos totais ou de células mononucleares de amostras de sangue periférico de doadores saudáveis (controles) e de pacientes ao diagnóstico e após o tratamento com TKI (imatinibe ou dasatinibe). Os critérios para resistência e resposta seguiram as recomendações da European LeukemiaNet 2013. Após a síntese de cDNA, a expressão de *PAR-4* foi avaliada por PCR quantitativo em tempo real (qRT-PCR). Os genes *ACTB* e *GAPDH* foram usados como controles endógenos. O programa *geNorm* foi usado para estimar a expressão do gene em unidades arbitrárias (UA). Os resultados foram expressos como mediana [mín-máx] e comparados com testes não paramétricos (Mann Whitney ou Kruskal-Wallis) com significância estabelecida de $p < 0,05$. **Resultados:** A expressão de *PAR-4* foi avaliada em células mononucleares de 13 indivíduos controle e 45 pacientes com LMC: nove ao diagnóstico e 36 tratados com dasatinibe após falha com imatinibe (22 responsivos e 14 resistentes ao tratamento com dasatinibe). A expressão de *PAR-4* estava diminuída em pacientes resistentes em comparação com os pacientes responsivos ao dasatinibe (0,30 [0,05-1,70] vs. 0,73 [0,15-2,56], respectivamente, $p < 0,001$). Não houve diferença de expressão entre os pacientes responsivos e o grupo controle. Pacientes com LMC ao diagnóstico e tratados com dasatinibe mostraram hipoxpressão de *PAR-4* em relação ao grupo controle (0,33 [0,14-1,51] vs. 0,53 [0,05-2,56] vs. 1,41 [0,43-4,28] respectivamente, $p < 0,05$). Em RNA extraído de leucócitos totais de 16 pacientes com LMC ao diagnóstico e de 28 pacientes responsivos ao imatinibe, *PAR-4* estava hipoxpresso em ao diagnóstico, porém houve aumento da expressão após o tratamento com imatinibe (0,38 [0,12-1,49] vs. 1 [0,23-4,26], respectivamente, $p < 0,001$). *PAR-4* também foi encontrado como hipoxpresso na linhagem celular K562. **Conclusão:** *PAR-4* está hipoxpresso ao diagnóstico, em pacientes resistentes ao dasatinibe e na linhagem celular K562. Houve aumento de expressão de *PAR-4* em pacientes responsivos ao imatinibe e ao dasatinibe. Os mecanismos pelo qual *PAR-4* atua na supressão tumoral e promove a indução da apoptose na LMC ainda não foram identificados e poderiam ser uma nova estratégia terapêutica a ser explorada.

432. AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA E SEGURANÇA DAS CÓPIAS GENÉRICAS DE MESILATO DE IMATINIBE NO TRATAMENTO DE PRIMEIRA LINHA DA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA EM FASE CRÔNICA – ESTUDO RETROSPECTIVO UNICÊNTRICO

Oliveira LC, Zulli R, Delamain MT, Oliveira-Duarte G, Souza HAS, Assunção PM, Fernandes EMSA, Paul P, Lorand-Metze I, Souza CA, Pagnano KBB

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

Introdução: A eficácia do mesilato de imatinibe (Glivec) como tratamento de primeira linha de leucemia mieloide crônica (LMC) foi demonstrada em inúmeros estudos clínicos. Contudo, há poucos dados consistentes na literatura sobre a eficácia e os efeitos adversos das apresentações genéricas de imatinibe. Em junho de 2013, cópias genéricas de imatinibe começaram a ser usadas no Brasil e distribuídas de forma centralizada aos pacientes tratados pelo Sistema Único de Saúde. **Objetivo:** Avaliar as taxas de resposta molecular e citogenética aos três e seis meses no grupo tratado com genéricos e compará-las com o controle histórico da instituição tratado com Glivec; avaliar os eventos adversos graus 3 e 4 nos dois grupos. Avaliar o desfecho dos pacientes tratados com Glivec que mudaram o tratamento para imatinibe genérico. **Material e métodos:** Foram analisados 79 pacientes com diagnóstico de LMC em fase crônica tratados com Glivec entre 2009 e 2012 e comparados com 15 pacientes tratados exclusivamente com cópias genéricas de imatinibe de junho de 2013 a julho de 2014, fabricadas pela EMS e

Cristália. A avaliação de resposta ao tratamento foi feita por meio da análise das taxas de resposta hematológica (RH), resposta citogenética completa (RCC) e resposta molecular nos dois grupos estudados aos três e seis meses de tratamento, segundo os critérios do European LeukemiaNet, 2013. Foi a ocorrência de toxicidade hematológica e não hematológica, graus 3 e 4 nos dois grupos. Análise estatística: foram usados o teste de Fisher e Wilcoxon *rank sum test*. Para as curvas de sobrevivência global foi usado o método de Kaplan Meier e a comparação entre as curvas foi feita por meio do *log rank test*. Análise adicional foi feita em um grupo de 91 pacientes que migraram do tratamento com Glivec para imatinibe genérico e avaliou-se se houve perda da melhor resposta ao tratamento antes da troca do medicamento. **Resultados e discussão:** Foram avaliados 79 pacientes tratados com Glivec de 2009 a 2012 e 15 pacientes tratados exclusivamente com imatinibe genérico. Não foram identificadas diferenças na obtenção de resposta hematológica, citogenética, molecular maior e sobrevivência global (97% Glivec vs. 100% genérico) entre os grupos estudados. No grupo tratado com Glivec houve dois óbitos, um por causas não relacionadas à LMC (hemorragia digestiva alta) e um por causa não definida. No grupo tratado com genérico não houve óbitos. Não houve diferença entre os grupos em relação a toxicidade grau 3 e 4. Quanto à perda de melhor resposta após a modificação para a medicação genérica, três dos 91 pacientes incluídos nesta análise perderam a resposta molecular maior. Dois desses últimos mantiveram resposta hematológica e um desses resposta citogenética completa. Um paciente apresentou progressão de doença para fase acelerada. **Conclusão:** Os dados preliminares deste estudo mostraram que não houve diferença na obtenção das respostas hematológicas, citogenéticas e moleculares aos três e seis meses em pacientes tratados com imatinibe genérico quando comparados com o controle histórico tratado com Glivec e nos eventos adversos grau 3 e 4. Um estudo brasileiro prospectivo multicêntrico está em andamento e permitirá essa avaliação em um número maior de casos.

433. AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DO GENE TARP EM PACIENTES COM LMC RESISTENTES AO DASATINIBE E EM DOADORES SAUDÁVEIS

Carvalho FCF, Ribeiro BF, Ferreira R, Martins D, Souza C, Fachel A, Silveira R, Verjovski S, Pagnano KBB

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

Introdução: Os mecanismos de resistência na leucemia mieloide crônica são multifatoriais. Um estudo prévio de nosso grupo identificou o gene *TARP* como diferencialmente expresso em pacientes com LMC pré e pós tratamento com dasatinibe por meio de análise de microarranjos. A proteína *TARP* (T-cell receptor γ alternate reading frame protein) foi previamente descrita como expressa pelas células epiteliais prostáticas normais e neoplásicas, além de algumas linhagens de câncer de mama. Foi observado um aumento na sua expressão na transformação oncogênica. O gene *TARP* foi hiperexpresso em câncer de próstata na perda de sua dependência a andrógenos e indica comportamento tumoral mais agressivo. **Objetivo:** Avaliar a expressão do gene *TARP* em pacientes com LMC e em doadores saudáveis. **Material e métodos:** Foi extraído RNA de células mononucleares de amostras de sangue periférico de 39 pacientes com LMC tratados com dasatinibe após falha ao imatinibe (26 pacientes responsivos e 13 não responsivos), de oito pacientes ao diagnóstico e de 13 doadores saudáveis (grupo controle). Os pacientes foram classificados como não responsivos se apresentassem qualquer critérios de falha de acordo com os critérios da European Leukemia Net 2013 e como responsivos se apresentassem resposta citogenética completa e resposta molecular maior. Após a transcrição do cDNA, a expressão de *TARP* foi avaliada por meio de PCR quantitativo em tempo real. Os genes *ACTB* e *GAPDH* foram usados como controles endógenos. Por meio do programa *GeNorm*, estimou-se a expressão em unidades arbitrárias (UA) e os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão e os dados dos grupos foram comparados com o teste não paramétrico de Mann-Whitney. O teste de Kruskal-Wallis foi usado na comparação entre os três grupos. As análises foram feitas com o *software* estatístico GraphPad Prism com significância de $p < 0,05$. **Resultados:** Dos 39 pacientes analisados, 33% eram do sexo feminino e 67% do masculino. Os pacientes responsivos estavam em fase crônica, mediana de 50 anos (27-75); Sokal: 21% baixo, 36% intermediário e 43% alto risco. Os pacientes não responsivos estavam em fase crônica (12) e um em fase acelerada; tinham mediana de 61 anos (23-79), Sokal: 25% baixo, 37,5% intermediário e 37,5% alto risco. Os pacientes analisa-

dos ao diagnóstico estavam em fase crônica (oito) e um em fase acelerada, mediana de 48 anos (28-71); Sokal: 60% baixo, 20% intermediário e 20% alto risco. Não houve diferença de expressão do gene TARP entre pacientes com LMC resistentes e responsivos ao dasatinibe ($p = 0,16$). No entanto, a expressão de TARP foi maior nos casos de LMC ao diagnóstico em comparação com os pacientes em tratamento com dasatinibe e também em relação ao grupo controle ($p = 0,01$ em ambos). Não houve diferença na expressão entre o grupo controle e pacientes com LMC tratados com dasatinibe. **Conclusão:** TARP foi encontrado hiperexpresso na LMC ao diagnóstico em relação aos controles e pacientes tratados com dasatinibe, mas não houve diferença na sua expressão em pacientes resistentes ou responsivos ao dasatinibe. Um dos pontos a ser esclarecido é se o tratamento com dasatinibe tem alguma participação na inibição da expressão do TARP na LMC, não relacionado à inibição do BCR-ABL. O papel do TARP na patogênese da LMC é desconhecido, são necessárias investigações adicionais.

434. LINFOMA LINFOBLÁSTICO T COMO CRISE BLÁSTICA EXTRAMEDULAR EM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA: RELATO DE CASO

Cruz LGAL, Rocha LKMS, Boechat TO, Boquimpani C, Wendling PA, Ambrósio MBP, Furukawa RO, Gerk EMCR

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

AF, sexo feminino, 35 anos, sem comorbidades prévias, encaminhada para avaliação no HEMORIO em agosto de 2014 devido a leucocitose e hepatoesplenomegalia progressivas. Associado ao quadro apresentava adenomegalia generalizada e sintomas B. A hematoscopia de sangue periférico apresentava série granulocítica com desvio escalonado, compatível com doença mieloproliferativa crônica. Feito aspirado e biópsia de medula óssea e enviado material para análise citogenética, biologia molecular, imunofenotipagem e histopatológica. Biópsia ganglionar foi feita em agosto de 2014. Em setembro de 2014 concluiu-se diagnóstico de leucemia mieloide crônica (LMC) devido a resultado positivo BCR-ABL para p210 e cariótipo com 100% de cromossoma Filadélfia. Foi iniciada terapêutica com imatinibe 400 mg/dia. Com o uso do inibidor de tirosina quinase (TKI), a paciente apresentou redução das adenomegalias e atingiu resposta hematológica com um mês de uso da medicação. Somente em novembro de 2014 foi obtido o resultado da biópsia ganglionar com laudo histopatológico/imuno-histoquímico de linfoma não Hodgkin linfoblástico T. Tal diagnóstico corroborava a presença de doença extramedular e possível crise blástica ao diagnóstico e, então, foi trocado o TKI para dasatinibe 140 mg/dia. A paciente coletou HLA e foi inscrita no Rereme. Em janeiro de 2015, observou-se retorno da adenomegalia generalizada e iniciou quadro de pancitopenia de forma abrupta e grave. O mielograma e a imunofenotipagem feitos foram compatíveis com leucemia mieloide aguda. A paciente foi internada e iniciou o protocolo quimioterápico HyperCVAD, manteve uso de dasatinibe 140 mg/dia. Essa conduta foi definida uma vez que há necessidade de tratar a crise blástica com quimioterapia associado ao TKI, na expectativa de remissão mais prolongada, enquanto é aguardado o transplante de medula óssea. Em fevereiro de 2015, a paciente apresentou neutropenia febril grave e evoluiu a óbito por choque séptico.

435. NEOPLASIA MIELOPROLIFERATIVA BCR-ABL NEGATIVA COM FUSÃO RARA DO TRANSCRITO BCR-JAK2 RESULTANTE DA TRANSLOCAÇÃO (9;22)(P24;Q11): RELATO DE CASO

Filho CAM, Campos PM, Zocca M, Ramos CF, Delamain MT, Duarte GO, Freitas LLL, Lorand-Metze I, Pagnano KBB

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

Introdução: O diagnóstico das neoplasias mieloproliferativas (NMP) é feito de acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS) 2008. Dele fazem parte características clínicas, hemograma, cariótipo e análises moleculares para determinação do rearranjo BCR-ABL, mutações do JAK2 (V617F) entre outros. Alterações mais raras, como fusões do JAK2 com outros genes são relatadas em leucemias agudas e crônicas com fenótipo mieloide e linfóide. Alterações da JAK2 resultam na ativação constitutiva da proteína codificada que leva à proliferação celular e perde seu mecanismo de autorregulação. **Objetivo:** Relatar um caso de NMP Ph negativo, com a translocação t(9;22)(p24;q11.2). **Relato de caso:**

Paciente de 49 anos, sexo masculino, pintor, sem comorbidades prévias. O paciente foi encaminhado ao nosso centro em março de 2015, com história de mialgia e precordialgia com evolução de 15 dias associado a febre não aferida, sem perda ponderal e sudorese noturna. O hemograma da admissão evidenciou (Hb: 14,1 g/dL; Ht: 41%; leucócitos: 71.980 x 10³/uL; promielócitos: 5,5%, mielócitos: 5%; metamielócitos: 6,5%; bastonetes: 37%; segmentados: 36,5%; eosinófilos: 2%; basófilos: 1%; monócitos: 2,24%; plaquetas: 161.000 x 10³/uL). O exame clínico foi normal, com ausência de esplenomegalia. A biópsia de medula óssea foi hiperplásica, com aumento da série megacariocítica, com megacariócitos pleomórficos e presença de micromegacariócitos, além de eosinofilia, reticulogênese grau 3. A análise citogenética mostrou a translocação t(9;22)(p24;q11.2) em 100% das 20 metafases analisadas, que resulta no rearranjo BCR-JAK2, que gera um gene de fusão BCR-JAK2 por fusão do BCR no intron 13 e JAK2 no intron 17 do cromossomo 22. Não foram detectados os rearranjos BCR/ABL, mutação V617F do JAK2 e FIP1. Foi introduzido imatinibe 400 mg/dia e após três semanas de tratamento houve piora da leucocitose e a medicação foi suspensa, foi introduzida hidroxiureia 1 g/dia com controle da leucocitose. Foram identificados dois HLA compatíveis em doadores aparentados (irmãos) e o paciente encontra-se em programação de transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH). **Discussão:** As translocações cromossômicas que envolvem o JAK2 descritas em neoplasias hematológicas compreendem a TEL-JAK2 descrita na leucemia linfóide aguda T, leucemia mieloide crônica atípica (LMCa) e LLA-B precursora, a PCM1-JAK2 descrita na leucemia eosinofílica crônica (LEC), mielofibrose primária (MFP) e síndrome mielodisplásica (SMD) e translocação BCR-JAK2, que pode estar presente na leucemia mieloide aguda (LMA), LMCa e LLA-B. Nesses casos, está relacionada a uma ativação da JAK2 na ausência de sinalização das citocinas, gera proliferação celular descontrolada. Em geral os pacientes apresentam um quadro clínico inicial semelhante à LMC, mas com um comportamento clínico mais agressivo, sem resposta ao tratamento com inibidores de tirosinquinase. A remissão prolongada é relatada somente com o TCTH. Há dois relatos na literatura de remissão citogenética com ruxolitinibe, porém de curta duração. O relato deste caso visa a aumentar o conhecimento clínico da evolução dessa NMP.

436. SEQUENCIAMENTO TOTAL DE EXOMA REVELA AS PRINCIPAIS MUTAÇÕES E VIAS BIOLÓGICAS ALTERADAS EM PACIENTES COM NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS PH-NEGATIVO E NEOPLASIAS MIELODISPLÁSICAS/ MIELOPROLIFERATIVAS

Santos FPS^a, Puga RD^a, Lisboa B^a, Pereira WO^a, Helman R^a, Datoguiu T^a, Souto EX^b, Santucci R^c, Hamerschlag N^a, Campregher PV^a

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

^b Hospital Brigadeiro, São Paulo, SP, Brasil

^c IEP São Lucas, Instituto de Oncologia e Hematologia (HEMOMED), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: As neoplasias mieloproliferativas (NMP) Philadelphia-negativo (Ph-negativo) e as neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas (NMD/MP) são doenças caracterizadas pela proliferação de uma ou mais células da linhagem mieloide. Mutações somáticas que levam à ativação da via JAK-STAT estão entre as principais alterações genéticas encontradas, porém recentemente mutações em diversos genes, relacionados a outros processos biológicos, foram relatados. O uso do sequenciamento total de exoma (WES; *whole exome sequencing*) nos permite interrogar quais os principais genes e vias biológicas que estão alterados nessas doenças. **Material e métodos:** Foi feito WES de DNA pareado (granulócitos CD66b-positivo ou blastos e biópsia de pele normal) de 113 pacientes com NMP e NMD/MP (polícitemia vera [PV] = 11, trombocitemia essencial [TE] = 36, mielofibrose [MF] = 47, mastocitose sistêmica [MS] = 5, leucemia mielomonocítica crônica [LMMC] = 9, NMP/MD-inclassificável = 3, leucemia mieloide aguda pós-NMP = 2) na plataforma Illumina HiSeq 2000 com kits de enriquecimento para exoma da Agilent (SureSelect). A partir das mutações encontradas, os principais genes oncogênicos foram determinados por meio dos algoritmos Intogen e MutSigCV e se consideraram genes com um q -valor < 0,10. **Resultados:** Foram encontradas 3.384 mutações em toda a coorte, com uma média de 0,59 mutações/Megabase por paciente. Dessas mutações, 3.190 (94,2%) eram variações de um único nucleotídeo, 118 (3,4%) eram deleções e 75 (2,4%) eram inserções. O resultado da análise para identi-

ficação de genes oncogênicos identificou os seguintes genes (em ordem de significância estatística): ASXL1, CALR, JAK2, TET2 (esses quatro primeiros genes com igual q-valor), SRSF2, DNMT3A, SH2B3, CBL, NRAS, U2AF1, ZRSR2, EZH2, RUNX1, STAG2, GNAS, IDH2, TP53, SF3B1, CUX1, KIT, ERN1, ZBTB33, PTPN11. Os principais genes oncogênicos encontrados podem ser divididos por via ou função biológica em oito grupos: genes da via JAK-STAT (um ou mais genes alterado em 75% dos casos), metilação do DNA (36%), metilação das histonas (26%), splicing de mRNA (25%), via do Ras e MAP quinases (23%), fatores de transcrição mieloide (13%), genes supressores tumorais (13%) e complexo da coesina (9%). As diversas doenças estudadas apresentam padrões distintos de ocorrência de genes oncogênicos. Por exemplo, pacientes com MF e LMMC, quando comparados com pacientes com PV e TE, apresentam mais frequentemente alterações em genes da metilação do DNA (50% vs. 21%), da metilação das histonas (43% vs. 4%) e do splicing de mRNA (41% vs. 0%) ($p < 0,0001$ para as três comparações). Isso sugere que, do ponto de vista molecular, MF apresenta mais semelhanças com LMMC do que com PV e TE. **Conclusão:** Nosso estudo apresenta uma das maiores coortes de pacientes com essas neoplasias que foram estudados por WES e é pioneiro nessa área no Brasil. A ativação da via JAK-STAT por mutações somáticas é a principal via biológica alterada nessas doenças, porém inúmeras outras vias biológicas estão frequentemente alteradas e podem ter importância prognóstica e terapêutica. O estudo de um número maior de casos irá permitir um melhor delineamento do perfil de mutações genéticas e irá servir de base para uma futura classificação molecular dessas neoplasias.

437. TERAPIA DE VENESSECÇÃO PARA POLIGLOBULIA EM PACIENTE PORTADOR DE CORAÇÃO UNIVENTRICULAR

Costa LMC, Carvalho FLN

Universidade Federal de Roraima (UFRR), Boa Vista, RR, Brasil

A poliglobulia é o aumento da concentração de hemoglobina no sangue. Pode ser absoluta, na qual há aumento da massa eritroide total, e relativa, na qual a massa eritroide é normal e o volume plasmático está diminuído. Se o hematócrito (Ht) for $> 60\%$, sempre haverá um aumento da massa eritroide. A poliglobulia absoluta primária adquirida (policitemia vera - PV), surge após transformação maligna de uma célula-tronco da medula. É mais comum em idosos e atinge ambos os sexos. A clínica resulta da hiperviscosidade, hipervolemia e hipermetabolismo, como cefaleia, dispneia, sudorese noturna, aparência pletórica, trombose, HAS. O prognóstico em geral é bom. A trombose e a hemorragia são as principais complicações. A transição para mielofibrose ocorre em cerca de 30% dos pacientes e 5% progredem para leucemia aguda. A poliglobulia relativa é mais comum, atinge homens jovens ou de meia-idade em geral com problemas cardiovasculares. A venessecção é recomendada para manter um Ht entre 45-47%. Paciente de 54 anos, masculino, portador de coração univentricular, hipertensão, buscou serviço de saúde em abril/2012 por evoluir havia dois meses com mal-estar, tontura e lipotímia. Foi acompanhado a partir de então pelo serviço de hematologia do Hemocentro de Roraima. Ao exame, paciente em BEG, A.A.A., hidratado, eupneico, normocorado, com coloração rubínica em face, tronco e membros, SatO_2 90%, ausculta cardíaca com ritmo regular em 2T, bulhas hiperfonéticas, com sopro sistólico. Hemogramas prévios demonstraram leucograma e plaquetas dentro dos limites da normalidade e Hb média de 21,2 g/dL e Ht médio de 62,6%. Constatada a poliglobulia, foi feita sangria a cada 30 dias e dosagem de eritropoietina e ferritina. No retorno, paciente trouxe exames, eritropoietina de 32,5 mUI/mL e ferritina de 480,7 mg/mL. Ajustada a sangria para cada 20 dias e acrescentado AAS. Em março/2013, apresentou hipotensão após a sangria, sem manifestações clínicas, com exames de Hb de 16,7 g/dL e Ht de 52,5%. Em abril/2013 retorna com queixas de cefaleia leve, visão turva e sudorese e exames Hb de 16,1 g/dL e Ht de 50%. Em maio/2013, Hb de 15,6 g/dL e Ht de 49,7%, aumentou-se o intervalo entre as sangrias para 45 dias se Ht permanesse $< 50\%$. Nas seis consultas subsequentes, o Ht manteve-se abaixo de 50%. Novos exames laboratoriais demonstraram ferro de 15,6 (VR: > 35) e ferritina de 16 (VR: 22). Iniciado sulfato ferroso, porém persistia com fraqueza e "cansaço" em MMII, palpitação e dispneia aos esforços, com SatO_2 86%. Em dezembro/2013, Ht voltou a elevar-se (55%). Fez espirometria com distúrbio restritivo moderado e prova broncodilatadora negativa, iniciou O_2 suplementar. Em fevereiro/2014 retorna com tontura e sonolência, Ht de 68%, fez sangria de imediato. Em maio/2014, retorna com queixa de

síncope e dispneia aos pequenos esforços, com SatO_2 82%. Em outubro/2014, esteve cianótico em extremidades e lóbulos das orelhas, com insônia, tremores e dores em MMII (panturrilhas). Foram prescritos ácido fólico e xarope de KCl 6%. Retorna em dezembro/2014 com Ht de 58%, com melhoria do cansaço e da dispneia, mas persistiram as dores musculares. Em março/2015 refere mal-estar e fraqueza, SatO_2 73%, com Ht de 62%. Na última consulta, em julho/2015, relatou perda de 2 kg em dois meses, apesar de alimentar-se bem, sem outras queixas, permaneceu o Ht elevado (61%).

438. OCORRÊNCIA DE SEGUNDA NEOPLASIA EM PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA TRATADOS COM INIBIDORES DE TIROSINA QUINASE – PERFIL DE UM CENTRO NOS ÚLTIMOS 12 ANOS

Quixadá ATS, Souza JH, Costa CBE, Pitombeira MH, Duarte FB, Gonçalves RP, Barbosa MC, Filho TPA, Filho PAM, Santos TEJD

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

Introdução: A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa clonal que resulta da transformação neoplásica de células-tronco hematopoéticas e corresponde a 15% das leucemias. Apresenta uma anormalidade citogenética específica, o cromossomo Philadelphia (Ph), derivado da translocação recíproca entre os cromossomos 9 e 22. A consequência molecular dessa alteração é a codificação de uma proteína híbrida BCRABL1 com atividade de tirosina quinase e capacidade autônoma de ativação, responsável tanto pela patogênese da leucemia como pela instabilidade genética associada à sua progressão. **Objetivo:** Analisar o perfil de ocorrência de segunda neoplasia em portadores de LMC atendidos em um centro de referência. **Material e métodos:** Avaliação retrospectiva de prontuários de pacientes portadores de LMC, do Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC), tratados com inibidores de tirosina quinase (ITK) que desenvolveram segunda neoplasia nos últimos 12 anos. Foram analisados dados de prontuários de 300 pacientes com LMC, em acompanhamento no HUWC entre abril de 2002 e dezembro de 2014. **Resultados:** Quanto ao gênero, 162 (54%) eram homens. A faixa etária média foi de 47,3 anos (6-92). Ao diagnóstico, 97% estavam na fase crônica da LMC, 2% em fase acelerada e 1% em crise blástica. Desses pacientes, 76,6% fizeram uso apenas do imatinibe, 17,3% do imatinibe seguido do nilotinibe ou dasatinibe e 6% chegaram a fazer uso dos três ITK. Foram verificados quatro casos (1,3%) de segunda neoplasia, todas não hematológicas: dois adenocarcinomas de estômago, um tumor neuroendócrino e um caso de carcinomatose peritoneal. **Discussão:** A terapia da LMC com os ITK mudou a história natural da doença e adicionou significativa melhoria na sobrevivência. Dessa forma, a diminuição da mortalidade causada pela própria leucemia tem proporcionado tempo suficiente para desenvolver e vir a falecer de outras doenças. Merecem destaque os eventos vasculares e as malignidades secundárias. A estimativa de novos casos de câncer no Ceará, de acordo com os registros do Instituto Nacional do Câncer (Inca) é de 0,23% em sua totalidade, já corrigida para a população do estado. **Conclusão:** Nota-se, na amostra, uma proporção aumentada de segunda neoplasia quando comparada com a população do estado em geral. A incidência encontrada em nossa amostra é semelhante à descrita na literatura. Acreditamos que a instabilidade genética decorrente da presença do cromossomo Philadelphia, bem como dos danos subsequentes ao DNA, seja a principal responsável pelo aumento dos casos de segunda neoplasia.

439. VALIDAÇÃO DE UM TESTE RÁPIDO REMOTO PARA MONITORAMENTO DE DOENÇA RESIDUAL MÍNIMA EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA

Carvalho F^a, Paris F^b, Alegretti AP^b, Paiva RM^b, Costabeber E^b, Machado ABMP^b, Buffon A^a, Pilger DA^a

^a Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^b Unidade de Diagnóstico Personalizado, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

O ensaio GeneXpert é uma técnica qRT-PCR que auxilia no monitoramento da Doença residual mínima (DRM) em pacientes com leucemia

mieloide crônica (LMC). O teste detecta os genes de fusão BCR-ABL (translocações e13a2 [b2a2] e e14a2 [b3a2]) e o transcrito ABL como controle endógeno e apresenta como grande vantagem a integração das etapas de purificação, amplificação de ácidos nucleicos e detecção de seqüências-alvo em, no máximo, 3 horas a partir de um volume baixo (200 uL) diretamente do material clínico (EDTA). Com o objetivo de validar a técnica e aplicá-la à rotina laboratorial, fizemos um ensaio com 50 amostras de sangue periférico de pacientes com LMC em tratamento em diferentes fases da doença e as comparamos com o método *in house* de Susan Branford da Universidade de Adelaide na Austrália. Os resultados obtidos em porcentagem foram comparados e divididos em faixas logarítmicas de acordo com a Escala Internacional (EI). Na análise global dos resultados foi observado um coeficiente de correlação amostral de 0.94. De acordo com a Escala Internacional, 42% das amostras encontravam-se na mesma escala logarítmica. Das amostras que não se encontravam na mesma escala (58%), 69% são referentes a valores $\leq 0,1\%$ (queda de 3 log) correspondentes a uma resposta molecular maior (RMM). A continuidade do estudo se faz necessário. Contudo, preliminarmente podemos sugerir o uso do teste como metodologia de triagem e monitoramento inicial do tratamento, no qual o teste demonstrou melhor correlação com a metodologia de referência. Em pacientes que atingem a RMM o teste demonstra perda de sensibilidade e linearidade.

440. LEVANTAMENTO DO NÚMERO DE PACIENTES COM PRESENÇA DOS TRANSCRITOS E1A2/P190 E E13-E14A2/P210 BCR-ABL1 EM UM UNIVERSO DE 636 AMOSTRAS

Daniel DC, Pereira DCS, Lopes LJS, Valim GR, Oliveira ER, Laurindo MFL, Pereira RDS, Santos TCCD, Chauffaille ML

Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Aproximadamente 10-15% dos pacientes que expressam o transcrito BCR/ABL1 dos tipos e13a2 e e14a2 (p210) também expressam, em menores níveis, o transcrito e1a2 (p190) (Jones et al., 2008). Essa coexpressão é normalmente detectada em pacientes em fase diagnóstica de leucemia mieloide crônica (LMC), em crise blástica e com leucemia linfoblástica aguda (LLA) com p210 positivo (Rhee et al., 1996). A presença de p190 concomitantemente com a p210 pode estar relacionada com a progressão da doença (Junmei et al., 2015). Assim, é importante monitorar o tratamento desses pacientes com cautela. **Objetivo:** Avaliar o número de pacientes com p190 e p210 positivos no Grupo Fleury. **Material e métodos:** Foi feito um levantamento dos resultados de BCR/ABL1 dos tipos p190 e p210, de janeiro a julho de 2015. **Resultados:** Foram analisadas 636 amostras, dessas apenas 15 (2,36% dos casos) tinham positividade para p190 e p210, concomitantemente. Dos 15 pacientes analisados, seis estavam em fase diagnóstica de LMC, um foi diagnosticado com LLA e oito já haviam sido diagnosticados com LMC e estavam com o tratamento monitorado. **Discussão:** Todos os pacientes em fase de acompanhamento não mostraram remissão molecular completa. Portanto, conforme descrito na literatura, a coexpressão de p190 e p210 pode estar relacionada com a progressão da doença (Junmei et al., 2015). Assim, a presença de p190 e p210 concomitantemente é um dado clínico bastante importante para o monitoramento da doença. **Conclusão:** Com os resultados obtidos podemos concluir que todos os pacientes que apresentam a expressão concomitante de p190 e p210 podem não alcançar remissão molecular completa, o que está de acordo com dados publicados na literatura (Junmei et al., 2015). No entanto, mais estudos serão necessários para verificar a eficácia na resposta ao tratamento de pacientes com LMC com BCR/ABL1 dos tipos p190 e p210 positivos.

441. GENERATION OF INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS (IPSCS) DERIVED FROM PRIMARY MYELOFIBROSIS PATIENT SAMPLES POSITIVE JAK2 V617F AND CALR MUTATION

Limia CEG^a, Monte-Mór B^b, Bonamino MH^a

^a Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^b Laboratório de Biologia Molecular, Centro de Transplante de Medula Óssea (CEMO), Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Myeloproliferative neoplasms (MPNs) are a heterogeneous group of diseases including essential thrombocythemia (ET), polycythemia vera

(PV), and primary myelofibrosis (PMF), characterized by increased myeloid proliferation. Approximately 15% of patients develop secondary myelofibrosis (SMF) from PV/ET, and 12% of cases with PMF rapidly progress to acute myeloid leukemia (AML), with survival estimated from 3.5 to 5 years. Bone marrow transplantation (BMT) is the only curative option for PMF. In 2005, several groups identified a single gain-of-function point mutation induced by Janus kinase 2 (JAK2V617F) in MPNs (JAK2V617 mutation detected in 95% of PVs and approximately 50% of ET and PMF patients). Somatic mutations in the calcium-binding endoplasmic reticulum chaperone protein Calreticulin (CALR) have been recently described in 50% of ET and PMF patients, showing mutually exclusive with JAK2 and MPL mutations. The most frequent mutations (about 80% cases) are classified as type 1 (deletion of 52 pb, 53%) and type 2 mutations (insertion of 5 pb, 32%). Abnormal proliferation is associated with hypersensitivity or independence of cytokines and constitutive activation of STAT5 in JAK2V617F and CALR mutations. It is not clear yet if different types of mutations (deletions, insertion) impact the biological behavior of MPN cells and how these changes are associated with the pathogenesis of diseases. In this context, induced pluripotent stem cells (iPSCs) derived from PMF patients could be used as efficient models for studying molecular mechanisms of malignant transformation, testing different pharmacological inhibitors and approaching clonal cell heterogeneity in the disease. The present study generated iPSCs from CD34+ expanded erythroblasts from PMF patients and a healthy control. Two of these patients present JAK2V617F mutations, and one, a type 2 CALR mutation. A next-generation sequencing (NSG) panel for 36 genes was applied to the samples. Erythroblast expansion and differentiation from CD34+ cells was monitored using antibodies to erythroblast cell surface markers (CD235a vs. CD71), and surface marker (CD34) by FACS analysis. From days nine to 11, 60% of the cells expressed CD235a and CD71 and 5 x 10⁴ erythroblasts were thus reprogrammed to iPSCs using the Sendai virus (SV) based system. iPSCs cell lines were derived from the healthy donor, JAK2V617F, and CALR positive patients. Pluripotency was confirmed by the expression embryonic stem cells markers (Oct-3/4, Nanog, Sox-2, SSEA-4, TRA-1-60, and TRA-1-81), and the capacity to form germ layers was confirmed by embryonic body formation and layer specific markers detection, assuring that the cell lines established for the control donor and the three patients were *bona fide* iPSCs. The iPSCs from patients retained the mutations found in the original patient samples, and thus have potential as *in vitro* cell differentiation models, helping to understand the role of the described mutations in the pathophysiology of PMF. **Keywords:** Primary myelofibrosis; JAK2V617 mutation; CALR mutation; Proliferation pathway signaling; iPSC.

LEUCEMIA LINFÓIDE CRÔNICA E OUTRAS DOENÇAS LINFOPROLIFERATIVAS CRÔNICAS

442. LEUCEMIA PROLINFOCÍTICA T: RELATO DE CASO

Antunes R, Amaral PSD, Utsunomiya B

Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA), Marília, SP, Brasil

Leucemia pró-linfocítica T (LPL-T) é uma neoplasia rara e agressiva que acomete indivíduos em torno dos 63 anos, tem uma leve predileção para o sexo masculino. A doença é marcada por uma evolução rápida e uma baixa resposta aos tratamentos convencionais com uma expectativa média de vida de 7,5 meses. Na LPL-T as células são de origem pós-tímicas e podem ser distinguidas de outras leucemias de células T a partir de características clínicas, morfológicas, imunofenotípicas e citogenéticas. A apresentação clínica da doença revela um envolvimento do sangue, medula óssea, linfonodos, fígado, baço e pele. O presente relato de caso tem como objetivo descrever o curso clínico e diagnóstico dessa doença e, a partir de uma extensa revisão da literatura nas principais bases de dados e revistas, discutir os principais aspectos dessa enfermidade. **Palavras-chave:** Leucemia prolinfocítica tipo células B; Imunofenotipagem; Células precursoras de linfócitos T; Citogenética.

443. PANORAMA DA DISTRIBUIÇÃO DA FUNÇÃO RENAL E DE SEU IMPACTO NA SOBREVIVÊNCIA NOS PACIENTES COM LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA TRATADOS NO SERVIÇO DE HEMATOLOGIA DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE (HCPA)

Soares TB, Fogliatto LM, Silla LMR, Daudt LE, Costa TEV, Becker C, Burin MM, Paiva MF, Zaltron RF, Bosi GR, Teixeira BB, Pereira MP

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: A leucemia linfocítica crônica (LLC) é a forma mais comum de leucemia encontrada em adultos e mais prevalente na população acima de 60 anos. Atualmente a escolha do tratamento se baseia principalmente no perfil do paciente como *fit*, *unfit* ou *frail*, classificação que considera idade, comorbidades e função renal. **Objetivo:** Conhecer a distribuição da função renal e estabelecer seu impacto na sobrevida nessa população. **Material e métodos:** Estudo observacional retrospectivo com revisão dos prontuários dos pacientes atendidos no ambulatório do HCPA de 2006 a 2015. Todos os pacientes incluídos na análise eram portadores de LLC comprovada por imunofenotipagem de sangue periférico. As curvas de sobrevida foram estimadas pelo método de Kaplan-Meier e os grupos comparados pelo teste de *log-rank*. **Resultados:** Foram obtidos dados de 185 pacientes, 104 homens (56,2%) e 81 mulheres (43,8%). A mediana dos pacientes ao diagnóstico foi de 68 anos (36-97). Quanto ao estadiamento, 35% eram classificados como baixo risco (Rai zero e/ou Binet A), 35,7% como risco intermediário (Rai 1 ou 2 e/ou Binet B) e 28,6% como alto risco (Rai 3 ou 4 e/ou Binet C). Quanto a avaliação funcional, 13,6% apresentavam ECOG zero, 25,9% ECOG 1, 12,4% ECOG 2. A creatinina mediana foi de 1,25 mg/dL (0,37-6,11). A taxa de filtração glomerular estimada (eTFG) foi calculada pelo método Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI), que apresentou mediana de 43 mL/min, 48,7% com eTFG < 70 mL/min e 51,3% com eTFG > 70 mL/min. Na análise da distribuição da eTFG por grupo etário, observamos que 39,6% dos pacientes com < 65 anos apresentavam eTFG < 70 mL/min, bem como 44% dos pacientes entre 65 e 70 anos e 61% para aqueles com > 75 anos. A sobrevida global estimada em quatro anos foi de 85%, 98% para pacientes com eTFG > 70 mL/min e 83% para aqueles com eTFG < 70 mL/min. Houve diferença significativa ($p < 0,01$) entre os grupos. **Conclusão:** Na população de pacientes com LLC é de grande importância a avaliação funcional individual para adequação terapêutica. Em nosso estudo, percebemos que parcela significativa de pacientes, mesmo no subgrupo mais jovem, apresenta eTFG abaixo de 70 mL/min, o que os torna *unfit* para esquemas terapêuticos de primeira linha com fludarabina. Além do possível impacto na escolha terapêutica, observamos que a disfunção renal tem impacto negativo na sobrevida desses pacientes. Os pacientes com LLC formam um grupo heterogêneo e cabe ao hematologista assistente atentar para suas comorbidades e performance do status para decidir o melhor tratamento.

444. RELATO DE CASO DE TRICOLEUCEMIA EM PACIENTE PORTADOR DE NEUROFIBROMATOSE

Junior CRRL^a, Lomonaco LA^b, Melo ACV^b, Pinheiro TCP^c

^a Universidade Federal do Acre (UFAC), Rio Branco, AC, Brasil

^b Hospital do Câncer do Acre, Rio Branco, AC, Brasil

^c Centro de Hematologia e Hemoterapia do Acre (HEMOACRE), Rio Branco, AC, Brasil

Introdução: Tricoleucemia ou leucemia de células pilosas é uma doença linfoproliferativa rara, caracterizada por ter células com projeções citoplasmáticas em “fios de cabelo”, o que justifica sua denominação. Tipicamente, essa doença apresenta-se com esplenomegalia e pancitopenia. A neurofibromatose é uma desordem genética comum, de transmissão com padrão autossômico dominante. Há dois subtipos bem definidos, caracterizados por lesões cutâneas e tumores do sistema nervoso central e periférico. A neurofibromatose do tipo 1 é uma condição clínica relacionada a desenvolver não só tumores do sistema nervoso, mas de outros tecidos. Tumores comumente associados incluem gliomas da via óptica, glioblastomas, tumores da bainha neural, tumores estromais do trato gastrointestinal, câncer de mama, leucemia, feo-

cromocitoma e rabdomyosarcoma. **Relato de caso:** Paciente feminino, 51 anos, parda, natural e procedente de Rio Branco (AC), portadora de neurofibromatose, deu entrada no serviço do Hospital do Câncer do Acre com quadro de linfocitose e esplenomegalia, sem linfadenopatia associada ao quadro. A hematoscopia de sangue periférica mostrava linfocitose e células que apresentavam prolongamento citoplasmático. Feito mielograma, que mostrou medula hiperclular para a idade à custa de hiperclularidade do setor linfomononuclear com células pequenas, linfócitos com citoplasma basofílico, núcleo grande e alguns linfoblastos. Havia hiperclularidade nos setores eritroide, granulocítico e megacariocítico. Solicitada imunofenotipagem, que sugeriu linfoma de zona marginal, (positividade para CD11c, CD19, CD20 e CD22). Assim, paciente iniciou quimioterapia com vincristina, rituximabe, ciclofosfamida e prednisona (R-COP). Contudo, não apresentou remissão com terapêutica instituída. Com a revisão da lâmina, observou-se infiltração linfomatosa de medula óssea, que ocupava 70% da clularidade global. A neoplasia é representada por pequenos linfócitos marcados com CD20 e DBA-44, consistente com o diagnóstico de tricoleucemia. Paciente foi submetida a tratamento com cladribina e apresentou remissão doença. **Discussão:** Apesar do avanço do diagnóstico e tratamento da leucemia de células pilosas nas últimas décadas, as alterações genéticas que causam a doença permanecem desconhecidas. Porém, fatores ocupacionais, como a exposição a herbicidas e solventes usados na agricultura, podem estar envolvidos. A leucemia de células pilosas (LCP) é uma entidade caracterizada por curso indolente, esplenomegalia e progressiva pancitopenia em vários casos, geralmente não acompanhada de linfadenopatia. A medula óssea, o baço e o fígado são infiltrados por células B leucêmicas com citoplasma abundante e projeções em forma de fios de cabelo. O diagnóstico definitivo é feito pela imunofenotipagem por citometria de fluxo. Há inúmeros casos de manifestações atípicas da tricoleucemia e outras malignidades de linfócitos B. Por razões não elucidadas, LCP pode estar associada a desordens autoimunes, principalmente vasculites. Outras raras complicações incluem envolvimento ósseo e meningite e não estão relacionadas à gravidade da doença. As infecções constituem grande causa de morbidade e mortalidade em pacientes com LCP. Este relato mostra um caso de leucemia de células pilosas em uma paciente portadora de neurofibromatose, uma associação incomum e não encontrada na revisão de literatura.

445. GENE EXPRESSION OF THE METHYLTRANSFERASES SMYD2 AND SMYD3 IS ASSOCIATED WITH THE ACQUISITION OF COMPLEX KARYOTYPE IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

Santos WO^a, Rabello DA^a, Lucena-Araujo AR^b, Oliveira FM^c, Rego EM^d, Silva FP^a, Saldanha-Araujo F^a

^a Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brazil

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

^c Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO, Brazil

^d Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

Altered expression of SMYD2 and SMYD3, the most studied and well-characterized members of the family of methyltransferase SMYD, is associated with several solid tumors. Nevertheless, whether these methyltransferases exert any impact in chronic lymphocytic leukemia (CLL) remains unknown. This study investigated the gene expression profile of SMYD2 and SMYD3 in 59 samples of CLL and ten normal B-cells. The obtained results were associated with WBC and platelet counts, ZAP-70 protein expression, and cytogenetic analysis. Interestingly, SMYD2 and SMYD3 were overexpressed in CLL patients ($p < 0.0001$ and $p = 0.001$, respectively), and it was found that patients with residual expression of these genes possessed high WBC count ($p = 0.009$ and $p = 0.008$). More importantly, the residual expression of SMYD2 and SMYD3 was associated with the acquisition of complex karyotype in CLL ($p = 0.001$ and $p = 0.007$). Furthermore, a strong correlation between SMYD2 and SMYD3 gene expression was revealed ($r = 0.8331$; $p < 0.0001$). Therefore, these data clearly demonstrate the association of the residual expression of SMYD2 and SMYD3 with CLL progression indicators, and point to the possibility of SMYD2 and SMYD3 being regulated by a common transcriptional control system in this type of cancer. These results may provide the basis for the development of new therapeutic strategies to prevent CLL progression. **Funding:** CNPQ, FAPDF and FAPESP.

446. DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA DE CÉLULAS PILOSAS: RELATO DE CASO

Teixeira DFS, Bottura BF, Silva JBCB

Liga Acadêmica de Hematologia e Hemoterapia, Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A leucemia de células pilosas é uma neoplasia de células B que constitui cerca de 2% de todas as leucemias. É prevalente em indivíduos brancos do sexo masculino e de meia-idade. Pode mimetizar ou coexistir com outras doenças hematológicas clonais e tem sido associado a desordens autoimunes. Por isso, deve ser considerada como opção no diagnóstico diferencial de alguns processos patológicos. Clinicamente, os pacientes apresentam perda de peso, esplenomegalia e sintomas de pancitopenia. O diagnóstico é feito com análise da medula óssea. A confirmação diagnóstica é obtida por imuno-histoquímica com CD22 e/ou DBA 44. As células pilosas tipicamente expressam os marcadores celulares pan-B CD19, CD20, Ig de superfície (geralmente IgG) e certos marcadores relativamente característicos, tais como CD11, CD25 e CD103. **Objetivo:** Descrever o diagnóstico de leucemia de células pilosas em paciente com bicitopenia.

Relato de caso: FLM, 58 anos, masculino, pardo, natural de Sobral (CE) e morador de Campinas havia 20 anos. Paciente veio ao ambulatório de hematologia devido a plaquetopenia. Apresentava também queixa de artralgia havia um ano. Relatou que havia 40 dias apresentava episódios de febre não aferida acompanhada de sudorese e calafrios. Negou perda de peso. Associado ao quadro, referiu prurido plantar diário e constante, dor lombar e cervical e dor em hipocôndrio esquerdo. Exame físico: fígado palpável a 2 cm da borda costal direita, doloroso à palpação. Baço palpável a 6 cm da borda costal esquerda. Os exames laboratoriais mostraram neutropenia (de 600 a 1.300/mm³), plaquetopenia persistente (de 57.000/mm³ a 71.000/mm³). Foi encaminhado à biópsia de medula óssea, que revelou celularidade aumentada com cerca de 30% de tecido adiposo. Infiltrado linfoplasmocitário leve, em áreas focais. A imunofenotipagem mostrou CD20 e CD103 positivos. **Discussão e conclusão:** Os achados de pancitopenia são algumas complicações hematológicas bastante comuns na leucemia de células pilosas, assim como os sinais morfológicos e de celularidade da medula óssea. A esplenomegalia maciça é um achado comum, assim como hiperesplenismo. A ocorrência de adenomegalias periféricas é rara, o que difere de outras leucemias de origem linfóide. A reticulina está, via de regra, aumentada e isso explica a dificuldade de obter amostra de aspirado de medula óssea, que frequentemente é seco (*dry tap*). Quando comparado o caso elucidado com a literatura, observou-se uma compatibilidade entre o que se esperava de quadro clínico para a doença em questão, porém no exame histológico não foi identificada fibrose medular. Após descartadas outras possíveis causas, como doenças reumatológicas e neoplasias, por meio de exames complementares, o paciente recebeu o diagnóstico de leucemia de células pilosas, visto que os resultados da imunofenotipagem fecharam o diagnóstico. Embora tivéssemos uma clínica compatível com a literatura, o exame de marcadores celulares foi fundamental para confirmar o diagnóstico e assim iniciar o tratamento específico.

447. DE LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA A LINFOMA NÃO HODGKIN DIFUSO DE GRANDES CÉLULAS

Carvalho FLN^a, Araújo HTS^a, Alves CNR^b, Araujo AGDP^b, Luz RSB^a, Fortes IG^a, Dias TM^a, Mourao KS^a

^a Universidade Federal de Roraima (UFRR), Boa Vista, RR, Brasil

^b Hospital Regional de Roraima, Boa Vista, RR, Brasil

^c Hospital da Criança Santo Antônio (HCSA), Boa Vista, RR, Brasil

A transformação da leucemia linfocítica crônica (LLC) em outras neoplasias mais graves é um acontecimento raro, denominado síndrome de Richter (SR). Ocorre em cerca de 2-6% das LLC, as quais podem evoluir para linfoma não Hodgkin difuso de grandes células (LDGC) em 65%-70% dos casos, linfoma pró-linfocítico (15-20%), doença de Hodgkin (15%), mieloma múltiplo (< 1%) ou leucemia linfóide aguda (< 1%). A SR é caracterizada por um quadro clínico que abrange sinais e sintomas como febre, perda de peso, astenia, linfonodomegalias assimétricas e de crescimento rápido, súbita deterioração clínica e uma sobrevida global de cinco meses após a transformação da LLC. Paciente RNS, sexo masculino, 48 anos, buscou o Hospital Geral de Roraima (HGR) com contagem leucocitária de 93.810. Os linfócitos eram a população predominante (87%). Detectou-se, também, anemia (Hb 6 de mg/dL), a qual foi tratada com

transfusão de concentrado de hemácias e hiperuricemia (ácido úrico de 497 mg/dL) tratada com alopurinol. Em dezembro de 2013 foi feita imunofenotipagem, na qual se diagnosticou LLC de células B, foi iniciado tratamento quimioterápico (QT) esquema COP (ciclofosfamida + vincristina + prednisona) de oito ciclos, durante seis meses, com início em dez/2013 e término em jun/2014. Paciente evoluiu com excelente resposta a QT, apresentou significativa alteração leucocitária, reduzida a aproximadamente 2.400 linfócitos. No entanto, em consulta de rotina em abr/2015, apresentou linfadenomegalia cervical direita e linfocitose de 32.000 células. A hematologia decidiu observar e aguardar (*wait watch*) e em mar/2015 foi constatada hepatomegalia (lobo direito com 16,32 cm e lobo esquerdo de 11,14 cm), epigastria, pirose e esofagite erosiva. Em maio de 2015 foi novamente internado no HGR, com queixas de febre, queda do estado geral, cefaleia, artralgia e edema de membros inferiores. Foi feita tomografia computadorizada que demonstrou linfadenomegalias cervicais, mediastinais, axilares, retroperitoneais, mesentéricas, pélvica e em região inguinal. Paciente recebeu alta após fazer biópsia de medula óssea e de linfonodo cervical. Retornou ao HGR com deterioração do estado clínico, febre, astenia, perda ponderal de peso e dor precordial, estava com leucocitose de 151.000. O resultado da biópsia confirmou coexistência de LLC e linfoma. Iniciou-se citorredução com citarabina (ARA-C) e houve uma boa resposta clínica até o momento.

448. ENVOLVIMENTO CUTÂNEO DA LEUCEMIA LINFOIDE CRÔNICA: IMPORTÂNCIA DO TRATAMENTO

Susanna CN, Borducchi JHM, Basqueira MF, Pallotta R, Borducchi DMM

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

Introdução: A leucemia linfóide crônica (LLC) é a leucemia mais comum nos países ocidentais. A incidência varia entre 2-6 casos por 100.000 pessoas por ano, aumenta para 12,8/100.000 após 65 anos e muitos apresentam quadros clínicos coexistentes. Caracterizada por aumento de linfócitos B neoplásicos que comprometem, tipicamente, medula óssea, tecidos linfoides e sangue periférico. Ocasionalmente, outros sítios extramedulares podem ser acometidos, mas raramente é observado o envolvimento tecidual na ausência da leucemia. Alterações cutâneas na LLC são pouco frequentes e, na maioria dos casos, estão associadas a fenômenos autoimunes. No entanto, as lesões de pele podem corresponder à infiltração cutânea pela LLC, ocorre em 4 a 20% dos pacientes. A regressão das lesões é observada com o tratamento da LLC, não respondem a tratamentos dermatológicos específicos. A adição de anticorpo monoclonal anti-CD20 à quimioterapia prolonga a sobrevida global desses pacientes. **Relato de caso:** NG, 60 anos, gênero masculino, notou havia seis anos da primeira avaliação, aumento de pavilhão auditivo bilateralmente, com pioria importante nos últimos dois anos. Negava febre, perda de peso e sudorese noturna. Ao exame físico, aumento de volume de lóbulo auricular, que formava placa normocrômica de superfície irregular com aspecto verrucoso. Em 27/02/2015 foi submetido a biópsia da lesão, que demonstrou proliferação difusa de pequenos linfócitos e imuno-histoquímica compatível com LLC (positividade para CD20, CD5, CD23, Bcl-2, Ki67 [2%] e negatividade para ciclina D1). Paciente foi encaminhado para serviço especializado em hematologia, onde foram feitos exames para diagnóstico de LLC. O hemograma foi compatível (Hb: 11,9 g/dL; LT: 69.750/mm³; linfócitos: 63.470/mm³ e plaq: 58.000/mm³) e a imunofenotipagem de sangue periférico caracterizou o aumento clonal de linfócitos B maduros com aberrância para o CD5. Embora o paciente não apresentasse sintomas constitucionais B, preenchia critérios de tratamento conforme score Binet C e, dessa forma, foi encaminhado para tratamento com poliquimioterapia, com início em 30/07/2015. **Conclusão:** Apesar de a lesão cutânea corresponder à primeira manifestação da leucemia linfóide crônica em alguns casos, ela necessita de tratamento direcionado para a doença de base, mesmo na rara forma aleucêmica.

449. CERATIVE PENIS LESION AS A MANIFESTATION OF CLL/SLL

Rocha TS, Corassa M, Costa F, Piana V, Soares F

A. C. Camargo Cancer Center, São Paulo, SP, Brazil

Introduction: Chronic lymphocytic leukemia is the most common form of leukemia in Western countries. Extramedullary and extranodal involvement is rarely seen at diagnosis in these patients. This occurrence is more common at the end-stage disease, when neoplastic cells can spread to

non-hematopoietic sites. Prostatic localization has been previously reported in CLL patients, while penis involvement has been described only in a few patients so far. **Case report:** A 63 year-old male presented with cervical node enlargement in October 2013. He was asymptomatic despite the fact that the physical exam that revealed bilateral lymph nodes of 2.5 cm. No other abnormality was found. His laboratory exams revealed normal leucometry (7,720 leucocytes) but with lymphocytes of 45% (above normal range), negative serology, normal renal and hepatic functions, and normal LDH and b2 microglobulin. His CT scan exam revealed no hepatosplenomegaly, but node enlargements of up to 3 cm in the cervical, thoracic, and abdominal region. He did an excisional biopsy that revealed small lymphocytic lymphoma, with CD20+, CD5+, and CD23+. An immunophenotyping of peripheral blood was performed and showed a small population of clonal B cell (similar to CLL). As it was less than 5,000 clonal cells, this patient was categorized as having small lymphocytic lymphoma and was maintained in "watch-and-wait" follow-up. In March 2015, he claimed to have a ulcerative lesion in the penis region that was painless and had no secretion. As he had not recovered after doing topic treatments for eventually a infection or traumatic lesion, a biopsy was performed, showing a clonal infiltration of B-cell lymphoma CD20+, CD5+, and CD23+. He started the treatment with RCVP immediately after that. **Conclusion:** This case presented a very rare manifestation and infiltration of CLL/SLL. As the patient has just started the treatment, the response and the follow-up of this manifestation are not yet known, but it is hoped that he will recover as soon as chemotherapy treatment is started.

References:

- Gonzalez-Campora R, Nogales FF, Lemra E, Navarro A, Matilla A. Lymphoma of the penis. *J Urol*. 1981;126:270-1.
- Gatto-Weiss C, Topolsky D, Sloane B, Hou JS, Qu H, Fyfe BS. Ulcerative balanoposthitis of the foreskin as a manifestation of chronic lymphocytic leukemia: case report and review of the literature. *Urology*. 2000;56(4):669.
- Plaza JA, Comfere NI, Gibson LE, Colgan M, Davis DM, Pittelkow MR, et al. Unusual cutaneous manifestations of B-cell chronic lymphocytic leukemia. *J Am Acad Dermatol*. 2009;60(5):772-80.
- D'Arena G, Guariglia R, Villani O, Martorelli MC, Pietrantonio G, Mansueto G, et al. An urologic face of chronic lymphocytic leukemia: sequential prostatic and penis localization. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2013;5(1):e2013008.

450. PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE LEUCEMIAS CRÔNICAS EM UM CENTRO DE ONCOLOGIA DE SERGIPE

Menezes DL^a, Vale YFD^a, Andrade LGR^a, Costa AFO^a, Lima DMSM^a, Santos LMD^b

^a Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE, Brasil

^b Hospital de Urgência de Sergipe, Aracaju, SE, Brasil

Segundo dados do estudo feito pelo Registro de Câncer de Base Populacional em Sergipe entre 2000 a 2004, foram registrados 325 novos casos de neoplasias hematológicas, 31% (100) foram de leucemias, porém sem a especificação dos subtipos. As leucemias crônicas podem ser mieloproliferativas (LMC) ou linfoproliferativas (LLC). As leucemias são neoplasias de maior incidência e maior necessidade de padronização de tratamento, devido ao seu caráter agressivo e heterogêneo. O objetivo desta pesquisa foi quantificar as leucemias crônicas atendidas em um centro de oncologia de Sergipe. Para esse fim foi feito um estudo descritivo retrospectivo, por meio de coleta de dados nos prontuários de 2012 e 2013. Dos 242 prontuários analisados, 34 foram de leucemias crônicas, 21 (61,7%) de LMC e 13 (38,2%) de LLC. Do total de leucemias crônicas, 21 (61,8%) eram do sexo masculino. A idade média dos pacientes foi de 55 anos (18 a 87). Os subtipos descritos de LLC foram LLC clássica 10 (29,4%), tricoleucemia dois (5,8%) e uma sem classificação. Os exames de diagnóstico feitos foram citogenética 24 (70,6%), imunofenotipagem 11 (32,4%), imuno-histoquímica seis (17,6%), biópsia de tecidos quatro (11,8%), BMO quatro (11,8%), e PCR quatro (11,8%). O tempo médio entre o diagnóstico e o início de tratamento em 31 prontuários de pacientes analisados foi de 32,7 dias (0 a 430). Os protocolos quimioterápicos usados para LLC foram FCR (dois), FC (um), CHOP (um), CR (um), POMP (um) e cladribina (dois). Os medicamentos usados foram rituximabe (cinco), dasatinibe (cinco), ciclofosfamida (quatro), fludarabina (quatro), clorambucil (três), nilotinibe (dois), vincristina (dois), carboplastina (dois), ifosfamida (um), dexametasona (sete) e prednisona (quatro). Para LMC foram imatinibe (18) e hidroxiureia (18). Até julho/2015

não houve informação de óbito de qualquer dos pacientes nos registros disponíveis no hospital. Com este trabalho foi possível observar uma frequência de leucemias crônicas compatíveis com a literatura mundial. Exames como imunofenotipagem e citogenética foram descritos na maior parte dos casos, bem como os medicamentos usados nos protocolos mundiais. Espera-se que os dados levantados sirvam de base para futuros estudos de diagnóstico e tratamento dos pacientes atendidos no centro de referência. Também se espera uma melhoria no planejamento e gerenciamento do sistema de registro oncológico dos pacientes, para aprimorar os serviços de atendimento e auxiliar os futuros tratamentos.

451. PRIAPISM AS A RARE PRESENTATION IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA: CASE REPORT

Pinto MSG, Rocha TS, Mo SG, Tannus B, Fortier SC, Chiattonne CS

Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo (FCMCSPP), São Paulo, SP, Brazil

Background: Priapism is a rare disease, characterized by prolonged, painful, and irreducible erection, not resulting in ejaculation. It is an andrological emergency with a poor prognosis, as the risk of impotence is 50% despite appropriate management. Sick cell anemia, chronic myelogenous leukemia, chronic lymphocytic leukemia, and acute lymphoblastic leukemia are hematologic disorders that can be causes of priapism. In adult leukemic patients, the incidence of priapism is estimated to be around 5%. Priapism as a result of hematologic malignancy is most likely caused by venous obstruction from microemboli/thrombi, as well as hyperviscosity caused by the increased number of circulating leukocytes. In cases of hematologic malignancy, controversy has existed regarding the optimal treatment of leukemic priapism: aspiration and open surgery versus cytoreductive modalities, such as chemotherapy or leukapheresis. Because of the relatively rare occurrence of leukemic priapism and the small number of case series, there is no standard treatment protocol. The importance of prompt diagnosis and treatment of priapism cannot be overemphasized, as there is a high incidence of impotence following this condition. Clinically, it is an emergency condition, characterized by full or partial penile erection that continues more than four hours beyond sexual stimulation and orgasm, and is unrelated to sexual stimulation. There are two types of priapism: ischemic or low-flow and non-ischemic or high-flow. Priapism is a rarely presenting feature in adult male patients with leukemia (the incidence is about 1% to 5%); and may be secondary to hyperleukocytosis with leukostasis/hyperviscosity that usually occurs with extreme elevation of white cell count to $> 100 \times 10^9/L$, which finally leads to venous obstruction due thrombi and microthrombi. Another contributing factor may be the overproduction of cytokines and adhesion molecules by leukemia cells, leading to increased sequestration of cells in the microvasculature. **Case report:** A 53 year-old man recently diagnosed with CLL Binet C was admitted to the emergency room with a five-day history of painful penile erection. There was no history of trauma, use of medications, or recent sexual intercourse. His physical examination revealed that the penis was erect, firm, and tender. Laboratory data showed: hemoglobin 13g/dL, hematocrit 43%, white blood count $72,450/mm^3$, lymphocytes $65,250/mm^3$, and $101,000/mm^2$ platelets. Palliative treatment was initiated with cavernous aspiration performed by the urologists, with relief of the erection, but priapism recurred on the next day; then the patient was started on an FC regimen, consisting of fludarabine 25 mg/m² and cyclophosphamide 250 mg/m² for three days. In the next 24 hours, the penile erection was relieved, with decrease in the lymphocyte count as well. Unfortunately, the patient evolved with erectile dysfunction despite the treatment. **Conclusion:** Priapism is a very rare condition in CLL that should be treated promptly with chemotherapy in order to avoid erectile dysfunction.

452. LEUCEMIA PROLIFOCÍTICA T(LPLT). RELATO DE CASO RARO COM APRESENTAÇÃO IMUNOFENOTÍPICA DISTINTA

Endo VM^a, Souto EX^{a,b}, Carvalho AC^b, Soares ACCV^b, Maciel FVR^b, Caputo LZ^a, Perobelli LLM^a

^a Hospital Brigadeiro, São Paulo, SP, Brasil

^b Laboratório Diagnósticos da América (DASA), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A LPLT é uma neoplasia rara de células T pós-tímicas maduras, em geral, de comportamento agressivo, acomete adultos com mediana de 61 anos e é mais frequente em homens. O achado clínico mais comum

é a esplenomegalia, mas podem estar presentes hepatomegalia, linfadenopatia, alterações cutâneas variadas, edema periférico, efusões pleuro-peritoneais e acometimento do sistema nervoso central. Observa-se leucocitose pronunciada, anemia e plaquetopenia podem estar presentes em metade dos casos e frequentemente apresenta DHL elevado. No sangue periférico (SP) e na medula óssea (MO) há presença de prolinfócitos, que são células de tamanho médio, moderada relação núcleo-citoplasmática, núcleo redondo a oval, com nucléolo único e evidente, citoplasma basofílico, agranular e por vezes com protruções citoplasmáticas. Em alguns casos, o núcleo é irregular e convoluto, lembra as células vistas na síndrome de Sézary (SS) ou na leucemia/Linfoma de células T do adulto (LLTA). A imunofenotipagem por citometria de fluxo (ICM) observa-se TdT e CD1a negativos e CD5, CD2 e CD7 positivos. Na maioria dos casos, o CD4 é positivo e o CD8 é negativo. Mais de 60% dos casos expressam CD3 e TCR alfa/beta de membrana. **Objetivo:** Relatar caso raro de doença linfoproliferativa T (DLPT) com características clínicas e morfológicas de LPLT e apresentação imunofenotípica distinta. **Relato de caso:** MHPM, feminino, 73 anos, internada com queixa de dor e aumento do volume abdominal, cansaço, sudorese noturna e perda de peso não mensurada havia dois meses, tontura e turvação visual havia sete dias. EF: baço palpável a 10 cm do RCE e equimoses em MMSS. Hemoglobina = 11 g/dL, leucócitos = 949.000/mm³ (12% de neutrófilos e 88% de células anômalas), plaquetas = 77.900/mm³, DHL = 5.006 U/L (VN:125 a 220 U/L), ácido úrico = 10,9 mg/dL (VN: 2 a 6 mg/dL). Função renal, hepática e eletrólitos normais. Sorologias para HIV 1 e 2, hepatites B e C, HTLV I e II, toxoplasmose, mononucleose e sífilis negativas. Tomografias de pescoço, tórax e abdome: linfonodos retroperitoneais e inguinais de até 1 cm e esplenomegalia volumosa. Mielograma: 90% de células de médio tamanho, média relação núcleo-citoplasmática, cromatina condensada, por vezes com nucléolo marcado e citoplasma levemente basofílico sem grânulos, semelhantes às células circulantes observadas no SP. ICM: 85,6% de células com expressão de CD2, CD3, CD4, CD5, CD25 de baixa intensidade e TCR alfa/beta. Ausência de expressão de CD1a, CD7, CD8, CD34, TCR gama/delta e TdT. Cariótipo de MO: em análise. Paciente foi submetida a três sessões de leucaférese, com melhoria da tontura e da turvação visual. Recebeu tratamento com dexametasona seguido de quimioterapia com protocolo FC em dose reduzida devido à idade (fludarabina 15 mg/m² e ciclofosfamida 150 mg/m², por três dias), evoluiu com melhoria da leucocitose e diminuição do tamanho do baço, atualmente em seguimento ambulatorial. **Discussão e conclusão:** O caso relatado apresentava perfil imunofenotípico sugestivo de LLTA, porém achados clínicos e laboratoriais característicos de LPLT. Além disso, não apresentava qualquer outra manifestação clínica ou laboratorial de LLTA, como hiperleucemia e sorologia para HTLV I/II positiva. Destacamos no presente relato a raridade do caso, além da apresentação imunofenotípica distinta.

453. HAIRY CELL LEUKAEMIA: UMA EXPERIÊNCIA DA DISCIPLINA DE HEMATOLOGIA DA FMABC

Susanna CN, Borducchi JHM, Mauad VAQ, Basqueira MF, Luccas PVL, Bonito DR, Santucci R, Borducchi DMM

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

Introdução: Hairy cell leukemia (HCL) é uma neoplasia indolente, de pequenas células linfoides B, com núcleo oval e citoplasma abundante, com projeções que envolvem o sangue periférico e infiltram difusamente a medula óssea e a polpa vermelha do baço. A HCL é uma doença rara, compreende 2% das leucemias linfoides. Os pacientes são predominantemente de meia-idade e idosos, com uma mediana de 50 anos. A razão entre os gêneros masculino:feminino é de 5:1. Os infiltrados podem também acometer o fígado, os linfonodos e, ocasionalmente, a pele. Os sintomas mais comuns incluem fraqueza, fadiga, dor no quadrante superior do abdome, febre e sangramentos. A maioria dos pacientes apresenta esplenomegalia e pancitopenia, com poucas células neoplásicas circulantes. HCL está entre um pequeno grupo de cânceres unificados por uma única lesão genética: a mutação da BRAF V600E. Nas três últimas décadas, um tremendo progresso nos esclarecimentos tanto do diagnóstico quanto do prognóstico tem sido acompanhado pelos avanços na terapêutica da HCL clássica. A biópsia de medula óssea é a melhor forma para se obter o diagnóstico. A imunofenotipagem clássica de HCL consiste de coexpressão de CD20, CD22 e CD11c e expressão do CD103, CD25, CD123, T-bet, Annexin A1 (ANXA1), DBA.44, FMC-7 e ciclina D1. A HCL é sensível a ambos alpha-interferon ou nucleosídeos (análogos purínicos), como pentostatina e cladribina (2CDA). Pacientes sob uso de análogos purínicos frequentemente alcançam completa e duradoura remissão da doença. A taxa de sobrevida global em 10

anos excede 90%. O rituximabe associado a análogos purínicos oferece eficácia terapêutica em pacientes com HCL refratária. **Material e métodos:** Estudo de coorte, transversal, retrospectivo, por levantamento de prontuários de pacientes atendidos pelo serviço da disciplina de hematologia da Faculdade de Medicina do ABC, entre 1996 e 2015, para levantamento de dados sociodemográficos para tabeamento e análise de resultados. **Objetivo:** Relatar a experiência da disciplina de hematologia da FMABC por análise epidemiológica e sociodemográfica de prontuários de pacientes com hairy cell leukemia entre 1996 e 2015. **Resultados:** Foram levantados 10 prontuários de pacientes portadores de Hairy cell leukaemia, oito homens e duas mulheres (4:1) com média de 54,4 anos (mediana = 54,5). Desses, observamos oito respostas completas e cinco parciais. Dos pacientes, 10 foram tratados com protocolo 2CDA, dois com IFN-alfa e um com rituximabe, dois foram submetidos a mais de um esquema de tratamento. Não foram relatados óbitos no grupo, a sobrevida global até o momento é de 100%. **Conclusão:** Nossos achados corroboram a literatura mundial, confirmam que a hairy cell leukaemia é uma doença rara, mais incidente em homens e de bom prognóstico.

454. GLOMERULONEFRITE MEMBRANOSA NA LLC: RELATO DE DOIS CASOS

Carvalho APV^a, Fonsêca ARBM^a, Arrais C^a, Lacerda MP^a, Pivaro MF^a, Guedes NR^a, Yamakawa PE^a, Pirotromb IG^b, Wallbach KKS^b

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

^b Departamento de Medicina, Disciplina de Nefrologia

Introdução: A leucemia linfocítica crônica (LLC) é a leucemia mais comum nos países ocidentais. Acomete predominantemente pacientes idosos e tem um curso clínico variável. Manifestações extranodais são raras, a infiltração renal pela LLC com significado clínico é ainda mais rara. Apesar disso, a insuficiência renal é uma complicação relativamente comum nesse grupo de pacientes. O mecanismo de lesão não é bem conhecido, pode estar associado a diversos fatores, tais como infiltração direta dos rins, obstrução ureteral por linfadenomegalia e até mesmo síndrome de lise tumoral. Há alguns casos mais raros de lesão renal associados a nefropatia por depósito de cadeias leves, amiloidose e glomerulonefrites (GN) como a membranoproliferativa, membranosa e doença por lesão mínima. Tem que se levar em consideração também, quando investigamos doença renal em pacientes com LLC, que esse grupo tem risco aumentado de infecção, doenças autoimunes e microangiopatia trombótica. Além disso, não podemos esquecer outras causas comuns sem qualquer associação com a doença hematológica, como a nefropatia diabética, a glomerulopatia focal e segmentar associada à obesidade e a nefrosclerose relacionada à hipertensão. **Objetivo:** Descrever dois casos pacientes com LLC que apresentaram GN membranosa como complicação renal. **Relatos de caso: Caso 1:** Paciente masculino de 80 anos, hipertenso, com história de uso regular de anti-inflamatório, foi internado para investigação de disfunção renal rapidamente progressiva com necessidade de terapia renal substitutiva associada à presença de proteinúria subnefrótica. A biópsia renal evidenciou parênquima com sinais de doença renal crônica associada à GN membranosa. Durante investigação, foi evidenciada linfadenomegalia mediastinal e abdominal, cuja biópsia foi compatível com linfoma linfocítico de pequenas células/LLC. Houve controle da proteinúria após curso inicial de corticoide para tratamento da doença linfoproliferativa. Apesar do controle do componente imune, a etiologia da insuficiência renal era multifatorial e os outros fatores contribuíram para o estabelecimento da doença renal crônica em terapia renal substitutiva. **Caso 2:** 74 anos, masculino, hipertenso, deu entrada pelo pronto-socorro por edema em membros inferiores, ascendente, associado à ortopneia, diagnosticado com síndrome nefrótica e insuficiência renal. Biópsia renal revelou GN membranosa mediada por imunocomplexos associada a infiltração por LLC. A admissão apresentava linfocitose, à custa de linfócitos maduros, e a imunofenotipagem foi compatível com LLC. Fez pulsoterapia com metilprednisolona com controle parcial da proteinúria e estabilização da função renal. Entre outubro de 2014 e março 2015, tratou com rituximabe e clorambucil, sem intercorrências e com boa resposta (resolução da linfocitose, com doença residual mínima positiva três meses após o término do tratamento). Atualmente, assintomático, função renal estável e manteve proteinúria subnefrótica. **Conclusão:** A função renal é um importante parâmetro na escolha da terapia na LLC e o acometimento renal pode estar relacionado a uma diversidade de mecanismos associados à doença hematológica e ao

perfil clínico dos pacientes. Consideramos a GN como manifestação autoimune da LLC nos dois casos descritos. O tratamento costuma melhorar as manifestações da nefropatia relacionadas a LLC, como observado nos dois casos descritos.

455. MACROGLOBULINEMIA DE WALDENSTRÖM: RELATO DE CASO

Santos GLD^a, Fialho ECE^b, Santos BLR^a, Moreira GA^a, Maciel RD^a, Rodrigues RC^a

^a Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba (FCMPB), João Pessoa, PB, Brasil

^b Hospital Napoleão Laureano, João Pessoa, PB, Brasil

Introdução: A macroglobulinemia de Waldenström (MW) é uma doença linfoproliferativa maligna com anticorpo IgM monoclonal. Doença rara incide em três por milhão/ano e representa 2% de todas as doenças malignas hematológicas. Pela raridade e gravidade, este relato chama a atenção para o diagnóstico precoce. **Objetivo:** Relatar caso de doença rara, manifestado com anemia hemolítica autoimune. **Relato de caso:** MPG, 68 anos, feminino, parda, paraibana. Apresentou anemia, subicterícia e fraqueza. À investigação inicial: hemoglobina, 6,1 g/dL; leucopenia (3.000/mm³, linfócitos: 40% e monocitose relativa: 12%) e plaquetopenia (80.000/mm³). Anemia hemolítica: bilirrubina indireta e dehidrogenase láctica (DHL) aumentadas, reticulocitose, Coombs direto e autocontrole, positivos. Iniciada prednisona oral, 1 mg/kg/dia, com boa resposta, porém ao desmame piora da anemia. Iniciada azatioprina, sem resposta. Reintroduzida prednisona. E melhor investigação diagnóstica. Na segunda ultrassonografia: esplenomegalia discreta. Ao hemograma atipia linfocitária, monocitose e descrição de Rouleaux eritrocitário caracterizado pela aglutinação do sangue periférico, sugeriu a pesquisa para doenças monoclonais. Ao mielograma: hipocelularidade moderada, setor granulocítico (47%), eritroide (20%), linfomonoplasmocitário (11/07/10%) e o megacariócito presente e funcionando. Imunoglobulinas: IgA: 57 mg/dL; IgM: 1.186 mg/dL e IgG: 658 mg/dL; eletroforese de proteínas: alfa 1, alfa 2: 3,1 e 5,2% respectivamente, beta 1 e beta 2: 27,8% e 1,7%, respectivamente, e gama 8,9%; presença de cadeia leve monoclonal, kappa isolada e lambda e pico monoclonal na região das betaglobulinas. À imunofixação de urina: cadeia leve monoclonal kappa e lambda, isoladas. E Beta2 microglobulina: 5 mg/L. Imunofenotipagem medular: população de plasmócitos aberrantes para cadeia leve kappa, população B madura de 15,2%, setor eritrocitário: 8,5%, neutrófilos 39,6% e linfócitos: 43,3%; indica doença linfoproliferativa B e clonalidade de cadeias leves kappa e discrasia plasmocitária. Diagnósticos diferenciais o linfoma linfoplasmocítico e macroglobulinemia de Waldenström. **Resultados e discussão:** A macroglobulinemia de Waldenström (MW) é definida pela infiltração da medula óssea por células linfoplasmocíticas e presença de componente monoclonal de IgM sérico. De causa desconhecida. Os sintomas atribuíveis à infiltração de tumor e/ou a proteína sérica monoclonal. A fadiga é o sintoma mais comum, frequentemente associada com anemia normocítica normocrômica. Os resultados preenchem os critérios: presença de cadeia leve monoclonal (IgM: 1.186 mg/dL), imunofenotipagem medular: população de plasmócitos aberrantes, cadeia leve kappa e marcadores positivos na expressão fenotípica dos linfócitos B: CD5+ +, CD11c+ (heterogêneo 35%), CD19+ + +, CD20+ +, CD22+ +, CD23+ (heterogêneo 50%), CD45, CD79b+ +, IgM-/-, FMC-7+, HLA-DR + +, Kappa; Plasmócitos: CD5+ +, CD19+ + +, CD45+, CD38+ + +, CD138+ + +, Kappa citoplasmático, que orientam para o diagnóstico de MW. O tratamento de escolha é o rituximabe devido à sua baixa toxicidade e às boas taxas de resposta. **Conclusão:** A combinação rituximabe com agentes alquilantes e/ou purinas recebe taxa de resposta global em torno de 90% e respostas completas não são raras (20%).

456. DINÂMICA TELOMÉRICA EM LINFOCITOSE B MONOCLONAL E LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA BINET A

Furtado FM, Matos DM, Scatena NF, Santana B, Scheucher PS, Rego EM, Calado RT, Falcão RP

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

Introdução: Linfocitose B monoclonal (LBM) é uma entidade clínica assintomática caracterizada pela proliferação monoclonal de linfócitos B que não atinge critérios diagnósticos para leucemia linfocítica crônica (LLC). Alguns autores sugerem que a LLC seja sempre precedida da LBM, porém os mecanismos moleculares responsáveis pela progressão e evolução da

doença não são conhecidos. Telômeros consistem em seqüências repetitivas de DNA (TTAGGG) revestidas por proteínas protetoras (shelterinas) localizadas nas pontas dos cromossomos lineares. Usualmente, portadores de LLC têm telômeros encurtados e o comprimento telomérico é um fator prognóstico independente para progressão da doença. Também já foi demonstrado que erosões teloméricas aumentam instabilidade cromossômica e aquisição de anormalidade cromossômicas em LLC (Brugat, Blood 116:239-249, 2010). No entanto, comprimento telomérico em células monoclonais de LBM nunca foi pesquisado. **Objetivo:** Avaliar comprimento telomérico (TL) em células monoclonais em pacientes com LLC Binet A e indivíduos portadores de LBM clínica e LBM populacional. **Material e métodos:** Foram estudados 20 pacientes com LLC Binet A, quatro portadores de LBM populacional identificado em estudo anterior (Matos, Br J Haematol 147:339-46, 2009) e 9 de LBM clínica. Inicialmente, células mononucleares de sangue periférico foram separadas por gradiente de centrifugação com Ficoll-Hypaque (Sigma-Aldrich). Em seguida foi feito cell sortig por citometria de fluxo de células CD19+ CD5+ dos grupos de estudo. Comprimento telomérico foi determinado por reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR). Foram estudados como controle 52 voluntários saudáveis entre 50 e 86 anos. O grupo LLC teve idade média de 70 anos (58 a 81), o de LBM clínica, 79 (57 a 97) e o de LBM populacional, 67 (53 a 82). No grupo LLC, metade dos pacientes era do sexo feminino; no LBM clínica, todos eram do sexo masculino; no LBM populacional, 3/4 eram do sexo masculino. **Resultados:** A contagem média total de linfócitos no grupo LLC foi 36.650/μL (7.500 a 147.000), 3.833 (2.900 a 5.900) na LBM clínica e 1.625 (900 a 2.100) na LBM populacional. A porcentagem média de células CD19+ CD5+ nos linfócitos B totais foi de 78% (59 a 91), 38% (seis a 61) e 1,89% (0,97 a 3,4), na LLC, LBM clínica e LBM familiar, respectivamente. A mediana do TL foi de 0,32 (0,13 a 0,78), 0,21 (0,13 a 0,48) e 0,42 (0,36 a 0,45) para LLC, LBM clínica e LBM populacional, respectivamente. O TL ajustado para a idade foi menor em LLC e LBM clínica quando comparado com os controles normais (p < 0,05; Figura). O TL apresentou tendência a ser menor em LBM populacional em comparação com os indivíduos normais, porém não atingiu significância estatística, provavelmente devido ao pequeno número de indivíduos nesse grupo (Figura). Em indivíduos normais, houve encurtamento de TL de leucócitos de sangue periférico de acordo com a idade, porém nos três grupos estudados o TL dos linfócitos B clonais foi igualmente curto, independentemente da idade. **Conclusão:** Esses achados indicam que erosão telomérica é um fenômeno precoce na leucemogênese em doenças clonais B e que LBM e LLC representam estágios diferentes de uma mesma doença, distinguidos apenas pela carga tumoral.

457. AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE MIRNAS EM LINFOCITOSE B MONOCLONAL E LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA BINET A

Furtado FM, Matos DM, Zanette DL, Santana B, Scheucher PS, Rego EM, Calado RT, Falcão RP

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

Introdução: Linfocitose B monoclonal é uma entidade clínica assintomática caracterizada pela proliferação monoclonal de células B que não preenche critérios diagnósticos para LLC. Alguns autores sugerem que a LLC seja sempre precedida de LBM, mas os mecanismos moleculares responsáveis por essa evolução são desconhecidos. Os miRNAs são pequenos RNAs de fita simples, não codificadores, reguladores de expressão gênica. Alterações em expressão de diversos miRNAs foram identificadas na LLC; há somente dois outros estudos que pesquisaram miRNAs em LBM. **Objetivo:** Identificar diferenças na expressão de miRNAs em portadores de LLC Binet A, LBM clínica e voluntários normais. **Material e métodos:** Foram incluídos 21 pacientes com LLC, 11 portadores de LBM clínica e 10 voluntários normais. Células mononucleares de sangue periférico foram separadas por gradiente de centrifugação com Ficoll-Hypaque (Sigma-Aldrich), seguido por separação celular por citometria de fluxo de linfócitos B CD5+ dos dois grupos de estudo e de linfócitos B totais do grupo usado como controle. A expressão dos miRNAs 15a, 16-1, 29b, 34a, 155, 181a e 181b foi determinada por RT-qPCR. Amostras com coeficiente de variação (CV) maior do que 2% foram excluídas. **Resultados:** O miR-155 foi o único que demonstrou diferença de expressão entre os grupos LLC e LBM, com maior expressão na LLC. Esse e o miR-34a têm expressão aumentada nos grupos de estudo em comparação com o grupo controle, apesar de essa diferença não ser estatisticamente significativa na comparação da expressão de miR-155 em LBM e controle. Os miRNAs 15a, 16-1, 181a e 181b têm expressão reduzida nos grupos de estudo. O miR-29b apresentou expressão semelhante nos

três grupos. Como o miR-155 tem expressão diferente em LLC e LBM, pode regular genes responsáveis por essa evolução. O fato de a expressão dos miRNAs 34a, 15a, 16-1, 181a e 181b ser semelhante na LLC e na LBM e diferente dos controles normais sugere que alterações nesses miRNAs podem ser eventos iniciais na leucemogênese. **Conclusão:** O perfil da expressão do miR-29b na LLC ainda não está bem estabelecido, já que os estudos disponíveis apresentam resultados conflitantes.

458. COMPARAÇÃO ENTRE AS DIFERENTES FORMAS DE AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL E SEU IMPACTO NA ESCOLHA DO TRATAMENTO DO PACIENTE COM LLC

Teixeira BB, Fogliatto LM, Costa TEV, Becker C, Dode RSO, Soares TB, Zaltron RF, Bosi GR, Pereira MP, Daudt LE, Burin MM, Silla LMR, Paiva MF

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: A leucemia linfocítica crônica (LLC) é uma desordem linfoproliferativa, com grande prevalência, que acomete pessoas em idade avançada. Aproximadamente 70% dos pacientes são diagnosticados após os 65 anos. Nos últimos anos, grande progresso no tratamento tem sido alcançado, porém o paciente idoso e com comorbidades significativas é frequentemente subrepresentado em ensaios clínicos. Mais recentemente dados publicados ressaltam que essa população apresenta expressiva toxicidade a quimioterapia agressiva. Classificação proposta pelo German CLL Cooperative Group sugere que a escolha do tratamento se baseie principalmente no perfil do paciente como *fit*, *unfit* ou *frail*, classificação que leva em consideração idade, comorbidades e taxa de filtração glomerular (TGF). A TGF é essencial ao definir a melhor terapêutica. Apesar disso, não há padronização descrita quanto à melhor forma de fazê-lo. E ainda em nosso meio é muito comum por praticidade usarmos a creatinina sérica como parâmetro de função renal. **Objetivo:** Descrever os métodos de avaliação da função renal mais usados na prática e como podem impactar na decisão do tratamento do paciente LLC. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo, descritivo, de análise de prontuários de pacientes que acompanham no ambulatório do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, que receberam o diagnóstico de LLC por imunofenotipagem de sangue periférico de 2006 a 2015. Foram usados para avaliação da função renal a creatinina sérica mais recente (normal se < 1,1 para mulheres e < 1,3 para homens) e dados como idade, peso e etnia para cálculo da estimativa da TFG (< 70 ou ≥ 70) pelos métodos de Cockcroft-Gault (CG), de Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) e de Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI). **Resultados:** Foram avaliados 185 pacientes, 104 (56%) homens. A idade mediana ao diagnóstico foi de 68 anos (36-97), 140 (75%) apresentavam ≥ 65 anos. Houve 175 (95%) pessoas de etnia branca, sete (4%) negra e duas (1%) parda. A creatinina sérica estava normal em 118 (65%) pacientes e elevada em 63 (35%). A proporção de pacientes com TFG < 70 mL/min com o uso das fórmulas CDK-EPI, MDRD e CG foi respectivamente 89/180 (49%), 104/180 (58%), 70/116 (60%). Dentre os pacientes que apresentavam creatinina sérica normal, a proporção de pacientes com TFG < 70 mL/min que usavam as fórmulas CDK-EPI, MDRD e CG foi respectivamente 28/117 (24%), 41/117 (35%) e 28/73 (38%). Dentre os pacientes com creatinina sérica alterada, a proporção de pacientes com TFG ≥ 70 mL/min que usavam as fórmulas CDK-EPI, MDRD e CG foi respectivamente de 2/63 (3%), 0/63 (0%), 1/43 (2%). **Conclusão:** Conforme nossa amostra, a creatinina sérica não é bom parâmetro para avaliar elegibilidade para quimioterapia agressiva em pacientes com LLC, por apresentar-se normal em muitos pacientes com TGF alterada. Há estreita correlação entre as TFGs observadas por MDRD e CKD. A avaliação da TFG por CG apresentou-se discordante das demais, especialmente para pacientes com menor peso. Portanto, na avaliação de pacientes com LLC é fundamental o cálculo da estimativa da TFG por metodologias mais acuradas. Acreditamos ser necessária a padronização do método para avaliação da TFG na avaliação desses pacientes.

459. INCREASED EXPRESSION OF TERT ASSOCIATED TO PROMOTER REGION MUTATIONS IN PATIENTS WITH MANTLE CELL LYMPHOMAS

Alves-Paiva RM^{a,b}, Panero J^c, Roisman A^c, Santana-Lemos BA^a, Stanganelli C^d, Slavutsky I^c, Calado RT^{a,b}

^a Divisão de Hematologia, Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

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

^c Laboratorio de Genética de Neoplasias Linfoides, Instituto de Medicina Experimental, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Academia Nacional de Medicina (ANM), Buenos Aires, Argentina

^d División Patología Molecular, Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina (ANM), Buenos Aires, Argentina

Lymphoid malignancies constitute a heterogeneous group of lymphoproliferative disorders with specific clinical, morphological, immunophenotypic, and genetic features (Swerdlow et al.). Mantle cell lymphoma (MCL) is an aggressive lymphoid neoplasm associated with poor prognosis, genetically characterized by translocation t(11;14) and cyclin D1 overexpression (Sander et al., 2011). Telomeres are ribonucleoprotein structures at the end of linear chromosomes that serve to protect chromosomes from end-to-end fusion and recombination (Blackburn). Short telomeres promote chromosomal instability due to aberrant chromosomal segregation during cell division and chromosomal translocation, eventually causing aneuploidy (Calado & Young; Paiva & Calado). The shelterin complex (TRF1, TRF2, TIN2, RAP1, TPP1, and POT1) protects telomeres against degradation and fusion, and regulates telomere length (TL) by modulating telomerase activity (de Lange et al., 2005). Telomerase is a reverse transcriptase enzyme composed by a catalytic subunit (TERT), a genomic subunit (TERC), and stabilizing proteins (such as DKC1). Telomerase catalytically adds TTAGGG hexameric nucleotide repeats to the 3-hydroxyl end of the telomeric leading strand, using a specific sequence in the RNA component as the template. Normal somatic cells express no detectable levels of TERT; however, 90% of human tumoral cells overexpress this gene. Recently, somatic mutations of the TERT promoter region (TERTp) have been described in different solid tumors. Nonetheless, there is no knowledge of these mutations on lymphoid neoplasias. This work aimed to evaluate the prevalence of mutations on TERTp in patients with MCL and correlate the results with expression of genes that are associated to telomeres (TRF1, TRF2, TIN2, RAP1, TPP1, POT1, TERT, DKC), TL, and prognostic factors such as SOX11 expression and immunoglobulin heavy chain variable region (IGHV) mutational status. Twenty-four MCL patients samples were analyzed (seven females; median age: 66.4 years old, range: 49-88 years). Quantitative PCR was performed for TL measurement and gene expression analysis, and Sanger sequencing was performed for TERT promoter analysis. The study was approved by the local ethics committee. The promoter region probed in this study contained the two commonly described mutations (C228T and C250T), located 124 and 146 bp upstream of the ATG start site, respectively. Eight cases (33.3%) presented TERTp mutations: six heterozygous (C228T) and two homozygous (C228T and C250T). Mutated patients evidenced overexpression of TERT (2.63 ± 0.68) compared to patients with no mutations (0.94 ± 0.29) (p = 0.004), and an increased expression of genes associated to telomeres was observed (TRF1, TRF2, POT1, and DKC1). Furthermore, TERTp mutated patients presented overexpression of SOX11 (0.338 ± 0.2) and a minimum mutational status of IGHV, both considered as bad prognostic factors in MCL. No significant association between TERTp mutations and TL was observed. In addition, this study did not find association between TL and IGHV mutational status. In conclusion, this study described, for the first time, that acquired TERTp mutations were associated with higher TERT transcription levels in hematologic malignancies and higher shelterin expression in cancer. The increased TERT expression is associated to molecular parameters matching to more aggressive lymphoma.

460. LLC COM INFILTRAÇÃO DE SISTEMA NERVOSO CENTRAL: RELATO DE CASO

Barros MPB, Almeida MNCS, Madeira PNM, Lara LA, Silva MM, Souza MMRS, Muzzi GC, Oliveira HM, Costa AL, Lodi FM

Hospital Felício Rocho, Belo Horizonte, MG, Brasil

MBT, 63 anos, feminino, diagnóstico de leucemia linfocítica crônica (LLC) em 2011, estágio Rai I/ Binet A, adquiriu critérios de tratamento em 2013: recebeu sequencialmente COP (ciclofosfamida, vincristina e prednisona), FC (fludarabina, ciclofosfamida) e clorambucil, sem obter remissão completa. Após dois anos do início do tratamento e em vigência do uso de clorambucil, apresentou quadro de febre, cansaço aos esforços habituais e diarreia, com hemograma que apresentava Hb 8,4 LG 18.210 Bastões 364 Segmentados 2003 Linfócitos 7830 Linfócitos atípicos 364 PL 17.000. Evoluiu com rápida deterioração clínica: prostração, febre persistente, confusão mental, déficit motor progressivo e súbita

perda da visão. Toda a propedêutica para infecção foi negativa e TC crânio e ressonância magnética do encéfalo não evidenciaram anormalidades. Exame do líquor mostrou linfocitose, cuja imunofenotipagem identificou 95% de células linfóides, 90% delas de linhagem B (CD19+) com expressão de CD5, e fechou diagnóstico de infiltração do sistema nervoso central pela LLC. Instituiu-se tratamento com rituximabe, altas doses de corticoide e quimioterapia intratecal (metotrexate, dexametasona, citarabina), porém a paciente evoluiu para óbito em quatro semanas. A leucemia linfocítica crônica é a mais comum das doenças linfoproliferativas crônicas, caracteriza-se pelo acúmulo insidioso de pequenos linfócitos maduros no sangue periférico, medula óssea e órgãos linfóides. A infiltração do SNC é uma de suas raras complicações e sua detecção precoce e seu tratamento podem resultar em melhores desfechos no contexto de um prognóstico reservado.

461. LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA COM TRANSFORMAÇÃO PARA LINFOMA DE HODGKIN: CASO CLÍNICO

Catelli DH, Pereira MP, Teixeira BB, Nervo M, Bosi G, Zaltron RF, Soares TB, Schaefer PG, Burin M, Paiva M, Fogliatto L, Daudt L, Silla LMR

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: A evolução da leucemia linfocítica crônica/Linfoma linfocítico pequeno (LLC/LLP) para um linfoma de alto grau é conhecido como síndrome de Richter e ocorre em 5% dos casos. Suspeita-se de progressão abrupta de linfadenopatias, esplenomegalia, sintomas B e aumento de LDH. Dessa pequena porcentagem que evoluiu para linfoma de alto grau, apenas 15% se transformam em linfoma de Hodgkin (LH). O anatomopatológico da lesão pode se apresentar com características clássicas de um LH esclerose nodular ou celularidade mista ou ainda apresentar-se como células de Reed-Sternberg e infiltrados monocitoides em um background de linfócitos pequenos neoplásicos, sem o característico background inflamatório. Associa-se com marcador EBV positivo na maioria dos casos. A despeito do tratamento agressivo, a doença é mais resistente a quimioterapia e a sobrevida é de 13 meses. **Relato de caso:** Paciente masculino, 66 anos, iniciou acompanhamento no ambulatório de hematologia em março de 2014 por queixa de nódulos cervicais havia cinco anos, astenia, perda de 12 Kg em seis meses, além de febre e sudorese noturna. Ao exame físico, apresentava linfonodos cervicais bilaterais de 4-5 cm, além de linfonodomegalias axilares e inguinais bilateralmente. Baço palpável a 10 cm do rebordo costal. Laboratórios da chegada com Hb de 6 g/dL, Ht de 19%, contagem de leucócitos 1.004.000/mm³, 95% de linfócitos, plaquetas 64.000/mm³, LDH: 525 U/L, reticulócitos 60.200/mcl (2,02%), prova de coombs direto negativa, hipogamaglobulinemia e Beta-2-microglobulina de 8.834. Sorologias para HIV, HBV, HCV e sífilis negativas. Biópsia de linfonodo cervical com anatomopatológico e perfil imuno-histoquímico compatíveis com linfoma linfocítico de pequenos linfócitos B(LLC). LLC/LLP confirmados na medula óssea, com infiltração difusa por pequenos linfócitos e imunofenotipagem periférica que identificou 90% da população composta por células B maduras, que expressaram CD19, CD22fraco, CD20fraco, CD23, Bcl2, CD24fraco, CD200, CD45forte, IgM de membrana e CD5; 30% expressam CD38. Negativas para FMC7 e CD10. Estádio inicial RAI IV, Bidet C. Iniciou esquema CVP em março/2014 (ciclofosfamida, vincristina e prednisona), quatro ciclos no total. Por pouca resposta ao tratamento inicial e pouca performance clínica, manteve tratamento com clorambucil e dexametasona semanal a partir de maio de 2014, com plano de iniciar tratamento com rituximabe, após liberação judicial. Paciente recebeu duas aplicações de rituximabe em março e abril de 2015. Em maio do mesmo ano, internou com sintomas de progressão da doença, aumento de linfonodos cervicais, perda de peso e febre persistente. Rebiopsiado linfonodo cervical, com anatomopatológico que evidenciava parênquima linfonodal completamente alterado por infiltração de pequenos linfócitos, apresentava, focalmente, células vacuolares e de Reed-Sternberg, positivas para CD30 e CD15, compatíveis com transformação de linfoma de pequenas células para LH clássico. Como o paciente apresentava ECOG 3, optou-se por não fazer quimioterapia agressiva e mantê-lo em regime ambulatorial com ciclofosfamida 1 comprimido por dia e dexametasona 20 mg semanal. **Conclusão:** Relatamos este caso por ser uma situação clínica incomum e que exige experiência do patologista, por se tratar de uma doença com características mistas no anatomopatológico que dificultam o diagnóstico.

462. TROMBOCITEMIA ESSENCIAL E LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA: UMA RARA ASSOCIAÇÃO

Barbosa ADP, Matos AV, Caldas MGG, Tavares RR, Silva GF

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

Introdução: A trombocitemia essencial (TE) é uma neoplasia mieloproliferativa crônica caracterizada por proliferação megacariocítica sustentada, associada à trombocitose, na ausência de qualquer causa secundária de plaquetose. A mutação JAK2 V617F é implicada na patogênese das desordens mieloproliferativas crônicas e está presente em cerca de 50% dos casos de TE. A leucemia linfocítica crônica (LLC) é uma doença linfoproliferativa crônica, é a leucemia mais comum em adultos no mundo ocidental. Há elevada incidência de neoplasias secundárias associadas a LLC, dentre tumores sólidos e neoplasias hematológicas. No entanto, a associação com TE é rara. **Objetivo:** Relatar o caso de um paciente com apresentação concomitante de TE e LLC do serviço de hematologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (HC/UFG). **Relato de caso:** TLS, 68 anos, natural de Barra do Garças (MT), procedente de Goiânia (GO), casado, operador de máquinas. Encaminhado ao serviço de hematologia do HC/UFG para investigação de trombose arterial, diagnosticada sete anos antes, e trombocitose. Hemograma apresentava leucocitose com linfocitose (15.000/mm³ e 7.050/mm³, respectivamente) e plaquetose (700.000/mm³). Miелоgrama com medula óssea (MO) hiperclular e plaquetogênese acentuada, sugere doença mieloproliferativa crônica. Biópsia de MO normocelular, com aumento do número de megacariócitos, grandes e hiperlobados com fibrose grau I. Mutação JAK-2 positiva e BCR-ABL negativo. Feito diagnóstico de TE de alto risco e iniciado tratamento com hidroxiureia e AAS, com boa resposta terapêutica. As imunofenotipagens de MO e sangue periférico, ao diagnóstico, evidenciaram células de linhagem linfóide B CD5+ e clonais para cadeia kappa das imunoglobulinas, compatível com leucemia linfocítica crônica de células B, com tomografias de pescoço, tórax e abdome normais, diagnosticou-se LLC em estágio A de Binet. Permaneceu em acompanhamento no serviço, manteve-se assintomático, com tratamento medicamentoso exclusivo para TE. Imunofenotipagens seriadas de sangue periférico foram feitas, mostraram aumento lento e progressivo dos linfócitos B CD5+ clonais para cadeia kappa e atualmente apresenta adenomegalias em tomografia de pescoço e esplenomegalia em tomografia de abdome, que definem estágio B de Binet. Será iniciado o tratamento específico para LLC. **Discussão:** A ocorrência simultânea de TE e LLC é um evento raro, com 12 casos relatados na literatura. Está sob investigação se essas duas desordens clonais são achados puramente coincidentes de diferentes origens ou se são causadas por alteração genética primária. Assim, são necessários mais estudos para esclarecer se a associação de LLC e TE ocorre ao acaso ou se há uma célula-tronco comum, pré-mutação JAK2, afetada por um evento molecular inicial, mas que ainda seria capaz de se diferenciar em linhagens diferentes. **Conclusão:** O caso descrito instiga a curiosidade científica e permite margem para novos estudos e revisões de literatura, a fim de explicar associações raras entre as patologias hematológicas.

463. LINFOMA LINFOCÍTICO DE PEQUENAS CÉLULAS/ LEUCEMIA LINFOIDE CRÔNICA-LLC-B EM PACIENTE ATENDIDO NO HOSPITAL GETÚLIO VARGAS, RECIFE (PE)

Barros RS^{a,b}, Mendes MKM^a, Mendona RN^c, Hadj-Idris BRL^{a,b}

^a Faculdade Associação Caruaruense de Ensino Superior (ASCES), Caruaru, PE, Brasil

^b Grupo de Pesquisa em Patologia e Doenças Infecciosas Transmissíveis e Não Transmissíveis (GPPATO), Brasil

^c Hospital Getúlio Vargas (HGV), Teresina, PI, Brasil

Introdução: Os linfomas são neoplasias que iniciam a partir da transformação maligna de um linfócito normal, que fica predominantemente em tecidos linfóides. O linfoma não Hodgkin do tipo linfoma linfocítico/Leucemia linfóide crônica é uma doença linfoproliferativa clonal de células B, sua morfologia constitui-se por linfócitos pequenos com núcleo redondo e cromatina condensada e quantidade variável de linfócitos maiores. A imunofenotipagem apresenta os seguintes antígenos: CD20, CD23, CD5, CD19 e CD45 positivos. A citogenética mostra anormalidades cromossômicas, incluído a trissomia do cromossomo 12, a deleção do 11q e anormalidades 13q14 e 14q32. O quadro clínico apresenta-se indolente e a doença é considerada incurável com a terapia atualmente disponível; apesar de indolente, alguns casos reportam: astenia, anorexia, perda de

peso nos últimos seis meses, febre superior a 38°C, suores noturnos, aumento dos gânglios linfáticos, dores abdominais. **Objetivo:** Relatar um caso de linfoma linfocítico de pequenas células/Leucemia linfóide crônica-B, em um paciente atendido no hospital Getúlio Vargas (HGV), Recife (PE). **Relato de caso:** Paciente LSS, sexo masculino, 47 anos, residente em João Pessoa (PB), deu entrada em 5 de setembro de 2014 na emergência do HGV, com linfonodos cervicais, axiais e inguinais visíveis e palpáveis, queixava-se de cefaleia, febre, perda de peso sem explicação, astenia nos últimos seis meses, que piorou no último mês, náuseas, tosse produtiva e diarreia havia uma semana; no exame físico apresentou-se consciente, hidratado, corado e afebril (37°C), PA: 100 x 70 mm/dL. Na anamnese constatou-se que o paciente trabalhava havia muitos anos com gasolina e era motorista de carro-tanque. Além disso, diariamente estava em contato com agente químico (benzeno) por inalação; foram solicitados alguns exames laboratoriais e de imagem. O hemograma apresentou discreta anemia no eritrograma e no leucograma apresentou leucocitose, com neutropenia relativa e linfocitose relativa e absoluta com presença de linfócitos maduros normais, plaquetas normais. No exame de ultrassonografia do abdome total o paciente apresentou nódulos na região do hilo hepático, próximo à cabeça do pâncreas e também próximo à artéria aorta e veia cava inferior, na altura da cicatriz umbilical, que formavam aparentes conglomerados que correspondem a linfonodomegalias. A anamniopatologia de uma amostra de linfonodo cervical verificou proliferação linfóide atípica em tecido fibroadiposo e esses achados morfológicos foram sugestivos de linfoma não Hodgkin difuso de pequenas células ou linfoma não Hodgkin indolente. A imunohistoquímica apresentou CD45: +, CD3: -, CD23 +, BCL2: -, CD20: +, CD10: -, CD5: inconclusivo. O perfil imunohistoquímico associado aos achados morfológicos confirmou linfoma linfocítico/Leucemia linfóide crônica (LLC). **Conclusão:** A exposição a certos agentes químicos (xenobióticos) pode levar a quadros cancerígenos, segundo Machado, JM et al., e o benzeno por si só é um agente leucemogênico e altamente cancerígeno, apresenta tropismo por tecidos gordurosos. Logo, a medula óssea é o principal órgão alvo de sua toxicidade, sofre mutações celulares que levam ao desenvolvimento do câncer.

464. POTENCIAL DE USO DOS NOVOS MEDICAMENTOS EM LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA. SEGUIMENTO DE 72 PACIENTES EM 11 ANOS

Hyppolito JE, Ribeiro AAF, Oliveira CR, Hamerschlag N

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

A leucemia linfocítica crônica (LLC) é uma doença linfoproliferativa que acomete, em sua grande maioria, indivíduos idosos. Muitas vezes esses pacientes não são candidatos ao tratamento padrão com análogo de purina em virtude de apresentar comorbidades ou então evoluir com doença refratária. Para esse grupo de pacientes, os novos agentes terapêuticos têm modificado o panorama da doença. Dentre essas novas opções de tratamento, damos ênfase a dois anticorpos monoclonais: obinutuzumab e ofatumumab, indicados para tratamento em primeira linha de pacientes considerados inaptos aos análogos de purina. Ambos com registro no Brasil autorizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Além da imunoterapia, ganham destaque as drogas-alvo, como ibrutinib e idelalisib. O ibrutinib foi aprovado em fevereiro de 2014 como terapia de resgate em pacientes previamente tratados e em julho de 2014 como terapia de primeira linha para os indivíduos com deleção do braço curto do cromossomo 17 (del 17p). Foi recentemente aprovado no Brasil pela ANVISA. Já o idelalisib foi aprovado pelo FDA em 2014 em associação ao rituximabe, como terapia de resgate em pacientes cujo tratamento com rituximabe em monoterapia seria factível. Em virtude das novas opções de tratamento, principalmente para os pacientes idosos ou aqueles com del 17p (variante agressiva da doença), analisamos em nosso serviço os dados retrospectivos de 72 pacientes entre de 2004 a 2015 com a finalidade de identificar aqueles que se beneficiariam desses novos agentes. A mediana ao diagnóstico foi de 64,7 anos, 52 pacientes do sexo masculino. A mediana de tempo entre diagnóstico e tratamento foi de dois anos (oito dias a 6,7 anos). Vinte e seis pacientes receberam tratamento. Desses, 46% (12) baseado em fludarabina e 50% (13) receberam algum esquema com clorambucil e um paciente recebeu outro tratamento. Dos 26 pacientes que se trataram, até o momento 10 (38,5%) fizeram apenas uma linha de tratamento, oito (30,8%) fizeram duas linhas de tratamento, quatro (15,4%) fizeram três linhas de tratamento e quatro (15,4%) fizeram quatro linhas de tratamento. Ou seja, 16 pacientes recidivaram com necessidade de terapia de resgate e poderiam ter se beneficiado do ibrutinib

ou idelalisib já na primeira recidiva. Do total, 48 pacientes (66,7%) fizeram Fish, foi encontrado del 17p em cinco (8,3%). Desses, apenas um encontra-se em remissão com clorambucil em monoterapia. Um progrediu após terceira linha de tratamento quimioterápico, mas evoluiu para óbito, dois estão atualmente na segunda linha de tratamento quimioterápico e um deles nunca tratou. Todos esses paciente teriam indicação de ibrutinib em primeira linha. Na análise desses dados, vemos que dos 72 pacientes analisados, 20 (27,7%) se beneficiariam dos novos agentes, tanto em primeira linha quanto na recidiva/ refratariedade.

465. CARACTERIZAÇÃO IMUNOFENOTÍPICA DE DOENÇAS LINFOPROLIFERATIVAS CRÔNICAS DE CÉLULAS B MULTICLONAIS

Takao TT, Maekawa YH, Tamashiro N, Silva ACT, Sousa FA, Pfister V, Goncalves MV, Rizzatti EG, Sandes AF

Setor de Citometria de Fluxo, Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: As neoplasias de células B maduras são grupo heterogêneo de doenças que resultam da proliferação e do acúmulo de linfócitos B maduros aberrantes, que geralmente derivam de uma célula B monoclonal. Embora a maioria das doenças linfoproliferativas seja considerada monoclonal, biconalidade foi ocasionalmente referida na literatura, corresponde a aproximadamente 5% dos casos das neoplasias B maduras e que se desenvolvem frequentemente em indivíduos imunocomprometidos. Um estudo detalhado desses relatos revelou que a coexistência de um ou mais clones de LLC requer tratamento precoce, maior incidência de esplenomegalia quando comparados com os pacientes com LLC monoclonais. Esses achados apoiam a hipótese de que, no grupo de pacientes com LLC, a presença de dois ou mais clones de células B (LLC e um segundo não LLC) pode conferir um pior prognóstico. **Objetivo:** Determinar a incidência de casos com dois ou mais clones de células B e estabelecer os diferentes padrões imunofenotípicos dos clones coexistentes. **Material e métodos:** Análise retrospectiva de janeiro/2001 a julho/2015 detectou a presença de 51 casos de doença linfoproliferativa crônica com mais de um clone. Citometria de fluxo de quatro a oito cores foi feita em aspirado de medula óssea ou sangue periférico com o uso de um amplo painel de anticorpos monoclonais: kappa, lambda, CD19, CD20, CD22, CD23, FMC-7, CD200, CD79b, CD10, CD38, CD56, CD11c, CD25, CD103, CD123, CD3, CD4, CD5, CD8, IgM, IgA, IgG, IgM. **Resultados:** A mediana de idade dos pacientes estudados foi de 70 anos (49-92), apenas seis tinham idade inferior a 60 anos e 45% dos casos eram do sexo feminino e 55% do masculino. Foram detectados 103 clones de células B, 50 casos tinham dois clones e um caso tinha três; 38 (74,5%) casos tiveram pelo menos um dos clones com fenótipo similar a LLC, em 17/38 casos todos os clones tinham fenótipo de LLC e os 21 casos restantes apresentavam um clone LLC-símile associado a um ou mais clones não LLC. O clone LLC foi a população predominante em 17 dos 21 casos LLC-símile/não LLC. No caso com três clones, o clone majoritário era de LLC, enquanto os outros dois eram não LLC. Os outros 13 (25,5%) casos restantes foram classificados como não LLC/não LLC, foi possível distinguir um (2%) caso com o imunofenótipo de tricocitoleucemia/Linfoma de células do manto, um (2%) de não LLC/tricocitoleucemia e um (2%) não LLC/Linfoma de células do manto. Alguns achados foram importantes para a identificação dos clones além da expressão de antígenos distintos, como as diferenças de intensidades de fluorescência de cadeia leve kappa, lambda, CD5, CD20, CD79b, IgM e IgD e tamanho celular. **Discussão:** Casos de doença linfoproliferativa crônica multiclonal acometem principalmente indivíduos com idade > 60 anos, com distribuição semelhante entre os gêneros. Clones similares a LLC foram os mais frequentemente encontrados na população estudada, presentes em 75% dos casos. Estudos recentes sugerem que casos multiclonais podem surgir de estimulação antigênica crônica.

466. DOENÇAS LINFOPROLIFERATIVAS PÓS-TRANSPLANTE (PTLD - POST-TANSPLANT LYMPHOPROLIFERATIVE DISORDERS) EM PACIENTES TRASPLANTADOS: UMA EXPERIÊNCIA DE 13 ANOS NO HOSPITAL ISRAELITA ALBERT EINSTEIN

Rocha JDA, Blumenschein DI, Santos C, Helman R, Hamerschlag N

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Doenças linfoproliferativas pós-transplante (PTLD) são complicações fatais de transplantes de órgãos sólidos que têm sido relaciona-

das a infecção pelo vírus Epstein-Barr. A história natural do PTLD varia consideravelmente entre diferentes tipos de órgãos transplantados e complica em até 10% para transplantes de órgãos sólidos. **Objetivo:** Descrever uma experiência única com a multiplicidade de apresentações clínicas de PTLD. **Material e métodos:** Fizemos este estudo para melhor descrever as características e respostas de tratamentos a PTLD após transplante de medula óssea e sólida. Conduzimos a revisão gráfica retrospectiva de recipientes de pulmões, rins, fígado, coração e medula óssea entre 2002 e 2015. Foram identificados 23 casos (0,7%) de PTLD em 3.006 transplantes. **Resultados:** O intervalo médio entre a feitura dos transplantes para o diagnóstico de PTLD foram de 40 (4-126) meses. Idade média foi de 55 anos (12-73) e 73,9% eram homens. PTLD forma monomórfica e linfoma não Hodgkin difuso de grandes células B foram diagnosticados em 52,1%. As outras formas clínicas foram: linfoma de Hodgkin 13%, Burkitt 13%, anaplásico 8,6% e hiperplasia plasmocitária 13%. De todos os pacientes 60,8% eram EBV(+) e 34,7% eram IPI III-IV e apenas um tinha medula óssea infiltrada. O tratamento de PTLD varia de acordo com o estágio e a circunstância clínica, 21,7% foram tratados apenas com rituximabe e 69,5% foram tratados com agentes quimioterápicos associado ao rituximabe. Nove (39,1%) pacientes vieram a óbito. A média de sobrevivência foi de 825 dias e dois anos sobrevida global foram de 57,8% (95% de intervalo de confiança, 31,8%-77%). **Conclusão:** PTLD após transplantes de órgãos sólidos continua a ser um desafio, por causa da frequência dos resultados, da complexidade e dos resultados decepcionantes.

SÍNDROMES MIELODISPLÁSICAS

467. DETECÇÃO DE ALTERAÇÃO ADICIONAL POR ARRANJOS DE POLIMORFISMOS DE NUCLEOTÍDEOS ÚNICOS (SNPA) EM UM CASO DE SMD

Noronha T^a, Chauffaille ML^{a,b}

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

^b Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

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 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, que exerce um papel na gênese da doença. SNPA é um método para avaliação genômica em que o DNA em estudo é hibridado a grande quantidade de sondas polimórficas e não polimórficas e fornece informações de variação no número de cópias (CNV) e cópia neutra de perda de heterozigose (CN-LOH). Métodos que avaliam CNV permitem identificar amplificações e deleções submicroscópicas. CN-LOH, também referida como dissomia uniparental (UPD), ocorre quando duas cópias de um cromossomo ou região cromossômica são idênticas. Este estudo visou a acrescentar ao cariótipo da MO a avaliação por SNPA de um paciente masculino, 76 anos, com diagnóstico de SMD. Os exames investigativos da SMD apresentavam: Hb 10,3 g/dL, Ht 29,3% VCM 91,6 fL, HCM 32,2 pg, CHCM 35,2 g/dL, GB 2.590/mm³ (Neut: 12%, Linf: 47%, Mono: 40% e Baso: 1%), plaquetas 100.000/mm³. Mielograma hiperplásico, GE: 2,8:1, com displasia moderada das séries eritróide e granulocítica. Ferro medular presente, ausência de sideroblastos em anel. Biópsia de MO confirma os achados do mielograma, proliferação reticulínica grau II/III. Cariótipo: 46,XY[15]. SNPA: CN-LOH 21q21.1q22.3. Como controle constitucional foi feito SNPA a partir de DNA de células bucais (CB), que foi comparado com os resultados de MO. Dessa forma, a CN-LOH 21q21.1q22.3 foi classificada como alteração adquirida. A CN-LOH pode surgir durante a evolução clonal e, com isso, resultar em homozigose de uma mutação de um gene supressor tumoral ou oncogene, conjuntamente com a perda do alelo selvagem, ou seja, a duplicação da região cromossômica comprometida e a perda concorrente do outro alelo. Mutações circunstanciais no gene RUNX1 localizado no 21q são encontradas com frequência em casos de SMD (Motomi 2004). A

CN-LOH no 21q, observada neste caso, pode representar o mecanismo responsável pela homozigose da mutação que inativa o gene RUNX1 (Barresi 2010). O RUNX1 atua como fator de transcrição e regula a expressão de genes envolvidos na hematopoese; a mutação nesse gene confere um prognóstico negativo, diminui a sobrevida e aumenta a chance de transformação para LMA. O sequenciamento de genes candidatos em regiões de CN-LOH deve ser considerado prioridade na busca de mutações de genes relacionados com as SMD. As alterações detectadas por SNPA podem trazer uma nova perspectiva em relação ao prognóstico das SMD. No entanto, é necessária a validação desses achados em diferentes coortes de pacientes. Em conclusão, o SNPA adiciona informações novas e relevantes que podem auxiliar na definição de perfis preditivos de progressão. A correlação de anomalias 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.

468. LOSS OF HAI-2/SPINT2 BY METHYLATION PROMOTES SURVIVAL OF LEUKEMIA CELLS

Roversi FM^a, Cury NM^b, Lopes MR^a, Pericole FV^a, Prax MCA^a, Ferro KP^a, Favaro P^a, Yunes JA^b, Saad STO^a

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

^b Centro Infantil Boldrini, Campinas, SP, Brazil

In myelodysplastic syndromes (MDS), clonal disorders characterized by ineffective hematopoiesis and tendency to progress towards acute myeloid leukemia (AML), bone marrow mesenchymal stromal cells (BMMSC) have been shown to present defective hematopoiesis supporting capacity. Likewise, the contribution of BMMSC to MDS pathophysiology and to leukemia initiation/progression warrants further investigation. The HAI-2/SPINT2 gene is an endogenous inhibitor of the hepatocyte growth factor (HGF) activator present in BMMSC. Despite being related to the pathogenesis of several neoplasms due its promoter methylation, the function of HAI-2/SPINT2 in MDS and AML are not well understood. The aims of this study were to evaluate HAI-2/SPINT2 expression in BMMSC and total BM in healthy controls (HD), MDS and AML patients, and in BMMSC treated with 5-Azacytidine (Aza). This study also analyzed the role of HAI-2/SPINT2 knockdown on blast survival, HGF secretion, and cell adhesion in a stromal cell line. Thirty-nine HD and 121 patients (MDS = 72 [low-risk = 46, high-risk = 26], MDS-related changes AML (AML-MRC) = 17, and *de novo* AML = 32), at diagnosis, were included in the study. The HAI-2/SPINT2 gene and protein expression were analyzed by qPCR and western blot. H5S was transduced with lentivirus-mediated shRNA targeting LacZ or HAI-2/SPINT2. Cell survival and cell adhesion, as well as integrin profile, were analyzed by FACS. HAI-2/SPINT2 mRNA were significantly decreased in BMMSC from MDS compared to HD ($p < 0.001$). Similar results were found in total bone marrow: HAI-2/SPINT2 transcripts were significantly decreased in MDS, AML-MRC, and AML patients compared to HD ($p < 0.01$). To investigate whether HAI-2/SPINT2 methylation is responsible for the loss of this gene expression, BMMSC from HD, MDS, and AML patients were treated with Aza, a DNA methyltransferase inhibitor and the first-line treatment for MDS patients. Aza treatment resulted in a significantly up-regulation of HAI-2/SPINT2 mRNA and protein levels in MDS- and AML-BMMSC compared to HD-BMMSC. Interestingly, after co-culture, HAI-2/SPINT2 inhibition resulted in a higher number of viable blasts isolated from AML-MRC and AML patients. As previously reported, HAI-2/SPINT2 knockdown resulted in an increase in the secretion of HGF. This cytokine is known to be overexpressed in plasma from MDS patients, considered a prognostic marker in MDS and AML, and is responsible for cell adhesion. In this manner, an augment in the adhesion between CD34⁺ hematopoietic stem cell (HSC) and HAI-2/SPINT2 silenced MSC was also observed. This prompted analysis of the integrin alpha cell adhesion molecule expression. In HAI-2/SPINT2 silenced MSC and in BMMSC from all patients, a significant augment in CD49b and CD49d integrins expression was noted, responsible for the cell-to-cell interaction. In conclusion, the loss of HAI-2/SPINT2 expression in BMMSC from MDS and AML patients is probably caused by methylation, indicating that this gene is a possible tumor suppressor, which is epigenetically silenced in these diseases. In conclusion, the results suggest that HAI-2/SPINT2 may play a role in HGF secretion deregulation, with consequent alteration in cell adhesion and an important increase in survival/growth of HSC, mainly of the abnormal MDS and AML-HSC. Finally, HAI-2/SPINT2 contributes to the functional abnormalities of microenvironment niche and to cancer progression.

469. APPLICABILITY OF TEN-COLOR FLOW CYTOMETRY SCREENING TUBE FOR HEMATOLOGIC MALIGNANCIES FOCUSED ON MYELODYSPLASTIC SYNDROME AND LYMPHOPROLIFERATIVE DISORDERS

Correia RP^a, Bento LC^a, Nozawa ST^a, Vaz AC^a, Alexandre AM^a, Schimidell D^a, Perin FS^a, Mendes CEA^a, Bacal NS^{a,b}

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

^b Centro de Hematologia de São Paulo (CHSP), São Paulo, SP, Brazil

Flow cytometry (FC) has become an essential tool for diagnosis and monitoring of hematological diseases. It has been possible to develop multiparametric FC in the clinical laboratory. As a result of the partnership between the Laboratory Medicine Program of University Health Network, Canada, and the Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, Brazil, the authors have introduced a screening tube (ST) (ten colors, 14 fluorochrome-conjugated antibodies, and 17 parameters) for screening hematologic malignancies in this center's FC routine. This study discusses the applicability of the 10-color tube for the screening of hematologic malignancies, and mainly the evaluation of dysplasia using score systems, such as Ogata and some criteria of Wells. This prospective study included 102 bone marrow (BM) samples with heterogeneous clinical hypothesis (CH). The samples were stained with a cocktail of antibodies (CD4FITC+smKappaFITC / CD8PE+smLambdaPE / CD3ECD+CD14ECD / CD33PE-Cy5.5 / CD20PE-Cy7+CD56PE-Cy7 / CD34APC / CD19APC-A700 / CD10APC-A750 / CD5PB/CD45PO), and analyzed by Navios Flow Cytometer and Kaluza Software (Beckman Coulter). Before the ST phenotypic study, all the samples were evaluated according to the CH and cytomorphology (CM). The authors evaluated the capacity of the ST to finalize the phenotype study, and 24.5% (25/102) samples did not require complementary tubes. Interestingly, in 5.9% of samples (6/102), the tube could also establish B-cell clonality. In 53% (54/102) samples, the FC study was expanded. In 16.6% (17/102) samples, the FC could detect Ogata score ≥ 3 . Among these samples, 64.7% (11/17) had CM and FC results suggestive of MDS, and 35.3% (6/17) showed dysplastic features only by FC, and this CH was related to myeloproliferative neoplasms and pancytopenia. These results showed good correlation between FC and CM, especially to negatively predict dysplastic features in MDS investigation. In cases in which the Ogata score was ≥ 3 , the FC study was mandatorily expanded in order to evaluate the granulocyte maturation, monocytes according to some criteria of Wells score, and erythrocyte lineage by CD36 and CD71 expression. The screening tube was capable of detecting the majority of the BM cell populations, including aberrant antigen expression and clonality status of B-cells. Although this tube is capable of evaluating T-cells, no abnormal T-cell population was detected. Use of ten-color screening tube improved the assessment of MDS features. It was possible to detect abnormal expression and aberrant markers, and to evaluate maturation of B and myeloid cells using fewer samples, with significant reduction in time and increase in the sensitivity to aid MDS diagnosis.

470. ANÁLISE RETROSPECTIVA DOS ACHADOS DE CARIÓTIPO NAS CITOPENIAS E SÍNDROMES MIELODISPLÁSICAS

Kishimoto RK^a, Ratis CA^a, Figueira SH^a, Borri D^a, Safranauskas RMSO^a, Fernandes PF^a, Santos MFMD^a, Velloso EDRP^{a,b}

^a Laboratório de Técnicas Especial – Genética, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

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

Introdução: As síndromes mielodisplásicas (SMD) compreendem o grupo mais frequente de neoplasias da medula óssea e apresentam como características marcantes o fato de acometer preferencialmente faixa etária elevada, cursar com hiperplasticidade medular e citopenias periféricas. O diagnóstico se baseia na história clínica, em achados de displasia em SP e MO e anormalidades citogenéticas. Segundo a OMS, determinadas anormalidades citogenéticas quando presentes confirmam o diagnóstico (+8, 20q- e -Y são exceções) mesmo na ausência de displasia; enquanto que o cariótipo normal não descarta o diagnóstico. **Objetivo:** Estudo retrospectivo dos achados de cariótipo em amostras encaminhadas por citopenias, que tiveram ou não diagnóstico confirmado de SMD. **Material e métodos:** De 01/2010 a 04/2015, 7.968 amostras deram entrada no laboratório de citogenética do HIAE. Dessas, 2.825 (35,45%) foram

encaminhadas por citopenias ou suspeita clínica de SMD. O diagnóstico final de SMD foi confirmado por morfologia (aspirado ou biópsia de medula óssea) e citogenética, às vezes com auxílio da imunofenotipagem. Casos não confirmados de SMD foram decorrentes da falta de dados clínicos ou laboratoriais, diagnóstico de outras neoplasias mieloides ou outras situações clínicas reacionais. Analisou-se a frequência das anormalidades citogenéticas em todos os casos, nos casos sem e com diagnóstico final de SMD. **Resultados e conclusão:** Dos 2.825 casos, 52,18% eram do sexo feminino, com média de 59 anos (mediana de 64, de 0 a 96), cariótipo anormal em 17,10% dos casos. Dos 426 casos com diagnóstico final de SMD, 44,84% eram do sexo feminino, com média de 67 anos (mediana de 70, de 0 a 96) e cariótipo anormal em 49,64%. Dos 2.245 casos sem diagnóstico confirmado de SMD, 54,12% eram do sexo feminino, com média de 58 anos (mediana de 62, de 0 a 95) e cariótipo anormal em 9,13%. As anormalidades encontradas envolveram todos os casos confirmados de SMD nestas casuísticas são semelhantes aos descritos a literatura. O achado de -Y em casos não confirmados de SMD pode ser reflexo da idade avançada.

471. HIPERATIVAÇÃO IMUNE NAS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICAS

Perazzio ADSB^a, Chauffaille ML^{a,b}

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

^b Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: As síndromes mielodisplásicas são caracterizadas por proliferação clonal de células da medula óssea com hematopoese ineficaz. A patogênese é desconhecida, mas sabe-se que alguns pacientes apresentam manifestações autoimunes e anormalidades na função do sistema imunitário. **Objetivo:** Avaliar a função de célula T em pacientes com SMD. Correlacionar os parâmetros imunes encontrados e comparar com controles. **Material e métodos:** O diagnóstico de SMD foi baseado na classificação da OMS e estratificado nos escores (IPSS, IPSS-R, WPSS). Sangue periférico de 38 pacientes com SMD, 28 controles saudáveis (CS) e 17 com doença autoimune (DAI: composto por lúpus e artrite reumatoide) foram obtidos. Células regulatórias (Treg) foram separadas por *sorting* (citometria de fluxo) e cocultivadas por sete dias com células tefotoras (Tef) em diferentes concentrações (Tef isolada sem estímulo e na presença de fito-hemaglutinina, Tef:Treg:1:1 e Tef:Treg:8:1) para avaliar a supressão mediada pela célula Treg e quantificar a produção de interleucinas (IL2, IL4, IL6, IL10, IL17, TNF α e IFN γ) no sobrenadante de cultura por CBA. Expressão relativa do IRF-1 foi feita por qRT-PCR em Treg periférica e em sangue total e a expressão de Foxp3 foi detectada nas Treg periféricas. Anticorpo antinuclear (ANA) foi avaliado por imunofluorescência direta. Níveis séricos de complemento total (CH100) e C2 foram determinados por imuno-hemólise radial. **Resultados:** O número de Treg ($\times 10^5$ cells) não apresentou diferença entre os pacientes com SMD classificados nos escores prognósticos: IPSS ($p = 0,5$), WPSS ($p = 0,29$) e IPSS-R ($p = 0,6$). Nível de hemoglobina sérica foi menor nos pacientes de alto risco ($7,9 \text{ mg/dL} \pm 1,2$; $p = 0,02$). Não houve diferença no número de Treg ($\times 10^5$ cells) na comparação de cariótipo normal ($5 \pm 0,8$) e anormal ($6,5 \pm 1,2$; $p = 0,12$). Treg ($\times 10^5$ cells) foi maior na SMD ($5 \pm 2,8$) comparado com o CS ($3,1 \pm 2,0$; $p = 0,01$) e DAI ($2,8 \pm 2,4$; $p = 0,01$). Porcentagem de Tef foi similar no CS ($20 \pm 8,3$), SMD ($13,3 \pm 9$; $p = 0,27$) e DAI ($14 \pm 6,8$; $p = 0,98$). Supressão de proliferação da Tef mediada pela Treg foi menor no grupo DAI comparada com o CS ($p = 0,03$) e SMD ($p < 0,01$). A produção de citocinas (pg/mL) detectadas no sobrenadante de cultura foi menor na SMD comparada com a CS e DAI, exceto a IL-17, que foi semelhante entre CS ($16,4 \pm 49,3$) e SMD ($9,1 \pm 95,7$; $p > 0,05$). A expressão relativa do IRF-1: exon 2 ($0,01 \pm 0,015$ vs. $0,001 \pm 0,01$; $p < 0,02$) e 4/5 ($0,10 \pm 0,11$ vs. $0,02 \pm 0,14$; $p < 0,01$) no sangue total foi menor na SMD comparado com DAI. Adicionalmente, a expressão relativa do IRF-1 exon 4/5 na Treg foi maior na DAI ($0,11 \pm 0,11$; $p = 0,005$) comparado com a SMD ($0,07 \pm 0,07$) e CS ($0,02 \pm 0,07$; $p = 0,003$). A expressão relativa de Foxp3 nas Treg foi similar nos três grupos (SMD = $0,06 \pm 0,1$ vs. DAI = $0,04 \pm 0,1$ vs. CS = $0,04 \pm 0,1$; $p = 0,96$). Pacientes com SMD ($46,2 \text{ U/mL} \pm 2,1$) apresentaram menor nível de CH100 do que DAI ($98,2 \text{ U/mL} \pm 1,5$; $p = 0,01$). A positividade do ANA foi maior na SMD do que no CS ($p = 0,029$). **Conclusão:** Os resultados mostram que a supressão de Tef pelas células Treg na SMD foi similar ao controle. Entretanto, o número de Treg no sangue periférico foi maior do que no grupo CS e DAI e sugeriu que a ação

poderia estar exacerbada na SMD. Uma hipótese seria que esse aumento ocorreria secundariamente, numa tentativa de controlar a hiperativação imunitária. Curiosamente, a produção de citocinas foi prejudicada globalmente em SMD, revela um possível esgotamento do sistema imunitário, enfatizado por alto consumo de complemento.

472. TRATAMENTO DA SÍNDROME DO 5Q- COM LENALIDOMIDA: RELATO DE CASO

Cliquet GB^a, Fujiki RHM^b, Pugliesi TB^b, Filho IF^b, Lucena RV^b, Corvelloni L^b, Campos FM^b, Takao GM^b, Cliquet MG^b

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

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

Introdução: As síndromes mielodisplásicas (SMD) compreendem um espectro de doenças mieloides clonais (neoplásicas) que acometem preferencialmente indivíduos idosos e se caracterizam por hematopoiese ineficaz, citopenias, distúrbios qualitativos de uma ou mais linhagens de células do sangue periférico, anormalidades cromossômicas e uma predileção variável de evolução para leucemias mieloides agudas. A SMD pode surgir como doença primária (*de novo*), de causa desconhecida, ou secundária, após tratamento radioterápico ou com quimioterapia. A análise do cariótipo de pacientes com SMD auxilia na escolha terapêutica. As anormalidades mais frequentemente observadas incluem a deleção do braço longo do cromossomo 5 (5q-), trissomia do 8 (+8), monossomia do cromossomo 7 (-7), deleção do braço longo dos cromossomos 11 (11q-), 20 (20q-), 7 (7q-) e deleção do braço curto do cromossomo 12 (12p-). O tratamento é tradicionalmente baseado em terapia de suporte, como transfusões, eritropoietina, fatores estimuladores de colônia de granulócitos, mas a introdução de novas drogas mudou as perspectivas de tratamento. A lenalidomida é usada nos Estados Unidos e na União Europeia, mais ainda não foi aprovada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para venda no Brasil. Nos países em que ele foi aprovado, sua indicação terapêutica fica reservada para o tratamento do mieloma múltiplo e nas síndromes mielodisplásicas 5q-. Os pacientes tratados com lenalidomida apresentam redução da necessidade transfusional, além de marcante ganho na sobrevida entre os que apresentam resposta citogenética. Recentemente, foram publicados dados a respeito da qualidade de vida em pacientes portadores de SMD, com melhoria para aqueles tratados com lenalidomida. **Objetivo:** Relatar o uso do fármaco lenalidomida por um paciente portador de SMD com a síndrome 5q-, avaliar o impacto na necessidade transfusional. **Material e métodos:** As informações foram obtidas por meio de revisão do prontuário e revisão da literatura. **Relato de caso:** Paciente de 64 anos, sexo masculino, com IAM e revascularização do miocárdio prévios, encaminhado por seu cardiologista para apresentar anemia (8,2 g/dL) macrocítica (VCM = 109fl). Série branca e plaquetária normais. Após investigação para hemólise, carência de B12, ácido fólico e ferro sem anormalidades, foi solicitada avaliação de medula óssea, que revelou hiperplasticidade (relação G/E = 4/1), aumento de mieloblastos e prómielócitos e cariótipo mostra 46XY del(5)(q15q33)(6) e 46XY[14]. Prescrita lenalidomida (10 mg VO/dia) em ciclos de 21 dias com intervalo de uma semana. Desde a primeira consulta até o início do tratamento, o paciente recebeu 16 unidades de concentrados de hemácias, ou seja, duas unidades por mês. Após dois ciclos de lenalidomida, observou-se elevação da hemoglobina, sem transfusões, chegou a 12,3 g/dL. Apresentou, no entanto, redução de neutrófilos (970/mm³) e de plaquetas (107.000/mm³). Até o momento não houve necessidade de modificação da dose prescrita. **Conclusão:** O paciente apresenta excelente resposta ao tratamento e evita os riscos do tratamento de apoio. O uso do fármaco pode melhorar a qualidade de vida e a sobrevida dos pacientes portadores da síndrome 5q, com vistas à redução de transfusões de sangue. Evita, assim, a sobrecarga de ferro e ainda, de acordo com a literatura, pode diminuir a taxa de transformação em LMA.

473. DIMINUIÇÃO DE SUPRESSÃO CELULAR ASSOCIADA COM HIPERATIVAÇÃO IMUNE NA AVALIAÇÃO PROSPECTIVA DAS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICAS

Perazzio ADSB^a, Chauffaille ML^{a,b}

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

^b Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: As síndromes mielodisplásicas são caracterizadas pela proliferação clonal de células da medula óssea com hematopoese ineficaz. Alguns pacientes apresentam fenômenos autoimunes e anormalidades do sistema imunitário e essas permanecem inexplicadas na progressão da doença. **Objetivo:** Determinar a função de supressão celular das tregulatórias e aspectos de sistema imune em pacientes com SMD em dois períodos: tempo zero e 12 meses. **Material e métodos:** Sangue periférico de 38 pacientes com SMD foi obtido inicialmente (T0) e após 12 meses (T12). Células tregulatórias (Treg) foram separadas por *sorting* (citometria de fluxo) e cocultivadas com as células tefetoras (Tef) por sete dias em diferentes concentrações (Tef isolada com fitohemaglutinina [Tef+PHA], Tef:Treg:1:1 e Tef:Treg:8:1) para avaliação de supressão mediada por célula Treg e quantificação da produção de interleucinas (IL2, IL4, IL6, IL10, IL17, TNFα e IFNγ) no sobrenadante de cultura celular por CBA. A expressão relativa do gene IRF-1 (gene regulador do interferon: éxons 2 e 4/5) foi detectada por qRT-PCR em células Treg periféricas e sangue periférico e a expressão relativa do Foxp3 foi detectada em Treg periféricas. **Resultados:** O número de Treg x 10⁵ (T0 = 5,6 ± 2,8 vs. T12 = 4,8 ± 2,6; p = 0,3) e a porcentagem de Tef (T0 = 16,8 ± 9,5 vs. T12 = 13,1 ± 6,3; p = 0,06) não mostrou alteração após 12 meses. Cocultura de Treg:Tef 1:1 mostrou aumento de proliferação de Tef no T12 (41,9 ± 3,1) vs. T0 (28,2 ± 4,7; p = 0,02). A produção de citocinas (pg/mL) no sobrenadante de cultura foi maior após 12 meses: Tef + PHA (IL2: p = 0,04; IL4: p = 0,01; IL6: p < 0,01; IL10: p = 0,01; TNF: p = 0,02; INF: p < 0,01; IL17: p < 0,01), Tef:Treg:1:1 (IL2: p = 0,01; IL4: p = 0,01; IL6: p < 0,01; IL10: p < 0,01; TNF: p = 0,02; INF: p < 0,01; IL17: p < 0,01) e Tef:Treg:8:1 (IL2: p = 0,85; IL4: p = 0,13; IL6: p = 0,01; IL10: p < 0,01; TNF: p = 0,08; INF: p = 0,02; IL17: p < 0,01). A expressão gênica relativa do éxon 4/5 do IRF-1 foi maior no sangue total (T0 = 0,02 ± 0,14 vs. T12 = 0,99 ± 0,2; p < 0,01) e na Treg (T0 = 0,07 ± 0,07 vs. T12 = 0,14 ± 0,08; p < 0,01) após 12 meses. Entretanto, a expressão do éxon 2 apresentou-se aumentada somente no sangue total (T0 = 0,002 ± 0,01 vs. T12 = 0,01 ± 0,01; p < 0,01), enquanto que a expressão gênica do Foxp3 na Treg não apresentou diferença (T0 = 0,06 ± 0,1 vs. T12 = 0,07 ± 0,1; p = 0,57). Interessantemente, houve uma moderada correlação positiva entre Foxp3 e IRF-1 = éxon 4/5 (R = 0,659; p < 0,01). **Conclusão:** O aumento da proliferação de Tef e da produção de citocinas com a progressão da doença sugere pioria na habilidade de supressão da Treg e pode estar relacionada à disfunção de inibição por contato e da produção de citocinas. A redução inicial da expressão do IRF-1 em pacientes com SMD evoluiu com aumento importante durante a progressão da doença. Esse gene é um importante supressor tumoral e a sua baixa expressão pode estar associada à progressão da doença com pior prognóstico. Além disso, o IRF-1 está envolvido em algumas disfunções imunes e sua alta expressão foi descrita em paciente com SMD e manifestações autoimunes. Esse aumento de expressão pode estar associado a aumento de produção de interleucinas como o IFN. Em ratos o IRF-1 inibe a expressão do Foxp3 nas células Treg. Entretanto, nossos resultados mostram uma correlação positiva do IRF-1 (éxon 4/5) e Foxp3. Isso pode ser explicado pela maior expressão do IRF-1 em relação ao Foxp3 nos pacientes com SMD ao longo da progressão da doença.

474. RESPOSTA HEMATOLÓGICA E CITOGENÉTICA COMPLETA À ERITROPOIETINA RECOMBINANTE HUMANA EM PACIENTE COM SÍNDROME MIELODISPLÁSICA DE ALTO RISCO: RELATO DE CASO

Gabe C, Loureiro FZ, Velloso EDRP, Buccheri V, Lima WM

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

Introdução: o uso de eritropoietina recombinante humana em pacientes com síndrome mielodisplásica (especialmente naqueles com risco intermediário-baixo pelo escore IPSS) tem proporcionado consistentes avanços no manejo da anemia relacionada à doença. No entanto, o aumento dos níveis de hemoglobina até o desaparecimento das necessidades transfusionais ocorre em uma proporção variável nos pacientes. Raramente observa-se sucesso terapêutico com obtenção de normalização dos níveis hematómétricos. Relatamos o caso de um paciente com síndrome mielodisplásica que obteve reversão do quadro inicial de pancitopenia e normalização do cariótipo após o tratamento isolado com eritropoietina recombinante humana. **Relato de caso:** B.C.M, 60 anos, sexo masculino, branco, com diagnóstico prévio de mieloma múltiplo, tratado com seis ciclos de quimioterapia (protocolo VAD – Vincristina, Adriamicina e Dexametasona) e transplante autólogo de medula óssea, evoluiu após nove anos com quadro de equimoses em membros inferiores

e gengivorragia. Exames laboratoriais realizados na ocasião evidenciavam pancitopenia (hemoglobina: 6,2; VCM: 94; leucócitos: 4750; neutrófilos: 1900; plaquetas: 30 mil). Foi realizado mielograma, que mostrou intensa disgranulopoese, 2,4% de eritroblastos e presença de 8% de células blásticas, sugerindo diagnóstico de síndrome mielodisplásica AREB1. Um estudo imunofenotípico mostrou anormalidades na série granulocítica (alteração nas curvas de maturação CD11b/CD13; CD15/CD16) e cariótipo mostrando t(3;7) (p25;q36) em todas as metáfases analisadas. Definiu-se, portanto, o diagnóstico de síndrome mielodisplásica de risco intermediário-2 pelo escore IPSS, alto risco pelo escore IPSS-R e alto risco pelo escore WPSS. Na ocasião, paciente apresentava alta necessidade transfusional. Enquanto o paciente aguardava avaliação para transplante de células-tronco hematopoéticas, foi iniciado tratamento com eritropoetina recombinante humana 40.000 UI por semana (nível basal não disponível). Após cerca de seis semanas de tratamento, paciente evoluiu com normalização completa do hemograma, independência transfusional, melhora dos achados morfológicos medulares (33% de eritroblastos e redução no percentual de células blásticas), normalização da curva de maturação granulocítica na imunofenotipagem e do cariótipo, apresentando atualmente hemoglobina: 13; VCM: 96; leucócitos: 7570; neutrófilos: 4100 e plaquetas: 197mil. **Conclusão:** Poucos são os trabalhos existentes na literatura médica que relatam resposta ótima ao uso de eritropoetina recombinante humana em pacientes com síndrome mielodisplásica, com manutenção da resposta até mesmo após a suspensão da medicação. Contudo, apesar de extremamente raro, tal êxito parece ocorrer em alguns pacientes, sugerindo a necessidade de realização de seguimento a longo prazo para observação da evolução destes pacientes e de estudos adicionais para avaliação deste fenômeno.

475. EPIGENETIC IMPACT OF QUERCETIN TREATMENT IN APOPTOSIS PATHWAY

Prax MCA, Maso V, Torello CO, Saad STO

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

Epigenetic changes play a crucial role in hematological malignancies, and the protein network that regulates these mechanisms offers potential pharmacologic regulation. Quercetin (Qu) is one of the main flavonoids present in vegetables, fruit, and propolis, and is believed to exert antitumoral effects through several mechanisms: acting as antioxidant, as an apoptosis inducer, as an anti-inflammatory agent, and as a chromatin remodeler. The present study evaluated the effect of Qu treatment on DNA methylation, post-translational histone modifications, and miRNA expression profile of genes related to the apoptosis pathway. This study was performed *in vivo* in a human xenograft acute myeloid leukemia (AML) model, and *in vitro* using the P39 cell line (AML transformed from myeloid dysplastic syndrome [MDS]). Among highly methylated genes, Qu induced modest demethylation of the pro-apoptotic BCL2L11, DAPK, HRK, and TNFRSF25 genes. Qu up-regulated the expression profile of 63% (n = 17) and 24% (n = 4) (*in vitro* and *in vivo*, respectively) of the miRNAs evaluated. Of these, 42% (n = 7) and 100% (n = 4) corresponded exclusively to miRNAs that target anti-apoptotic genes and to miRNAs that have been demonstrated to have pro-apoptotic functions, respectively. Moreover, it was observed that cells treated with Qu (50 µM) for 48 h showed an increase of two-fold to 15-fold for histone 3(H3ac) and 4(H4ac) acetylation in the promoter region of 96% (n = 80) of the genes evaluated. In summary, these data suggest that the induction of apoptosis by Qu is mediated in part not only through changes in the methylation status, but also by increasing H3ac and H4ac in the promoter regions of genes related to this pathway. Both events might contribute to favoring the transcription of the genes. Furthermore, Qu might induce programmed cell death by up-regulation of miRNAs that target anti-apoptotic genes.

476. O CARIÓTIPO É VARIÁVEL DEFINIDORA DE PROGNÓSTICO NAS NEOPLASIAS MIELOIDES SECUNDÁRIAS: ESTUDO DE 126 CASOS SUL-AMERICANOS

Velloso ED^a, Tanizawa RS^a, Leal AM^a, Lima WM^a, Kornbliht L^{b,c,d}, Mattos AE^{d,e}, Arbelvide J^{d,f}, Iastrebner M^{d,g}, Flores MG^{d,h}, Belli C^{d,g}

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

^b Serviço de Hematologia, Hospital de Clínicas, Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina

^c Servicio de Hematología, Hospital Italiano La Plata, La Plata, Argentina

^d Em representación del Grupo Argentino de SMD, Sociedad Argentina de Hematología (SAH), Buenos Aires, Argentina

^e Serviço de Hematologia, Hospital Italiano de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

^f Serviço de Hematologia, Centro Médico OSECAC, Buenos Aires, Argentina

^g Serviço de Hematologia, Hospital General de Agudos Carlos G. Durand, Buenos Aires, Argentina

^h Laboratório de Genética Hematológica, Instituto de Medicina Experimental (IMEX), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Academia Nacional de Medicina (ANM), Buenos Aires, Argentina

Introdução: Neoplasias mieloides secundárias (NM-s) (mielodisplasias, neoplasias mieloproliferativas e leucemias mieloides agudas) compreendem um grupo de doenças clonais mieloides que ocorrem após tratamento de doenças prévias com quimio e/ou radioterapia (NM relacionadas à terapêutica), após aplasia medular ou tratamento imunossupressor prolongado. São doenças heterogêneas e o estudo de fatores de prognóstico pode auxiliar na condução clínica destes pacientes. **Casística e métodos:** Foram avaliados 126 pacientes portadores de NM-s, 59 procedentes do Registro Argentino de Enfermidades Hematológicas e 67 do Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da FMUSP, Brasil. Os pacientes foram avaliados de acordo com esquemas terapêuticos para tratamento da doença prévia (QT, RT, TCTH-auto e drogas imunossupressoras), tipo de doença prévia (oncohematológica, não oncológica, tumor sólido e anemia aplástica) e período de latência da doença prévia até a NM-s. Os dados laboratoriais estudados foram: dosagem de hemoglobina, contagem de neutrófilos e plaquetas em sangue periférico, porcentagem de blastos na medula óssea, dosagens de ferritina e desidrogenase láctica séricas. Os subtipos citogenéticos foram classificados de acordo com os definidos no IPSS-R. Foram avaliadas as curvas de sobrevida por Kaplan-Meier, censurando a data do TCTH-alogênico. O teste de log-rank foi utilizado para comparação entre grupos e regressão de Cox pelo método de Foward Stepwise para análise multivariada. **Resultados:** A mediana de idade foi de 61 anos (4-88), 69 pacientes (54,8%) do sexo masculino. A doença prévia mais frequente foi a onco-hematológica (39,7%), seguida de tumores sólidos (35,7%), a mediana de latência foi de 68,5 meses (1,4-763,2). Na terapia para NM-s, 19 pacientes foram submetidos ao TCTH alogênico e 35 utilizaram hipometilantes. A mediana de seguimento foi de 18 meses (1-118), durante o qual 74 pacientes foram a óbito, com mediana de sobrevida global de 34,8 meses. Na análise invariável, os parâmetros associados à sobrevida foram: idade 60 anos (p = 0,024), doença prévia (p = 0,002), tipo de tratamento da doença prévia (p = 0,027), nível de hemoglobina estratificado por sexo (p = 0,041), de plaquetas (p = 0,003) e de neutrófilos (p = 0,020), nível de ferritina 700 ng/mL (p = 0,002) e anormalidades citotípicas definidas pelo IPSS-R (p < 0,001). O nível sérico de DHL (p = 0,178) e porcentagem de blastos em medula óssea (p = 0,082) não apresentou significância. A análise multivariada mostrou o subtipo de cariótipo definido pelo IPSS-R (p < 0,001) como fator independente para prognóstico, havendo tendência marginal do tipo de tratamento da doença prévia (melhor para radioterapia, p = 0,046). **Conclusão:** Estes dados corroboram estudos de outros centros, mostrando que nas NM-s, à semelhança das SMD *de novo*, a citogenética tem papel fundamental na estratificação do prognóstico.

477. PTI CRÔNICA COMPLICADA COM SMD: RELATO DE CASO

Almeida MNCS, Barros MPB, Madeira PNM, Silva MM, Lara LA, Souza MMRS, Oliveira HM, Costa AL, Lodi FM, Muzzi GC

Hospital Felício Rocho, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: MCS, 73 anos, sexo feminino, em jan/1992 iniciou equimoses, petéquias difusas, menometrorragia, artralgia em grandes articulações, disfagia e fenômeno de Raynaud, plaquetopenia de 9.000/mm³, obtendo diagnóstico hematológico de púrpura trombocitopênica imune (PTI) secundária e, concomitantemente, diagnóstico reumatológico de esclerodermia sistêmica através de biópsia de músculo e pele. Iniciou tratamento com corticoide, sendo responsiva a altas doses, porém evoluiu com

recaída precoce da plaquetopenia ao reduzir a dose do hormônio, necessitando associação deste com azatioprina. Mesmo assim, ocorreram períodos de plaquetopenia severa, tendo também usado vincristina (3 doses), ciclofosfamida dose baixa e danazol em 1993. Paciente cursou nos anos subsequentes com plaquetopenia crônica e controle irregular com hematologista e reumatologista, se automedicando com doses elevadas de corticoide intermitente e azatioprina contínua prolongadamente, sofrendo importantes efeitos colaterais (fratura de colo do fêmur, hipertensão arterial, catarata, dislipidemia e gastrite crônica). **Casística e métodos:** Retornou acompanhamento hematológico em abril/2003 severamente plaquetopênica, sendo esplenectomizada; teve abscesso na loja esplênica e trombose venosa profunda extensa na coxa e panturrilha em MIE no pós-operatório imediato, mantendo-se com plaquetopenia refratária. Voltou a se automedicar com corticoide e azatioprina, comparando raramente às consultas médicas até out/2014, quando introduziu eltrombopag e suspendeu uso das outras medicações. Iniciou dose 50 mg/dia com ajuste para 75 mg/dia para sustentar plaquetas acima 100.000/mm³. Em mar/2015, apresentou quadro de fraqueza e tonturas com queda da própria altura, exames Hb 5.4, Lg 6980, diferencial normal e plaquetas 1.000/mm³; recebeu transfusões de plaquetas e hemácias e pulsoterapia com corticoide, com aumento das plaquetas. **Resultado:** A reavaliação hematológica diagnosticou anemia ferropênica e mielodisplasia – BCI: hipoplasia global com distúrbios da maturação da série eritrocítica e distúrbios da topografia da série megacariocítica; mielograma: amostra hipocelular, SE com maturação normoblastica, SG com maturação normoblastica, SL visualizado 20% de linfócitos de aspecto maduro, SM vistos megacariócitos em número normal com produção plaquetária evidente, 0,8% mieloblastos, cariótipo: 46 XX del(7) (q22q32) [9], 46XX [11]. Atualmente, está novamente sustentando plaquetas acima de 100.000/mm³ em uso de eltrombopag 50 mg/dia. **Conclusão:** Infelizmente nos deparamos diariamente com falta de aderência ao tratamento e automedicação, isso implica em aumento de efeitos colaterais de drogas, refratariedade das doenças, e neste caso, o uso abusivo e prolongado (mais de 20 anos) da Azatioprina induziu alteração clonal da célula-tronco hematopoiética, resultando em mielodisplasia secundária, de alto risco de transformação leucêmica e sabidamente refratária ao tratamento.

478. ANÁLISE MOLECULAR POR SEQUENCIAMENTO DIRETO DO ÉXON 1 DO GENE FOXO3 EM INDIVÍDUOS COM MIELODISPLASIA

Freitas PC^a, Monteiro FS^a, Junior OR^b, Nogueira ML^b, Fett-Conte AC^b

^a Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, SP, Brasil

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

As síndromes mielodisplásicas (SMD) ou mielodisplasia constituem um grupo heterogêneo de doenças em células-tronco hematopoéticas clonais caracterizadas por displasia morfológica e hematopoese ineficaz levando a citopenias no sangue periférico. A SMD é reconhecida por apresentar risco de progressão para leucemia mieloide aguda e é classificada em sete categorias pela Organização Mundial de Saúde. Ela afeta principalmente os idosos, e apesar de sua prevalência estar aumentando, a incidência anual é estimada em cerca de 2-12 casos por 100.000 indivíduos na população em geral e até 50 casos por 100.000 em pessoas com 70 anos ou mais. Atualmente, novos estudos estabeleceram uma associação entre anormalidades moleculares e a heterogeneidade fenotípica da SMD, e alguns genes estão também associados à etiologia e prognóstico da mielodisplasia. O gene FOXO3, um supressor de tumor, é um dos mais expresso em tecido hematopoiético normal, apesar de não previamente estudado em SMD. As alterações neste gene podem, portanto, resultar na hematopoese anormal. O objetivo deste estudo foi investigar mutações e polimorfismo no éxon 1 do gene FOXO3 em células da medula óssea de pacientes com diagnóstico de qualquer tipo de SMD. O DNA foi extraído a partir da medula óssea, a amplificação do gene foi obtida por reação da cadeia da polimerase e realizada o sequenciamento direto. Não foram detectadas mutações no éxon 1, mas o polimorfismo 159C > T foi detectado em 26 (26%) dos 100 pacientes e em 16 (16%) de 100 controles saudáveis (não estatisticamente significativo). Mutações no éxon 1 do FOXO3 e o polimorfismo observado não parecem estar associados com SMD. Este último ainda parece ser um achado comum na população em geral. No entanto, a frequência desse polimorfismo e estudos nos outros éxons

deste gene requer uma investigação mais aprofundada em mais pacientes antes de se excluir uma possível relação com o SMD. **Palavras-chave:** Síndrome Mielodisplásica; FOXO3; Sequenciamento direto.

479. MIELODISPLASIA E SÍNDROME DE SWEET: RELATO DE CASO

Almeida MNCS, Madeira PNM, Barros MPB, Lara LA, Silva MM, Souza MMRS, Oliveira HM, Costa AL, Muzzi GC, Lodi FM

Hospital Felício Rocho, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: MEAR, 61 anos, feminino, avaliada por hematologista em 2010 após AVCI sem sequelas, em vigência de reposição hormonal e tabagismo, pesquisa de trombofilia congênita negativa. História pregressa de tabagismo, hipotireoidismo, plaquetopenia e leucopenia leves crônicos, FAN + 1:160 desde 2005, sem critérios reumatológicos para colagenose sistêmica. **Material e métodos:** em nov/2011, a paciente foi diagnosticada com SMD (síndrome 5q-): Hgb 12.9, Lg 2400, neu 876, Pl 109.000 mielograma: hiper celular com diseritropoiese e desgranulocitopoiese moderadas, 4,2% mieloblastos, cariótipo: 46XX, del (5q) [14], 46XX [6]. Manteve acompanhamento bimensal sem tratamento específico, sem intercorrências clínicas e hemograma estável. Em set/2014, apresentou infecção urinária recorrente concomitante com surgimento de lesões vesiculosas e eritematosas na pele, principalmente em MMSS, diagnosticada como Síndrome de Sweet (SS) por biópsia de pele, e exames com Hgb 10.4, Lg 1440, N 210, Pl 17.000, novo mielograma: intensa diseritropoiese em todas as séries medulares com 17% mieloblastos; na imunofenotipagem: presença de 14% de blastos de linhagem mieloide e presença de granulócitos hipogranulares com expressão anômalas de CD 33 e CD 117 com hipótese de mielodisplasia em transformação, cariótipo: 46 XX, del (5) [15], 46XX [5], caracterizando SMD em evolução para LMA. Iniciado tratamento com corticoide (para as lesões cutâneas) e azacitidina (para a SMD). Paciente evolui com infecções recorrentes, necessidade de internações frequentes, mantendo neutropenia e plaquetopenia severas com refratariedade a transfusão de plaquetas. Completou 3 ciclos de azacitidina sem resposta hematológica, com piora clínica progressiva e evolução para óbito em fev/2015. **Conclusão:** Esse caso demonstra uma SMD inicialmente classificada como baixo risco de transformação, (síndrome 5q-) com apresentação atípica, sem predominância de anemia, que evoluiu rapidamente para AREB 2 concomitante com o surgimento de síndrome paraneoplásica (SS).

480. A NOVEL ANTISENSE LONG NONCODING RNA MODULATES NR4A1 PROTEIN LEVEL IN MYELOID MALIGNANCIES

Corrocher FA, Castillo AC, Niemann FS, Palodetto B, Roversi FM, Baratti MO, Campos PM, Saad STO

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

Introduction: The advent of whole transcriptome sequencing technologies revealed that most of the human genome is transcribed, producing a large repertoire of long noncoding RNAs (lncRNAs). They are known to participate in epigenetic regulation at different levels and alter the mRNA stability of coding genes, emerging as key players in carcinogenesis. The present study identified a novel unspliced lncRNA that is transcribed from the opposite strand on the NR4A1 gene locus. The tumor suppressor NR4A1 has been associated with the regulation of proliferation in various tumors and shows a reduced expression in myelodysplastic syndrome (MDS). Additionally, the abrogation of this locus in murine models has been shown to cause the development of acute myeloid leukemia (AML). It is hypothesized that lncNR4A1 plays an important role in hematopoietic malignancy pathogenesis, and possibly regulates its coding counterpart. **Methods:** Expression of lncNR4A1 and NR4A1 were evaluated in CD34⁺ cells from bone marrow of normal donors (n = 7) and patients (n = 27; MDS = 14 [low risk = 8, high risk = 6], AML = [AML/MRC] = 4 and *de novo* AML = 9) by qRT-PCR. lncNR4A1 was inhibited with a lentiviral vector system in U937 cells. Apoptosis was evaluated by AnnexinV/PI and the cell cycle analysis was performed applying PI incorporation by flow cytometer analysis. Mitochondrial activity was evaluated with MTT assays. Protein expression levels were evaluated by western blot. **Results:** NR4A1 mRNA was significantly decreased in bone marrow/CD34⁺ from patients

with MDS and AML compared to healthy donors ($p < 0.05$), consistent with previous studies. In contrast, the lnc expression was significantly increased in patients with low-risk MDS (4.60 [0.20-10.05]) and high-risk MDS (8.40 [2.54-16.87]; $p = 0.008$) compared to healthy donors (1.22 [0.02-4.11]). Next, the authors examined the pattern of expression of the non-coding transcript compared with NR4A1 gene expression from each MDS patient and healthy donor. Interestingly, the results showed higher levels of noncoding expression when compared to NR4A1 gene expression in MDS patients; however, noncoding expression was less abundant compared with coding gene expression in all of healthy donors samples (low-risk MDS 3.55 [-6.25 to 14.54]; $p = 0.020$ and high-risk MDS 17.43 [2.15 to 50.17] $p = 0.002$; donors -13.06 [-33.3 to -3.22]). The knockdown of lncNR4A1 did not affect the abundance of NR4A1 mRNA, but unexpectedly increased the NR4A1 protein expression levels. Noncoding depletion reduced significantly the cell viability compared with control cells ($p = 0.007$). In addition, sh-lncNR4A1 induced the increase on the sub-G1 percentage population cells with a subsequent decrease of DNA synthesis S phase ($p = 0.027$) compared with control cells. Moreover, sh-lncNR4A1 increased p21 protein levels, which correlates with G1 phase cell arrest, and with blocking cell growth. This study also detected a slight cyclin A downregulation, which explains the reduction of G1-S transition. No significant difference was found in cell death assay. **Conclusions:** These results showed a post-transcriptional modulation of the NR4A1 by a novel long noncoding RNA and suggested a putative oncogenic role of lncNR4A1 in hematologic malignancy. Since NR4A1 is a potent tumor suppressor for AML and MDS, the inhibition of lncNR4A1 could emerge as a new therapeutic strategy through up-regulation of the NR4A1 protein.

481. INVESTIGAÇÃO DO PADRÃO DE METILAÇÃO DA REGIÃO DA PROMOTORA DO GENE FOXO3 EM INDIVÍDUOS COM SÍNDROME MIELODISPLÁSICA.

Freitas PC^a, Monteiro FS^a, Junior OR^b, Fett-Conte AC^b

^a Instituto de Biotecnologia, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Universidade Estadual Paulista (UNESP), São Paulo, SP, Brasil

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

Síndromes mielodisplásicas (SMD) ou mielodisplasias compreendem um conjunto heterogêneo de doenças hematopoéticas caracterizadas por hematopoese ineficaz, que geralmente apresentam citopenias no sangue periférico, diferenciação celular displásica e propensão ao desenvolvimento de leucemia mieloide aguda. São classificadas em vários tipos e a incidência anual é estimada entre quatro casos por 100.000 pessoas da população em geral, e em até 50 casos por 100.000 indivíduos com idade avançada. Alguns genes já foram relacionados à etiologia das mielodisplasias, por apresentarem alterações epigenéticas que podem resultar em alterações na hematopoese. O processo epigenético também pode resultar em diversidade biológica e variação fenotípica. É fundamental para a modulação de processos biológicos críticos. A metilação de alguns genes, um dos mecanismos epigenéticos, é relatada até como fator prognóstico em SMD. As ilhas CpG da região promotora da maioria dos genes não estão metiladas em tecidos normais, independentemente do estado de diferenciação. Entretanto, centenas delas tornam-se hipermetiladas nas mielodisplasias. O gene FOXO3, um supressor de tumor, é um dos genes que mais se expressa no tecido hematopoético normal, o que faz dele um possível candidato ao envolvimento na etiopatogenia das doenças da MO. Entretanto, não foram encontrados estudos sobre FOXO3 em SMD. O objetivo deste trabalho foi estudar células da MO de 100 indivíduos com SMD de qualquer tipo no diagnóstico para investigar o padrão de metilação de uma ilha CpG da região promotora do FOXO3. Para o estudo epigenético, foi extraído o DNA das células da medula óssea de 100 indivíduos com SMD, feita a conversão do DNA por bissulfito e a MSP-PCR em duas reações separadas e a análise do gel de poli-acrilamida para inferir o estado de metilação dos indivíduos; para controle positivo, foi utilizado DNA de um indivíduo saudável submetido a metilação *in vitro*. O estudo do padrão de metilação da ilha CpG estudada da região promotora do gene FOXO3 revelou ausência de metilação, nenhum paciente apresentou alteração na reação metilada. Os resultados sugerem que alterações no padrão de metilação da região promotora deste gene não parecem estar relacionados com etiologia das SMD. Entretanto, novos estudos nesta ilha CpG e em outras da região promotora do FOXO3 devem ser realizados.

482. USO COMBINADO DA CITOGENÉTICA CONVENCIONAL E SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM ARRAY (SNP-A) NA DETECÇÃO DE ALTERAÇÕES CROMOSSÔMICAS EM PACIENTES COM SÍNDROME MIELODISPLÁSICA

Silva FB, Bertini VHLL, Rodrigues RDTCS, Falcão RP, Rego EM, Traina F

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

Introdução: A citogenética convencional permite a detecção de alterações cromossômicas balanceadas e não balanceadas em síndrome mielodisplásica (SMD). No entanto, a técnica apresenta limitações, como a necessidade de divisão celular e baixa resolução. O Single Nucleotide Polymorphism Array (SNP-A) tem sido utilizado na detecção de alterações cromossômicas não balanceadas e apresenta uma resolução maior que a citogenética convencional. SNP-A fornece dados do número de cópias e de genotipagem e permite a identificação de perda neutra de heterozigose, também denominada de dissomia uniparental somática (*somatic uniparental disomy* [sUPD]). O objetivo deste trabalho é a padronização e o uso integrado da citogenética convencional e SNP-A na investigação de pacientes com SMD na nossa instituição. **Métodos:** O estudo incluiu 15 pacientes com diagnóstico de SMD (CRDU = 1, CRDM = 4, CRDM-as = 2, ARSA = 1, del(5q) = 1, SMD-U = 1, AREB-1 = 3, AREB-2 = 1) e LMA com alterações mielodisplásicas (n = 1). Para a citogenética convencional, foi realizado bandamento G e os resultados foram descritos de acordo com o ICSN 2013. O SNP-A foi realizado utilizando-se o SNP CYTOSCAN HD (Affymetrix). **Resultados:** O cariótipo convencional apresentou alteração em 5/15 casos (33%); caso 1: 46XX, del(5) (q13q33) [13] 46XX [7]; caso 2: 46, XY, 7, del(20)(q11)x2[19]/46, XY[1]; caso 3: 46, XXt (3;11) (p25; q15) [10]/46, XX[10]; caso 4: 46, XY, del20 (q11) [23]/47, idem, +mar[2]; caso 5: 47, XY, del(2) (p13), -5, +8, add(9)(q34), -12, -13, -17, +4mar[20]. Alterações cromossômicas detectadas através da técnica de SNP-A foram observadas em 7/15 casos (47%). SNP-A confirmou casos normais previamente observados pela citogenética convencional (n = 7); confirmou alteração cromossômica não balanceada identificada pela citogenética convencional e adicionou informações relevantes como a definição precisa das regiões de perda intersticial em um caso; permitiu a detecção de novas lesões, como regiões de UPD e ganhos em quatro casos; permitiu o esclarecimento e detecção de novas lesões, incluindo trechos de UPD e microdeleções em um caso que apresentou cariótipo complexo. O SNP-A detectou todas as anormalidades cromossômicas observadas pelo cariótipo, com exceção de duas alterações, sendo uma balanceada, não detectada pela técnica do SNP-A, e outra que provavelmente estava presente em menos que 30% da amostra. Desta forma, o SNP-A detectou um total de 30 novas lesões (um ganho, 17 deleções e 12 regiões de UPD) em cinco pacientes. Os cromossomos mais frequentemente afetados foram 4, 6 e 17. UPD somática foi observada em AREB-1, SMD-U e LMA com alterações mielodisplásicas e envolveu os cromossomos 4q, 6p, 6q, 13q, 17q e 18q. Microdeleções foram encontradas em LMA com alterações mielodisplásicas e envolveram os cromossomos 2q, 5p, 5q, 9q, 12q e 13p. Ganhos foram encontrados em CRDU e envolveu o cromossomo 8p. **Conclusões:** SNP-A não substitui a citogenética convencional, pois não detecta alterações balanceadas e não define clonalidade. Entretanto, o SNP-A detecta novas lesões com implicações na fisiopatologia e prognóstico de pacientes com SMD. O uso combinado dos dois métodos contribui para melhorar a identificação de alterações cromossômicas nestes pacientes.

483. COMBINED USED OF CONVENTIONAL METAPHASE CYTOGENETIC AND SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM ARRAY IN THE DIAGNOSIS OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA WITH MYELODYSPLASTIC-RELATED CHANGES

Silva FB, Prata PHL, Lipoli VHL, Falcão RP, Simões BP, Rego EM, Traina F

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

An 82 year-old male with systemic hypertension, no otherwise relevant medical history, and good performance status (ECOG 0) sought medical attention complaining of weight loss, asthenia, and petechiae. His blood work showed pancytopenia, and the bone marrow aspiration revealed a 20% MPO-positive blast count and moderate dysplastic alterations in all three cellular lineages. The immunophenotypic analysis was positive for HLADr, CD13, CD33, CD34, CD117, CD7, CD133, and CD56; and negative for CD19, CD15, CD11c, CD42a, CD22, CD2, CD11b, CD64, CD14, and CD36.

Metaphase cytogenetics (MC) was performed on bone marrow aspirate using standard methods. Genomic DNA was extracted from total bone marrow cells according to the manufacturer's instructions (QIAGEN) and submitted to single nucleotide polymorphism array (SNP-A) using Affymetrix Genome-Wide Human SNP CYTOSCAN HD. Results were described according to the International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN 2013). MC analysis revealed 46,XY,t(9;22)(q34;q11.2),del(20)(q11)[2]/46,idem,inv(7)(q22q36)[6]/47,idem,inv(7)(q22q36),+19[12]. RT-PCR assay for BCR-ABL1 revealed a 190pb isoform. The SNP-A identified the loss of 2q36 not identified by MC: arr[hg19] 2q36.3q37.3(229,385,664-239,698,667)x1, confirming the loss of 20q11: arr[hg19] 20q11.21q13.13(30,955,339-49,197,975)x1. As expected, the SNP-A did not detect the balanced translocation t(9;22), nor the inversion of 7q. Interestingly, SNP-A allowed the identification of the loss of 7q36 not identified by MC: arr[hg19] 7q36.3(155,607,058-156,777,458)x1. However, SNP-A failed to identify the trisomy of chromosome 19, probably explained by the limited sensitivity of the test for lesions present in less than 30% of the uncultured cells. The patient was diagnosed with AML with myelodysplastic-related changes due to his clinical history and laboratory results. He was started on subcutaneous cytarabine and tyrosine kinase inhibitors. The patient died four months after the diagnosis due to infectious complications, with no evidence of leukemia response. The report of this rare case of AML with myelodysplastic-related changes, with the presence of BCR-ABL1 and complex karyotype, illustrates the combined use of metaphase cytogenetics, SNP-A, and RT-PCR in defining the chromosome abnormalities, highlighting the value of the conventional cytogenetics, and also the benefits and pitfalls of the SNP-A.

484. HEMATOPOIETIC CELL KINASE IS INVOLVED IN HEMATOPOIESIS

Roversi FM^a, Pericole FV^a, Duarte ASS^a, Ferro KP^a, Corrocher FA^a, Palodetto B^a, Longhini AL^a, Botta M^b, Saad STO^a

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

^b Dipartimento di Biotecnologie, Chimica e Farmacia, Università degli Studi di Siena, Siena, Italy

Myelodysplastic syndromes (MDS) are conditions that occur when hematopoietic stem/progenitor cells (HSC) in the bone marrow (BM) are damaged, resulting in ineffective hematopoiesis. Identification of cellular pathways that act on normal hematopoiesis and modulate MDS may help to understand MDS pathophysiology. Also, as MDS is incurable with non-transplantation therapy, effective agents are needed for development of new therapies. HCK is a Src kinase member activated in leukemia but not well characterized in MDS. The aims of this work are to analyze the HCK gene expression in MDS-HSC and -BM, and to understand the importance of HCK in normal and MDS hematopoiesis. This study also evaluated antineoplastic effects of a HCK inhibitor compound. CD34⁺ (from umbilical cord blood-UCB and BM) were transduced with lentivirus-mediated shRNA targeting LacZ or HCK. Apoptosis was evaluated by Annexin-V/PI and cell growth by CellTiter assays. To promote erythroid differentiation, human CD34⁺ transduced cells were grown in semi-solid media for seven days and in liquid media for another six days. HCK mRNA were significantly increased in CD34⁺ from patients with MDS (n = 23) compared to healthy donors (HD, n = 9 as well as in MDS-BM (n = 65) compared to HD-BM (n = 25; p < 0.001). During erythroid differentiation, shHCK cells showed decreased cell viability (p < 0.0001) and increased CD71 expression (p < 0.01), indicating a delay in erythroid differentiation. Moreover, shControl-GFP cells showed decreased GATA1 expression during erythroid differentiation, while shHCK cells did not modulate GATA1 expression. Also, HCK knockdown in CD34⁺ cells significantly decreased apoptosis (p < 0.01). Thus, in HSC, HCK participates in erythroid differentiation and apoptosis signaling, suggesting that HCK is essential for normal hematopoiesis. It is presumed that deregulation of HCK pathway might be crucial for MDS pathogenesis. According to HCK importance in HSC, the authors tested a specific inhibitory activity compound for HCK (iHCK) on primary normal human CD34⁺ cells from HD-BM and UCB. The iHCK treatment did not change proliferation, survival, and death of these normal CD34⁺ cells. Conversely, MDS CD34⁺ cells treated with iHCK exhibited a dose-dependent growth inhibition. Likewise, iHCK treatment of MDS total bone marrow mononuclear cells resulted in significantly decreased BFU-E and CFUs colony numbers

compared to untreated cells. This study also observed potent in vitro antiproliferative activity of iHCK against a panel of leukemia cell lines (KG1a, U937, HL60, K562, and HEL). Thus, the HCK activity inhibition was able to restore the apoptotic pathways of dysplastic/Leukemic cells, acting on cancer cells without altering any signaling of normal cells. In addition, the combinatory treatment of iHCK and 5-Azacytidine (Aza) also demonstrated additive effects relative to either drug alone. Interestingly, iHCK or iHCK plus Aza treatments of dysplastic/Leukemia cells enhanced apoptosis and resulted in increased BAX and reduced BCL-XL protein levels. This result may be clinically relevant for MDS, as Aza is the only treatment available for higher-risk MDS, but with low response rates and frequent induced resistance and refractoriness over time. The specific inhibitor had shown an antineoplastic effect that can even be additive to current available drugs. In summary, this study adds new insights to the role of HCK in MDS, as well as into potential new anticancer treatment strategies.

485. FLOW CYTOMETRY AS A DIAGNOSTIC SUPPORT TOOL IN JUVENILE MYELOMONOCYTIC LEUKEMIA

Maioli MCP^a, Fernandez TS^b, Campos MM^b, Diamond HR^b, Veranio-Silva GAC^c, Souza AM^d, Costa ES^d, Ornellas MH^e, Thiago LS^f

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

^b Laboratório de Biologia Molecular, Centro de Transplante de Medula Óssea (CEMO), Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^c Laboratório de Cultura e Criopreservação de Medula Óssea, Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^d Instituto de Pediatria e Puericultura Matargão Gesteira, Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^e Departamento de Patologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^f Laboratório de Pesquisa Translacional, Programa de Pesquisa Clínica, Instituto Nacional do Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Introduction: The diagnosis of juvenile myelomonocytic leukemia (JMML) is a difficult topic in pediatric hematology. No consistently recurring cytogenetic abnormalities are reported, and normal karyotypes are found in 40% to 70% of patients. Monosomy 7, del(7q), or other abnormalities of chromosome 7 have been reported in ~25% of cases. Mutations in NRAS, NF1, and PTPN11 genes are found in ~20% to 35% of JMML patients, but they are not pathognomonic of JMML. Moreover, these genetic tests are not widely available for clinical use. In addition, no specific phenotypic abnormalities have been reported in JMML to date. Based on this, new diagnostic tools are urgently required to improve patient care. For several decades now, flow cytometry (FCM) immunophenotyping has been shown to be essential for rapid diagnosis, classification, and monitoring of most hematological malignancies. However, the role of FCM in the diagnosis of JMML has been restricted to blast cell compartment analysis. **Objective:** The aim was to identify abnormalities in the relative distribution and phenotypic characteristics of the different compartments of hematopoietic cells that could contribute to the diagnosis of JMML. The authors describe recurrent immunophenotypic abnormalities in three children (≤ 22 months of age) with JMML that were referred to this hospital to investigate intermittent fever due to recurrent episodes of severe infections. The identification, quantification, and characterization of hematopoietic cells were performed by FCM on bone marrows (BM, all cases), and also on peripheral blood (PB) from case #1, at diagnosis and during evolution. Briefly, all samples were stained with three-color combinations of antibodies conjugated with FITC, PE, PerCP-Cy5.5; acquired at low speed in a FACSCalibur flow cytometer using the CellQuest software and analyzed using INFINICYT™ (Cytognos SL). **Results:** All patients evaluated demonstrated an aberrant immunophenotypic profile. These leukemic cells displayed abnormally low expression of CD4 and a heterogeneous CD33 expression pattern. In the same line, maturing neutrophils were found to have decreased expression of at least one of the following antigens in all samples: CD10; CD64; CD13; CD15. Moreover, cross-lineage antigen expression was also detected on maturing granulocytes (CD19; CD14). Neutrophil maturation arrest was present in all samples. Myeloid blast cells were within normal ranges, but exhibited reactivity for CD7 antigen in two of the three patients investigated. A particularly intriguing feature was an increased frequency of cells with an immunophenotypic

profile largely similar to the monocyte-derived dendritic cells observed in BM and PB. Patient 3 was the only case to have a bone marrow donor, and was still alive three years after hematopoietic stem cell transplantation from an unrelated donor. **Discussion:** In scenarios in which cytogenetic abnormalities are absent, the reliable distinction of JMML from reactive monocytosis can be challenging. This report described similar altered BM immunophenotypic profiles in three JMML patients, which could be useful in the differential diagnosis of this nosological entity. The identification of dysplastic features in immature and in several mature hematopoietic cell compartments, along with the quantification of monocyte-derived dendritic cells, may represent a new diagnostic support tool for this fatal disease.

486. INFLUENCE OF FUNCTIONAL POLYMORPHISMS IN DNA REPAIR GENES ON THE MRNA EXPRESSION OF MDS PATIENTS

Junior HLR, Maia ARS, Ito MN, Bezerra KN, Oliveira RTG, Heredia FF, Sousa JC, Magalhães SMM, Pinheiro RF

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

Background: Myelodysplastic syndromes (MDS) are a heterogeneous group of clonal hematopoietic stem cell (HSC) disorders, characterized by peripheral cytopenias due to ineffective hematopoiesis. DNA damage in HSC can cause blockage of differentiation leading to dysplasia, while subsequent defects promotes clonal expansion of the aberrant cells and acute myeloid leukemia. The pathogenesis of MDS can be related to DNA damage in HSC affected by double strand breaks (DSBs). **Aim:** The goal of this study was to assess the mRNA expression levels of BRCA1, BRCA2, RAD51, XRCC5, XRCC6, LIG4, and ATM genes in bone marrow samples from patients with MDS in order to then assess the association that the functional polymorphisms share with the increased risk of developing these disorders. **Methods:** Allelic discrimination data, using PCR-RFLP methodologies for DNA repair gene polymorphisms on bone marrow cells from a group of 48 MDS patients (four RA, eight RARS, 20 RCDM, three RAEB-I, five RAEB-II, five Sec. MDS, and one NR) were obtained from a dataset previously published by this group. Based on the WHO classification, the patients were considered either low-risk or high-risk. The mRNA expression level of DNA repair genes was measured by quantitative real-time PCR based on the TaqMan methodology. The relative of the B2M and UBC genes were used to normalize for differences in input cDNA. The expression ratios were calculated using the 2^{-Ct} method. The Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests were used to analyze the influence of relative expression and of factors such as polymorphisms. **Results:** In the previous dataset, important associations were identified between the genotypes of the ATM rs228593, BRCA1 rs4793191, BRCA2 rs9567623, RAD51 rs1801320, XRCC5 rs3835, XRCC6 rs2267437, and LIG4 rs1805388 polymorphisms with the decreased chance of developing MDS and clinical variables of this disease. This confirmed that these genotypes are associated with protective effect in MDS. Unlike these results, new significant associations were not identified with the applied polymorphisms of this current study (p -value > 0.05). However, it was identified that the genotype CG+GG of the rs2267437 polymorphism was significantly associated with XRCC6 mRNA upregulation when compared with higher-risk MDS patients (p -value = 0.019). **Discussion and conclusion:** Some studies show that alterations in DNA repair genes or protein levels are associated with the pathogenesis and susceptibility of MDS. It is known that regulatory polymorphisms can potentially cause variations in gene expression, and that a polymorphism in a regulatory DNA binding site may alter the affinity with the regulatory protein, resulting in different gene expressions. The authors demonstrated that polymorphisms of genes related to DSB in DNA are important in the maintenance of genomic instability of HSCs in MDS. These findings show that the patients with CG + GG polymorphism have high expression of the XRCC6 gene, while associated with high-risk MDS patients. This probably corresponds to a biomarker for progression of the disease. However, the results also showed that the polymorphisms of the others genes, related to the repair of DSBs, did not affect the mRNA expression of their respective genes, since these alterations could be considered as non-functional polymorphisms and, therefore, are not responsible for the characteristic genomic errors of MDS pathogenesis.

487. SÍNDROME MIELODISPLÁSICA/ MIELOPROLIFERATIVA E MUTAÇÃO V617F NO GENE JAK2: REMISSÃO CLÍNICA E HEMATOLÓGICA APÓS TRATAMENTO COM RUXOLITINIB

Duarte FB^a, Lemes RPG^a, Santo TEJD^a, Barbosa MC^a, Kaufman J^b, Leitão JPV^b, Rocha FD^a, Dantas FER^b, Pitombeira MH^b, Carlos LMB^c

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

^b Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC), Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brasil

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

Introdução: A síndrome mielodisplásica/ mieloproliferativa (SMD/SMP) é caracterizada por citopenias combinadas e citoses. A medula óssea (MO) é geralmente hiperclonal devido à hematopoese ineficaz (MDS-like) e eficaz (MPN-like). Na maioria dos casos, a displasia é observada em ≥ 1 linhagens hematopoéticas no sangue periférico, MO ou ambos. Por definição, a percentagem de blastos (e equivalentes) em explosão no SP e MO deve ser < 20%. A mutação JAK2 – V617F adquirida resulta numa substituição da valina por fenilalanina no códon 617 do gene JAK2, relatado em 90% dos casos de policitemia vera (PV) e cerca de 50% dos casos de mielofibrose (MF) e trombocitemia essencial (TE). Na SMD/SMP, a presença de JAK2 – V617F pode variar em torno de 60% dos casos. **Relato de caso:** Apresentamos o caso de um homem de 61 anos, casado, com diabetes tipo II e doença cardíaca coronária, submetido à cirurgia de revascularização miocárdica há 12 anos. Foi tabagista por 37 anos e havia parado de fumar há 10 anos. No exame clínico, o paciente não tinha aumento dos gânglios linfáticos e o baço era palpável a 2 cm do arco costal. A contagem de sangue no momento do diagnóstico foi caracterizada por anemia e leucocitose. A biópsia de medula óssea apresentou hiperclonalidade (> 80%), hiperplasia granulocítica e megacariocítica. Os megacariócitos apresentaram-se multilobulados; células com núcleo hiperclonal e presença de eritroblastos megaloblastos. A biópsia sugeriu neoplasia mieloproliferativa sem evidência de mielofibrose. Cariótipo normal, BCR/ABL1 negativa e a presença da mutação de JAK2 V617F no gene foi identificada. Ele foi então diagnosticado com SMD/SMP na fase pré-fibrótica. O paciente foi tratado com ruxolitinib 20 mg duas vezes por dia. Evoluiu com remissão hematológica e redução da esplenomegalia e melhora do estado geral. A anemia não foi afetada pela ruxolitinib. **Discussão:** A SMD/SMP constitui uma categoria em que, na apresentação inicial, existem características clínicas, laboratoriais e morfológicas sobrepostas, tanto de SMD como de SMP. A mielofibrose pode ter uma fase pré-fibrótica hiperclonal e, em seguida, no curso da doença, desenvolver citopenias severas, esplenomegalia sintomática progressiva e evolução da fibrose da medula óssea. Estudos, como CONFORT, também mostraram que, além dos efeitos, a ruxolitinib propiciou melhorias estatisticamente significativas nos sintomas e na qualidade de vida dos pacientes. Consistente com mecanismo de ação conhecido de ruxolitinib, como um inibidor da via JAK, anemia e trombocitopenia foram os eventos adversos mais frequentemente relatados. Não há relatos de tratamento de SMD/SMP com JAK2 positivos com ruxolitinib. O paciente mantém a remissão clínica e hematológica após dois anos de tratamento. **Conclusão:** O caso descrito demonstra a redução em esplenomegalia, bem como em doenças mieloproliferativas e aumento da qualidade de vida, sem efeitos adversos já descritos na literatura como anemia e trombocitopenia.

488. MUTAÇÕES NO GENE ETV6 EM PACIENTES COM SÍNDROMES MIELODISPLÁSICAS

Fabbron GG^{a,b}, Campos PM^a, Scopim-Ribeiro R^a, Niemann F^a, Saad STO^a, Traina F^{a,c}

^a Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

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

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

Introdução: As síndromes mielodisplásicas (SMD) constituem um grupo heterogêneo de alteração clonal das células hematopoéticas que apresentam em comum hiperclonalidade na medula óssea e citopenias no

sangue periférico. A SMD ocorre com maior frequência em indivíduos com idade acima de 70 anos. Análise molecular utilizando células mononucleares de aspirado de medula e de raspado de mucosa oral em pacientes adultos com SMD identificou mutações em diferentes genes; anormalidades no gene ETV6 (ETS variant 6) foram frequentes. O ETV6 é um fator de regulação hematopoética muito importante, localizado em 12p13, que abrange uma região de 240 kb e possui 8 éxons. A proteína ETV6 é composta de 452 aminoácidos. O objetivo do presente estudo foi investigar a presença de mutações do gene ETV6 em pacientes com SMD ao diagnóstico e durante a progressão da doença. **Método:** Um total de 29 pacientes com diagnóstico de SMD em seguimento no Ambulatório de Hematologia da UNICAMP foi incluído no estudo. O diagnóstico e classificação da SMD foram realizados de acordo com os critérios da Organização Mundial da Saúde de 2008, sendo CRDU = 1, CRDM = 13, ARSA = 5, AREB-1 = 2, AREB-2 = 8. Um paciente foi também avaliado após a progressão da doença. Um total de 30 amostras de sangue periférico foram submetidas à extração de DNA genômico através da técnica de fenol-clorofórmio. Após definição dos iniciadores e padronização das reações em cadeia da polimerase (PCR), as amostras foram submetidas a PCR para amplificação dos fragmentos de DNA contendo os 8 éxons do gene ETV6. Posteriormente, essas amostras foram sequenciadas pelo método de Sanger, em que se utiliza a estratégia de marcação fluorescente dos di-deoxinucleotídeos. Os cromatogramas foram analisados pelo software FinchTV à procura de alterações. As sequências de DNA obtidas foram comparadas com sequências de bancos de dados internacionais. **Resultados:** Na avaliação dos sequenciamentos foi encontrada uma alteração no éxon 3 em 6 (21%) pacientes. Essa alteração representa uma troca de base localizada no éxon 3, na base de número 258 da sequência, em que ocorre uma adenosina no lugar de guanina. Essa alteração já estava catalogada no banco de dados e caracteriza-se como polimorfismo. A alteração foi encontrada em 1 paciente com ARSA, 2 pacientes com CRDM, 1 paciente com AREB-1, e 2 pacientes com diagnóstico de AREB-2. Nenhuma outra alteração foi encontrada. Avaliamos a presença de mutações em amostras de um paciente ao diagnóstico de AREB-1 e no momento da progressão para AREB-2, e não encontramos alterações ou diferenças no sequenciamento do gene ETV6. **Conclusão:** No estudo, não encontramos nenhuma mutação relacionada ao gene ETV6. Isto poderia ser explicado pelo número pequeno de amostras analisadas. Atualmente, muitos estudos demonstram a ocorrência de mutações somáticas em diversos genes relacionados com a regulação hematopoética, incluindo o gene ETV6. Entretanto, esses estudos demonstram que a incidência das mutações no gene ETV6 é baixa. Para esse tipo de estudo, portanto, faz-se necessário a ampliação da amostragem devido à baixa ocorrência de mutações no gene ETV6. Além disso, seria interessante o uso de metodologias mais sensíveis, como o sequenciamento de segunda geração, que permitiria reduzir os custos e acelerar a obtenção de resultados. Não há relatos na literatura que relacionem polimorfismos no gene ETV6 com pior evolução da SMD. Apoio FAPESP e CNPq.

489. INTERFERON REGULATORY FACTORS FAMILY IN MYELODYSPLASTIC SYNDROME

Sousa JC^a, Costa MB^a, Silva LHC^b, Martinelli CMS^c, Magalhães SMM^a, Onofre DV^c, Figueiredo LL^d, Pinheiro RF^a

^a *Cytogenomic Laboratory, Postgraduate Medical Science, Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brazil*

^b *Cytogenomic Laboratory, Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brazil*

^c *Fundação Pio XII, Hospital do Câncer de Barretos, Barretos, SP, Brazil*

^d *Hematology Division, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil*

Myelodysplastic syndromes (MDS) are a heterogeneous group of hematopoietic malignancies characterized by methylation of DNA, abnormalities of transcription factors, and apoptosis of hematopoietic progenitor cells. The pathogenesis of MDS is mediated by abnormal signaling of the innate immune system. The aim of this study was to evaluate the profile of methylation and expression of the IRFs gene in MDS. The mRNA expression levels of nine members of the IRFs family (IRF1-9) were evaluated by quantitative PCR (qPCR) and methylation by quantitative methylation-specific PCR (QMSP) in bone marrow (BM) cells from 119 MDS patients. Quantitative PCR was performed using TaqMan Gene Expression Assays (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) and a 7300 Real-Time PCR System (Applied Biosystems) according to the

manufacturer instructions. The 7300 System software (Applied Biosystems) was used for comparative Ct analysis, and β -2-microglobulin (B2M) and ubiquitin (UBC) media served as endogenous controls. QMSP was performed using primers described by Yamashita et al., and reaction was realized in a ViiATM7 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA). Statistical analyses were carried out using SPSS. Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests were used to evaluate the association between IRFs expression and clinic pathological features. Fisher's test was used for evaluation of methylation in MDS patients. Overall survival and risk of progression to AML analysis were performed by multivariate analysis (Cox regression and logistic regression, respectively). The increased expression of the genes IRF2, IRF3, IRF7, and IRF8 was associated with low risk MDS ($p = 0.002, 0.002, 0.028, \text{ and } 0.016$, respectively). The high level of expression of IRF1 was associated with hypocellular bone marrow ($p = 0.018$). The expression of IRF2 gene was strongly associated with RA subtype ($p = 0.002$). The IRF3, IRF7, and IRF8 genes were associated with patients with peripheral cytopenia ($p = 0.028; 0.001; 0.008$, respectively). Furthermore, methylation of IRF1, IRF2, IRF3, IRF5, IRF6, and IRF8 was associated with high-risk characteristics in MDS, such as advanced forms, unfavorable karyotype, cytopenias, blasts above 5%, and high-risk categories established by the IPSS, IPSS-R, and WPSS. Multivariate analysis revealed that patients with high expression of IRF3 had high overall survival ($p = 0.001$), whereas patients with a great expression of IRF5 were 5.4-fold more likely to progress to AML ($p < 0.001$, 95% CI: 1.098 to 26.829) and nine-fold more likely to evolve to death ($p = 0.001$, 95% CI: 2.39 to 32.69). Patients with methylated IRF5 had a four-fold higher chance than the patient's to evolve to death ($p = 0.041$, 95% CI: 1.066 to 20.192). The results suggest that, in this population, increased expression of IRF s could be associated with low risk MDS patients, and that increased IRFs methylation is associated with high-risk MDS patients. The expression and methylation of IRFs are related to the pathogenesis, and have great impact upon the prognosis of MDS.

490. O USO DE AGENTES HIPOMETILANTES NO TRATAMENTO DA SINDROME MIELODISPLÁSICA EM ADULTOS: EXPERIÊNCIA PRELIMINAR DO SERVIÇO DE ONCOLOGIA E HEMATOLOGIA DA FACULDADE DE MEDICINA DO ABC – SÃO PAULO

Pallotta R, Borducchi DMM, Giglio AD, Barbosa AA

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

As síndromes mielodisplásicas (SMD) são um grupo heterogêneo de doenças clonais do sistema hematopoético caracterizadas pela produção ineficaz das diferentes linhagens sanguíneas. As principais complicações associadas à doença são: citopenias que obrigam sobrecarga de ferro ao suporte transfusional, episódios infecciosos recorrentes e a potencial evolução para leucemia aguda. Para se tentar racionalizar a abordagem de um grupo tão heterogêneo de pacientes, foi elaborada uma estratificação de risco. Tal estratégia determina um índice prognóstico que se baseia no número de citopenias, na porcentagem de blastos na medula óssea e no cariótipo. Os pacientes com risco intermediário 2 e alto risco podem evoluir para leucemia aguda em menos de 2 anos. Desta forma, uma estratégia mais agressiva de tratamento deve ser traçada. Este estudo de coorte prospectivo descreve os resultados preliminares do uso de hipometilantes no tratamento de pacientes com SMD de alto risco acompanhados no Serviço de Oncologia e Hematologia da Faculdade de Medicina do ABC, em Santo André (SP).

491. SÍNDROME MIELODISPLÁSICA SECUNDÁRIA A TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA CONDICIONADO COM TBI E TOPOSIDE

Deyl AVS, Marques RF, Loss JF, Gatiboni T, Meneses CF, Selistre SGA, Gregianin LJ, Michalowski MB, Borges AS, Silva KAS

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: A síndrome mielodisplásica (SMD), neoplasia hematológica comum nos adultos, é um grupo heterogêneo de distúrbios caracterizados por citopenias clonais periféricas ou em medula óssea. Já a SMD pediátrica está mais associada à medula hipocelular e à monossomia do 7. A incidência é de 1,8 a quatro casos por milhão por ano, e a idade mé-

dia é de 6 anos, sem diferença de sexo. A SMD secundária ocorre após terapia quimioterápica, radioterápica ou ainda associada às síndromes de falência medular. É uma patologia subdiagnosticada e como pouco se sabe sobre a sua história natural em pediatria, o tratamento e a decisão do momento para transplante ainda é conflitante. **Relato de caso:** E.C.S.H., masculino, 12 anos. Diagnóstico de leucemia linfóide aguda pré B, Calla positivo em 26/01/2006, alto risco, sistema nervoso central negativo. Tratou até out/2008, mas recidiou em medula óssea em abril/2009 (precoce), cariótipo masculino normal, imunofenotipagem igual à anterior. Cumpriu protocolo de recidiva e foi submetido à transplante de medula óssea alogênico não aparentado em 17/08/11. Condicionamento com irradiação corporal total e etoposide (60 mg/kg). Nos controles pós-TMO, quimerismo era completo. Entretanto, começou a apresentar quimerismo misto. Em 22/10/14, a quimera era 22%. Apesar de hemograma normal e paciente assintomático, foi realizado mielograma em 14/10/14: remissão morfológica. Cariótipo: alterações descritas em 20/24 metafases: del(20q): 46, XY, del(20) (q11.2)[2] / 46, XY, t(1;2)(p22;p13), t(3;12)(q21;q24.1), del(20)(q11.2)[3] / 46, XY[6]. Em 27/01/2015, novo mielograma e biópsia de medula óssea (BMO): medula discretamente hipocelular, eritropoese hiperplásica, setor granulocítico neutrofilico com parada de maturação, elementos gigantes em ferradura, setor megacariocítico hipobuladado. A imunofenotipagem evidenciou alterações quantitativas na série granulocítica, sugerindo parada de maturação e aumento na série eritroide. A BMO descreveu medula óssea hipocelular com presença de alterações na linhagem granulocítica. Considerando as alterações cariotípicas graves e presença de alterações na morfologia como pontes intercitoplasmáticas, micromegacariócitos e alguns blastos mielóides (eritroblastos) em transformação, caso discutido no grupo brasileiro de SMD em pediatria. A análise demonstrou focos imaturos (ALIPS) na biópsia de medula e no mielograma eritroblastos bizarros em transformação. As alterações somavam 13-15% da celularidade. Foi sugerido 6 ciclos de azacitidina (75 mg/m² por 7 dias, a cada 28 dias) para reverter a quimera e levar o paciente a um segundo TMO. Tentativa de redução do volume da doença pré-transplante, além do efeito imunomodulador da droga. O paciente já cumpriu três ciclos com excelente tolerância. Mielograma e BMO de reavaliação não sofreram modificações. Aguardamos quimerismo e cariótipo, enquanto buscamos doador. **Discussão:** Sobre o caso relatado acima, chama atenção a perda de quimerismo 28 meses após o transplante, bem como a presença de cariótipo complexo com mutações graves em um paciente assintomático. Estabelecer o diagnóstico de SMD é difícil e complexo e a análise detalhada de todos os exames diagnósticos se torna obrigatória. O prognóstico é sombrio, sendo que a evolução para leucemia aguda secundária raramente consegue ser resgatada.

MIELOMA MÚLTIPLO

492. LEUCEMIAS DE CÉLULAS PLASMÁTICAS: EVOLUÇÃO RARA DE MIELOMA MÚLTIPLO

Alves S^a, Lomonaco LA^b, Pinheiro TCP^c, Scharff IC^a, Lima AM^a

^a Hospital das Clínicas do Acre, Rio Branco, AC, Brasil

^b Hospital do Câncer do Acre, Rio Branco, AC, Brasil

^c Centro de Hematologia e Hemoterapia do Acre (HEMOACRE), Rio Branco, AC, Brasil

Introdução: A leucemia de células plasmáticas (LCP) é uma variante rara do mieloma múltiplo caracterizada pela presença de células plasmáticas monoclonais em sangue periférico acima de 20% de células nucleadas, com um curso clínico agressivo, prognóstico reservado e curta sobrevida. **Objetivo:** Apresentar um caso clínico de mieloma múltiplo com rara evolução para leucemia de células plasmáticas. **Relato de caso:** D. B., feminino, 42 anos, divorciada, branca, do lar, católica, natural do Paraná, procedente de Rio Branco. Teve mieloma múltiplo tipo cadeias leves, estágio Durie-Salmon IIB diagnosticado há três anos e estudo de cariótipo medular sem alterações. Realizou primeiro esquema com dexametasona e talidomida com resposta parcial, sendo modificado protocolo para bortezomibe, dexametasona e ciclofosfamida (CyBorD), apresentando resposta completa e realizado transplante au-

tólogo. Após 5 meses, paciente evoluiu com recaída da doença, reiniciando esquema de quimioterapia anterior, com remissão após oito meses de tratamento, sendo programado desta vez o transplante alogênico. Após 2 meses iniciou quadro de pancitopenia. Foi realizado aspirado de medula óssea, evidenciando infiltração plasmoblástica de 80% da medula óssea. Imunofenotipagem de medula óssea 74% de plasmócitos anômalos (positivos: CD 38, CD 56, CD 117, CD 138). Avaliação do sangue periférico com 40% de plasmócitos, alguns binucleados de morfologia blástica. Fechando diagnóstico de leucemia de células plasmáticas. Iniciado protocolo quimioterápico com ifosfamida, etoposide e dexametasona. Paciente não apresentou resposta favorável, evoluindo a óbito após três meses. **Discussão:** A LCP é uma desordem linfoproliferativa rara, agressiva, caracterizada pela proliferação maligna de células plasmáticas na medula óssea e concomitante envolvimento no sangue periférico. Ela ocorre como progressão em 1-4% dos pacientes com mieloma múltiplo. A apresentação clínica é inespecífica e laboratorialmente se apresenta com pancitopenia. O diagnóstico é confirmado pela presença de células plasmáticas em mais de 20% da totalidade dos leucócitos no sangue periférico. É de fundamental importância o conhecimento desta rara evolução do mieloma múltiplo, tendo em vista seu mau prognóstico, afim de diagnóstico precoce para instituir terapêutica adequada com melhor evolução para esses pacientes.

493. EFFECT OF CARFILZOMIB, LENALIDOMIDE, AND DEXAMETHASONE VS. LENALIDOMIDE AND DEXAMETHASONE IN PATIENTS WITH RELAPSED MULTIPLE MYELOMA BY LINE OF THERAPY: SECONDARY ANALYSIS FROM AN INTERIM ANALYSIS OF PHASE 3 OF THE ASPIRE STUDY (NCT01080391)

Dimopoulos MA^a, Stewart AK^b, Rajkumar SV^c, Masszi T^d, Oriol A^e, Hájek R^f, Rosinol L^g, Siegel D^h, Zojwalla Nⁱ, Palumbo A^j

^a National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

^b Mayo Clinic, Scottsdale, United States

^c Mayo Clinic, Rochester, United States

^d St István and St Laszlo Hospital, Budapest, Hungary

^e Institut Català d'Oncologia, Hospital Germans Trias i Pujol, Barcelona, Spain

^f University Hospital Brno and Faculty of Medicine, University of Ostrava, Ostrava, Czech Republic

^g Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona, Spain

^h John Theurer Cancer Center, Hackensack University, Hackensack, United States

ⁱ Onyx Pharmaceuticals, Inc., an Amgen subsidiary, South San Francisco, United States

^j University of Turin, Turin, Italy

Background: The interim analysis of the ASPIRE study (n = 792) showed that carfilzomib, lenalidomide, and dexamethasone (KRd) significantly improved progression-free survival (PFS) vs. lenalidomide and dexamethasone (Rd) in patients with relapsed multiple myeloma (RMM; Stewart et al., N Engl J Med 2015;372:142-52). A secondary analysis of treatment with KRd or Rd after first relapse (one prior line of therapy) vs. two or more prior lines of therapy is presented. **Methods:** Adults with RMM (one to three prior lines of therapy; n = 792) were randomized (1:1) to KRd or Rd. All patients received lenalidomide (25 mg) on days one through 21 and dexamethasone (40 mg) on days one, eight, 15, and 22 (28-day cycle). KRd patients also received carfilzomib on days one, two, eight, nine, 15, and 16 during cycles one through 12 (20 mg/m² [days one and two of cycle one]; 27 mg/m² thereafter); carfilzomib was omitted on days eight and nine during cycles 13-18, and was not administered beyond cycle 18. The primary endpoint was PFS. Secondary endpoints included overall survival, overall response rate (≥ partial response), duration of response, health-related quality of life, and safety. **Results:** Median PFS for patients with one prior line (n = 341) was 29.6 months (95% CI: 23.2-33.5) for KRd vs. 17.6 months (95% CI: 15.0-22.2) for Rd (hazard ratio [HR]: 0.694; p = 0.0083). Median PFS for patients with ≥ two prior lines (n = 451) was 25.8 months (95% CI: 22.2-31.0) for KRd vs. 16.7 months (95% CI: 13.9-22.0) for Rd (HR: 0.688; p = 0.0017). Grade ≥ 3 adverse events (AEs) were reported at similar rates with KRd vs. Rd groups in patients with one and two or more prior lines of therapy (85.7% vs. 79.9% and 81.9% vs. 81.3%, respectively). For KRd patients, neutropenia was the only grade ≥ 3 AE that occurred ≥ 5.0% more

frequently after two or more prior lines (32.4%) vs. one prior line (26.4%). **Conclusion:** Treatment with KRd after first relapse led to a one-year improvement in median PFS vs. Rd and a nine-month improvement vs. Rd in patients with two or more prior lines, with similar HRs. KRd had a favorable benefit–risk profile after one and two or more prior lines of therapy in patients with RMM.

494. COMBINATION OF RUXOLITINIB AND BORTEZOMIB AS ALTERNATIVE TREATMENT FOR APOPTOSIS INDUCTION IN MULTIPLE MYELOMA CELL LINES

Oliveira MB, Alves VLF, Eugênio AIP, Fernando RC, Colleoni GWB

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

Background: The constitutive activation of JAK proteins has been demonstrated in multiple myeloma (MM) and other cancers, promoting survival and proliferation of tumor cells. Despite the absence of JAK1 and JAK2 mutations in MM, high levels of IL-6 constitutively activate the JAK/STAT pathway. Therefore, this pathway could become a potential therapeutic target in this still incurable disease. **Aims:** To evaluate apoptosis, cell cycle, and JAK/STAT pathway genes' expression profile in MM cell lines before and after *in vitro* treatment with pan-JAK inhibitor (ruxolitinib) and NFκB inhibitor (bortezomib). **Methods:** MM cell lines (U266 and RPMI-8226) were cultivated and JAK1 expression was analyzed by real-time PCR. For the *in vitro* experiments, with ruxolitinib, bortezomib, and the two-drug combination, concentrations were determined after IC₅₀ calculation. Apoptosis was evaluated by flow cytometry, using propidium iodide and annexin V staining. Cell cycle was assessed by flow cytometry. PCR array for JAK/STAT pathway was performed in duplicates in wild type and treated cell lines, and the value of the fold change ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) was calculated for all the genes. **Results:** U266 featured 17p/TP53 deletion and showed high expression of JAK1 and RPMI-8226, without deletion of TP53 alleles, presenting low expression of JAK1. The IC₅₀ values for the drugs combination were: bortezomib (10 nM) and ruxolitinib (30 μM for RPMI-8226; 40 μM for U266). After 72 hours of treatment with bortezomib and ruxolitinib combination, U266 and RPMI-8226 presented 49.5% and 50% of cells in late apoptosis, respectively. There were no alterations in cell cycle for U266 cell line, except for a slight increase in SubG0 phase cells ($p < 0.05$). RPMI-8226 showed a higher number of cells in SubG0 phase ($p < 0.001$) after drug combination treatment, with reduction of cells in S ($p < 0.01$) and G2/M ($p < 0.001$) phases. The expression profile of the JAK/STAT pathway in the cell lines treated with drug combination, when compared with respective U266 or RPMI-8226 wild type, showed that many JAK/STAT, Ras/Raf/MAPK, and PI3K/Akt/mTOR pathways genes lost their expression, mainly in RPMI-8226, with insignificant changes in U266 expression pattern. The genes that lost their expression in RPMI-8226 are correlated with regulation of transcription, cell proliferation, differentiation, transformation, growth, and cell cycle progression. **Conclusion:** Besides the JAK/STAT pathway, ruxolitinib was able to operate in different signaling pathways, such as Ras/Raf/MAPK and PI3K/Akt/mTOR. Therefore, it seems appealing to test pan-JAK inhibitors in association with bortezomib, leading to at least 50% of apoptosis in U266 and RPMI-8226 and decreasing the expression of oncogenic pathways at least in RPMI-8226, which do not have TP53 deletion. **Funding:** FAPESP 2010/17668-6 and CNPq (PhD scholarship).

495. A IMPORTÂNCIA DA AVALIAÇÃO DO HISTOGRAMA NO ESTUDO DO SANGUE PERIFÉRICO NOS CASOS DE LEUCEMIZAÇÃO DO MIELOMA MÚLTIPLO

Saldanha AFA, Constantino FR, Silva ALO, Silveira PA, Colombini MP

Laboratório Clínico, Departamento de Medicina Diagnóstica e Preventiva, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Objetivos: O hemograma automatizado é uma das metodologias mais utilizadas nos laboratórios, por ser rápida e produzir resultados mais precisos e exatos. Mas sua análise precisa ser completa, incluindo a avaliação do histograma e não apenas dos valores quantitativos e flags qualitativos. Nosso objetivo foi ressaltar essa importância através de um relato de caso ocorrido em nossa rotina. **Casuística e métodos:** Paciente feminino, 69 anos, com antecedentes de mieloma múltiplo

pós-transplante autólogo, deu entrada em nosso hospital referindo cansaço e dores ósseas. O hemograma de entrada coletado em tubo EDTA potássico (Sarstedt) foi realizado no equipamento XE-2100 (Sysmex), sendo as hemácias e plaquetas analisadas por impedância hidrodinâmica e os leucócitos por citometria de fluxo modificada pela fluorescência. A análise morfológica se dá em função do tamanho e da complexidade nuclear, sendo as diferentes populações celulares plotadas em um histograma. De acordo com critérios internos da nossa rotina baseados no histograma e flags quantitativos e qualitativos foi realizada lâmina para análise morfológica corada pelo Rosenfeld. **Resultados e conclusões:** O hemograma evidenciou anemia (Hb de 5,4 g/dL), plaquetopenia (45.000/mm³) e flags qualitativos para a série leucocitária, apesar da contagem normal (5.240/mm³). O gráfico de dispersão do histograma no canal WBC-DIFF estava visivelmente alterado na região dos linfócitos, com alongamento para cima, sugerindo atipia linfocitária, mas terminando em platô. A contagem diferencial apresentou 20% de plasmócitos no sangue periférico. Esses achados apontavam para a leucemização da doença de base, que foi confirmada pela realização do mielograma (35% de plasmócitos com predomínio de formas maduras). Esse caso confirma nosso objetivo em demonstrar o quanto o histograma agrega valor ao resultado do hemograma.

Referência:

Damron TA, Bogart JA, Bilsky M. Evaluation and management of complete and impending pathologic fractures in patients with metastatic bone disease, multiple myeloma, and lymphoma. UpToDate. 2014. Disponível em: <http://www.uptodate.com/contents/evaluation-and-management-of-complete-and-impending-pathologic-fractures-in-patients-with-metastatic-bone-disease-multiple-myeloma-and-lymphoma>.

496. CARFILZOMIB AND DEXAMETHASONE VS. BORTEZOMIB AND DEXAMETHASONE IN PATIENTS WITH RELAPSED MULTIPLE MYELOMA: RESULTS FROM PHASE 3 OF THE ENDEAVOR STUDY

Hungria VT^a, Dimopoulos Mb, Moreau P^c, Palumbo A^d, Joshua D^e, Pour L^f, Hajek R^g, Facon T^h, Gillenwater HHⁱ, Chng W^j

^a Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

^b National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

^c University of Nantes, Nantes, France

^d University of Turin, Turin, Italy

^e Royal Prince Alfred Hospital, Camperdown, Australia

^f University Hospital Brno, Ostrava, Czech Republic

^g University Hospital Brno and Faculty of Medicine, University of Ostrava, Ostrava, Czech Republic

^h CHRU Lille Hôpital Claude Huriez, Lille, France

ⁱ Onyx Pharmaceuticals, Inc., an Amgen subsidiary, South San Francisco, United States

^j National University Cancer Institute, National University Health System, Singapore and Cancer Science Institute of Singapore, National University of Singapore, Singapore, Singapore,

Background: ENDEAVOR (NCT01568866) is comparing carfilzomib and dexamethasone (Kd) with bortezomib and dexamethasone (Vd) in patients with relapsed multiple myeloma (RMM). The primary endpoint is progression-free survival (PFS). Secondary endpoints include overall survival (OS), overall response rate (ORR [≥ partial response]), peripheral neuropathy (PN) rate, and safety. **Methods:** Adults with RMM (13 prior lines of therapy) were eligible. Patients were randomized 1:1 and stratified by prior proteasome inhibitor treatment, prior lines of treatment, International Staging System stage, and intended route of bortezomib administration (if randomized to Vd). The Kd arm received carfilzomib (30 min intravenous infusion) on days one, two, eight, nine, 15, and 16 of a 28-day cycle (20 mg/m² on days one and two of cycle 1; 56 mg/m² thereafter) and dexamethasone (20 mg) on days one, two, eight, nine, 15, 16, 22, and 23. The Vd arm received bortezomib (1.3 mg/m²; intravenous or subcutaneous on days one, four, eight, and 11 of a 21-day cycle) and dexamethasone (20 mg) on days one, two, four, five, eight, nine, 11, and 12. Cycles were repeated until disease progression or unacceptable toxicity. **Results:** Data are presented for Kd, then Vd. In total, 929 patients (Kd:

464; Vd: 465) were randomized. In the Vd arm, 83.6% of patients received subcutaneous bortezomib. At the preplanned interim analysis, Kd showed a significant improvement in median PFS vs. Vd (18.7 vs. 9.4 months; hazard ratio = 0.53; $p < 0.0001$). OS data were immature and continue to be followed. ORRs were 76.9% and 62.6% ($p < 0.0001$); 54.3% and 28.6% had a very good partial response or better; 12.5% and 6.2% of patients had a complete response or better. Treatment discontinuation due to an adverse event (AE) occurred in 14.0% and 15.7% of patients. In-study death due to an AE occurred in 3.9% and 3.4% of patients. AEs of interest (grade ≥ 3) included hypertension (preferred term; 8.9% vs. 2.6%), dyspnea (high-level term; 5.6% vs. 2.2%), cardiac failure (grouped term; 4.8% vs. 1.8%), and acute renal failure (grouped term; 4.1% vs. 2.6%). Grade ≥ 2 PN rates (grouped term) were 6.0% vs. 32.0% ($p < 0.0001$). **Conclusion:** Kd demonstrated statistically significant and clinically meaningful superiority over Vd in RMM, with a two-fold improvement in median PFS, and had a favorable benefit/risk profile. Carfilzomib is a potential best-in-class agent for RMM.

497. PLASMOCITOMA GÁSTRICO PRIMÁRIO: REMISSÃO COMPLETA APÓS RESSECÇÃO ENDOSCÓPICA

Barboza KP^a, Ribeiro AEL^a, Castelar BM^a, Silva FC^a, Junior MCV^{a,b}, Lemos LVB^{a,c}, Filho JTDS^{a,c}

^a Faculdade de Medicina de Campos (FMC), Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

^b Clínica do Aparelho Digestivo (CAD), Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

^c Hospital Escola Álvaro Alvim (HEAA), Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

Introdução: Os plasmocitomas extramedulares usualmente caracterizam-se por lesões solitárias, com proliferação monoclonal de células plasmocitárias em tecidos moles e sem evidência de comprometimento da medula óssea. Sua localização mais frequente é no trato respiratório superior. A ocorrência de plasmocitoma gástrico primário é extremamente rara e representa menos de 2% das plasmocitomas extramedulares. Documentamos o caso de um paciente com plasmocitoma gástrico primário tratado com mucosectomia endoscópica. **Relato do caso:** Paciente M.G.G., masculino, branco, 61 anos, casado, professor, procurou atendimento queixando-se de sensação de plenitude pós-prandial. Apresentava hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, doença diverticular, hepatite C, psoríase e herpes genital recorrente. Histórico de tabagismo e etilismo social. História familiar de neoplasia de cólon. No exame físico não apresentava alterações dignas de nota. Realizou endoscopia digestiva alta com presença de hérnia hiatal por deslizamento e pólipos gástricos gigantes, subpediculados de base larga, com cerca de 2 cm de diâmetro, superfície hiperemiada e bocelada, localizado em grande curvatura. Foi realizada sua ressecção endoscópica através de injeção de solução salina em submucosa com elevação da lesão, seguido de mucosectomia e clipegem para hemostasia profilática. O exame histopatológico evidenciou mucosa gástrica com proliferação linfóide atípica com diferenciação plasmocitoide permeando submucosa e tecido adiposo, com estudo imunohistoquímico demonstrando células plasmocitoides com imunopositividade para anticorpos CD138 (multifocal), cadeia leve da imunoglobulina tipo lambda (difusa) e oncoproteína bcl-2 (difusa) e imunonegatividade para os anticorpos CD3, CD20, CD56, cadeia leve de imunoglobulina tipo kappa. O anticorpo anti-antígeno Ki-67 evidenciou baixo índice de proliferação celular (10-25%). Não foi detectada a presença do *Helicobacter pylori* na biópsia gástrica ou exame sorológico, apesar de ter sido submetido previamente a tratamento antibiótico empírico de erradicação. O diagnóstico de plasmocitoma gástrico foi feito após a investigação e resultados negativos para mieloma múltiplo, incluindo eletroforese e imunofixação de proteínas, imunofenotipagem e biópsia de medula óssea. Após a mucosectomia, o paciente foi acompanhado no primeiro ano com endoscopia digestiva alta e biópsias da cicatriz gástrica a cada três meses e depois semestralmente, não sendo detectada recidiva após três anos. **Discussão:** O plasmocitoma gástrico primário, por sua raridade, não possui consenso terapêutico definido. O presente caso, após tratamento por ressecção endoscópica e terapia empírica de erradicação do *H. pylori*, permanece em remissão completa após três anos de seguimento clínico e endoscópico. Assim, nos casos de plasmocitoma gástrico primário restrito à mucosa, na ausência de acometimento sistêmico na forma de mieloma múltiplo, sugerimos que a ressecção endoscópica, seguido de acompanhamento com endoscopias e biópsias seriadas, pode ser considerada uma estratégia terapêutica efetiva e segura.

498. PREVALÊNCIA DE GAMOPATIA MONOCLONAL EM INDIVÍDUOS SUBMETIDOS A CHECKUP DE SAÚDE DE ROTINA NO BRASIL

Kutner JM, Rosseto EA, Todaro J, Santos MR, Kashiwagi NM, Tabone VA, Schwery A, Conceição RD, Manguiera CP, Hamerschlag N

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A presença de gamopatia monoclonal (GM) é identificada em aproximadamente 3% da população acima de 50 anos de idade na Europa e nos EUA, sendo habitualmente um achado eventual. Há pouca informação sobre a prevalência de GM no Brasil e na América Latina, especialmente em indivíduos submetidos a checkup de saúde (CS) de rotina. **Objetivos:** Nosso objetivo foi avaliar a prevalência de GM em uma população submetida a CS rotineiro no Brasil, independentemente de história médica prévia. Também pretendemos avaliar características demográficas dos portadores de GM e algumas características laboratoriais. **Métodos:** No período de janeiro a dezembro/2014, indivíduos acima de 45 anos de idade que se submeteram a CS de rotina no Hospital Israelita Albert Einstein tiveram uma amostra de sangue testado para eletroforese de proteínas (EP). Independentemente da história médica prévia destes indivíduos, o motivo da ida ao hospital foi apenas a avaliação geral de saúde e não um diagnóstico ou tratamento médico específico. As amostras de sangue que apresentaram positividade para GM à EP foram adicionalmente submetidas à imunofixação (IF) e à avaliação de cadeias leves livres séricas (CLL – Freelite® – The Binding Site, UK). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Médica Institucional e todos os participantes assinaram termo de consentimento informado. **Resultados:** No período de 12 meses, 3.095 indivíduos foram estudados, sendo 2.393 homens (77,3%) e 702 mulheres (22,7%). Foi detectada GM em 37 (1,2%), sendo 31 homens (1,3%) e 6 mulheres (0,9%), $p = 0,35$. Abaixo, a distribuição etária: há aumento da prevalência de GM com o aumento da idade, sendo estatisticamente significante em indivíduos de 65 anos ou mais quando comparado com o grupo de menos de 55 anos.

Faixa Etária (anos)	GM ausente n (%)	GM presente n (%)	p
45-54	2081 (99,0%)	20 (1,0%)	
55-64	841 (98,5%)	13 (1,5%)	0,19
> 65	136 (97,1%)	4 (2,9%)	0,04

Todos os 37 casos apresentaram IF positiva para presença de proteína monoclonal, sendo que a imunoglobulina envolvida foi IgG em 28 (75,7%), IgM em 5 (13,5%), IgA em 2 (5,4%) e dupla população monoclonal em 2 (5,4%). A análise da relação das CLL mostrou-se anormal em 9 amostras dos pacientes com GM (24,3%), variando de 0,28 a 38,50, havendo um caso com relação CLL anormal muito alta, de > 55 (relação CLL normal = 0,26 a 1,65). **Conclusão:** 1,2% dos indivíduos desta população brasileira estudada possui GM. Esta prevalência é menor que a relatada na literatura para este grupo etário em outros países, mas este achado talvez possa ser explicado pela menor representatividade de indivíduos acima de 65 anos de idade. A presença de GM eleva-se significativamente com o aumento da idade, como relatado na literatura internacional. O conhecimento da prevalência de GM na população brasileira é importante do ponto de vista epidemiológico e para análise de outros estudos relacionados a GM no país. Análises mais extensas, e em outras regiões brasileiras e latino-americanas, devem ser realizadas para avaliação comparativa nacional e internacional.

499. HIPOGLICEMIA DEVIDO A ANTICORPO MONOCLONAL ANTI-INSULINA EM PACIENTE COM MIELOMA MÚLTIPLO

Costa MFFD, Abreu GAR, Caetano LM, Batista VS, Silva DD, Filho JTDS

Faculdade de Medicina de Campos (FMC), Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil

Introdução: Quadros de hipoglicemia severa geralmente estão relacionados à administração equivocada de insulina ou hipoglicemiantes orais em pacientes diabéticos, além de outras etiologias menos frequentes, como insulinomas, tumores de células beta e não-beta, produção de anticorpos estimulantes do receptor de insulina e síndrome da hiperinsulinemia autoimune. Raros relatos de caso descrevem a presença de hipoglicemia consequente a anticorpos monoclonais anti-insulina em pacientes com mieloma múltiplo (MM) ou gamopatia monoclonal de significado indeterminado

(MGUS). Documentamos o caso de uma paciente com MM cujos episódios de hipoglicemia precederam em cerca de dois anos o diagnóstico da doença de base. **Relato de caso:** Mulher de 59 anos, branca, referia dores na coxa direita iniciado há seis meses, evoluindo para limitação da deambulação, cuja investigação detectou presença de fratura patológica por lesão osteolítica no fêmur direito. Ela foi submetida à correção cirúrgica e biópsia óssea compatível com MM foi realizada. Concomitante a este quadro, a paciente apresentava episódios de hipoglicemia, manifestando-se por diaforese, confusão mental e crises convulsivas iniciados há aproximadamente dois anos. Negava diabetes mellitus, uso de insulina ou hipoglicemiantes orais. Ao exame físico, apresentava-se em regular estado geral, hipocorada +++/4+, FC 96 bpm, PA 140x90 mmHg, sem outras alterações dignas de nota. Exames laboratoriais: eletroforese de proteínas com pico monoclonal na fração gama, imunofixação de proteínas com padrão monoclonal IgG/Lambda, com dosagens de IgG 4650 mg/dL, IgA 21 mg/dL, IgM 15 mg/dL, kappa 25 mg/dL, lambda 1850 mg/dL, hemoglobina 5,0 g/dL, hematócrito 15,6%, VHS 140, ureia 129 mg/dL, creatinina 3,7 mg/dL, ácido úrico 10 mg/dL, proteínas 8,7 mg/dL, albumina 2,6 mg/dL, B2microglobulina 15,1 mg/dL, glicose 37 mg/dL, insulina 300 mcU/mL (2 a 17), peptídeo-C 6,7 ng/mL (0,9 a 7,1), anticorpo anti-insulina 103,6 U/mL (< 10,0). O tratamento do MM resultou em redução dos níveis de anticorpo anti-insulina, assim como a recidiva foi acompanhada por seu aumento e novos episódios de hipoglicemia. **Discussão:** O desenvolvimento de hipoglicemia associada a anticorpos monoclonais anti-insulina é uma manifestação extremamente rara, havendo relatos três casos relacionados à MGUS e quatro associados ao MM. Sua etiologia baseia-se na capacidade do anticorpo monoclonal ligar-se à insulina. A ligação da insulina ao anticorpo atrasa a depuração hepática do hormônio, não alterando o clearance renal de peptídeo-C, o que explica seus níveis desproporcionalmente baixos. Esses anticorpos têm baixa afinidade pela insulina e, por isso, no período pós-prandial, por diminuição da glicemia e da secreção de insulina, ocorre uma mudança na cinética da ligação anticorpo e insulina. Esse complexo é desfeito, liberando a insulina e havendo um aumento do nível plasmático deste hormônio, mesmo na presença de níveis em declínio da glicemia. Assim, como relatado, esses casos apresentavam hipoglicemia associada a altos níveis de insulina plasmática e valores relativamente baixos de peptídeo-C e níveis elevados de anticorpos anti-insulina. **Conclusão:** Tendo em vista a raridade da apresentação de hipoglicemia associada ao MM consequente a anticorpos monoclonais anti-insulina, é importante incluir a pesquisa de gamopatias monoclonais na investigação de pacientes com hipoglicemias recorrentes de causa indeterminada.

500. AHAI E HIPERGAMAGLOBULINEMIA LEVANDO AO DIAGNÓSTICO DE MIELOMA MÚLTIPLO

Souza KC, Carbinatto RB, Pacca RL, Silva JBCB

Liga Acadêmica de Hematologia e Hemoterapia, Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-Campinas), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A anemia hemolítica autoimune (AHA) representa uma condição em que autoanticorpos ligados a antígenos pertencentes às membranas dos eritrócitos iniciam sua destruição via sistemas complemento e reticuloendotelial. O mieloma múltiplo (MM), por sua vez, é caracterizado por uma expansão clonal plasmocitária na medula óssea, causando destruição de tecido ósseo, insuficiência renal e supressão hematopoética. Apesar da associação MM e anemia ser comum, a AHA como manifestação anêmica do MM é um evento raro. **Objetivos:** Relatar caso de MM, cuja manifestação clínica que levou à investigação diagnóstica foi AHA. **Relato de caso:** I.N.S. 69 anos, sexo feminino, negra, foi diagnosticada com artrite reumatoide (AR) há 10 anos, fazendo uso de prednisona e metotrexate. Há seis anos, fez acompanhamento na hematologia em função de leucopenia oscilatória, sem alterações das demais séries. Desde o início do tratamento para AR, conseguiu manter o controle de leucócitos, sendo atribuído este achado à própria AR. Porém, em retorno ambulatorial na reumatologia, foram constatadas novas alterações de exames: hemoglobina diminuída (7,2 g/dL), hematócrito diminuído (22,6%), ferritina aumentada (732 mg/dL), coombs direto positivo, bilirrubina total e indireta aumentadas. Na eletroforese de proteínas: proteínas totais aumentadas (11,8 g/dL), relação A/G diminuída (0,50), albumina diminuída (3,94 g/dL) e gama globulina aumentada (6,25 g/dL), com presença de componente monoclonal de gama globulina. Por esse motivo, a paciente foi encaminhada novamente ao ambulatório de hematologia, com as hipóteses diagnósticas de hipergamaglobulinemia e AHA, onde foi realizada biópsia de medula óssea, confirmando MM. **Discussão:** A AHA é frequentemente associada com doen-

ças linfoproliferativas. Ela pode ser observada em 8-15% dos pacientes com leucemia linfocítica crônica, porém sua relação com o MM ainda não foi muito bem esclarecida. Há menos de uma dezena de casos relatados, o que dificulta uma conclusão efetiva dos estudos, entretanto, o fato de o MM ser uma doença de células B está sendo levado em consideração. O diagnóstico de MM só foi aventado neste caso após a manifestação da AHA e subsequente resultado da eletroforese de proteínas, muito sugestivo dessa patologia por apresentar um aumento da proteína monoclonal no sangue. Essa suspeita foi logo confirmada pela biópsia de medula óssea. Assim como estudos estão sendo realizados para melhor correlacionar o mieloma MM levando à AHA, outros tentam identificar a possível causa contrária. Nenhuma pesquisa foi ainda capaz de provar que a proteína monoclonal é o anticorpo responsável pela AHA e a patogênese dessa evolução é pouco clara. Há a possibilidade do envolvimento de imunossuppressores, que são usados no tratamento do MM e outras doenças linfoproliferativas, no desenvolvimento da AHA, porém, a quantidade de casos relatados é extremamente baixa e novos estudos necessitam de maior substrato para melhor compreender essa relação. **Conclusão:** O caso revela uma condição rara acerca da fisiopatologia da AHA associada ao MM. Os estudos escassos dificultam seu entendimento, assim como o baixo número de casos relatados. Logo, os estudos em andamento sobre esta entidade devem esclarecer, em um futuro próximo, tanto a patogênese quanto a intimidade da relação entre as duas, afim de tornar o diagnóstico mais precoce e o tratamento mais efetivo.

501. PROTEINÚRIA COMO PRIMEIRA MANIFESTAÇÃO CLÍNICA DO MIELOMA MÚLTIPLO: RELATO DE CASO

Menegati SFP, Avancini LB

Centro Universitário Nossa Senhora do Patrocínio (CEUNSP), Itu, SP, Brasil

O mieloma múltiplo (MM) é caracterizado por uma produção desordenada de células plasmáticas clonais na medula óssea e conseqüente produção de imunoglobulinas monoclonais. Isso resulta em um quadro grave de supressão hematopoética, insuficiência renal, destruição óssea e infecções. A taxa de sobrevida desses pacientes pode variar muito, entre meses e anos, dependendo da agilidade no diagnóstico e tratamento adequado. Este estudo aborda um caso em que o diagnóstico da doença partiu de um sinal atípico, descoberto através do aparecimento de urina com característica espumosa, confirmado posteriormente por uma proteinúria bastante aumentada, não estando associado a nenhum outro sintoma. A pesquisa parte desse trabalho foi realizada pelo acompanhamento do paciente desde a suspeita clínica, o diagnóstico e o período de tratamento, tendo como base a avaliação dos exames laboratoriais. O caso relatado se difere de outros casos de MM devido à presença de uma proteinúria ter sido considerada a primeira manifestação, sem sintomas iniciais característicos da doença usualmente relatada pela literatura. A clínica do paciente abordado nesse estudo de caso evidenciou um quadro avançado da doença, fato que torna ainda mais relevante o conhecimento de sinais e sintomas iniciais atípicos do MM por parte dos profissionais da saúde, tendo em vista um diagnóstico precoce, garantindo uma melhor qualidade e perspectivas de vida aos pacientes.

502. SCREENING PANEL IN MONOCLONAL GAMMOPATHIES: A LOCAL EXPERIENCE AT HOSPITAL DEL SALVADOR, SANTIAGO, CHILE

Pena C^a, Voisin J^a, Peralta A^a, Ortiz M^a, Balboa V^a, Delgado F^b

^a Hospital del Salvador, Santiago, Chile

^b The Binding Site, Birmingham, United Kingdom

Introduction: Since 2009, The International Myeloma Working Group guidelines have recommended the combination of serum protein electrophoresis (SPE), serum immunofixation (IFE), and serum free light chains (sFLC) as a diagnostic screen for multiple myeloma (MM) and related disorders. This scheme is not always requested, especially by physicians other than hematologists. In this institution, less than half of routine MM investigations are accompanied by a urine sample. There is growing evidence to support the use of SPE and sFLC as a potential replacement for urine protein electrophoresis at diagnosis. **Objective:** To evaluate whether a combination SPE + FLC can simplify the diagnosis of monoclonal gammopathy (MG). **Methods:** The authors studied 127 samples from patients with suspicion of MG from October 2013 until April

2015. SPE, IFE, and sFLC assays were performed. SPE was performed in all 127 samples. IFE was requested in only 22 serum samples. No urine samples were collected. sFLC was added to the analysis in all samples.

Results: Of 127 patients, 45 had a final diagnosis of MG, five MGUS, eight plasmacytomas, four AL amyloidosis, one Waldenstrom macroglobulinemia, and 27 MM (21 intact Ig MM, five light chain MM, one non-secretory MM). The addition of sFLC to SPE demonstrated better sensitivity for detection of monoclonal proteins than SPE alone in LCMM (80% vs. 40%), NSMM (100% vs. 0%), plasmacytoma (88% vs. 63%), and in AL amyloidosis (100% vs. 50%). The combination of SPE + FLC detected 93% of all patients, compared to 78% of patients detected with SPE alone. A total of 20 serum samples were also evaluated with IFE. The complete analysis is shown in Table 2. In one case, the only assay that detected the monoclonal protein was IFE (MMII patient). These results showed that the most efficient and simple algorithm should include SPE + sFLC with IFE as a reflex test.

Conclusions: The panel recommended by the IMWG is not widely used in this institution. The panel SPE + sFLC proved to be very useful in this setting. SPE + sFLC was the simplest diagnostic algorithm for MG with high diagnostic sensitivity, and in this study, it had the additional benefit of not requiring urine samples. sIFE and uIFE are laborious techniques, and although they are part of the complete diagnostic workup for MG, they can be used after screening with SPE and sFLC. The international and local experiences support the authors' recommendation in promoting the adoption of the new algorithm. Table 1. Results for monoclonal protein screening using the current algorithm available at the institution (SPE) with the inclusion of sFLCs. SPE - SPE + sFLC N (%): MGUS 5/5 (100) - 5/5 (100); IIMM 20/21 (95) - 20/21 (95); LCMM 2/5 (40) - 4/5 (80); NSMM 0/1 (0) - 1/1 (100); Plasmocytoma 5/8 (63) - 7/8 (88); AL Amyloidosis 2/4 (50) - 4/4 (100); Waldenstrom 1/1 (100) - 1/1 (100); TOTAL 35/45 (78) - 42/45 (93) Table 2. Results for monoclonal protein screening using the recommended algorithm. SPE - IFE - sFLC - SPE/IFE - SPE/sFLC - SPE/sIFE/sFLC %: MGUS N = 2: 100% - 50% - 50% - 100% - 100% - 100% IIMM N = 11: 91% - 100% - 91% - 100% - 91% - 100% LCMM N = 2: 100% - 100% - 100% - 100% - 100% - 100% NSMM N = 1: 0% - 0% - 100% - 0% - 100% - 100% Plasmocytoma N = 2: 100% - 100% - 100% - 100% - 100% - 100% AL Amyloidosis N = 1: 0% - 0% - 100% - 0% - 100% - 100% Waldenstrom N = 1: 100% - 100% - 100% - 100% - 100% - 100% TOTAL N = 20 85% - 85% - 90% - 90% - 95% - 100%.

503. FREE LIGHT CHAIN RATIO AS A SIMPLE PROGNOSTIC MARKER IN A SINGLE INSTITUTION EXPERIENCE

Pena C^a, Voisin J^b, Peralta A^c, Ortiz M^c, Balboa V^c, Delgado F^d

^a Sección Hematología, Hospital del Salvador, Santiago , Chile

^b Servicio Medicina Interna, Hospital del Salvador, Santiago , Chile

^c Laboratorio Reumatología/Inmunología, Hospital del Salvador, Santiago, Chile

^d The Binding Site, Birmingham, United Kingdom

Introduction: Multiple myeloma (MM) is a plasma cell dyscrasia characterized by bone marrow plasma cell infiltration and the secretion of monoclonal immunoglobulin (Ig) in the serum or urine. Median survival in MM patients is approximately five years and significant morbidity may be experienced. The course is progressive and, although always incurable, the prognosis is highly variable. The two most widely used staging systems in MM include that of Durie and Salmon and the International Staging System (ISS). Others have been studied, including serum free light chain (sFLC) concentrations and ratio (sFLCr). **Methods:** This study measured sFLC in 27 newly diagnosed MM (21 intact Ig MM, five light chain MM, one non secretory MM) at this center (Hospital del Salvador, Santiago, Chile) from October 2013 until June 2015. The sFLCr was calculated with the involved monoclonal light chain as the numerator. The median sFLCr was 17. Patients were divided into a "low group" (< 17 sFLCr) and a "high group" (> 17 sFLCr). These patients were analyzed using the cutoff (sFLCr of 50) previously reported by Garcia de Veas Silva et al. [Hematology reports 2015; 7 (s1) p23]. The median follow-up was 16 months. **Results:** During the period of study there were eight deaths (29.7%). Seven (87.5%) of these deaths presented with an ISS score of 3 (Table 1). Mortality rates were lower in the group of patients with "low" sFLCr (15.3%, two deaths in a group of 13 patients), as compared to patients with a "high" sFLCr (42.9%, six deaths in a group of 14 patients) (Table 2). Using the cutoff established by Garcia de Veas Silva et al., the mortality rate for patients with sFLCr > 50 was 66.7% vs. 11.1% for patients in the < 50 sFLCr group (Table 3). **Discussion:** Although a short follow-up period was available for analysis, it is believed that these

results are promising. sFLCr can be used as an easy prognostic indicator in newly diagnosed, symptomatic MM, especially when high risk patients (> 50 sFLCr) are identified. The introduction of biomarkers in the evaluation of MM patients will enable better risk assessment and rational follow up. Table 1. International Staging System. Stratification of our study population. ISS=1 N Patients=2 N Deaths=0 Mortality (%)=0 ISS= 2 N Patients=12 N Deaths=1 Mortality (%)=8.3 ISS=3 N Patients=13 N Deaths=7 Mortality (%)=53.9 Table 2. Mortality rate in our study population using the median sFLCr as a cut off value. Mortality MM= N Patients - N Deaths - Mortality (%) All= 27 - 8 - 29.6%; sFLCr>17= 14 - 6 - 42.9%; sFLCr<17= 13 - 2 - 15.4% Table 3. Mortality rate in our population using the published cut off sFLCr value. Mortality MM - N Patients - N Deaths - Mortality (%) All= 27 - 8 - 29.6%; sFLCr>50= 9 - 6 - 66.7%; sFLCr<50= 18 - 2 - 11.1%.

504. LEUCEMIA DE CÉLULAS PLASMÁTICAS COM PICO BICLONAL SÉRICO

Almeida LL^a, Resende LSR^a, Silveira TD^a, Silva FR^a, Sabaini CS^a, Fadel AV^a, Cantadori LO^a, Gaiolla RD^a, Oliveira CC^b, Niero-Melo L^a

^a Departamento de Hematologia, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

^b Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

Introdução: A leucemia de células plasmáticas (LCP) é uma variante agressiva das neoplasias plasmocitárias caracterizada pela circulação de plasmócitos no sangue periférico (mais de 2000 cel/mm³ ou mais de 20% dos leucócitos circulantes). Pode ocorrer primariamente ou ser secundária a um caso de mieloma múltiplo (MM), respectivamente em 2/3 e 1/3 dos casos. **Objetivo:** Relatar caso de LCP com evento raro de biclonalidade na eletroforese de proteínas séricas. **Material e método:** Estudo clínico-laboratorial retrospectivo do caso. **Resultado:** Paciente do sexo feminino, branca, 70 anos, com antecedente de HAS, litíase renal bilateral e litotripsia extracorpórea há três anos, procurou o Pronto Socorro por fraqueza e palidez há três meses. Também relatava dor crônica na coluna lombar e ombros. Há um ano realizara TC de ombro E, que evidenciou lesões osteolíticas, sem prosseguimento na investigação. À admissão, mostrava IRA-Akin III, creatinina 7,2 mg/dL, cálcio 10,4 mg/dL, além de lesões líticas difusas na coluna lombar, calota craniana, fêmures e úmeros. Ao hemograma mostrava Hb = 7,5 g/dL, plaquetas = 75000/mm³, leucócitos = 5.900/mm³, sendo 40% de células plasmáticas atípicas (2360 plasmócitos/mm³). O aspirado de MO resultou em "dry tap" e a imuno-histoquímica da biópsia de MO revelou infiltração maciça por plasmócitos que expressavam cadeia leve kappa. Havia pico biclonal em região de gamaglobulinas séricas e pico monoclonal na urina. A imunofixação confirmou biclonalidade em gamaglobulinas séricas, constituída por IgG kappa (molécula completa) mais cadeia leve kappa isolada. Estabelecido o diagnóstico de LCP. Iniciados bortezomibe, ciclofosfamida e dexametasona – esquema VCD. Atualmente, a paciente está no 18º dia do primeiro ciclo, com melhora clínico-laboratorial. **Discussão:** A LCP primária é rara, apresenta prognóstico ruim, com sobrevida média de seis a 11 meses. Há poucos relatos de picos biclonais em neoplasias imunoproliferativas. Nossa paciente, com provável LCP secundária, apresentou pico biclonal caracterizado por IgG kappa + kappa isolada, fenômeno raro associado à neoplasia, por si só, também rara (LCP).

505. IMPACT OF SERUM FREE LIGHT CHAIN MEASUREMENTS IN DIAGNOSIS OF MONOCLONAL GAMMOPATHIES

Pizarro R^a, Semanez C^b, Cartolin ME^a, Montanez M^b, Delgado F^c

^a Laboratory of Immunology, Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN), Lima, Peru

^b Department of Medicine, Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN), Lima, Peru

^c The Binding Site, Birmingham, United Kingdom

Background: Serum protein electrophoresis (SPE) and Immunofixation electrophoresis (IFE) are well-known techniques for monoclonal protein detection when used in the diagnosis of monoclonal gammopathies (MG), but have low sensitivity. This is particularly true for free light chain myeloma and non-secretory/oligo-secretory disease (NSMM). The serum free light chain (sFLC) assay has been shown to improve detection of these diseases, and is recommended for

screening and monitoring of plasma cell dyscrasias (PCD) in many international guidelines. **Aims:** To determine the diagnostic sensitivity of different assay combinations for the detection of monoclonal gammopathies and the contribution of sFLC assays as part of the screening algorithm for MG. **Methods:** sFLC assay (Freelite, The Binding Site, Birmingham, UK) was performed on frozen serum samples from 113 patients diagnosed with a plasma cell dyscrasia (PCD), who also had serum/urine protein electrophoresis and IFE performed within 30 days of diagnosis. **Results:** The sensitivity of the tests and combination of tests are shown in Table 1. An abnormal sFLC ratio was detected in 82.3% of PCD: 86% of MM, 50% of plasmacytoma, 83.3% of light chain MM (LCMM), and 57.1% of NSMM. Using a combination of tests that included sFLC, it was possible to detect two additional patients with PCD. These patients had NSMM and plasmacytoma, respectively. Only two of 113 patients with PCD were negative in all assays. **Conclusions:** The addition of sFLC assays allowed the identification of two additional patients who were not detected by electrophoresis. Measurement of sFLC was more sensitive for detecting non-secretory PCD. No additional information was obtained with the addition of urine studies; therefore, a review of the current screening algorithm is necessary. The authors are currently working to increase this study population in order to better support the recommendation for the adoption of this algorithm (SPE + sFLC) in Peru.

506. SERUM FREE LIGHT CHAINS MEASUREMENTS IMPROVE SCREENING IN PATIENTS WITH MONOCLONAL GAMMOPATHY

Riva E^a, Turcatti P^a, Bove V^a, Decia M^b, Rivers C^b, Olascoaga A^b, Delgado F^c, Diaz L^a

^a Hematology Department, Hospital de Clínicas, Montevideo, Uruguay

^b Clinical Laboratory Department, Hospital de Clínicas, Montevideo, Uruguay

^c The Binding Site, Birmingham, United Kingdom

Introduction: The serum κ and λ light chain quantitative immunoassays (sFLC) are recommended for screening, prognosis, and response assessment of monoclonal gammopathies (MG). In Uruguay, this test was not widely available until the development of this project in 2012. **Aims:** To evaluate the use of sFLC assay for screening purposes in MG patients, according to international guidelines. **Methods:** sFLC values were evaluated in MG patients according to IMWG guidelines. sFLC was performed per manufacturer's instructions (Freelite, The Binding Site, Birmingham, UK). SPE and IFE (Interlab Electrophoresis) were also performed in all patient serum samples. The study cohort was composed of 20 women and 32 men, with an overall median age at presentation of 67 years. **Results:** 52 serum samples from patients with MG were analyzed. 27 patients presented as MGUS and 22 had multiple myeloma (MM), 17 of whom presented with IIMM and five with LCMM. This institution's standard screening algorithm for suspicion of MG includes SPE + IFE. When this algorithm was applied, 21 out of the 22 MM patients were detected, with a diagnostic sensitivity of 95%. The addition of sFLC measurements to the screening algorithm enabled the detection of one additional MM patient, increasing the diagnostic sensitivity from 95% to 100% (Table 1). This was especially relevant for LCMM patients (sensitivity of 80% with SPE + IFE vs. 100% using SPE + FLC + IFE). Moreover, sFLC determination also allowed better risk stratification of MGUS patients as having 0, 1, 2, or 3 risk factors, according to international guidelines (Table 2). **Conclusions:** Combining sFLC with SPE and using IFE as a reflex test is the simplest and most efficient screening panel for identification of MGs patients, as suggested in international guidelines. In the authors' experience, the sFLC assay allowed for increase of the number of patients detected, and for improvement in the diagnostic sensitivity for MG screening. These results support the authors' recommendation to incorporate sFLC in the regular screening panel for MGs in Uruguay.

507. MIELOMA MÚLTIPLO COM EVOLUÇÃO PARA LEUCEMIA DE CÉLULAS PLASMÁTICAS: RELATO DE CASO

Gontijo GR^a, Bicalho EL^a, Pinheiro MB^a, Moreira LS^{a,b}, Abud AC^a, Moraes KXSM^a, Lopes RMP^a, Silva FMC^a

^a Universidade Federal de São João Del Rei (UFSJ), Divinópolis, MG, Brasil

^b Hospital São João de Deus, Divinópolis, MG, Brasil

O mieloma múltiplo (MM) é uma neoplasia caracterizada pela proliferação de células plasmáticas produtoras de imunoglobulina monoclo-

nal. O MM representa 1% de todos os cânceres e 13% das neoplasias hematológicas. Existe predomínio no sexo masculino e a idade média de diagnóstico é 70 anos. Os critérios diagnósticos, de acordo com a *International Myeloma Foundation*, são: células plasmáticas monoclonais na medula óssea > 10% e/ou presença de plasmocitoma; proteína monoclonal sérica e/ou urinária; cálcio sérico elevado (> 10,5 mg/L ou superior ao limite normal); insuficiência renal (creatinina sérica > 2 mg/dL); anemia (hemoglobina < 10 g/dL ou 2g < normal); lesões osteolíticas ou osteoporose. Apresentamos o seguinte caso: paciente do sexo feminino, 60 anos, hipertensa, diabética, asmática, foi internada para investigação de anemia. Exames realizados levaram a suspeita de MM e foi solicitada avaliação por hematologista. Ao exame físico, paciente encontrava-se debilitada, hipocorada e sem lesões suspeitas. Exames complementares iniciais revelaram eletroforese de proteínas: Alb 4,06 g/dL, alfa1 0,24 g/dL, alfa2 0,80 g/dL, beta1 0,51 g/dL, gama 7,63 g/dL (com grande pico monoclonal em gamaglobulinas); creatinina 1,64 mg/dL; VHS 73mm; cálcio 7,1 mg/dL; Hb 7,3 g/dL; GL 9.500/mm³; plaquetas 164.000/mm³; imunofixação: IgG/Lambda; beta2 microglobulina 8,05 mg/mL; ácido úrico 7,6 mg/dL. Foram realizados mielograma e biópsia de medula óssea, que confirmaram infiltração medular por neoplasia de células plasmáticas. Foi confirmado diagnóstico de MM, IgG/Lambda, estágio IIIA, ISS3. Porém, transcorreram-se cerca de 3 meses entre a realização do diagnóstico e o acesso ao serviço de onco-hematologia para início do tratamento quimioterápico, em abril/2014. À admissão no serviço de onco-hematologia, a paciente apresentava piora da anemia, (Hb 6,6 g/dL) e leucocitose importante (64.300/mm³), com 80% de plasmócitos circulantes. Foi realizada imunofenotipagem do sangue periférico, que confirmou diagnóstico de leucemia de células plasmáticas, que é uma evolução rara e agressiva do MM, com prognóstico desfavorável e média de sobrevida de seis a 11 meses, sendo que 28% dos pacientes evoluem a óbito no primeiro mês após o diagnóstico. Foi iniciado tratamento quimioterápico, esquema CyBORDEX (ciclofosfamida, bortezomibe e dexametasona). Iniciado também tratamento com Bisfosfonato (pamidronato). Eritropoetina também foi utilizada, com ótima resposta e resolução completa da anemia. A paciente apresentou excelente resposta ao tratamento quimioterápico, com negativação tanto da eletroforese de proteínas quanto da imunofixação séricas, após cinco ciclos de CyBORDEX. A paciente foi encaminhada para avaliação em serviço de transplante autólogo de células-tronco, enquanto prosseguia em tratamento quimioterápico. Foi submetida recentemente à coleta das células CD34, e na última semana de julho de 2014 internou-se para a realização do transplante. Dezoito meses após o diagnóstico, a paciente encontra-se bem, em remissão, realizando o transplante de medula óssea na tentativa de prolongar sua sobrevida livre de progressão e sobrevida global. Trata-se de um quadro de evolução completamente atípica do ponto de vista epidemiológico, pela boa resposta que a paciente apresentou, daí o nosso interesse em documentá-lo. Também é importante salientar que a principal medicação utilizada, bortezomibe, não está disponível no SUS.

508. COMPARISON OF FREE KAPPA & LAMBDA LIGHT CHAIN IMMUNOASSAY (FREELITE) TO TOTAL KAPPA & LAMBDA IMMUNOASSAYS FOR THE DETECTION OF MULTIPLE MYELOMA

Riva E^a, Bove V^a, Turcatti P^a, Decia M^b, Rivers C^b, Olascoaga A^b, Delgado F^c, Diaz L^a

^a Hematology Department, Hospital de Clínicas, Montevideo, Uruguay

^b Clinical Laboratory Department, Hospital de Clínicas, Montevideo, Uruguay

^c The Binding Site, Birmingham, United Kingdom

Introduction: Monoclonal gammopathies (MG) are a disparate group of diseases that can present with variable symptoms that range from benign to malignant. The abnormal plasma cells secrete intact immunoglobulins, free κ or λ light chains without an associated heavy chain, or both an intact immunoglobulin and free light chains. Historically, serum (SPEP) and urine (UPEP) electrophoresis were considered the gold standard for identifying intact M-Ig and FLC, respectively. In 2001, the introduction of the Freelite test, which measures FLC in serum, changed the diagnostic and monitoring paradigm. Since then, the assay has been recommended as a tool to diagnose and monitor patients with B cell disorders in many international guidelines. However, the free light chain assay is sometimes confused with immunoassays that measure total kappa and total lambda light chains. The present

study compares kappa & lambda Freelite with total kappa & lambda immunoassays alongside SPE and IFE as tools to identify patients with multiple myeloma in this institution. **Aims:** To compare serum Freelite (sFLC) assay results with total serum light chain results and their potential as tools for screening of multiple myeloma (MM) patients. **Methods:** sFLC values were measured using the Freelite assay (Binding Site, Birmingham, UK) in MM patients according to manufacturer's instructions. Total light chains were measured with total light chain assay, according to manufacturer's instructions (Siemens). Manufacturer's normal ranges were used to determine light chain clonality (Freelite/sFLC ratio 0.26-1.65; /TLC ratio 1.35-2.65). All samples were evaluated with IFE (Interlab Electrophoresis), used as gold standard for comparison between light chain assays. **Results:** Twenty-two serum samples from MM patients were analyzed. Median age was 67 years. Seventeen patients presented intact immunoglobulin MM (IIMM) and five had light chain MM (LCMM). Freelite was able to correctly identify 21/22 (95%) samples presenting with a monoclonal protein. Using the same set of samples, the total light chain assays identified only four (18%) serum samples as abnormal. Results were discordant in 17/21 samples measured with the total light chain assay, leading to a sensitivity of detection of 18%. In contrast, the sFLC assay showed a sensitivity of 95%. When only LCMM were analyzed, the total light chain assay identified only one abnormal sample (20% sensitivity); in contrast, Freelite correctly identified all five patients with LCMM. **Conclusions:** Based on this experience at the Hospital de Clínicas and in agreement with other publications, it is suggested that the total light chain assay should not be used, due to its lack of sensitivity. sFLC allowed for an increase in the number of patients detected as compared to SPE alone. The authors support the recommendations of national and international guidelines for the use of serum free light chain measurement for diagnosis of MM patients. **Table:** Diagnostic sensitivity for detection of LCMM and IIMM in serum samples using two different light chain assays in combination with SPE. Sensitivity (%) in LCMM (N = 5): sFLC 100, SPE 40, sFLC+SPE 100, TLC 20, TLC+SPE 60. IIMM (N = 17): sFLC 94, SPE 94, sFLC+SPE 100, TLC 17, TLC+SPE 94. Total (N = 22): sFLC 95, SPE 77, sFLC+SPE 100, TLC 18, TLC+SPE 82.

509. FARMACOVIGILÂNCIA DE PACIENTES PORTADORES DE MIELOMA MÚLTIPLO EM TRATAMENTO COM BORTEZOMIBE E/OU TALIDOMIDA

Castro TBM^{a,b}, Neto AEH^a, Atalla A^{a,b}

^a Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, MG, Brasil

^b Centro de Especialização em Neoplasias (Centerq), Juiz de Fora, MG, Brasil

Introdução: a maioria dos protocolos para o tratamento do mieloma múltiplo (MM) é composto por bortezomibe e/ou talidomida associados a outras drogas, como agentes alquilantes e corticoides. A farmacovigilância se mostra uma importante ferramenta durante o tratamento, pois é grande a chance dos pacientes apresentarem algum tipo de efeito adverso (E.A.). **Pacientes e métodos:** a farmacovigilância foi exercida através de entrevistas realizadas a cada retorno do paciente, observação clínica e consultas aos exames laboratoriais e prontuários. Os critérios do *National Cancer Institute*, versão 4.0, foram utilizados para identificação e graduação de E.A. Os dados foram coletados em três instituições, no período de 30 meses. **Resultados:** foram incluídos no estudo 59 pacientes (sendo estudados 62 tratamentos). Houve uma predominância do sexo feminino, 36 (61%) versus 23 (39%) do sexo masculino, e de brancos, 49 (83,1%) versus 10 (16,9%) da raça negra. A idade dos pacientes variou de 40 a 94 anos, com mediana de 65 anos de idade (DP = 11,6). Em relação ao estadiamento ao diagnóstico, 39 (66,1%) pacientes se encontravam no estágio III, sendo 12 (20,3%) pacientes com creatinina ≥ 2 . Os principais E.A. do grupo tratado com bortezomibe (n = 40) foram: neutropenia (42,5%), diarreia (47,5%) e neuropatia periférica (NP) em 60% dos casos, sem diferença (p = 0,343) da administração endovenosa do bortezomibe (n = 26) em relação a utilização subcutânea (n = 14). No grupo tratado com talidomida (n = 19), 31,6% apresentaram neutropenia, 47,4% constipação e 68,4% NP. A neutropenia esteve associada ao uso de alquilantes (p = 0,038). Dos três pacientes que receberam bortezomibe associado a talidomida apenas um apresentou NP (33,3%). **Conclusão:** As características epidemiológicas da população estudada corrobora com a literatura nacional, evidenciando uma maior frequência de estádios avançados ao diagnóstico, o que denota uma maior carga tumoral e pior prognóstico. Destaca-se a N.P. como principal E.A. dos protocolos que utilizaram bortezomibe ou talidomida, com maior risco de neutropenia naqueles que utilizaram agentes alqui-

lantes. Acreditamos que a melhora na identificação de E.A. é fundamental para o cuidado com o paciente portador de MM, que apresenta melhoras progressivas no tratamento e requer um uso racional e seguro dos medicamentos.

510. ACHADOS CITOGENÉTICOS POR CARIÓTIPO E FISH EM MIELOMA MÚLTIPLO

Vulcani SLV^a, Ratis CA^a, Santos MFMD^a, Kishimoto RK^a, Castro ABM^a, Safranauskas RMSO^a, Petermann R^a, Fernandes PF^a, Velloso EDRP^{a,b}

^a Laboratório de Técnicas Especial – Genética, Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

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

Introdução: O mieloma múltiplo (MM) é uma doença caracterizada pelo acúmulo de plasmócitos clonais na medula óssea (MO), que produzem uma proteína anômala. Anormalidades citogenéticas observadas no MM, quer por cariótipo ou por técnica de hibridação *in situ* fluorescente (FISH), influenciam a sobrevida dos pacientes. Os plasmócitos têm baixo índice mitótico *in vitro* e a detecção de anormalidades clonais é pequena, sendo descrita em 20-50% dos casos. A técnica de FISH, utilizando pré-seleção dos plasmócitos e com painel ampliado, demonstra anormalidades em 80% dos casos. **Objetivo:** Avaliar a incidência e distribuição das principais anormalidades encontradas em FISH através da técnica de seleção de células CD138+ e analisar retrospectivamente os achados de cariótipo e FISH em MM. **Métodos:** Seis amostras de MO de portadores de MM foram utilizadas para realização de FISH com seleção de células CD138+ [kit EasySep™ Human WB e BM CD138 Positive Selection Cocktail (Stemcell)] utilizando painel de 5 sondas [amplificação 1q, del13q14, del17p13.1, t(4;14) e t(14;16) (CytoCell™)]. A análise retrospectiva foi realizada em amostras de cariótipo processadas no laboratório de citogenética do HIAE e para FISH os resultados dos exames enviados para laboratório de apoio no período de 12/2007 a 8/2014. O diagnóstico de MM foi confirmado por morfologia (aspirado ou biópsia de MO), presença de pico monoclonal e/ou estudo imunofenotípico mostrando população plasmocitária clonal. Analisou-se o número modal, a frequência de anormalidades clonais, a distribuição dessas anormalidades nos vários cromossomos e se a detecção da clonalidade ocorreu na cultura com ou sem agente estimulante. **Resultados:** Das 6 amostras obtidas para o FISH com separação de células CD138+, 83% (5/6) apresentaram anormalidades, sendo a t(4;14) a mais encontrada com frequência de 66%. Na análise retrospectiva foram encontradas 14,35% (60/418) de anormalidades clonais no cariótipo. Dos 60 casos anormais, 38,33% (23/60) eram hiperdiploides, 31,66% (19/60) eram hipodiploides, 6,66% (4/60) eram triploides/tetraploides e 23,33% (14/60) eram pseudodiploides. Houve predominância das anormalidades nos cromossomos 1, 3 e 11 (> 20% dos casos com anormalidades) e 14 (15% dos casos com anormalidades). A cultura com TPA mostrou maior índice mitótico em comparação com as culturas sem agentes estimulantes. Já na análise retrospectiva do FISH (86,5% realizados sem seleção de plasmócitos) encontrou-se 34% (64/186) de alterações cromossômicas, onde 177 foram analisados com painel de três sondas [13, IGH e p53] (61 casos alterados) e nove com painel de seis sondas [1, 13, IGH, p53, t(4;14) e t(14;16)] (1 caso alterado). O rearranjo do IGH (14q32) foi o mais visto, presente em 27,9% (52/186) dos casos. **Conclusão:** As anormalidades cromossômicas influenciam diretamente na evolução do MM e podem auxiliar na escolha da terapia mais adequada. Neste estudo, concluímos que a técnica de seleção de células CD138+ para o FISH é essencial para que a análise seja feita exclusivamente em células plasmocitárias, evitando, assim, resultados falso-negativos. O cariótipo detectou baixa porcentagem de anormalidades clonais, com envolvimento de todos os cromossomos. A introdução de novos agentes estimulantes para células B na rotina laboratorial, como a interleucina-6, pode melhorar esta técnica.

511. ASSOCIAÇÃO DE DOENÇA DE BEHÇET E MIELOMA MÚLTIPLO: RELATO DE CASO

Fonsêca ARBM, Jacomini A, Colleoni GWB, Pivaro MF, Stanzione RL, Araujo RAN, Braga WMT

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

Introdução: A síndrome de Behçet (SB) é uma vasculite multissistêmica rara, de causa desconhecida, caracterizada por úlceras orais recorrentes,

úlceras genitais, uveíte e lesões cutâneas, pode haver ainda envolvimento cardiovascular, pulmonar, articular e do sistema nervoso central. Seu curso clínico é marcado pela presença de ataques inflamatórios agudos. O conhecimento a respeito da associação entre câncer e doenças do tecido conectivo e vasculites têm aumentado, no entanto, quando levamos em consideração a SB há poucos relatos de neoplasias associadas, mesmo na população chinesa, onde a doença tem maior incidência. Na maioria dos casos, o aumento da incidência de doenças malignas relaciona-se à natureza autoimune da SB e ao tratamento imunossupressor. Em 2001, Cengiz et al. publicaram uma série de 13 casos de malignidades associadas à SB, dos quais três eram neoplasias hematológicas, sendo dois linfomas. Entre 1995 e 2012, Lin et al. analisaram 651 pacientes chineses com SB que necessitaram de internação hospitalar, e publicaram 41 casos de malignidade associadas à doença, dos quais 29 tinham o diagnóstico de neoplasia hematológica, na sua grande maioria síndrome mielodisplásica, não foi descrita associação com mieloma múltiplo. Em 2005, Kaklamani et al. revisaram a literatura em busca de relatos dessa associação. Nesse estudo, há descrição de dois casos publicados de SB relacionada à mieloma em 1988. **Objetivo:** Relatar o caso de uma mulher com diagnóstico de SB que foi avaliada pela hematologia devido à combinação de hipercalemia, anemia e lesão renal sem sinais de atividade da doença reumatológica. **Materiais e métodos:** Estudo descritivo, com enfoque qualitativo da paciente AMC, 37 anos, com diagnóstico de doença de Behçet há 21 anos, em seguimento com reumatologia do Hospital São Paulo, da UNIFESP/EPM, que vinha em uso de ciclosporina 250 mg/dia (3,1 mg/kg) e azatioprina 200 mg/dia, com boa resposta. Deu entrada pelo pronto-socorro com história de queda do estado geral e dor lombar pior à direita, sem irradiação, iniciada cinco dias antes da internação. Além disso, referia uma história de perda de 10% do peso corporal nos últimos dois meses. No exame físico não havia alterações. Os exames laboratoriais demonstravam anemia normocítica e normocrômica, lesão renal aguda com sedimento urinário ativo, hipercalemia PTH-independente e aumento dos marcadores inflamatórios. Foi realizada eletroforese de proteínas com presença de componente monoclonal migrando em gamaglobulinas correspondendo a cerca de 13% (0,93 g/dL) das proteínas totais. O inventário ósseo revelou lesões osteolíticas em calota craniana e quadril. A biópsia de medula óssea mostrou infiltração por mieloma múltiplo lambda e a pesquisa de substância amiloide na pele foi negativa. **Conclusão:** A possibilidade do aumento do risco de neoplasias associadas a doenças autoimunes como a SB não deve ser negligenciada, tanto pelo estímulo linfoproliferativo da própria doença como pela supressão da resposta imunológica antitumoral gerada pelo tratamento imunossupressor.

512. ENCEFALOPATIA HIPERAMONÊMICA EM MIELOMA MÚLTIPLO

Kerbaui MN, Almeida APS, Barbosa ICV, Sousa MLVE, Junior WFS, León C, Martínez GA

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

Introdução: Distúrbios neurológicos em pacientes com mieloma múltiplo geralmente estão relacionados à hiperviscosidade, uremia ou hipercalemia, porém a encefalopatia hiperamonêmica, entidade rara, também pode estar relacionada a esse diagnóstico. **Objetivo:** Relatar caso de mieloma múltiplo com encefalopatia hiperamonêmica. **Relato de caso:** Paciente do sexo feminino, 61 anos, previamente hígida, procurou o pronto socorro do Hospital das Clínicas apresentando confusão mental há três meses e rebaixamento do nível de consciência há cinco dias da admissão hospitalar, além de tosse com expectoração e febre. Também apresentava dor na coluna lombar e arcos costais à esquerda e emagrecimento há cinco meses. Ao exame físico, apresentava-se descorada, desidratada, torporosa, com proptose de globo ocular à esquerda e presença de massas palpáveis em região de arcos costais à esquerda, sendo o maior de cerca de 5 cm. À admissão apresentava Hb 7,7 g/dL, creatinina 0,6 mg/dL, cálcio ionizado 6,08 mg/dL (4,60-5,30 mg/dL), DHL 189U/L (135-214 U/L), Beta-2 microglobulina 9,5µg/mL (1,0-1,7 µg/mL) e albumina 2,8 g/dL. Eletroforese de proteínas com pico monoclonal: 5,1 g/dL, imunofixação sérica IgG/Lambda, proteinúria 24h: 0,94 g/L, IFX urinária: IgG/Lambda. Inventário ósseo: fratura de úmero bilateral, múltiplas lesões líticas com componente de partes moles e destruição cortical difusa. Biópsia de arco costal E: plasmocitoma produtor de cadeia leve lambda. Frente ao diagnóstico de mieloma múltiplo ISS III, Durie-Salmon IIIA, foi realizado fundoscopia sem sinais de hiperviscosidade, com viscosidade

sanguínea normal, TC de crânio: múltiplas lesões com componente de partes moles, algumas protruindo-se para o interior do crânio, com invasão da órbita, sem alterações em parênquima cerebral e LCR sem alterações. Como não houve melhora do quadro neurológico após correção da desidratação e hipercalemia, foi solicitada amônia sérica: 119 µmol/L (11 a 32 µmol/L), com enzimas hepáticas normais. Eletroencefalograma: desorganização difusa da atividade elétrica cerebral. Iniciado tratamento com protocolo DPACE a cada 21 dias e pamidronato, além de terapia laxativa. Paciente mantinha picos febris persistentes apesar de antibioticoterapia e, após o 2º ciclo de DPACE, evoluiu com melhora significativa do quadro neurológico, resolução de picos febris e redução progressiva do nível sérico de amônia até 42 µmol/L, mantendo-se vigil, contactuante e orientada em tempo e espaço e em reavaliação apresentou redução do pico monoclonal (1,5), proteinúria (0,21 g/L) e redução de plasmocitomas. **Discussão:** A fisiopatologia da hiperamonemia nesses pacientes ainda não está completamente compreendida, podendo estar relacionado à infiltração do tecido hepático por células plasmocitárias, causando "shunting" porto-sistêmico ou produção de amônia pelas células plasmocitárias, demonstrada pela produção *in vitro* de amônia por essas células. Essa entidade geralmente ocorre em pacientes com doença avançada, com valores de amônia acima de 100 µmol/L e apresentam elevada taxa de mortalidade intra-hospitalar (48%), sendo que início precoce de terapia específica costuma reduzir mortalidade. Costuma acometer pacientes idosos (média de 67 anos) e a maior parte dos pacientes apresenta mieloma IgG (40%). **Conclusão:** a encefalopatia hiperamonêmica é uma complicação rara, porém com elevada mortalidade se não tratada precocemente, e deve ser considerada no diagnóstico diferencial de pacientes com mieloma múltiplo e alterações neurológicas.

513. ENCEFALOPATIA HIPERAMONÊMICA EM PACIENTES COM MIELOMA MÚLTIPLO

Fischer TRC, Silva GF, Lucena LL, Carvalho LM, Higashi F, Crusoe EQ, Pacheco FT, Rocha AJ, Chiattonne CS, Hungria VTM

Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Hiperamonemia é uma causa comum e bem definida de encefalopatia. As etiologias clássicas para sua ocorrência são: insuficiência hepática, shunts porto-sistêmicos e raramente neoplasias. Recentemente, descreveu-se casos de encefalopatia hiperamonêmica (EH) em consequência do mieloma múltiplo (MM), com um prevalência estimada de 3,8-22%. **Caso 1:** Paciente feminino, 52 anos, com diagnóstico de mieloma múltiplo IgA/Lambda e plasmocitoma extramedular de localização mamário; estadiamento Internacional Staging System (ISS): 3; Durie Salmon: IIIB. Foi submetida à quimioterapia de indução com protocolo CTD (ciclofosfamida, talidomida e dexametasona) e, após 3 ciclos, houve piora clínica com alteração do nível de consciência, crises convulsivas, constatando-se progressão de doença com novos plasmocitomas em esterno e sistema nervosa central (SNC), IgA: 3360 e hiperamonemia (amônia: 93, valor normal até 32 e espectroscopia de prótons por ressonância magnética – EPRM demonstrando pico de glutamina/glutamato e redução da colina e mio-inositol). Foi modificado o protocolo quimioterápico para o esquema de associação de dexametasona, talidomida, doxorubicina, cisplatina, ciclofosfamida e etoposide – DT-Pace, seguido de quimioterapia com altas doses de melfalano e resgate com células progenitoras hematopoiéticas (TACPH). Paciente evoluiu à óbito 10 meses após o diagnóstico. **Caso 2:** Paciente feminino, 74 anos, com diagnóstico de mieloma múltiplo IgA/ kappa; ISS: 3; Durie Salmon: IIIB. No diagnóstico, apresentava insuficiência renal aguda, hipercalemia e IgA: 5300. Apesar da instituição de medidas clínicas como hidratação, corticoide, bifosfonado e plasmafereze, paciente mantinha quadro de agitação psicomotora e confusão mental. Optou-se por investigação do SNC através de EPRM, que demonstrou hiperamonemia pelo pico de glutamina/glutamato e redução da colina e mio-inositol. Foi proposta quimioterapia de indução com protocolo MPT (melfalano, prednisona e talidomida) e, somente então, observou-se melhora do quadro neurológico. Paciente segue em quimioterapia, atualmente no III ciclo, sem novas alterações de estado mental. O mecanismo para a ocorrência de EH no MM ainda não é adequadamente estabelecido. No entanto, postula-se que a fisiopatologia possa estar relacionada à produção de amônia em níveis críticos pelos próprios plasmócitos, excedendo a capacidade de depuração dos hepatócitos. Nos casos acima descritos, observou-se o subtipo IgA, estágio DS:IIIB e ISS:3, o que está de acordo com a literatura. Pham et al. Descrevem, em 2013, que a EH está associada aos subtipos de mieloma IgA e IgG, estágios avançados de

doença e pior prognóstico, com altas taxas de mortalidade. O diagnóstico de hiperamonemia foi estabelecido com a dosagem da amônia sérica na paciente 1 e nas pacientes 1 e 2, a alteração metabólica foi confirmada utilizando-se a EPRM do encéfalo. A alta concentração de amônia circulante ultrapassa a barreira hemato-encefálica, resultando em alterações no metabolismo dos astrócitos, que a degradam em glutamina e glutamato através da ação da glutamina sintetase. Além disso, estas células perdem para o meio extra-celular metabólitos normais como mio-inositol e colina, que, desta forma, tem seus picos reduzidos. Não há evidência na literatura para a prescrição nesses casos de lactulose ou antibioticoterapia. O precocizado é o tratamento da doença de base, com instituição de quimioterapia precoce.

514. A NEW ROLE OF ANKHD1 ESTABLISHED IN MULTIPLE MYELOMA

Dhyani A^a, Favaro P^b, Saad STO^a

^a Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do Sangue (INCT Sangue), Hemocentro de Campinas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^b Department of Biological Sciences, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil

ANKHD1, ankyrin repeat, and KH domain-containing protein is highly expressed in myeloma cells and plays an important role in the proliferation and cell cycle progression of multiple myeloma (MM). Inhibition of ANKHD1 expression upregulates p21 (cyclin dependent kinase inhibitor [CDKN1A]), a potent cell cycle regulator, and its overexpression represses the p21 promoter. Upregulation of p21 was found to be irrespective of the TP53 mutational status of MM cell lines. A study by this group has shown that ANKHD1 is highly expressed in the S phase and that the downregulation of this protein results in downmodulation of replication-dependent histones, suggesting that it might be required for histone transcription. Assuming that ANKHD1 might be involved in transcriptional activation of histones, the authors studied the effect of ANKHD1 silencing on NPAT nuclear protein of the ataxia telangiectasia mutated locus/p220, a component of the cell-cycle-dependent histone gene transcription machinery. ANKHD1 expression downregulation showed decrease in NPAT expression as compared to control, suggesting a role in transcriptional activation of histones via regulating expression of NPAT. However, immunofluorescence studies showed no direct interaction or association between the two. Therefore, ANKHD1 may not be a component of histone transcription machinery associated with NPAT, and there may be other mechanisms involved in histone downregulation. Since DNA replication is coupled with histone synthesis and downregulation of histones is associated with replication stress and DNA damage, this study checked for expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA), a protein involved in DNA replication and repair. PCNA expression was found to be significantly decreased in ANKHD1 inhibited MM cells, suggesting a role in PCNA mediated DNA replication and repair. To confirm this, the effect of ANKHD1 silencing on some of the components of DNA damage repair (DDR) pathway was studied. Increased expression of γ -H2AX was observed, a marker for DNA double stranded breaks (DSBs) and an early sign of DNA damage induced by replication stress. A decrease in phosphorylated check point kinase 2 (CHK2) was also noted, an essential serine threonine kinase involved in DDR. These results not only suggest a role of ANKHD1 in DDR, they also suggest the possible mechanism for downregulation of histones in ANKHD1 depleted MM cells. In summary, ANKHD1 silencing in MM cells leads to DNA damage, as evidenced by increased expression of γ -H2AX, suggesting that ANKHD1 is essential for DNA replication and repair. Furthermore, as ANKHD1 expression represses p21 irrespective of p53 status of cells, this protein might have a p53 independent function in DNA repair via p21-PCNA pathway. The findings herein establish a new role of ANKHD1 in multiple myeloma, thus opening a new line of investigation.

515. AN ONGOING MULTINATIONAL OBSERVATIONAL STUDY IN MULTIPLE MYELOMA (PREAMBLE): A PRELIMINARY REPORT OF DISEASE IMPACT ON QUALITY OF LIFE

Cella D^a, Moreau P^b, Kuter D^c, Goldschmidt H^d, Davis C^e, Oukessou A^e, Sy O^e, Joo S^e, Annemans L^f

^a Northwestern University, Evanston, United States

^b University Hospital, Nantes, France

^c Massachusetts General Hospital Cancer Center, Boston, United States

^d Heidelberg University Hospital, Heidelberg, Germany

^e Bristol-Myers Squibb, Princeton, United States

^f Ghent University and Brussels University, Ghent, Belgium

Background: Multiple myeloma (MM) is associated with high morbidity and mortality. In recent years, immunomodulatory drugs (IMiDs) and proteasome inhibitors (PIs) have been approved for MM treatment based on their ability to improve patient survival. However, a greater understanding of quality of life (QoL) in patients treated with IMiDs and PIs is needed. **Aims:** PREAMBLE (Prospective REsearch Assessment in Multiple Myeloma: an oBservational Evaluation; NCT01838512) is an ongoing, prospective, multinational, observational cohort study designed to better understand the real-world clinical effectiveness of IMiDs, PIs, and IMiD + PI in patients with relapsed/refractory MM (RRMM). This report provides QoL data for patients enrolled with \geq six months of follow-up. **Methods:** PREAMBLE includes patients with RRMM aged \geq 18 years who have received at least one prior therapy and who initiated treatment with an IMiD, PI, or IMiD + PI < 90 days prior to or 30 days after enrollment. Administration is conducted according to standard clinical practice. Data are collected at baseline (BL) and every three months during year one, then every six months in years two and three, or until discontinuation. Data extraction for the present analysis was performed on December 12, 2014. The EuroQol 5 Dimensions (EQ-5D) questionnaire and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) QoL Questionnaire-Core 30 (QLQ-C30) were used to assess disease burden. Minimally important differences for EQ-5D and QLQ-C30 have been estimated at 0.06–0.09 (for all cancers) and 6–17 (for MM), respectively. **Results:** At the time of data extraction, 273 patients had at least six months of follow-up (96% completion rate at BL). Median BL EQ-5D score was 0.69, compared with 0.8 in the general US population and 0.6–0.7 in other MM studies. At BL, there was no difference in median EQ-5D score, regardless of number of prior lines of therapy. At month six, there was a trend towards improvement in median EQ-5D score, with increasing numbers of prior lines of therapy (one: 0.69; two: 0.69; more than two: 0.76; three: 0.76; more than three: 0.76). At BL, patients reported some or severe pain and discomfort (63.4% [some] and 14.1% [severe]), anxiety and depression (45.5% [some] and 5.3% [severe]), and inability to conduct usual activities (52.9% [some] and 10.6% [severe]). More patients receiving IMiDs (19.4%) reported severe pain and discomfort at BL than those receiving PIs (8.3%) or IMiD + PI (11.1%). Median QLQ-C30 global health status (GHS) scores at BL and month 12 were 58.3 and 66.7, respectively, compared with 75 (general population), 66.7 (colorectal cancer patients), 66.7 (all cancer patients), and 57–68.7 (previous MM studies). Median QLQ-C30 GHS improved over time in patients treated with three prior lines of therapy or with IMiDs (higher score = better QoL). At BL, fatigue and pain placed the greatest burden on patients, but improved over time (higher score = worse symptoms). **Conclusions:** Preliminary analysis suggests that MM continues to place a high burden on patients despite new therapies. Although functional scores show a high level of function, patients are particularly troubled by pain, discomfort, and fatigue. As data mature and more patients are enrolled, PREAMBLE will shed light on MM burden and its management.

516. MULTIPLE MYELOMA CELL LINES AND PRIMARY TUMORS CELLS PROTEOMA: PROTEIN BIOSYNTHESIS AND IMMUNE SYSTEM AS POTENTIAL THERAPEUTIC TARGETS

Fernando RC^a, Carvalho F^a, Mazzotti DR^b, Evangelista AF^c, Braga WMT^a, Chauffaille ML^a, Leme AFP^d, Colleoni GWB^a

^a Departamento de Oncologia Clínica e Experimental, Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil

^b Departamento de Psicobiologia, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil

^c Fundação Pio XII, Hospital de Câncer de Barretos, Barretos, SP, Brazil

^d Laboratório de Espectrometria de Massas, Laboratório Nacional de Biociências, Conselho Nacional de Pesquisa em Energia Nuclear, Brazil

Introduction: Despite great advances in multiple myeloma (MM) treatment since the 2000s, it is still an incurable disease, and novel therapies are welcome. Proteomic studies seem to be a useful tool for a better

understanding of MM development, as well as for the discovery of potential therapeutic targets and biomarkers. However, there are a limited number of published studies on MM proteomics. Most of them evaluated only MM cell lines and, moreover, they provide fragmented information. Therefore, this work may be helpful to fill the gap in the literature about this subject, since surface proteins are attractive targets in MM treatment, such as CD38 and the respective monoclonal antibody daratumumab, which is being tested in clinical trials. **Objectives:** The purpose of this study was to explore MM plasma cells' (MM-PC) proteome in comparison with their normal counterparts (derived from palatine tonsils of normal donors, ND-PC), in order to find potential therapeutic targets expressed on the surface of these cells. The authors also aimed to evaluate the proteome of MM cell lines with different genetic alterations, to confirm patients' findings. **Material and methods:** Bone marrow (BM) samples from eight new cases of MM and palatine tonsils from seven unmatched controls were submitted to PC separation and, in addition to two MM cell lines (U266, RPMI-8226), were submitted to protein extraction for mass spectrometry analyses. In order to obtain sufficient protein concentration for mass spectrometry analyses, human samples were combined in pools: MM-PC (n = 8) and ND-PC (n = 7). Mass spectrometry was performed in technical replicates, and proteins that did not have sufficient expression to be detected in the technical replicate were excluded. Cut-off criteria to define differentially expressed proteins were arbitrarily established – fold-change of 1.5 for up-regulation and 0.6 for downregulation. Functional enrichment analyses were performed separately for the up-regulated and downregulated proteins, using DAVID Bioinformatics Resources 6.7 and adjusted p-value by Benjamini method ($p < 0.05$). **Results:** A total of 81 proteins were differentially expressed between MM-PC and ND-PC – 72 up-regulated and nine downregulated; U266 vs. RPMI 8226 cell lines presented 61 differentially expressed proteins – 51 up-regulated and ten downregulated. With regard to human samples, bioinformatics analyses highlighted up-regulation of protein biosynthesis machinery, mainly ribosomal proteins and proteins from HSP70 and HSP90 families, as well as downregulation of immune response components, such as MHC class I and II molecules, and complement receptors, CR-1 and CR-2. This study also provided comprehensive information about U266 and RPMI-8226 cell lines' proteome and could confirm some patients' findings. **Conclusion:** The results showed that protein biosynthesis machinery is deregulated in MM-PC, mainly in ribosomal proteins and proteins from the HSP70 and HSP90 families, which are already being studied in MM as potential therapeutic targets. In addition, this study also found downregulation of some proteins of the immune system that are essential for antigen processing and presentation, as well as for complement system activation, which can act as potential mechanisms of immune evasion by MM-PC. **Funding:** FAPESP 2010/17668-6 and CNPq (PhD scholarship).

517. ESTUDO DA EXPRESSÃO DE PRX IV EM CÉLULAS DE MM SUBMETIDAS A AGENTES QUE PROMOVEM ESTRESSE DO RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO

Cunha GR^a, Martinez EF^a, Napimoga MH^a, Duarte ASS^b, Araújo NS^a, Araújo VC^a, Demasi APD^a

^a Instituto e Centro de Pesquisas São Leopoldo Mandic, Campinas, SP, Brasil
^b Centro de Hematologia e Hemoterapia (HEMOCENTRO), Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Mieloma múltiplo é uma neoplasia incurável de plasmócitos monoclonais. Estas células produzem grande quantidade de imunoglobulinas, o que sobrecarrega a maquinaria de processamento do retículo endoplasmático (RE), gerando o acúmulo de proteínas malformadas e o aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) nessa organela. Ambos são fatores-gatilho para a ativação de vias adaptativas de defesa conhecidas coletivamente como resposta às proteínas desdobradas (ou UPR, *Unfolded Protein Response*), alvo terapêutico amplamente explorado desta neoplasia. Prx IV, membro da família das peroxirredoxinas (Prxs), que localiza-se no RE, apresenta a capacidade não apenas de metabolizar EROs produzidas pela Ero1 nesta organela, como também de acoplar este metabolismo à oxidação de PDI, em um processo de formação de pontes dissulfeto independente de Ero-1, essencial à montagem de imunoglobulinas. A fim de obter evidências sobre a participação de Prx IV na UPR, a expressão do gene correspondente foi avaliada em células MM1S e MM1R tratadas com agentes causadores de estresse do RE: DTT, bortezomibe, brefeldina A e tunicamicina. Os resultados das análises de transcritos por PCR quantita-

tivo mostraram que os perfis de expressão de PRDX4 foram semelhantes aos dos genes associados à UPR, GRP94, GRP78, XBP1 e EDEM1. Destacadamente, seus maiores níveis foram detectados em células MM1R, de acordo com maior nível de estresse do RE destas células devido à produção de imunoglobulinas cerca de 50 vezes superior à de células MM1S. DTT, brefeldina A e tunicamicina induziram estes genes mais acentuadamente. Em análises de *Western blotting*, os níveis proteicos de Prx IV também acompanharam os de proteínas envolvidas na UPR em células MM1R. DTT e brefeldina A provocaram aumentos de expressão de Prx IV, Grp78 e PDI da ordem de pelo menos 5 vezes, a tunicamicina levou a aumentos menos acentuados e o bortezomibe não promoveu alteração de expressão destas proteínas. Em células MM1R tratadas com todos os agentes causadores de estresse do RE foi possível detectar presença de grandes quantidades de corpos de inclusão no citoplasma, avaliada em preparados de células obtidos através de cito centrifugação e posterior coloração de Leishmann. Estes resultados sugerem que DTT, bortezomibe, brefeldina A e tunicamicina, por prejudicarem o processamento, transporte ou degradação de cadeias de imunoglobulinas, podem ter intensificado a formação de cadeias mal dobradas, gerando estresse do RE em células MM1R. Além disso, também foi verificado o aumento da expressão de ubiquitina, analisada por imunofluorescência, no citoplasma de células MM1R tratadas com estes mesmos agentes que induzem estresse do RE, indicando intensificação do processo de marcação de proteínas malformadas para a degradação via proteossoma. Juntos, os resultados indicam que os agentes testados provocaram estresse do RE em células MM1R, levando à indução da UPR, e que Prx IV participa desta via de defesa, podendo constituir um novo alvo terapêutico para células de MM.

518. ESTUDO DO EFEITO DE 15-DESOXI-12,14-PROSTAGLANDINA J2 NA EXPRESSÃO DAS PEROXIRREDOXINAS I E IV EM PLASMOCITOMAS ESTABELECIDOS EM CAMUNDONGOS IMUNODEFICIENTES

Greggio JP^a, Sperandio M^a, Napimoga MH^a, Martinez EF^a, Duarte ASS^b, Pericole FV^b, Saad STO^b, Araújo VC^a, Demasi APD^a

^a Instituto e Centro de Pesquisas São Leopoldo Mandic, Campinas, SP, Brasil
^b Centro de Hematologia e Hemoterapia (HEMOCENTRO), Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

O mieloma múltiplo (MM) é uma neoplasia de plasmócitos progressiva e incurável, geralmente acompanhada por produção constante de um único tipo de imunoglobulina. Esta produção sobrecarrega a maquinaria de processamento do retículo endoplasmático (RE), gerando acúmulo de proteínas malformadas e aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs). As células respondem a este estresse através da ativação da resposta às proteínas desdobradas (UPR, *Unfolded Protein Response*). Componentes celulares desta via têm sido explorados como alvos terapêuticos para MM. 15-Desoxi- $\Delta^{12,14}$ prostaglandina J₂ (15d-PGJ₂) apresenta potente ação antineoplásica, sendo proposto como mecanismo de ação à indução da formação de EROs. Peroxirredoxinas (Prxs) constituem uma família de enzimas abundantes, atuam na eliminação de EROs ou ainda como chaperonas moleculares. Prx I está localizada no citoplasma, enquanto que Prx IV distribui-se no RE. A citotoxicidade de 15d-PGJ₂ e seu efeito na expressão de Prx I e IV foram estudados em células de MM (MM1S e MM1R) *in vitro* e *in vivo*. 15d-PGJ₂ apresentou toxicidade superior à dexametasona em células de mieloma *in vitro*, demonstrado por ensaio de exclusão de azul de tripano. O estudo *in vivo*, envolvendo análises de plasmocitomas estabelecidos em camundongos imunodeficientes a partir das células MM1S e MM1R, mostrou que 15d-PGJ₂ levou à inibição do crescimento dos tumores derivados de ambas as linhagens, quando tumores de animais tratados foram comparados aos de não tratados. Resultados das análises de imuno-histoquímica demonstraram que Prxs I e IV são altamente expressas nas células dos plasmocitomas, independentemente do tratamento com 15d-PGJ₂. Estudando níveis de transcritos por PCR quantitativo, foi observado que 15d-PGJ₂ induz a expressão do gene PRDX4, que codifica Prx IV, bem como de outros genes relacionados à UPR, como GRP94, GRP78, EDEM1 e XBP1, efeito mais evidente nas análises *in vitro*, mas também observado nos plasmocitomas. GRP78 e GRP94 são chaperonas residentes no RE que se ligam às cadeias de imunoglobulinas e auxiliam sua montagem. EDEM1 está envolvida na degradação de proteínas malformadas, prevenindo sua agregação e toxicidade. Xbp1 é o fator de transcrição considerado o principal regulador da diferenciação de plasmócitos e da UPR. Já Prx IV atua na formação de pontes dissulfeto

no RE, acoplado o peróxido de hidrogênio gerado pela reação catalisada pela Ero1 à oxidação de Pdi, uma função essencial à montagem de imunoglobulinas. A transcrição aumentada destes genes indica uma tentativa das células de preservar a função de processamento de imunoglobulinas e a sobrevivência das células de MM. Devido às suas propriedades eletrofilicas, tem sido demonstrado que 15d-PG₂ reage com tióis de diferentes compostos, podendo esgotar antioxidantes celulares. Desta maneira, o estresse oxidativo produzido por 15d-PG₂, por provocar modificações oxidativas em proteínas, pode intensificar a formação de proteínas malformadas, ativando a sinalização da UPR. Estes resultados indicam que a ação antimieloma de 15d-PG₂ está associada, pelo menos em parte, à indução de estresse do RE e que Prx IV participa na defesa das células tumorais contra este tipo de estresse, podendo constituir um novo alvo terapêutico.

519. PLASMOCITOMA DE TIREOIDE E PLEURA: RELATO DE CASO

Maciel JFR^a, Castro MC^b, Carvalho JS^b, Gomes KD^b, Bezerra ABS^b, Medeiros DHB^b, Rêgo SM^b, Fernandes ND^b, Moura TGF^b, Carvalho AV^b

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

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

Introdução: Plasmocitoma extramedular (PEM) ou mieloma solitário caracteriza-se por achado isolado de tumor de plasmócitos monoclonais sem acometimento sistêmico que evidencie mieloma múltiplo (MM). Constitui de 3 a 5% de todas as neoplasias de plasmócitos e aproximadamente 80% dos casos são localizados nos ossos e trato respiratório superior. Além dos locais preditos, podem acometer trato gastrointestinal, bexiga, sistema nervoso central, tireoide, mama, testículos, linfonodos e pele. Cerca de dois terços dos pacientes são do sexo masculino, sendo a idade média no momento do diagnóstico de 60 anos. O prognóstico do plasmocitoma localizado é favorável, mas um acompanhamento regular é essencial, pois pode progredir para MM em aproximadamente 20% dos casos. **Objetivo:** Relatar caso de PEM com sítios raros de apresentação. **Relato de caso:** MCMS, sexo feminino, 68 anos, há dois anos com quadro de disfagia e dor retroesternal. Realizou tomografia de tórax, que evidenciou lesão heterogênea em mediastino, com 7,5 cm em seu maior eixo. A biópsia revelou bócio adenomatoso e neoplasia maligna de células redondas, cuja investigação diagnóstica indicou plasmocitoma de tireoide. A paciente iniciou o tratamento com radioterapia, evoluindo com dispneia aos pequenos esforços. Posterior radiografia de tórax mostrou deslocamento de pulmão direito. Indicada toracotomia exploradora, visualizou-se múltiplos implantes na pleura visceral e parietal, além de volumoso derrame pleural à direita. O estudo anatomo-patológico revelou infiltração neoplásica de células plasmocitárias e derrame pleural maligno. A paciente submeteu-se à pleurodese química e foi iniciado CTD para tratamento do PEM não localizado. **Discussão:** A formação primária do plasmocitoma na tireoide é um evento raro, sendo mais comum em associação ao mieloma múltiplo. Neste caso, devido ao acometimento atípico em pleura, mediastino e na própria glândula tireoide, não se pode excluir a hipótese de MM. Ao estar afetada pelo plasmocitoma, a tireoide tem seu tamanho e peso aumentados, apresenta-se geralmente indolor, firme, móvel, multinodular ou difusa e sem linfadenopatia cervical associada. Entretanto, a presença de derrame pleural associado a achados sugestivos devem levantar a hipótese de plasmocitomas atípicos e de imunoglobulinas anormais constituindo o líquido pleural. Além disso, pode ainda existir relação entre o desenvolvimento do plasmocitoma e uma tireoidite linfocítica anterior. **Conclusão:** O acometimento atípico de tireoide, mediastino e pleura pelo plasmocitoma se configura como evento raro e merece, portanto, maiores discussão e aprofundamento para instituir outros possíveis diagnósticos diferenciais, como o próprio mieloma múltiplo, além de permitir a busca de terapêuticas mais eficazes com controle precoce da doença e melhor sobrevida.

520. CÉLULAS DENDRÍTICAS FUSIONADAS COM PLASMÓCITOS NO MIELOMA – PERSPECTIVA PARA IMUNOTERAPIA

Silva MP, Nascimento G, Rente PV, Rossi MID, Nogueira CM, Filho RJPM, Maiolino A, Dutra HDS

Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A fusão de células dendríticas apresentadoras de antígenos (DCs) com células tumorais e seu uso como imunoterapia vêm sen-

do indicado como um tratamento que aumenta a sobrevida de pacientes com câncer. O transplante autólogo de medula óssea (TAMO) é hoje o tratamento que possibilita maior sobrevida para os pacientes portadores de mieloma múltiplo (MM), mas mesmo com este tratamento a recidiva ocorre na maioria dos pacientes. A imunoterapia para o MM usando células fusionadas (DCs e plasmócitos) surge como uma alternativa terapêutica promissora a ser usada pós TAMO. A caracterização citológica e funcional deste produto para uso terapêutico é uma condição importante antes de sua aplicação. **Objetivo:** Isolar células fusionadas (DCs e plasmócitos) por seleção em citometria de fluxo, fazer uma análise morfológica por microscopia confocal e determinar sua funcionalidade através da reação leucocitária mista (RLM). **Metodologia:** As DCs foram geradas a partir de monócitos em meio RPMI 10% FCS e as citocinas IL-4 e GM-CSF, por 5 dias, seguida por maturação com IFN- α e TNF- α por 2 dias. As DCs foram coradas com carboxyfluorescein succinimidyl ester – CFSE (fluorescência verde) e os plasmócitos (linhagem RPMI 8226) com FAR-RED (fluorescência vermelha). A fusão foi realizada com polietilenoglicol (PEG). As células fusionadas – duplo positivas para verde e vermelho (FUS) – foram selecionadas por citometria de fluxo. O produto da fusão foi analisado por microscopia confocal e citometria. A capacidade de estimulação linfocitária foi testada a partir do cocultivo de DCs e FUS com linfócitos de doadores saudáveis por RLM (método de decaimento da fluorescência utilizando CFSE). **Resultados:** A taxa de fusão, revelada por citometria de fluxo, apresentou uma variação de 3-7%. A seleção de FUS por citometria resultou em 80% de pureza. Na microscopia confocal, o produto da fusão revelou que 14,8% das células apresentaram dupla marcação; destas, 54,6% eram uninucleadas. A fusão foi confirmada por varredura do eixo xzy na microscopia confocal. A presença de células uninucleadas/GoG1 foi revelada por citometria de fluxo utilizando o corante 7-AAD nas populações RPMI 8226, DCs e FUS, que apresentaram células uninucleadas numa taxa de 52%, 98% e 28%, respectivamente. Na RLM, observamos que as FUS selecionadas possuem uma capacidade de estimulação da proliferação de linfócitos CD4+ semelhante às DCs não fusionadas. Mas, na proliferação de linfócitos CD8+, o estímulo por DCs não fusionadas foi menor que o estímulo por FUS ($p = 0,0025$). **Conclusões:** Através da microscopia confocal, foi revelada a fusão entre as DCs e a linhagem RPMI 8226. A presença de células fusionadas uninucleadas foi confirmada pela microscopia confocal e pela citometria de fluxo – confirmando que a fusão com PEG pode determinar heterogeneidade entre as células fusionadas. A capacidade de FUS selecionadas induzirem a uma resposta de proliferação para linfócitos CD4 e CD8 foi demonstrada.

521. PERFIL IMUNOFENOTÍPICO DE PLASMÓCITOS NEOPLÁSICOS EM PACIENTES COM MIELOMA MÚLTIPLO ATENDIDOS EM UM HOSPITAL PÚBLICO UNIVERSITÁRIO

Silva ALC^a, Pedrazzani FS^{a,b}, Freitas PAC^{a,b}, Farias MC^{a,b}, Paiva MF^c, Alegretti AP^b, Bittencourt R^c, Pilger DA^a

^a Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^b Unidade de Diagnóstico Personalizado, Serviço de Patologia Clínica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^c Serviço de Hematologia Clínica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: O mieloma múltiplo (MM) é uma desordem proliferativa clonal de células plasmáticas. Atualmente, a citometria de fluxo multiparamétrica (CFM) é essencial no diagnóstico e monitoramento de MM, pois fornece a caracterização das células plasmáticas de maneira padronizada e informações necessárias para o estabelecimento do prognóstico. **Objetivos:** Avaliar a frequência de expressão dos marcadores imunofenotípicos em plasmócitos neoplásicos de pacientes diagnosticados com MM. **Métodos:** Foram analisados 30 pacientes, com idade de $60,6 \pm 12,7$ anos (70% do sexo masculino) que tiveram diagnóstico de MM em um hospital público universitário no período de 2014 a 2015. A análise imunofenotípica foi realizada por CFM em amostras de medula óssea usando o citômetro FACSCantoII (BD, San Jose, CA, EUA). Os painéis de anticorpos monoclonais incluíram CD19, CD38, CD138, CD117, CD28, CD27, CD45, CD56, CD81, Kappa e Lambda, conjugados com os fluorocromos FITC, PE,

PERCP, PE-CY7, APC e APC-H7. Os pacientes foram estadiados de acordo com a classificação Durie-Salmon (D&S) e foi realizada uma análise descritiva destes marcadores. **Resultados:** Dos 30 pacientes analisados, 86,7% se encontravam no estágio III (n = 26), 3,3% no estágio II (n = 1) e 10% no estágio I (n = 3). A prevalência dos marcadores conforme expressão foi: CD56+ (68%), CD27+ (84%), CD28+ (64%), CD117+ (64%), cadeias leves Kappa citoplasmático+ (60%), CD19- (96%), CD45- (76%) e CD81- (72%). **Conclusões:** Este estudo evidenciou uma alta prevalência de pacientes diagnosticados no estágio mais avançado do MM, o que se justifica por se tratar de uma doença com início insidioso. Quanto ao perfil de expressão imunofenotípica dos plasmócitos neoplásicos, foi evidenciada uma semelhança ao descrito na literatura, com exceção do CD117, que encontramos uma maior prevalência.

522. MIELOMA MÚLTIPLO: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA NO PERÍODO DE 2004 A 2014

Arruda ABL, Aguiar MTF, Goncalves RP, Souza IP, Souza LF, Arruda AAL, Silva JS, Pinheiro AES, Silvino LB, Queiroz HA, Carneiro TRM

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

Mieloma múltiplo é uma doença hematológica, do grupo das gamopatias monoclonais, causada pela proliferação de um linfócito B clonal neoplásico que produz e secreta imunoglobulinas monoclonais ou seus fragmentos, denominados proteína M, que levam à destruição óssea, supressão imunológica, insuficiência renal e anemia. Representa 1% de todas as neoplasias malignas e, dentre as hematológicas, ocupa o segundo lugar. Acomete principalmente homens da raça negra, com idade acima de 65 anos e seu diagnóstico é confirmatório ao detectar-se mais de 10% de plasmócitos atípicos na medula óssea. O tratamento é estabelecido baseando-se nas condições físicas do paciente e em que estágio da doença ele se encontra. O objetivo desta revisão sistemática foi analisar, no período de 2004 a 2014, a produção científica no Brasil que correlaciona mieloma múltiplo com anemia, verificando se os resultados encontrados nos artigos são semelhantes ao que diz a literatura, bem como analisá-los quanto às formações acadêmicas dos autores; instituições realizadoras das pesquisas; revistas em que foram publicados; anos das publicações; *Qualis* das revistas; tempo entre envio e publicação; línguas publicadas; anos de realização das pesquisas; regiões do país onde foram realizadas; tamanhos das amostras; média de idade; sexo predominante; tipos de estudos e alterações hematológicas citadas. Foi realizado um estudo retrospectivo, buscando artigos científicos nas bases bibliográficas: MEDLINE, LILACS e SciELO. Os resultados mostraram predominância de formação acadêmica de médicos hematologistas; as instituições que mais apresentaram publicações foram as universidades; a principal revista em número de publicações foi a Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, sendo o ano de 2007 o de maior número destas; a média do tempo entre envios e publicações foi de 3,8 meses; e, quanto ao *Qualis*, houve uma predominância do tipo B3. A língua em que mais se publicou foi a portuguesa; o ano de maior desenvolvimento de estudos foi o de 2006; e estes foram em maior número desenvolvidos na região sudeste. Com relação ao conteúdo dos artigos, observou-se que houve uma média de 24,56 pacientes por artigo; quanto aos parâmetros idade e sexo, predominou média de idade de 57,2 anos e sexo feminino; o tipo de estudo com maior percentual foi o observacional e como alteração hematológica mais frequente, foi citada a anemia. Concluiu-se que houve similaridade entre o que relata a literatura e o que evidencia os artigos brasileiros e, quanto à anemia, esta foi um achado frequente e já de fácil elucidação em pacientes com mieloma.

523. PLASMOCITOMA DE VULVA: MANIFESTAÇÃO ATÍPICA DE MIELOMA MÚLTIPLO ASSOCIADO A HIV

Maciel JFR^a, Carvalho JS^b, Castro MG^b, Gomes KD^b, Carvalho AV^b, Bezerra ABS^b, Xavier CM^b, Souza WLP^a

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

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

Introdução: a infecção pelo HIV aumenta o risco de distúrbios plasmocitários, que podem se manifestar como hiperplasmaglobulinemia policlonal, gamopatia monoclonal ou mieloma múltiplo (MM) sintomático. Tais distúrbios podem ser o primeiro indicador que leva ao diagnóstico de HIV e pacientes soropositivos são diagnosticados com mieloma em uma idade mais jovem e têm usualmente um curso clínico mais agressivo em comparação com pacientes soronegativos. Descrevemos o caso de uma jovem de

32 anos diagnosticada com MM em uma apresentação clínica atípica e que foi a primeira apresentação da infecção por HIV. **Relato de caso:** MFGS, 32 anos, sexo feminino, chegou ao serviço de cirurgia ginecológica com tumoração vulvar de crescimento rápido que se iniciou há quatro meses. Foi realizada biópsia local com imuno-histoquímica, evidenciando plasmocitoma extramedular. Encaminhada ao serviço de hematologia, a paciente referia intensa dor local e, por isso, dificuldade de deambulação. Após avaliação inicial, a paciente preencheu critérios para diagnóstico de MM ativo e investigação sorológica confirmou infecção pelo HIV, com carga viral de 26.189 cópias/mL e CD4 de 503 cels/mm. Ela foi internada para tratar infecção secundária do plasmocitoma de vulva e iniciou TARV. Após alta, foi tratada com sessões de radioterapia em região vulvar, 20 sessões (40Gy), com desaparecimento completo da lesão. Paciente iniciou tratamento de indução com ciclofosfamida, talidomida e dexametasona (CTD) e pamidronato. **Discussão:** MM é caracterizado pela proliferação neoplásica de células plasmáticas que produzem uma imunoglobulina monoclonal. As células proliferam no plasma da medula óssea e muitas vezes resulta em grande destruição óssea com lesões osteolíticas, osteopenia e/ou fraturas patológicas. O diagnóstico de MM é muitas vezes por causa da suspeita de uma ou mais das seguintes apresentações clínicas: 1) dor óssea com lesões líticas; 2) aumento da concentração de proteína total no soro e/ou a presença de uma proteína monoclonal na urina ou soro; 3) sinais e sintomas sistêmicos sugestivos de malignidade, como a anemia inexplicável; 4) hipercalcemia; 5) insuficiência renal aguda. Plasmocitomas extramedulares são um grupo raro e distinto entre os distúrbios das células do plasma, incluindo MM, sendo mais frequentemente encontrados no trato respiratório superior de homens entre os 40 e 70 anos de idade. 13% de todos os transtornos de células de plasma são tumores extra medulares, 78% das quais ocorrem nas vias aéreas superiores. O aparelho geniturinário é o local de origem dos plasmocitomas em apenas 13% de todos os casos. Cerca de 7 a 19% dos pacientes com MM apresentam plasmocitoma extramedular ao diagnóstico, havendo menos de 10 casos relatados quando se trata de localização vulvar. Acredita-se que há relação entre elevadas taxas de interleucina 6 no plasma dos pacientes HIV positivos que desenvolvem MM, por uma possível proliferação exacerbada de linfócitos B, secreção de imunoglobulinas e crescimento das células do MM, além de seleção clonal, aumentando em potencial o risco de distúrbio plasmocitário. **Conclusão:** o caso relatado apresenta raridade clínica devido idade precoce de apresentação, abertura de quadro de MM associado a HIV, com lesão local incommum e forma agressiva de evolução.

524. NUMBER OF CD34+ CELLS COLLECTED BETWEEN TWO DIFFERENT MOBILIZATION SCHEDULES IN MULTIPLE MYELOMA PATIENTS WITH CTD INDUCTION AND CANDIDATES FOR AUTOLOGOUS TRANSPLANT OF HEMATOPOIETIC PROGENITOR CELLS

Crusoe EQ^a, Martinez C^{b,c}, Higashi F^a, Bellesso M^{b,c}, Sampaio M^a, Cury P^a, Peres AL^a, Peres AL^a, Dias AL^a, Chiattonne CS^a, Hungria VTM^a

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

^b Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^c Instituto do Cancer do Estado de São Paulo (ICESP), São Paulo, SP, Brazil

Introduction: The association of cyclophosphamide (cyclo) and thalidomide (thal) in the same induction schedule for multiple myeloma (MM) patients eligible for TACPH can be a possible limiting factor for the mobilization of CD34+ progenitor cells. The mobilization protocols attempt to supplant such a condition, associating other treatments to the granulocyte growth factor (G-CSF), such as cyclo. The CD34+ cell target for a single transplant has been 4–6 x 10⁶ CD34+/kg, the acceptable minimum in avoiding damage upon harvesting the bone marrow being 2 x 10⁶ CD34+/kg. **Objective:** To evaluate the number of CD34+ cells mobilized in the use of G-CSF vs. G-CSF + cyclo following induction with the schedule cyclo + thal + dexamethasone (dex) (CTD) in MM patients who were eligible for high-dose chemotherapy. The harvesting ≥ 2.0 x 10⁶/kg CD34+ cells was considered adequate. **Cases and methods:** A retrospective cohort of MM patients submitted to TACPH at two Brazilian centers from May 2009 to July 2013. CTD induction was performed as follows: center 1 = cyclo 50 mg/day, thal 100-200 mg/day, dex 160 mg/month; center 2 = cyclo 500 mg on day one, eight and 15, thal 100 mg/day, and dex 200-400 mg/month; all drugs were administered orally. Mobilization = G-CSF ± cyclo (G-CSF 10-15

mcg/kg for five days + cyclo3 – 4g/m² or GCSF – 15-20 mcg/kg for five days, isolated). **Results:** Ninety-two patients were analyzed. In relation to mobilization, 70 patients received isolated filgrastim, 18 received a combination of filgrastim and cyclophosphamide, two patients were not submitted to mobilization, and in two cases the schedule was not reported. Median overall age was 58 years (51-62), 58 years (53-61) for GCSF and 56.5 years (54-60) for GCSF + cyclo. Fifty-two patients were males. Concerning the DS IIIA/B = 80 cases (90.9%) and ISS - 2 and 3 = 38 cases (44.7%) and 20 cases (23.5%). The filgrastim + cyclo group had the highest average number of collected progenitor cells, 6.4 ± 7.7 vs. 3.4 ± 1.3 in the isolated filgrastim group ($p = 0.008$). No correlation was observed between better responses and higher number of mobilized cells. The filgrastim utilized was of a similar type for all the presented cases. **Conclusions:** The number of cells mobilized with GCSF + cyclo was superior to the number mobilized with isolated GCSF. However, the average number of CD34+ was sufficient to perform a single TACPH, with no detriment to harvesting. In addition, the type of filgrastim used was biosimilar, conferring a satisfactory response with said agent.

525. PREVALENCE OF OLIGOCLONAL BANDS IN MULTIPLE MYELOMA PATIENTS WHO ACHIEVED RESULTS BETTER THAN VERY GOOD PARTIAL RESPONSE AFTER TREATMENT WITH STANDARD OR HIGH DOSES CHEMOTHERAPY: FINAL ANALYSIS

Vieira LS^a, Crusoe EQ^{a,b}, Almeida MSS^a, Sousa LRG^b, Perez AL^a, Cury P^a, Rossato M^a, Higashi F^a, Chiattonne CS^a, Hungria VT^a

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

^b *Hospital Universitário Professor Edgard Santos, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brazil*

Introduction: Oligoclonal bands (OB) are monoclonal proteins distinct from those originally identified in the multiple myeloma (MM) diagnosis. Some authors consider that appearance of these bands confers a better prognosis and may be linked to immune reconstitution. There is no data on the exact prevalence of OB emergence in patients with very good partial response (VGPR) or better after different treatment schedules. **Objectives:** To determine the prevalence of OB in MM patients treated with or without high-dose chemotherapy who obtained at least VGPR, and its prognostic value. **Methods:** This is a retrospective and prospective cohort study. Data were collected from records of patients that achieved at least VGPR to identify the emergence of OB. Subsequently, new sample collections from the positive patients were taken in order to monitor the progress and duration of the maintenance of these bands. **Results:** Median follow-up was 42 months, and 101 patients were included. Median age was 58 years (29-87) and 55% were male. IgG was the most frequent component (60%). Durie-Salmon IIIA/B was identified in 92% of the population; ISS was 33% in stage I, 30% in stage II, and 31% in stage III. The prevalence of OB identified by SPE and IF was 50.5% (51 cases), with a higher prevalence in those who underwent transplantation and those who achieved complete response ($p = 0.00139$ and $p = 0.0368$, respectively). Progression-free survival (PFS) was longer in the OB group (45.4 months vs. 34.7 months $p = 0.0075$). **Conclusion:** The prevalence of OB in this population was 50.5%, and oligoclonality resulted in a longer PFS.

526. PREVALENCE OF THE ALTERATION OF THE KAPPA/LAMBDA RATIO BY FREELITE IN BLOOD DONORS OVER 40 YEARS OF AGE AT SANTA CASA OF SÃO PAULO: PRELIMINARY ANALYSIS

Arruda MM, Crusoe EQ, Simao AZ, Lima LC, Cury P, Brechmacher G, Desiato M, Langhi DM, Chiattonne CS, Hungria VTM

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

Introduction: Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) is defined by the presence of serum M protein < 3.0 g/dL and/or urinary < 1 g/24 h, medullary plasma cell infiltration < 10%, and absence of damage to organs. The discovery of monoclonal gammopathy detected in the electrophoresis of healthy adults is not a rare event, and it increases with age. Historically, serum (SPEP) and urine (UPEP) electrophoresis were considered the gold standard for identifying intact M-Ig and FLC,

respectively. In 2001, the introduction of the Freelite[®] test changed the diagnostic and monitoring paradigm. This test has not been used for healthy adults. The present study is the first performed to evaluate the Freelite[®] in a cohort of Brazilian blood donors (BD). **Objectives:** To identify the prevalence of the alteration of the kappa/Lambda ratio by Freelite[®] in BD > 40 years of age at the Santa Casa of São Paulo Blood Bank. **Material and methods:** From October 2011 to September 2014, 1,000 serum samples were collected from the BD ≥ 40 years of age who had presented themselves at the Santa Casa of São Paulo Blood Bank. The sera was analyzed with kappa & lambda Freelite[®] on a SPA_{PLUS} (The Binding Site, UK). **Results:** Median age was 48.8 years (28.5–72.5), and only 4.47% were over 60 years. There was a male predominance (58.1%). This study analyzed 569 serum samples until March 2015; in 19 of them (3.34%), monoclonal production was identified by Freelite[®], of which were 17 kappa (concentration above 1.65 mg/L), and two, lambda (concentration below 0.26 mg/L). The free light chain ratio interval for kappa was between 1.66 and 2.29, while the two lambda values were 0.02 and 0.22. **Conclusion:** Abnormal serum free light chain ratios are associated with risk of progression in certain diseases. MGUS is a relatively common event affecting about 3.2% of people > 50 and is considered to be one of the most common premalignant conditions, with an average risk of transformation into malignant disease of 1%/year. Considering that the median age of this cohort was 48.8 years, and that an abnormal serum free light chain ratio of 3.34% was found, these findings were greater than those for people over 50, identified with SPEP and UPEP. Currently, the standard methods used to diagnose MGUS are SPEP and UPEP. With these preliminary findings, the authors believe that it is important to further investigate the significance of detecting monoclonal production by Freelite[®] in the diagnosis of MGUS.

527. ANALYSIS OF THE CODING REGION OF PERFORIN GENE AND EXPRESSION OF THIS PROTEIN IN PATIENTS WITH LYMPHOPROLIFERATIVE MALIGNANCIES

Souza BMB^a, Garcia FB^a, Silva MV^a, Oliveira LR^a, Hungria VTM^b, Rodrigues-Júnior V^a, Moraes-Souza H^a

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

^b *Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo (FCMSCSP), São Paulo, SP, Brazil*

Perforin is a cytolytic protein encoded by PRF1 gene. It is expressed by cytotoxic T lymphocytes (CTL) and natural killer cells (NK); changes in their composition can lead to immunodeficiency, increasing the risk for developing cancer. This study evaluated the coding region of the PRF1 gene and perforin expression in patients with non-Hodgkin's lymphoma (NHL) and multiple myeloma (MM) compared to healthy individuals. The SNP of greater frequency was C272T (A91V), with similar frequency among patients with lymphoproliferative malignancies and healthy individuals. However, when the groups were analyzed separately, it was found that patients with MM present the mutated allele 272T more frequently (0.13) compared to healthy subjects (0.03, $p = 0.04$). The same was not observed for the group of patients with NHL, wherein the 272T allele frequency was 0.04 ($p = 0.67$). The number of CTLs expressing perforin was higher in patients with NHL compared to that found in the control group (64.85% vs. 48.30%, $p = 0.02$). Since the amount of perforin expressed per cell, given by the median fluorescence intensity (MFI) on NK cells was lower in patients (44.95 vs. 79.40 $p = 0.02$). In patients with MM, 60.10% and 91.65% of CTLs and NK cells expressed perforin, respectively. In comparison to healthy subjects, the number of CTLs and NK cells expressing perforin and perforin MFI of CTLs did not differ significantly. However, the MFI of perforin in NK cells from patients with MM was lower compared to healthy subjects ($p = 0.02$). The activation of CTLs was measured by co-expression of CD8 and CD69, which is expressed on T cells after stimulation via TCR. The number of activated CTLs in patients with NHL was significantly higher than in healthy subjects ($p = 0.03$). Other than that observed in patients with NHL, the percentage of activated CTLs was similar in patients with MM and the control group ($p = 0.45$). Such changes would trigger a reduction of the cytotoxic potential of these cells, leading to more aggressive forms and/or advanced stage of the disease. Thus, these results suggest that the A91V polymorphism is associated with multiple myeloma and demonstrate that patients with lymphoproliferative neoplasms have a lower expression of perforin in NK cells. It is believed that the immunosuppression found may be a risk factor for developing this type of cancer, or that it is due to immunosuppressive factors secreted by tumor cells. Additional studies with respect to inhibitory receptors expressed by tumor cells as well as

gene expression analysis of perforin and some interleukins are needed to elucidate the mechanism of response of CTLs and NK cells front hematologic malignancies. **Funding:** UFTM, FAPEMIG, CAPES.

528. PLASMOCITOMA RENAL: RELATO DE CASO

Moura AC, Duarte BKL, Lorand-Metz I, Oliveira GB, Freitas LLL, Rodrigues MV, Penhalver LL, Freire CRC, Filho CM

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

Introdução: Os plasmocitomas são tumores de plasmócitos malignos clonais, de origem óssea ou extramedular.¹ O plasmocitoma renal é raro.² Nós relatamos um caso de plasmocitoma se apresentando como recidiva renal em um paciente com história de mieloma múltiplo (MM). **Relato de caso:** Paciente do sexo masculino, 76 anos de idade, diagnóstico prévio de MM IgG/kappa (*International Staging System* - ISS III) em out/2013, tratado com ciclofosfamida, talidomida e dexametasona (CTD) por dois ciclos; e melfalano, prednisona e talidomida (MPT) por sete ciclos, além de pamidronato 30 mg por 20 meses, até nov/2014. Após o último ciclo de MPT, em out/2013, os exames de reestadiamento mostraram remissão parcial muito boa (VGPR). Em nov/2014, apresentou dor abdominal em região lombar e flanco esquerdo (E), além de empachamento e constipação há cerca de um mês, com piora nos últimos quatro dias. Relatava também edema no membro inferior E e diminuição da diurese. No exame, apresentava massa palpável de aproximadamente 8 cm em flanco E e edema 3+/4 no membro inferior E. Os exames evidenciaram insuficiência renal aguda com creatinina de 2,68 mg/dL (VR: < 1,2 mg/dL) (anterior de 0,87) e ureia de 33 mg/dL (VR: < 71 mg/dL). Realizada tomografia de abdome sem contraste, que mostrou massa heterogênea irregular no rim E, com extensão até a fossa ilíaca. O paciente evoluiu para abdome agudo obstrutivo e necessidade de cirurgia de urgência. No pós-operatório, entretanto, apresentou piora da função renal. Realizado estudo renal com DTPA-99mTc, que mostrou insuficiência renal pós-renal devido à compressão extrínseca pela massa no rim direito (D). Optou-se, então, pela passagem de cateter duplo J à D, o que levou à reversão do quadro. Visto que a primeira intervenção cirúrgica foi de urgência, não sendo realizada biópsia, e que o paciente estava sem diagnóstico, decidiu-se pela realização de uma biópsia de agulha fina guiada por ultrassonografia (USG). O material foi encaminhado para a citometria de fluxo, que revelou a presença de plasmócitos monoclonais com fenótipo CD38+, CD138+, CD56+, cyKappa+, CD39-. A análise histopatológica mostrou "neoplasia maligna de pequenas células redondas, sugestiva de origem hematolinfóide". A imunohistoquímica confirmou o diagnóstico de plasmocitoma pouco diferenciado, com restrição de cadeia leve Kappa CD138+, Kappa +, bcl-2+ focal e Ki67+ em 60% das células neoplásicas. Após discussão do caso, considerando o *performance status* do paciente, optou-se por tratamento paliativo com uso ciclofosfamida e prednisona. A radioterapia foi contraindicada pelo extensão da massa. Após dois ciclos do tratamento, o paciente veio a óbito, em fev/2015. **Discussão:** O plasmocitoma renal é raro, podendo coexistir com o MM após o tratamento ou de forma solitária.³ Sua baixa frequência (24 casos na literatura) faz com que o diagnóstico seja desafiador, isso pela sua localização incomum e os sintomas inicialmente frustrados.⁴ Esta dificuldade é ainda maior se considerarmos os diagnósticos diferenciais, como carcinomas renais e linfoma.³ A dor localizada é um dos sintomas mais frequentes.^{1,2,5} Os achados radiológicos são inespecíficos e o exame confirmatório é a biópsia da lesão,² ou pelo painel específico por citometria de fluxo.⁶ A radioterapia é uma opção de tratamento, além da ressecção cirúrgica da lesão.⁵ Apesar das recomendações, não há dados suficientes que embasem diretrizes específicas para o tratamento.⁴

529. COMPARAÇÃO DOS ESQUEMAS DE QUIMIOTERAPIA DE INDUÇÃO BORTEZOMIBE + CICLOFOSFAMIDA + DEXAMETASONA (VCD) VERSUS CICLOFOSFAMIDA + TALIDOMIDA + DEXAMETASONA (CTD) PARA PACIENTES COM MIELOMA MÚLTIPLO (MM) ELEGÍVEIS A QUIMIOTERAPIA EM ALTAS DOSES SEGUIDA DE TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS (TACPH) - GBRAM 003 ANÁLISE PRELIMINAR

Crusoe EQ^{a,b}, Maiolino A^c, Filho RJPM^c, Martinez GA^d, Bittencourt RIF, Rossato M^e, Bellesso M^e, Colli GF, Nunes RFM^e, Hungria VTM^a

^a Disciplina de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo (FCMSCSP), São Paulo, SP, Brasil

^b Hospital Universitário Professor Edgard Santos (HUPES), Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil

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

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

^e Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP), São Paulo, SP, Brasil

^f Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^g Clínica São Germano, São Paulo, SP, Brasil

^h Instituto Hemomed de Oncologia e Hematologia de São Paulo, Instituto de Ensino e Pesquisa São Lucas, São Paulo, SP, Brasil

ⁱ Fundação Pio XII, Barretos, SP, Brasil

^j Hospital Brigadeiro - UGA V, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A indução quimioterápica seguida de quimioterapia em altas doses associada ao resgate com TACPH permanece como melhor tratamento para pacientes portadores de MM. A incorporação de novos agentes na indução pré-TACPH como talidomida, lenalidomida e bortezomibe trouxe aumento das taxas e duração de resposta. Regimes de combinação com três drogas na indução tornaram-se o tratamento padrão; entretanto, o melhor protocolo de combinação ainda não está estabelecido. A talidomida é o único dos novos agentes disponível para tratamento de pacientes com MM no sistema público brasileiro. Já o bortezomibe está disponível para uso no sistema complementar (privado e seguro saúde). Cerca de 30% da população brasileira se trata no sistema complementar e 70% no sistema público. Notadamente, poucos estudos randomizados comparando os modernos regimes de indução entre si foram realizados. **Objetivos:** Primário: verificar as taxas de respostas após esquemas de indução VCD vs CTD no tratamento de MM elegível a TACPH. Secundários: 1) verificar taxas de respostas entre VCD vs CTD no D +100 pós transplante. 2) avaliar as sobrevidas livre de progressão e global entre os dois grupos. 3) avaliar a toxicidade relacionada aos esquemas VCD e CTD. **Casuística e métodos:** Estudo retrospectivo multicêntrico em 24 centros no Brasil. Critérios de inclusão: pacientes candidatos a TACPH que receberam em primeira linha com VCD ou CTD e que tiveram avaliação de resposta após a quimioterapia de indução. Avaliação de resposta pelos critérios da IMWG 2006. Cálculo de amostra por teste de comparação de duas proporções para vantagem de 10% > RPMB para VCD vs CTD- poder 80% e erro alfa bilateral 0,05, com relação amostral de 1:2, seriam 334 pacientes grupo VCD e 668 grupo CTD. **Resultados:** Foram incluídos o total de 311 pacientes, sendo 117 (37,6%) submetidos a VCD e 194 (62,4%) a CTD. Mediana de idade de 58 (51-62a). 175 (56%) dos casos eram do sexo masculino. DSS IIIA/B em 245 casos (78,7%) e ISS 2 e 3 = 108(34,7%) e 96 (30,8%), respectivamente. Na avaliação de intenção de tratamento \geq RPMB foi superior após indução no grupo que realizou VCD 64 (54,7%) vs 83(42,8%) (p = 0,05). **Conclusão:** Essa é a primeira análise do estudo GBRAM 003, que demonstrou superioridade na taxa de resposta \geq RPMB após 4 ciclos de indução para o grupo VCD, com casuística 1/3 dos casos planejados.

530. ATUALIZAÇÃO EM MIELOMA MÚLTIPLO: O SINTOMA DA DOR E SEU TRATAMENTO

Mendes MVG, Silva JCO, Ericeira MAL, Nicolau DI

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

Introdução: O mieloma múltiplo (MM) é definido como uma doença maligna e incurável das células B caracterizada pela proliferação de plasmócitos secretores de imunoglobulina monoclonal no sangue ou na urina. As manifestações clínicas surgem em decorrência da infiltração nos órgãos, principalmente nos ossos, de plasmócitos neoplásicos, de produção de imunoglobulinas em excesso e da supressão da imunidade humoral normal. Como consequência, observa-se anemia grave, insuficiência renal, infecções recorrentes e lesões ósseas, as quais, frequentemente, causam dores intensas em grande parte dos pacientes, prejudicando significativamente sua qualidade de vida. **Objetivos:** Analisar a relação entre MM e dor, estabelecendo uma relação causal e descrever as principais alternativas para tratamento da dor no MM. **Metodologia:** Trata-se de um estudo feito através de revisão de literatura de artigos retirados da base de dados SciELO, LILACS e MEDLINE, publicados no período de 2007 a 2015, que abordavam os temas Mieloma Múltiplo, Dor, Doença Óssea e Tratamento. Realizou-se a

análise avaliando-se conceito, descrição dos sintomas mais relatados, diagnóstico, prognóstico e os tratamentos mais utilizados atualmente.

Resultados: A destruição óssea progressiva é responsável pela maioria dos sintomas e repercussões clínicas no MM. A dor é o sintoma principal, presente em 80% dos pacientes, sendo comumente uma das manifestações iniciais da doença. Essas complicações resultam de um desequilíbrio na formação e reabsorção óssea. Ocorre um aumento da reabsorção óssea osteoclástica que não é acompanhado por aumento comparável da formação óssea. O aumento da atividade osteoclástica no MM é mediado pela liberação de fatores ativadores do osteoclasto (OAFs), que são produzidos pelas células do mieloma ou pelas células do estroma da medula óssea. O padrão de acometimento osteolítico pode ser isolado (plasmocitoma) ou difuso. A osteopenia difusa leva a fraturas patológicas, principalmente na coluna vertebral, costelas e ossos longos. O tratamento inicial do MM baseia-se no uso de quimioterapia, bifosfonados e suporte clínico. Em casos de lesões ósseas sintomáticas que não comprometam a estabilidade vertebral, a radioterapia é considerada uma boa opção terapêutica para o alívio da dor e redução da massa tumoral. Foi demonstrado também que a radioterapia pode reduzir a incidência de novas fraturas vertebrais. O tratamento cirúrgico do MM na coluna muitas vezes tem indicação controversa. A cirurgia visa minimizar o efeito da doença em relação à dor intratável, déficit neurológico e/ou instabilidade vertebral, resultando em melhora da qualidade de vida do paciente. A descompressão cirúrgica é o tratamento de escolha com os melhores resultados descritos na literatura, proporcionando, em geral, melhora significativa da dor. **Conclusão:** A melhora da qualidade de vida é essencial para os pacientes portadores de MM, uma vez que a doença cursa com baixa sobrevida e é incurável. Portanto, mostra-se importante o conhecimento, por parte dos profissionais de saúde, acerca das características e manejo da dor nesses pacientes.

OUTROS

531. AMILOIDOSE SISTÊMICA PRIMÁRIA AL: RELATO DE CASO

Garcia OS, Corrêa LP, Moraes JLG, Pinho LG, Peixoto JRM, Paula JS, Quadros IM, Lúcio MB, Prado KL, Júnior JLB, Barbosa MT

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

Amiloidose é o termo usado para designar doenças causadas pelo depósito extracelular de fibrilas proteicas poliméricas insolúveis nos tecidos e órgãos. As doenças amiloides são definidas pela natureza bioquímica da proteína nos depósitos de fibrila e são classificadas de acordo com a deposição sistêmica ou localizada adquirida ou herdada e por seus padrões clínicos. O diagnóstico e tratamento das amiloidoses fundamenta-se no diagnóstico patológico dos depósitos de amiloide e na identificação imuno-histoquímica ou bioquímica do tipo de amiloide. O presente trabalho tem por objetivo relatar o caso de um paciente da atenção primária de um centro de saúde de Belo Horizonte, cujo quadro prolongou-se durante 18 meses até que o diagnóstico de amiloidose sistêmica primária foi obtido. O paciente apresentou inicialmente sintomas inespecíficos, como parestesias, hipotensão postural, síncope e constipação intestinal. O quadro evoluiu ao longo dos meses e, no momento do diagnóstico, já havia alterações renais específicas, como síndrome nefrótica, e evolução da disautonomia, com disfunção erétil e alterações mais proeminentes de trânsito intestinal, com diarreia crônica. Em sua primeira internação, propedêutica extensa foi realizada. Foram investigadas através da biópsia retal insuficiência adrenal, síndromes paraneoplásicas, tuberculose, porfiria, disfunção tireoideana e amiloidose, com resultados normais. Após melhora do quadro síndrômico, o paciente teve alta. Alguns meses depois, os sintomas renais surgiram, com edema e proteinúria maciça. O paciente foi novamente internado e biópsia renal foi realizada, que indicou atrofia tubular com fibrose intersticial e amiloidose renal com deposição glomerular e arteriolar (amiloidose AL). Atualmente, o paciente aguarda autorização para transplante autólogo de medula óssea no Hospital das Clínicas da UFMG. O extenso envolvimento multissistêmico tipifica a amiloidose AL. Os rins e coração são os órgãos mais comumente afetados, com manifestações como proteinúria, hipoalbuminemia, edema e disfunção diastólica. Os sintomas do sistema nervoso incluem uma neuropatia sensorial periférica e disfunção autonômica. O prognóstico dos

pacientes com amiloidose sistêmica primária é bem reservado, sendo o tempo médio de sobrevida sem tratamento próximo aos 12 meses após o diagnóstico. Caso seja estabelecido um tratamento precoce e adequado, os pacientes conseguem atingir uma sobrevida média de 36 meses. A heterogeneidade clínica da doença nos mostra o quão desafiador é o seu diagnóstico e os dados relativos ao prognóstico salientam a importância de um diagnóstico precoce que só é possível com uma cuidadosa avaliação da história do paciente, dos achados físicos e da apresentação clínica.

532. HEMANGIOMA ESPLÊNICO: RELATO DE CASO

Pinotti KSA, Silveira MM, Bressa JAN, Bressa RC

Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, SP, Brasil

Introdução: O baço é um órgão extremamente frágil, muito suscetível à ruptura em casos de trauma físico ou esplenomegalia. Dentre as numerosas causas de esplenomegalia, uma pequena parte corresponde a tumores, sendo o hemangioma o mais comum. **Objetivo:** Apresentar o relato de caso de um paciente, seguido em consulta por dor abdominal persistente e trombocitopenia cuja investigação clínica revelou a existência de hemangioma esplênico. **Relato:** Paciente masculino, 41 anos, caucasiano, seguido em consulta na clínica cirúrgica com queixa de dor abdominal do tipo pontada intermitente no hipocôndrio esquerdo há 15 dias. Negava febre, vômito e diarreia. No exame físico apresentava bom estado geral (BEG), corado, hidratado, eupneico, afebril, anictérico, acianótico. O abdome apresentava-se normotenso, indolor a palpação, descompressão brusca (DB) negativo e esplenomegalia de dois centímetros abaixo do rebordo costal esquerdo. O hemograma mostrou hemoglobina 13,9g/dL, hematócrito 41%, leucócitos $8,5 \times 10^9/L$ e plaquetas $91 \times 10^9/L$. A ultrassonografia de abdome total apresentou esplenomegalia heterogênea e sinais de infiltração gordurosa hepática leve. A tomografia computadorizada de abdome mostrou esplenomegalia com formação macronodular intraparenquimatosa. No exame de ecografia do abdome total, o paciente apresentou baço com padrão de textura heterogêneo, medindo $206 \times 118 \times 148$ mm, com volume de 1870 cm^3 , índice esplênico de 133; ausência de líquido livre na cavidade peritoneal; aorta abdominal de calibre normal; e bexiga urinária com parede regular e sem ecos anormais no seu interior. Realizou-se exame de videoendoscopia digestiva alta que apresentou esôfago e duodeno endoscopicamente normais e estômago com pangastrite endoscopicamente enantematosa de grau leve. O paciente foi submetido à esplenectomia total eletiva, com boa recuperação pós-operatória, mantendo-se assintomático e com a recuperação da contagem de plaquetas que atingiu valores referenciais. O exame anatomopatológico macroscopicamente mostrou baço com 800 gramas, medindo $21 \times 10 \times 8$ cm, cápsula rugosa de cor avermelhada acinzentada, superfície de corte com cor avermelhado-vinhoso com aspecto finamente granuloso e brilhante. Na avaliação microscópica foi observada área de perda de arquitetura por necrose hemorrágica, delimitada por exsudato neutrofilico que se estendia à capsula e apresentava deposição de fibrina de permeio a leucócitos neutrófilos, parênquima com arquitetura preservada e seios dilatados e congestos. Foi evidenciado baço com infarto hemorrágico recente, sendo diagnosticado hemangioma esplênico. **Discussão:** A maioria dos hemangiomas esplênicos são assintomáticos por longo período de tempo (75-80%), sendo mais comum o aparecimento dos sintomas clínicos entre a terceira e a quinta década de vida. Acometem grande parte do baço e podem causar hipertensão portal, plaquetopenia ou pancitopenia, hipofibrinogenemia e coagulação intravascular localizada, mudanças que desaparecem após a esplenectomia. O tratamento do hemangioma esplênico se dá pela ressecção do tumor, podendo ser realizada esplenectomia parcial ou total. **Conclusão:** Embora o hemangioma esplênico seja uma ocorrência rara, na sua presença há a possibilidade de ruptura esplênica que constitui complicação grave que ameaça a vida e por isso o diagnóstico precoce possibilita o tratamento adequado por meio da esplenectomia eletiva que representa a cura completa.

533. AVALIAÇÃO DE CRITÉRIOS PARA REVISÃO MICROSCÓPICA DE HEMOGRAMAS AUTOMATIZADOS NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

Comar SR, Malvezzi M, Pasquini R

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

Há um grande interesse de laboratórios de hematologia em reduzir o número de hemogramas automatizados que exijam a revisão microscópica

da lâmina de hemograma (RMLH) sem sacrificar a qualidade dos resultados. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi estabelecer e avaliar critérios para revisão microscópica de hemogramas automatizados (CRMHA) a fim de indicar os mais apropriados para o Laboratório de Hematologia do Hospital de Clínicas da UFPR. Em uma primeira etapa foram testadas 1977 amostras, empregando-se os critérios de triagem (CT) e os critérios de positividade em lâmina (CPL) recomendados pela *International Society for Laboratory Hematology (ISLH)*, cuja taxa de falso-negativos foi de 6,73% e não foram considerados seguros para indicar os hemogramas que poderiam ter sido liberados sem a RMLH. Para melhor atender nossas necessidades e peculiaridades, em uma segunda etapa, novos CPL foram estabelecidos e analisados nas mesmas amostras, através de quatro conjuntos de CT, o adaptado da ISLH e outros três propostos nesse estudo, denominados de Estudo 1 (limites estreitos para os principais parâmetros hematológicos), Estudo 2 (limites intermediários) e Estudo 3 (limites amplos). Para cada conjunto de CT, as taxas de falso-positivos, falso-negativos, verdadeiro-positivos, verdadeiro-negativos, sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo, taxa de revisões microscópicas (TRM) e eficiência foram determinados. Nos Estudos 1, 2, 3 e adaptado da ISLH, considerando os CPL propostos neste estudo, as TRM totais foram de 73,85%, 54,52%, 46,33% e 46,38%, respectivamente. As taxas totais de resultados FN foram de 0,50%, 1,97%, 2,73% e 3,95%, respectivamente. A validação dos CRMHA adaptados da ISLH, tanto na primeira como na segunda etapa, foi insuficiente para possibilitar a liberação direta dos hemogramas automatizados, considerando os limites de segurança preestabelecidos ($FN \leq 3\%$), tornando-se necessário introduzir e avaliar novos CRMHA no Laboratório de Hematologia do HC/UFPR. A segurança procurada na liberação direta de resultados de hemogramas automatizados foi alcançada através dos ajustes inseridos nos CT dos Estudos 1, 2 e 3, tornando-os aplicáveis na rotina do Laboratório de Hematologia do HC/UFPR. A eficiência e o valor preditivo negativo do Estudo 3 foram 73,04% e 94,91%, respectivamente. As taxas de FN em pacientes internados dos Estudos 1, 2 e 3 (0,30%; 1,97%; 3,19%, respectivamente) foram semelhantes às observadas nos pacientes ambulatoriais (0,60%; 1,96%; 2,50%, respectivamente, com $p < 0,05$) tornando segura a aplicação desses conjuntos de CT em ambos os perfis de pacientes. O Estudo 3 culminou com a melhor relação entre segurança ($FN \leq 3\%$) e eficiência (73,04%, $p < 0,001$ em relação aos Estudos 1 e 2) para estimar os limites da automação na realização de hemogramas. Cada laboratório deve avaliar a implantação de CRMHA baseado nas recomendações do Grupo Internacional de Consenso em Revisões Hematológicas da ISLH e, caso necessário, otimizá-los para maximizar sua eficiência e segurança. Esse estudo fortalece a necessidade de respeitar a heterogeneidade da população que utiliza o laboratório de modo que os CRMHA atendam às características de diferentes contextos nos quais se realizam determinações hematimétricas.

534. AVALIAÇÃO DA CONTAGEM DE PLAQUETAS AUTOMATIZADA PELOS MÉTODOS DE IMPEDÂNCIA E ÓPTICO FLUORESCENTE EM AMOSTRAS DE HEMOGRAMA COM ESQUIZÓCITOS E MACROPLAQUETAS

Noronha TR^a, Cunha MCR^a, Salgado VP^a, Fock RA^{a,b}

^a Divisão de Laboratório Clínico, Hospital Universitário, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^b Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Hospital Universitário, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: Plaquetas ou trombócitos são células anucleadas originadas pelo processo de megacariopose com maturação de quatro a cinco dias. São pequenas e discóides, com tamanho variando de 2–4 μm . A concentração normal de plaquetas no sangue periférico varia entre 150.000–400.000 / mm^3 . As plaquetas são multifuncionais e têm como principal função manter a integridade do sistema vascular. Além disso, estão envolvidas em muitos processos patológicos. Os analisadores hematológicos fornecem a contagem de plaquetas com alta precisão e exatidão. A metodologia mais utilizada pelos analisadores é a eletroimpedância (PLT-I), que distingue os eritrócitos das plaquetas de acordo com o tamanho. Entretanto, plaquetas gigantes e agregados plaquetários podem subestimar o número de plaquetas, enquanto partículas semelhantes ao tamanho das plaquetas, como por exemplo, os esquizócitos e restos de células leucêmicas podem superestimar a contagem e gerar falsos resultados. Em 2001, o *International Council for Standardization in Haematology (ICSH)* e o *International Society for Laboratory Hematology (ISLH)* recomendaram a contagem de plaquetas ópti-

ca fluorescente (PLT-O) como método de referência, o qual pode oferecer uma contagem mais precisa. **Objetivos:** Avaliar a contagem de plaquetas pelos métodos PLT-I e PLT-O em amostras de sangue periférico com presença de “interferentes” (esquizócitos e macroplaquetas). **Materiais e métodos:** Um total de 108 amostras foi dividido em dois grupos – Grupo 1: amostras com presença de esquizócitos ($n = 75$) e Grupo 2: amostras com presença de macroplaquetas ($n = 33$). As amostras foram coletadas em tubo contendo anticoagulante EDTA, posteriormente processadas no equipamento Sysmex XT 2000i (PLT-I e PLT-O) e revisadas por microscopia para avaliação da morfologia celular. **Resultados e discussão:** O coeficiente de correlação para o grupo 1 (esquizócitos) foi de 0,970 ($p < 0,01$) entre a PLT-I e PLT-O; a média para PLT-I foi de $166,77 \pm 26,70$ e PLT-O foi de $138,36 \pm 21,53$. O coeficiente de correlação para o grupo 2 (macroplaquetas) foi de 0,955 ($p < 0,01$) entre a PLT-I e PLT-O; a média para PLT-I foi de $132,8 \pm 50,1$ e PLT-O foi de $136,2 \pm 46,4$. Os dois grupos apresentaram boa correlação entre as metodologias. Observamos que no grupo 1 a média da PLT-I foi maior que a PLT-O, enquanto que no grupo 2 a média da PLT-I foi menor que a PLT-O. Isso corrobora com a hipótese de que na PLT-I os esquizócitos são contados como plaquetas e as macroplaquetas como eritrócitos. De acordo com o *Clinical & Laboratory Standards Institute*, discrepâncias na contagem de plaquetas maiores que 25% são consideradas inadequadas pelos requisitos médicos de diagnóstico. Das 108 amostras desse estudo, observamos 25 amostras com discrepâncias superiores a 25% entre as contagens. Diante do exposto, concluímos que a PLT-O é um método de referência que fornece resultados rápidos – por se tratar de um teste automatizado – e precisos, pois utiliza metodologia óptica fluorescente para contar as plaquetas eliminando os possíveis interferentes relacionados ao tamanho das células.

535. AVALIAÇÃO DAS INDICAÇÕES CLÍNICAS DOS MIELOGRAMAS REALIZADOS NO FUNDAÇÃO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DE PERNAMBUCO (HEMOPE), RECIFE, PE, BRASIL

Moraes EAS, Oliveira MDCVC

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

Introdução: O mielograma é um procedimento invasivo, de fácil acesso, rápida execução e baixa morbidade e mortalidade. Entretanto, apesar de raras, são várias as complicações relatadas na literatura, com destaque para dor e sangramento, por serem mais frequentes. Por esta razão, o procedimento requer uma precisa indicação. Com o objetivo de avaliar a correta indicação clínica dos mielogramas solicitados a um serviço de referência em doenças hematológicas e descrever o perfil demográfico dos pacientes que se submeteram a este exame, foi realizada uma análise das solicitações de mielogramas encaminhadas ao HEMOPE. **Método:** Este estudo observacional e transversal foi realizado no HEMOPE em set/2014 e dados demográficos e clínicos foram coletados das requisições de mielograma. Os dados foram submetidos à análise descritiva. **Resultado e discussão:** A amostra de 119 pacientes foi representada por mulheres, na 6ª década de vida, provenientes do ambulatório do HEMOPE (67%; $n = 59$) e com indicação clínica descrita na requisição médica (86,5%; $n = 103$). Dos pacientes provenientes de outros hospitais (26%; $n = 31$), a maioria realizou o exame após parecer do médico do HEMOPE (74,2%; $n = 23$). As principais indicações clínicas descritas nas requisições médicas foram citopenias (42,7%; $n = 44$), seguidas de monitorização terapêutica (24,3%; $n = 25$) e suspeita de linfoma/Leucemia (12,6%; $n = 13$), SMD (7,8%; $n = 8$) e mieloma múltiplo (4,8%; $n = 5$). Todas coerentes com a literatura. As que não apresentavam respaldo científico foram distúrbios da coagulação e de glóbulos brancos. O local de punção mais utilizado foi a região esternal (92,4%; $n = 110$). A literatura ressalta que esta região, devido ao fácil acesso, é reservada para pacientes obesos e/ou com imobilidade e para idosos, uma vez que a substituição gordurosa da medula óssea é mais lenta. Quanto ao resultado do mielograma, apenas 25,2% ($n = 30$) tinham resultados conclusivos sugerindo diagnóstico, enquanto que a maioria (69,7%; $n = 83$) apresentava apenas descrição dos achados hematológicos. A indicação clínica descrita na solicitação do exame auxilia o examinador na leitura da lâmina, mas não assegura a conclusão do diagnóstico. **Conclusão:** Para a maioria dos casos estudados, as solicitações de mielograma apresentaram indicação clínica correta, justificando a realização do procedimento. Entretanto, para melhor avaliação das indicações clínicas, recomenda-se a realização de estudos prospectivos.

536. DOENÇA DA ARRANHADURA DO GATO: RELATO DE CASO

Tófano VAC, Toscan DCO

Universidade de Marília (UNIMAR), Marília, SP, Brasil

Introdução: As linfonodomegalias apresentam grande gama de diagnósticos diferenciais, podendo muitas vezes tornarem-se um desafio para o diagnóstico. Divididas em regionais ou disseminadas, geralmente cursam com doenças localizadas ou sistêmicas, respectivamente. De acordo com a localização, tempo de evolução, características dos linfonodos e sintomas, podemos relacionar as principais causas. Entre essas, podemos citar neoplasias, hipersensibilidade, infecções e colagenoses. **Objetivos:** Relatar um caso de linfonodomegalia inguinal onde as principais causas para essa localização foram descartadas chegando à hipótese de doença da arranhadura do gato, uma patologia relativamente rara e, nesse caso, com apresentação atípica. **Relato do caso:** Paciente do sexo feminino, casada, 41 anos, apresentava linfonodomegalia inguinal esquerda de crescimento lento há um ano, indolor e sem sinais flogísticos de mais ou menos 4 cm de diâmetro, fibroelástico e aderido a planos profundos; e linfonodomegalia inguinal direita com as mesmas características com menores dimensões. Negava qualquer outra queixa. Afirmando contato com cães e gatos, mas negava ferimentos causados por estes. Internada para realização de biópsia do linfonodo cujo resultado anatomopatológico foi compatível com doença da arranhadura do gato. **Discussão:** Linfonodos inflamatórios tendem a cursar com evolução rápida e presença de sinais flogísticos. Costumam ser múltiplos e sua superfície geralmente é lisa. Normalmente são menores que 2 cm. Já linfonodos neoplásicos possuem uma evolução progressiva e inicialmente silenciosa. São indolores, únicos, com superfície irregular e maiores que 2 cm. Linfonodopatias inguinais, como no caso descrito, sugerem infecções piogênicas de membros inferiores, DST, linfomas e neoplasias ginecológicas. **Conclusão:** O aumento dos linfonodos é um achado relativamente comum na prática clínica, o qual pode tanto revelar uma resposta adaptativa normal a um estímulo imunológico quanto uma doença neoplásica ou inflamatória. Para auxiliar o diagnóstico clínico é fundamental que o profissional se atente a questões como tempo de evolução, características do linfonodo, sintomas presentes, idade do paciente e localização, além de uma anamnese completa.

537. RETROVIGILÂNCIA DAS REAÇÕES TRANSFUSIONAIS NUM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

Tófano VAC, Toscan DCO, Contente DF

Universidade de Marília (UNIMAR), Marília, SP, Brasil

Introdução: Define-se uma reação transfusional como todo e qualquer problema indesejável que ocorra durante ou após uma transfusão de hemocomponente/hemoderivado. De acordo com a sua natureza e o momento da instalação, as reações transfusionais dividem-se em reações agudas e tardias não imunológicas e imunológicas. Essas podem acarretar riscos de morte e desencadear diferentes morbidades aos pacientes transfundidos, sendo que a correta e a rápida identificação de reações transfusionais pode prevenir maiores danos aos pacientes através de uma conduta médica adequada para cada caso. **Objetivos:** Identificar possíveis reações transfusionais nos pacientes transfundidos, além de diagnosticar possíveis problemas na percepção desses. Tratar adequadamente os pacientes envolvidos e promover um programa de orientação da equipe de saúde envolvida. **Métodos:** Foram avaliadas todas as fichas transfusionais da agência transfusional de pacientes transfundidos no período de ago/2014 a jan/2015. Dois pesquisadores avaliaram essas fichas na busca de anotações pertinentes às possíveis reações transfusionais e/ou inadequações de anotações pertinentes nas fichas em questão pelos funcionários da agência transfusional desse serviço. **Resultados:** Na verificação das fichas, após o estudo dos sinais vitais e possíveis reações documentadas, verificou-se 15 reações transfusionais em um total de 237. Além de nenhuma dessas reações terem sido notificadas, constatou-se que, das 237 fichas, 40 estavam preenchidas inadequadamente. **Conclusão:** Há uma subnotificação ou até um subdiagnóstico das reações transfusionais por parte da equipe de saúde envolvida nesse processo, pois pelo número de transfusões da unidade, e considerando a literatura discutida, esperava-se um maior número de reações transfusionais. Dessa forma, um curso de atualização através de projeto de extensão será realizado com a equipe profissional em questão.

538. PORFIRIA CUTÂNEA TARDIA: RELATO DE UM CASO

Tófano VAC, Toscan DCO

Universidade de Marília (UNIMAR), Marília, SP, Brasil

Introdução: A porfiria cutânea tardia (PCT) é a mais frequente das porfirias e se manifesta aproximadamente aos 40 anos. É causada pela deficiência parcial da atividade enzimática de uroporfirinogênio-des-carboxilase (Urod), que resulta no acúmulo de uroporfirina e 7-carboxil porfirinogênio principalmente no fígado. Além do defeito enzimático, é necessária a interação com fatores desencadeantes para que a doença se manifeste, entre eles: álcool, sobrecarga de ferro, infecção pelo vírus da hepatite C e HIV. As manifestações clínicas incluem fragilidade cutânea, bolhas, vesículas e crostas, além de hipertricose. O diagnóstico se dá pela pesquisa de porfirinas na urina, fezes e sangue, além de exame histopatológico. A eliminação do fator causal, flebotomias e proteção solar constituem a terapia. **Objetivos:** Relatar um caso de PCT com história de hepatite C, um dos principais fatores desencadeantes, além de chamar a atenção dos profissionais quanto ao diagnóstico frente às lesões dermatológicas. **Relato do caso:** Sexo masculino, 64 anos, apresentando lesões bolhosas e ulcerativas no rosto, orelhas, mãos e antebraços há um ano. Hepatite C sem seguimento, que provavelmente desencadeou a PCT. Hiperferritinemia. **Discussão:** O paciente do caso relatado era portador de hepatite C não acompanhada, infecção viral crônica que culmina na liberação do ferro ligado à ferritina, contribuindo para o seu acúmulo. Entre as hipóteses que explicam a relação da hepatite C com a PCT estão a diminuição da atividade da Urod secundária à lesão do hepatócito, alteração no sistema oxidase-dependente ao citocromo P450 e aumento da resposta imune no fígado. O paciente apresentou melhora significativa das lesões e dos níveis de ferritina após iniciar tratamento para a hepatite C. Atualmente, encontra-se fora de tratamento medicamentoso para a infecção, com remissão completa das lesões cutâneas agudas e melhora significativa nos níveis de ferritina. **Conclusão:** Além da importância em se pensar no diagnóstico da porfiria diante de lesões bolhosas, a busca pelo fator desencadeante é fundamental para instituir terapêutica e consequente melhora das lesões.

539. POLIGLOBULIA×CISTOS RENAI: RELATO DE CASO

Tófano VAC, Toscan DCO

Universidade de Marília (UNIMAR), Marília, SP, Brasil

Introdução: Poliglobulia é definida como um aumento da concentração de hemoglobina acima do limite superior do intervalo de referência para a idade e o sexo do paciente. Diz-se verdadeira quando há realmente um aumento de eritrócitos na circulação e aparente ou relativa quando há diminuição do volume plasmático, ocorrendo, então, uma hemoconcentração. Estabelecida a poliglobulia verdadeira, esta deve ser classificada em primária (na qual as células progenitoras eritroides mostram resposta exagerada às citoquinas) ou secundária (decorrente de fatores extrínsecos ao compartimento eritroide). O quadro clínico está relacionado com a síndrome de hiperviscosidade, e frequentemente com trombozes. A causa mais comum de poliglobulia secundária é a Doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC). Secreção inapropriada de eritropoietina por nefropatias e tumores renais é uma causa rara. **Objetivos:** Relato de um caso de poliglobulia onde o único achado foi a presença de cistos renais. **Relato do caso:** Paciente do sexo masculino, 65 anos, aposentado, assintomático, apresentava poliglobulia (Hb: 17,8g/dL e Ht: 52,9%). Fumante passivo. Cirurgia para retirada de cálculo renal há 30 anos. Raios X do tórax normal; ultrassonografia abdominal: cistos renais simples. Não foi possível a realização da dosagem de eritropoietina por não estar sendo realizada pelo SUS. **Discussão:** Apesar do histórico de ter sido fumante passivo por 30 anos, o paciente não apresentava alterações clínicas e nem radiológicas compatíveis com DPOC, nem outros achados clínicos e/ou laboratoriais que pudessem ser compatíveis com policitemia vera. Está em acompanhamento há sete anos, necessitando esporadicamente (1x/ano) da realização de flebotomia. **Conclusão:** Considerando-se a evolução clínica em longo prazo, suspeitamos que os cistos renais possam estar envolvidos na etiologia da poliglobulia e ressaltamos a importância em se valorizar essa busca nos pacientes atendidos com poliglobulia sem causa comum aparente.

540. DOENÇA DE GAUCHER: RELATO DE CASO CLÍNICOFujimoto DE^a, Iwawasaki VL^b^a Universidade Federal do Acre (UFAC), Rio Branco, AC, Brasil^b Hospital das Clínicas do Acre, Rio Branco, AC, Brasil

Introdução: A doença de Gaucher compõe um grupo de doenças raras de depósito lisossômico, autossômica recessiva, caracterizada pela deficiência da atividade da β -glicosidase ácida, acarretando o acúmulo de seu substrato glicocerebrosídeo nos lisossomos dos macrófagos (células de Gaucher). Fígado, baço e medula óssea são os órgãos mais afetados. Clinicamente classificada em três subgrupos: Tipo 1 – Forma não neuropática (corresponde a 95% dos casos), afeta crianças e adultos, é caracterizada tipicamente por hepatoesplenomegalia e, radiologicamente, a deformidade em frasco de Erlenmeyer é o achado mais comum. Tipo 2 – Forma neuropática aguda, afeta lactentes, com comprometimento neurológico grave com degeneração do tronco cerebral. Tipo 3 – Forma neuropática crônica, apresenta-se entre a infância e adolescência, com quadro neurológico mais brando. O diagnóstico é pela dosagem da atividade enzimática da beta-glicosidase ácida. Mais de 200 mutações foram identificadas no cromossomo 1 (1q21), e a mutação N370S é a mais frequente. O tratamento de reposição enzimática com imiglucerase demonstrou ser eficiente e bem tolerada com doses entre 30 e 60 U/kg a cada duas semanas.

Relato do caso: Paciente AMC, sexo feminino, 67 anos, brasileira, com quadro de púrpuras e epistaxes há dois anos. Abdomen: flácido, indolor à palpação, sem massas ou visceromegalias, confirmado por ultrassom. Ausência de linfonodomegalias e extremidades apresentando varizes em membros inferiores, com edemas e ocronose. A contagem de plaquetas à época foi entre 33.000/mm³ e 58.000/mm³. O mielograma mostrou hipoplasia moderada não conclusiva para púrpura imunológica, mesmo assim optou-se por instituir tratamento com corticoide, sem melhora clínica e laboratorial. De 2005 a 2006 a contagem de plaquetas ficou entre 10.000 a 25.000/mm³, sem sangramento ou crises algícas. As transaminases e radiografia de esqueleto normais. O diagnóstico de Gaucher foi feito com a dosagem em leucócitos séricos da β -glicosidase abaixo de 10 nmol/m e quitotriosidase baixa. Paciente iniciou quadro alérgico com prurido e pele com lesão em “casca de laranja”, mantendo a plaquetopenia, sem sangramentos. Iniciou-se o tratamento com imiglucerase na dose de 60 UI/kg/dose a cada duas semanas em abril/2008. Após a quarta e quinta dose do medicamento, a paciente apresentou diurese com aspecto espumoso. Houve diminuição do rubor facial e do aspecto “casca de laranja”, além da melhora da fadiga muscular. A contagem de plaquetas atingiu o número de 52.000/mm³ em 2010, quando houve descontinuidade na infusão do medicamento com normalização após 6 meses e a contagem de plaquetas se manteve menor que 20.000/mm³ de sangue.

Discussão: O diagnóstico de doença de Gaucher foi confirmado em uma paciente adulta, de idade avançada, que não apresentou as manifestações típicas da doença de Gaucher Tipo 1. Esta forma atípica dificultou e retardou o diagnóstico. Este relato serve de alerta a todos os médicos para incluir a doença de Gaucher na investigação clínica de pacientes que apresentem citopenias, hepato e/ou esplenomegalia inexplicadas. A contagem de plaquetas tem sido relatada como parâmetro de melhora clínica, em um a dois anos de tratamento. Ao contrário da literatura, esta paciente mantém contagem de plaquetas menor que 20.000/mm³ e sem sangramento.

541. PERFIL CITOGENÉTICO DE PACIENTES SUBMETIDOS AO EXAME IMUNOFENOTIPAGEM POR CITOMETRIA DE FLUXO PARA ONCO-HEMATOLOGIAMarques FK^a, Cadar US^b, Ramos LV^b, Assumpção J^a, Mateo ECC^a, Ferreira ACS^a^a Setor de Pesquisa e Desenvolvimento, Instituto Hermes Pardini, Belo Horizonte, MG, Brasil^b Setor de Citogenética, Instituto Hermes Pardini, Belo Horizonte, MG, Brasil

O diagnóstico onco-hematológico depende da combinação de avaliação clínica, citomorfológica e exames laboratoriais. Técnicas de imunofenotipagem, como a citometria de fluxo, revelam informações relevantes, como o estágio de maturação das populações celulares e a presença de células com fenótipo anormal. A técnica é sensível e robusta, mas a confirmação do diagnóstico e a estratificação de pacientes em grupos de risco dependem também do estudo citogenético. Este é importante na

classificação e estabelecimento do prognóstico das doenças onco-hematológicas, sobretudo nas leucemias. Foi realizado um estudo retrospectivo de pacientes submetidos à imunofenotipagem por citometria de fluxo para onco-hematologia e cariótipo de medula óssea no Instituto Hermes Pardini, no período entre nov/2014 e jun/2015 para caracterização citogenética. Foram excluídos os casos de doença residual mínima e aqueles nos quais não houve crescimento celular na citogenética. Do total de 114 pacientes, 54 eram do sexo masculino e 60 do sexo feminino. A imunofenotipagem foi compatível com doença hematológica em 83,3% (95) dos casos, dos quais 73 diagnosticados como leucemia aguda [37 leucemias mieloides agudas (LMA) e 36 leucemias linfoblásticas agudas (LLA)], 10 casos de síndrome mielodisplásica (SMD), 5 de leucemia linfocítica crônica (LLC), 5 de leucemia mieloproliferativa crônica (LMC) e 1 de linfoma T. A mediana de idade destes pacientes foi de 52 anos na LMA; 19 anos na LLA; 64 anos na SMD; 68 anos na LLC; e 53 anos na LMC. Em 51 casos de leucemia aguda (68,9%) foram encontradas alterações cromossômicas. As alterações cromossômicas mais frequentes nas LMAs foram a t(8; 21) (13,5%), t(15; 17) (10,8%), cariótipos complexos (10,8%), a trissomia do 21 (10,8%) e -Y (8,1%). Dentre as alterações cromossômicas identificadas nas LLAs destacam-se a trissomia do 21 (25%), a t(9; 22) (19,4%), os rearranjos envolvendo o 11q23 (16,7%), as hiperdiploidias (> 50 cromossomos) (13,9%) e a trissomia do 18 (11,1%). Entre as SMDs, 3 (30%) apresentavam alterações cromossômicas, sendo a deleção em 5q detectada nos três casos, dois dos quais tinham cariótipos complexos. Em quatro dos cinco casos com indicação de LMC na imunofenotipagem foi identificada a t(9;22)(q34;q11.2). Foram detectados cinco casos de LLC, sendo dois com cariótipo normal, um com -Y, um com deleção em 20q e -Y e outro com inv(1), del(6), del(11q) e -20. A classificação da Organização Mundial da Saúde para neoplasias hematopoiéticas é baseada em dados clínicos, morfologia, marcadores imunofenotípicos e marcadores genéticos. Estes últimos são, atualmente, definidores de alguns diagnósticos. Na era do tratamento alvo-específico, a detecção de uma translocação, por exemplo, é fundamental para a avaliação do prognóstico e indicação adequada do tratamento. Não foi possível determinar a frequência populacional das alterações citogenéticas, pois os pacientes não foram incluídos de forma consecutiva no estudo e não houve critério de inclusão clínico. Nossos resultados mostram como o cariótipo de medula complementa os resultados da imunofenotipagem na definição da leucemia promielocítica aguda com t(15;17) e identificação de LLA-B precursora CD10- com rearranjos MLL. As duas metodologias em conjunto possibilitam um melhor diagnóstico, definição de risco e tratamento mais adequado.

542. CEREBROSPINAL FLUID BY FLOW CYTOMETRY. CHALLENGES AND ADVANCES IN THE DETECTION OF HEMATOLOGIC NEOPLASMS CELLSBento LG^a, Correia RP^a, Vaz AC^a, Alexandre AM^a, Schimidell D^a, Perin FS^a, Nozawa ST^a, Barroso RS^a, Mendes CEA^a, Fernandes GBP^{a,b}, Senne CA^{a,b}, Bacal NS^{a,c}^a Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brazil^b Senne Liquor Diagnóstico, São Paulo, SP, Brazil^c Centro de Hematologia de São Paulo (CHSP), São Paulo, SP, Brazil

The study of hematologic neoplasms in cerebrospinal fluid (CSF) by conventional cytology is intensely used, but literature data suggest that this methodology has a limited sensitivity. In this context, flow cytometry (FC) has been used as a powerful technique with high sensitivity and specificity for the detection of lymphoma and leukemia infiltration, even when the cellularity is low. In this study, the authors present the challenges of this technique and the advantages of assessing CSF specimens by flow cytometry. From January 2014 to June 2015, the authors evaluated 87 cases by FC using BD FACS Canto II (Becton Dickinson), DIVA software (Becton Dickinson), and Infinicyt (Cytognos). Euroflow Small Sample Tube - SST (CD20V450/CD45V500/CD8FITC+LAMBDAFITC/CD56PE+KAPPAPE/CD4Percp-y5.5/CD19PE-Cy7/CD3APC/CD14APC/CD38APC-H7) was used as screening strategy, and depending on the concentration of cells, the phenotypic study was extended according to hematologic malignancy. The study detected 21.8% (19/87) of CSF specimens with hematological malignancies, eight cases with B non-Hodgkin lymphoma (B-NHL), four B lymphoblastic leukemia, one with blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm (BPDC), one with T lymphoblastic leukemia, and five with immature myeloid population. The average sample volume was 8.7 mL, and diseases could

be detected even in extremely low cellularity count. No phenotypic abnormalities were identified by FC in 78.2% (68/87) of the samples with 7.8 mL of volume. Even in samples that have low cellularity and no abnormal cells, monocytes, CD3 T-lymphocytes, and the subtypes CD3/CD4 and CD3/CD8 could be detected in all samples. Recently, the authors have started to use Transfix®, a stabilization solution in a proportion of 1/20. This action has improved the quality of CSF results, especially due to prevention of cellular degradation and increase the sample stabilization. The great challenge in the investigation of hematologic malignancy in CSF by FC is the low cell count with usual restricted sample volume and increase cell death. In this service, recent advances in technical procedures, equipment, software, and fluorochrome have been made to standardize and increase the test sensibility, especially at lower cell concentrations that impair the cytomorphology analysis. Briefly, the improvements were the migration of four-colours to eight-colours FC protocols, standardization of technical procedures for better concentration of the samples in one tube, immediate processing of sample (up to 4 hours), the use of a stabilization solution for CSF collection, analysis in Infinicity software, and continuous team training. Flow cytometry is a powerful and sensitive technique for cell detection in extremely low count samples, and has become an important tool in improving the diagnosis and monitoring of hematologic neoplasm in CSF.

543. PERFIL DO AMBULATÓRIO DE HEMATOLOGIA EM UM CONSÓRCIO INTERMUNICIPAL DE SAÚDE

Rodrigues DW^a, Sudário LC^b, Ribeiro LC^c, Pedreira FA^b, Costa MA^b, Júnior IOF^b, Pittella AMOL^d, Cardoso LAB^c, Oliveira CM^b

^a Agência de Cooperação Intermunicipal em Saúde Pé da Serra (ACISPES), Juiz de Fora, MG, Brasil

^b Universidade Antônio Carlos (UNIPAC), Juiz de Fora, MG, Brasil

^c Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, MG, Brasil

^d Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil

Introdução: Ao se buscar práticas de gestão inovadoras que concretizassem os princípios do Sistema Único de Saúde (SUS), no sentido de melhorar o atendimento à população, foram criados os Consórcios Intermunicipais de Saúde (CIS) que tentam disponibilizar o acesso à saúde desde os níveis mais elementares até os mais complexos de atenção terciária e quaternária. A Agência de Cooperação Intermunicipal em Saúde Pé da Serra (ACISPES) é um consórcio com 24 municípios que tem como foco a promoção, proteção e recuperação da saúde de suas populações, com a realização de consultas e exames de média e alta complexidade. Foi criada em 1996, como uma associação civil sem fins econômicos, com sede em Juiz de Fora, Minas Gerais e inaugurou seu ambulatório de Hematologia Geral em set/2009, visando atender os pacientes encaminhados da atenção primária. **Objetivos:** Avaliar a prevalência das doenças hematológicas nos pacientes que foram atendidos no ambulatório de Hematologia Geral da Acispes e determinar seu perfil epidemiológico. **Metodologia:** Foi realizado um estudo transversal quantitativo, com revisão de 460 prontuários cadastrados no período de set/2009 a abril/2014. As variáveis estudadas foram sexo, idade, procedência e diagnóstico. Os dados foram obtidos do relatório do Programa Operacional de Informática SIG, padronizado pela instituição, e armazenados no programa Access 2007, Microsoft Corporation,® EUA. **Resultados e discussões:** Os CIS foram oficializados a partir da Lei Federal nº 11.107/2005 e idealizados como instituições que agrupam recursos de municípios que, com suas próprias verbas, não seriam capazes de financiar o acesso aos níveis de atenção à saúde de média e alta complexidade. A Acispes em Juiz de Fora promove a interação dos 24 municípios contemplados, através da reunião de recursos humanos e financeiros, a fim de potencializar a assistência médica, disponibilizando atendimento médico ao maior número de cidadãos. A análise dos dados demonstrou que 67% da amostra foram do sexo feminino; a faixa etária predominante foi dos 41 a 50 anos, com 18,30%; a maior parte dos pacientes foi oriunda do município de Santos Dumont (10,65%), enquanto o município que mais utilizou o serviço foi Simão Pereira, com 10,6 consultas/1000 habitantes. A anemia foi a patologia mais prevalente, com 56,7%, seguida de plaquetopenia (14,7%), leucopenia (14,1%), adenomegalia (4,6%), trombofilia (3,9%), leucocitose (1,7%), traço falciforme (1,1%) e outras doenças somando 3,1%. **Conclusão:** O estudo realizado permitiu conhecer a realidade de uma população da região da Zona da Mata e traçou um perfil epidemiológico, ferramenta que pode ser utilizada

para estabelecer ações de melhoria à saúde. Os dados encontrados estão em concordância com os da literatura, onde a anemia tem alta frequência na população, constituindo um problema de saúde pública que deve ser corretamente investigado e tratado, visando melhoria da qualidade de vida dos pacientes e redução de morbimortalidade. Isso mostra a necessidade de enfatizar na formação médica essa importante condição clínica que leva a população a consultas na atenção primária à saúde. **Palavras-chave:** Hematologia; Perfil de saúde; Anemia; Consórcios de saúde.

544. RELATO DE CASO DE SARCOMA HISTIOCÍTICO

Silva GF, Fischer TRC, Negreiros EAS, Reid MM, Barrese TZ, Paes RAP, Rocha TMBS, Chiattonne CS

Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Relato: Paciente A.A.P. feminina, 57 anos, procurou o serviço de hematologia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo em jan/2015 com quadro de linfonodomegalias cervicais e perda de 9 kg há cinco meses. De antecedente pessoal, foi tratada por neoplasia de vulva em 2012. O exame físico apresentava, além de linfonodos palpáveis em cadeia cervical e supraclavicular, uma massa palpável abdominal que se estendia do rebordo costal até nível de cicatriz umbilical. Trouxe uma biópsia com imuno-histoquímica positiva para CD45, proteína S100, vimentina, CD68, lisozima, CD4, CD23, CD21, CD20, CD3 com Ki67 de 15% e negativa para CD43, CD1a, CD30, AE1/AE3, mieloperoxidase, CD15, EBV, CD34, EMA e CD56. Realizou PET-TC, que apresentou linfonodos cervicais com SUV máx 7,7; torácico com SUV máx 7,4; abdominais difusos com SUV máx 9,1; pélvico com SUV máx 2,9 e formação em alça ileal com SUV máx 24,7. Foi iniciado um esquema CHOPVP (ciclofosfamida 650mg/m²D1, doxorubicina 45mg/m²D1, vincristina 1,4mg/m²D1, prednisona 60mg/m²D1 a D5, doxorubicina 30mg/m²D8, etoposide 140mg/m²D8 a D10, prednisona 60mg/m²D8 a D10 e filgrastim a partir D11) com ciclos de 21 dias. Paciente retornou após o primeiro ciclo com mucosite e optou-se por modificação do esquema devido baixa tolerância. Em abril foi iniciado CHOP (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina e prednisona), totalizando três ciclos até o momento deste esquema, com melhora clínica importante. **Discussão:** O sarcoma histiocítico (SH) é uma rara e agressiva neoplasia hematológica com etiologia desconhecida. Pode acometer todas as idades e tem distribuição bimodal, com pequeno pico entre 0-29 anos e outro maior entre 50-69 anos, onde encontrava-se a paciente (57 anos). A despeito do caso relatado, na literatura há predominância no sexo masculino. A paciente abriu o caso sem antecedentes hematológicos, mas alguns casos ocorrem durante ou após o diagnóstico de leucemia/linfoma linfoblástico de células B. Vale ressaltar que não há casos em que o SH precede o diagnóstico de linfoma. O aumento de linfonodos foi um achado ao exame físico da paciente e, segundo a literatura, são os lugares mais frequentes – embora sítios extranodais possam ser acometidos. Sintomas sistêmicos, tais como febre e perda ponderal presentes no caso, também são comuns. Morfológicamente, a neoplasia se apresenta com uma proliferação difusa de células grandes e, por definição, apresentam imunofenótipo com expressão de CD163, CD68 e lisozima na ausência de marcadores para células T ou B. O diagnóstico de SH requer o reconhecimento das células histiocíticas com exclusão de diagnósticos diferenciais a partir de um extenso painel imuno-histoquímico. O perfil imuno-histoquímico realizado foi positivo para CD68 e lisozima, marcadores de histiócitos. As células tumorais são sempre negativas para CD30, como encontrado no caso. Foram excluídos diagnósticos diferenciais importantes com marcadores negativos para células epiteliais, células de Langerhans e células mieloides. A maioria dos pacientes evolui a óbito devido doença disseminada. Devido a raridade ainda não há um consenso a respeito tratamento padrão para esta neoplasia e frequentemente se utiliza protocolos de tratamento para linfomas, como no caso relatado. **Conclusão:** O caso relatado chama atenção para uma neoplasia grave que exige alto grau de suspeição e deve ser investigada quando há marcadores de histiócitos após exclusão de diagnósticos diferenciais.

545. VHS: AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA DE ACORDO COM O GÊNERO E FAIXA ETÁRIA

Barbosa JHR, Souza ICL, Fernandes RMB

Universidade Tiradentes (UNIT), Aracaju, SE, Brasil

A avaliação da atividade inflamatória por meio de exames laboratoriais é frequente na prática médica por auxiliar o diagnóstico e seguimento de

afecções inflamatórias, infecciosas e neoplásicas. Dentre as diversas provas laboratoriais que podem ser utilizadas na triagem ou monitoramento de doenças inflamatórias agudas ou crônicas encontra-se a velocidade de hemossedimentação (VHS). O objetivo deste estudo é demonstrar o perfil da VHS nos diferentes gêneros e faixas etárias entre pacientes atendidos em um laboratório de análises clínicas. O trabalho desenvolvido trata-se de um estudo transversal constituído por uma amostragem de 325 testes para VHS realizados pelo método de Westergreen em pacientes atendidos em um laboratório de análises clínicas da cidade de Aracaju, no período de jan/2012 a jun/2012. Foram analisados dados segundo faixa etária e gênero, considerando como valor de referência VHS < 20. Para faixa etária compreendida entre zero e 19 anos, intitulou-se população jovem; de 20 até 59 anos, população adulta; e ≥ 60 anos, população idosa. É conhecido que a idade tem importante influência na velocidade de hemossedimentação devido ao aumento do fibrinogênio e provável doenças ocultas, logo, os resultados deste trabalho mostraram que na população idosa 53,2% apresentaram valores acima dos 20 mm/h, em contraste com a população jovem e adulta, que apresentaram 18,4% e 32,4%, respectivamente. Fisiologicamente, a velocidade de hemossedimentação tende a ser maior nas mulheres que nos homens. Presume-se que essa diferença é causada pelos hormônios andrógenos, segundo evidências de estudo *in vitro* em que andrógenos diminuíram a velocidade de hemossedimentação, e *in vivo*, em que homens normais castrados têm sua VHS aumentada e após reposição de testosterona têm sua VHS diminuída. Corroborando com estas informações, os resultados mostram um percentual de 86% de indivíduos do gênero feminino com VHS ≥ 20 mm/h na população jovem, 94,5% na população adulta e 90,9% na população idosa. A velocidade de hemossedimentação é o exame laboratorial que mede a distância percorrida em milímetros pelos eritrócitos durante a queda em um tubo vertical durante uma hora, que é utilizado na prática médica para auxiliar o diagnóstico e acompanhamento de diversas patologias, dando geralmente um parâmetro da atividade da doença. Os resultados demonstraram maior prevalência do VHS alterado na população idosa, bem como no gênero feminino em todas as faixas etárias estudadas. **Palavras-chaves:** Velocidade de hemossedimentação; Atividade inflamatória; Eritrócitos.

546. PROCESSOS LINFOPROLIFERATIVOS: UMA ANÁLISE DE 261 CASOS A PARTIR DE EXAMES IMUNO-HISTOQUÍMICOS

Carneiro FH^a, Grando III^a, Baller EA^a, Lopes L^a, Lirani W^a, Koehler J^{a,b}, Koehler CH^{a,b}, Torres LFB,^c Netto MRM^{a,c}

^a Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Ponta Grossa, PR, Brasil

^b Instituto Sul Paranaense de Oncologia (ISPON), Ponta Grossa, PR, Brasil

^c Patologia Médica, Ponta Grossa, PR, Brasil

Introdução: Os distúrbios linfoproliferativos podem ser reacionais, ocorrendo em resposta a uma doença primária, ou neoplásicos, onde se inclui um grupo diversificado de tumores originados de linfócitos B, T e *natural killer*. Podem ocorrer em linfonodos (processos nodais) ou em qualquer outro tecido do corpo humano (processos extranodais). A diferenciação entre estas doenças e seus subtipos muitas vezes é complexa, sendo a imuno-histoquímica uma ferramenta essencial no diagnóstico. Os padrões de incidência dessas enfermidades não são uniformes nas populações, sobretudo os dos processos linfoides neoplásicos, justificando a realização de estudos regionais. **Objetivo:** Analisar a frequência de processos linfoproliferativos reacionais e neoplásicos em um serviço de anatomia patológica localizado na cidade de Ponta Grossa-PR para um período de 11 anos (entre 2002 e 2012). Buscou-se também conhecer a distribuição dos subtipos histológicos, o perfil demográfico da população afetada e os sítios mais acometidos pelas doenças. **Métodos:** Foram selecionados todos os laudos de exames de imuno-histoquímica com diagnóstico de processo linfoproliferativo realizados no período de 2002 a 2012 a partir de um banco de exames de um serviço de anatomia patológica localizado em Ponta Grossa. Os exames foram distribuídos em três categorias: processos reacionais, linfomas de Hodgkin e linfomas não Hodgkin. A partir dos laudos foram obtidas informações como gênero e idade do paciente e o local da biópsia. A análise estatística consistiu-se na estimação das frequências relativa e absoluta das três categorias. **Resultados:** Do total de 261 laudos incluídos no estudo, 65,9% corresponderam a linfomas não Hodgkin; 12,3% eram de linfomas de Hodgkin; e 21,8%, de processos linfoproliferativos reacionais. Os distúrbios linfoproliferativos predominaram discretamente no sexo masculino e apresentaram média de idade ao diagnóstico de 53 ± 19 anos. O linfoma difuso de grandes células B foi o subtipo de linfoma não Hodgkin mais frequente, representando 57% dos casos, seguido do linfoma folicular,

com 8,7%. Dentre os linfomas de Hodgkin, o subtipo esclerose nodular foi o predominante, sendo responsável por 43,7% dos diagnósticos, seguido pelo subtipo celularidade mista, com 34,4%. Em relação aos processos reacionais, 83,6% dos casos foram de hiperplasia linfóide, dos quais 44,2% eram do padrão folicular. Mais de 60% dos sítios biopsiados foram linfonodos, sendo os mais frequentes os cervicais, seguidos dos retroperitoneais, supraclaviculares, axilares e inguinais. Os sítios extranodais mais biopsiados foram o estômago e os ossos. **Conclusão:** No presente estudo, os processos linfoproliferativos malignos foram as proliferações linfóides mais frequentes, com predominância dos linfomas não Hodgkin. A frequência dos padrões de processos linfoproliferativos na região estudada foi semelhante à descrita na literatura médica vigente.

547. PROJETO PILOTO PARA IMPLANTAÇÃO DA IMUNOFENOTIPAGEM DE LEUCEMIAS POR CITOMETRIA DE FLUXO EM SERGIPE

Andrade LGR^a, Costa AFO^a, Santos LMD^b, Percout PO^b, Schimieguel DM^a

^a Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE, Brasil

^b Hospital de Urgência de Sergipe, Aracaju, SE, Brasil

A citometria de fluxo é uma técnica útil para o estudo de células previamente preparadas e marcadas com anticorpos monoclonais (AcMo) conjugados a fluorocromos, com afinidade por determinada molécula na superfície ou no interior das células, o que permite a análise de suas características pelos padrões de expressão de antígenos ou *clusters designations* (CDs). No citômetro de fluxo, essas células são enfileiradas e passam uma a uma por um feixe de laser de argônio, que excita os fluorocromos e que é refratada e desviada de acordo com o tamanho celular. Assim, todas as informações de fluorescência, tamanho, granularidade, fenotípicas e/ou funcionais são detectadas e convertidas em sinais elétricos que são analisados posteriormente em um *software* específico, conectado ao citômetro de fluxo, e os traduz na forma de representações gráficas. O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo inicial por citometria de fluxo de leucemias de pacientes atendidos no Centro de Oncologia Oswaldo Leite do Hospital de Urgência de Sergipe (HUSE). Foi realizado um estudo piloto em uma paciente já diagnosticada com leucemia, confirmada por exames complementares, que necessitava de acompanhamento durante o tratamento. A análise imunofenotípica da população linfocitária por citometria de fluxo da amostra foi realizada no laboratório de biologia molecular do Hospital Universitário de Sergipe. A paciente, do sexo feminino, 23 anos, de Aracaju/SE, com histórico de dor abdominal difusa por 30 dias e metrorragia intensa. Estado geral regular, afebril, acianótica, anictérica, hipocorada, petéquias em palato e hipertrofia amidaliana. Hemograma do diagnóstico: anemia (Hb = 7,1 g/dL; Ht = 21,3%); leucocitose (62.000/mm³); plaquetopenia (29.000/mm³). Após alguns exames, a paciente foi diagnosticada com leucemia indiferenciada. Na amostra controle analisada, foram observados no hemograma: leucócitos (7.000), neutropenia (4,4%), linfopenia (29,4%), monocitose (57,7%), hemoglobina (7,4 g/dL) e trombocitopenia (36.000). Na imunofenotipagem foram contados 50.000 eventos, dos quais 3.017 foram positivos para anti-CD4(AF488) e 5.704 para anti-CD8(PE), perfazendo 11,4% do total de células. A caracterização das leucemias por imunofenotipagem é útil para identificação rápida dos subtipos de leucemias não reconhecidos pelos critérios morfológicos. A técnica é indicada, além do diagnóstico e diferenciação das leucemias linfóides ou mielóides agudas, no prognóstico, na monitoração de terapias e na avaliação da doença residual mínima. Isso revela a importância da disponibilização desse exame pela rede pública de saúde, visto que é uma ferramenta de grande valia para diagnósticos difíceis, que necessitam de rapidez na sua execução, e também avaliação prognóstica, o que reflete diretamente na escolha do protocolo de tratamento quimioterápico.

548. INCIDÊNCIA DE PARASITOSE NAS CRIANÇAS ASSISTIDAS PELO PROJETO UNIÃO EM FORTALEZA – CEARÁ

Souza LF^a, Lemes RPG^a, Arruda ABL^a, Barros AEC^a, Santos FM^a, Franca APL^a, Coelho JR^a, Machado RPG^b, Rocha JO^a, Souza IP^a

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

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

As parasitoses são consideradas a doença mais comum do mundo, atingindo cerca de 25% da população mundial. Sua transmissão depende das condições sanitárias e de higiene das comunidades. Além disso, muitas dessas parasitoses relacionam-se a déficit no desenvolvimento físico e cognitivo e desnutrição. As parasitoses intestinais são muito frequentes na infância, sendo considerado um problema de saúde pública, principalmente, nas áreas rurais e periferias das cidades dos países chamados subdesenvolvidos, onde são mais frequentes. O objetivo deste trabalho foi avaliar a incidência de parasitose nas crianças assistidas pelo Projeto União em Fortaleza – Ceará. Foram avaliadas 40 crianças do referido projeto, de ambos os sexos, e idade variando de dois a 12 anos. Para a realização do parasitológico de fezes, as crianças conduziram as amostras acondicionadas em depósitos de plásticos descartáveis, sendo realizados os métodos de concentração por sedimentação de Holfmann e de flutuação de Willes. Os exames foram realizados no Laboratório de Hematologia da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Ceará. Dos 40 exames analisados, 75% foram negativos e apenas 25% das crianças apresentaram parasitoses, sendo que apenas uma criança do sexo feminino (5%) apresentou dois tipos de verminoses. Desses, o tipo de parasitose predominante foi *Endolimax nana* (17,5%), seguidos da *Entamoeba coli* (5%) e *Giardia lamblia* (2,5%). Em crianças das camadas mais carentes da população, as parasitoses intestinais são especialmente graves por causarem déficits orgânicos severos, com consequente baixo desenvolvimento físico e intelectual, além de mortalidade. A incidência de parasitas intestinais associa-se a quadros de diarreia crônica e desnutrição, sendo um dos principais fatores debilitantes da população. Do exposto acima, concluímos que o baixo índice de parasitose encontrado pode ser decorrente do saneamento básico, da água tratada e encanada, como também da coleta de lixo, controle sanitário e dos alimentos, que são fatores importantes na prevenção da verminose. Além disso, também são medidas preventivas que podem barrar esses parasitas a informação e as palestras educativas realizadas pelos educadores do Projeto sobre hábitos básicos de higiene, como lavagem adequada das mãos e dos alimentos e evitar contato com águas contaminadas por esgotos. Mais importante que tratar, é ensinar como evitar a nova infecção. A prevenção das parasitoses intestinais envolve, além do comprometimento individual do paciente, aspectos médicos, culturais, sociais e políticos.

549. PORFIRIA INTERMITENTE AGUDA: UM DIAGNÓSTICO DESAFIADOR – RELATO DE CASO E REVISÃO DA LITERATURA

Borducchi JHM, Dulle PHW, Lima RS, Barbosa AA, Tavares HDA, Borducchi DMM

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

Introdução: As porfirias são oito doenças metabólicas geneticamente distintas, principalmente hereditárias, nas quais existem defeitos na porfirina normal e síntese do heme. Tradicionalmente, as porfirias foram classificadas como hepática ou eritropoietica, embora alguns tenham características que se sobrepõem. A porfiria intermitente aguda (PIA) ocorre pela deficiência da enzima porfobilinogênio desaminase; afeta mais mulheres que homens e tem baixa penetrância, razão que justifica a heterogeneidade das idades que ocorrem as manifestações clínicas. Além disso, por causa da grande variedade de sintomas não específicos que ocorrem na PIA, ela é de difícil diagnóstico. As porfirias agudas são caracterizadas por ataques de dor abdominal (95-97%) e uma vasta gama de sintomas não específicos, como escurecimento da urina, neuropatia motora periférica, náuseas, vômitos, alterações mentais/psicose, hiponatremia, hipo/arreflexia, neuropatia sensorial e apreensões. **Relato de caso:** Paciente RCR, 34 anos, sexo feminino, apresentou em 2001 quadro de dor abdominal generalizada, cefaleia, náuseas e vômitos associados à fraqueza de membros inferiores, porém com investigação do quadro inconclusiva. Em 2002, após ter iniciado o uso de progesterona injetável de depósito, voltou a apresentar o mesmo quadro clínico, sendo diagnosticada com distrofia simpática reflexa. Durante este ano, começou a apresentar crises convulsivas tônico-clônicas generalizadas, com liberação de esfíncter urinário e pós-comicial, sem diagnóstico etiológico definitivo. Em 2007, apresentou distensão abdominal, com piora do quadro alérgico crônico e procurou serviço de saúde, onde foi submetida à laparotomia branca, com diagnóstico de bridas intestinais. Entre 2007 e 2010 foi submetida a oito laparotomias brancas. Em 2010, foi diagnosticada com esclerose múltipla e ficou em tratamento por três anos, fazendo uso de fanpiridina, com piora do quadro clínico após uso da medicação.

Apresentou, por mais de 10 vezes, necessidade de intubação orotraqueal e internação em UTI por insuficiência respiratória aguda e rebaixamento do nível de consciência, sempre após o uso de fanpiridina. Em 2013, passou por neurologista para manter o acompanhamento da esclerose múltipla, que suspeitou de porfiria intermitente aguda, com necessidade de nova investigação. A neurologista solicitou que a paciente colocasse ao sol um copo com urina e observasse a mudança da coloração, o que de fato ocorreu. Assim foi solicitado dosagem de ALA e PGB urinário, que vieram positivos. Atualmente, a paciente encontra-se em acompanhamento médico com surtos de crises agudas, sempre após exposição a algum fator desencadeante. **Conclusão:** Os graves sintomas gastrointestinais e neurológicos da PIA se assemelham aos de muitas outras situações, levando a diagnósticos errôneos e intervenções desnecessárias, comprometendo a qualidade de vida destes pacientes e colocando-os em risco de morte.

550. BIOSSIMILARES EM DESENVOLVIMENTO – CENÁRIO ATUAL EM ONCO-HEMATOLOGIA

Castilho VC, Almeida R, Tambellini R, Miyashiro CAHV

Libbs Farmacêutica, Embu das Artes, SP, Brasil

Objetivos: O desenvolvimento de biossimilares é de grande importância para sistemas de saúde, devido à diminuição dos custos de tratamentos em até 35%, quando comparados com os biológicos-referência. Além disso, especialmente em países emergentes, a adoção de medicamentos biossimilares é crucial para o acesso a tratamentos de alto custo por uma maior parte da população. Por outro lado, apesar do fácil acesso a informação, existe um desconhecimento das fases de desenvolvimento e mecanismos de diferentes biossimilares na área de onco-hematologia. O objetivo do presente estudo é avaliar o panorama global atual dos biossimilares em onco-hematologia quanto a seus mecanismo de ação e fase de desenvolvimento. **Material e métodos:** Foi realizada uma busca na base de dados Thomson Reuters Cortellis® utilizando os termos “biossimilar”; “products in clinical development”; (“Phase 1, Phase 2, Phase 3, Preregistration, Registration”); “Launched”; “for “neoplasms” (cancer)” para traçar o cenário futuro de biossimilares ao redor do mundo. Os resultados com indicações para alguma doença onco-hematológica foram considerados elegíveis para a presente avaliação. **Resultados:** Foram obtidos 125 retornos na base de dados, dos quais 68 apresentavam indicações para onco-hematologia. As principais ações-alvo descritas foram ligantes de interferon alfa (45,6%); ligantes de interleucina-2 (35,3%), asparaginase (5,9%) e indicações desconhecidas (11,6%). Dentre os biossimilares com mecanismo baseado em ligantes de interferon alfa, quase todos (90,3%) os medicamentos já foram registrados. Já em ligantes de interleucina-2, 2 estão em fase I de desenvolvimento, três em fase II, sete em fase III, um está em fase clínica (status de fase desconhecido), um em fase de pré-registro e 10 já foram registrados. **Conclusões:** São previstas grandes mudanças no setor de biossimilares em onco-hematologia nos próximos anos. Por exemplo, no caso dos ligantes de interleucina-2, 13 biossimilares ainda estão em fase de desenvolvimento aguardando aprovação. Desta forma, este estudo contribui melhor compreender o cenário atual em biossimilares, além de antecipar as potenciais mudanças no futuro.

551. INTERFERENTES NA DOSAGEM DE HbA1c: MÉTODO HPLC×IMUNOENSAIO DE INIBIÇÃO TURBIDIMÉTRICA

Daniel DC, Kamei CY, Lavelle N, Bezerra MGT

Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O termo genérico *hemoglobina glicada*, ou HbA1c, ou simplesmente A1c, se refere à fração da hemoglobina que está ligada à glicose através do terminal N da valina em uma ou ambas as cadeias beta. O teste de hemoglobina glicada é um importante marcador para o monitoramento do controle glicêmico a médio e longo prazo em indivíduos com diabetes mellitus, sendo que os valores de HbA1c refletem a média da glicose plasmática nos últimos três meses. Níveis acima de 7% estão associados a risco progressivamente maior de complicações crônicas relacionadas à doença. Dependendo da metodologia utilizada, muitos fatores podem afetar ou interferir nas dosagens de hemoglobina glicada. Os fatores mais conhecidos são hemólise, hemorragias, grande quantidade de vitaminas C e E, hipertrigliceridemia, hiperbilirrubinemia, uremia, alcoolismo crônico, algumas hemoglobinas variantes, base de Schiff ou hemoglobina lábil, carência de ferro e alguns medicamentos. **Objetivo:** Comparar o desempenho de duas diferentes metodologias – cromatogra-

fia líquida de alta performance (HPLC) e o imunoenensaio de inibição turbidimétrica – frente aos interferentes mais comuns na rotina de nosso laboratório. **Métodos:** Foram realizadas cerca de 1.218.200 dosagens de hemoglobina glicada na rotina de nosso laboratório no período de ago/2013 a jul/2015. Desse total, cerca de 675.800 casos foram processados pela metodologia HPLC, sendo que aproximadamente 0,6% corresponde às amostras que apresentaram interferências na determinação de HbA1c, sendo os mais comuns a presença de algumas hemoglobinas variantes, hemoglobina fetal persistente, fração lábil e diminuição do número de eritrócitos. Quanto à presença de hemoglobinas variantes, foi realizada a análise por eletroforese capilar e HPLC dedicada à pesquisa de hemoglobinas variantes para a possível identificação das mesmas. Todos estes casos foram processados pelo método de imunoenensaio de inibição turbidimétrica para a comparação entre as duas metodologias. **Resultados:** O interferente mais comum foi a presença de hemoglobinas variantes, predominando as hemoglobinas variantes de difícil caracterização, subsequente à diminuição do número de eritrócitos. As hemoglobinas variantes de difícil caracterização, a hemoglobina Camden e a Porto Alegre sofreram interferência apenas na metodologia HPLC, com exceção de uma hemoglobina variante de difícil caracterização que inviabilizou a determinação de HbA1c em ambas as metodologias estudadas. A presença da fração lábil e hemoglobina fetal persistente também impossibilitou a determinação nas duas metodologias. No entanto, o HPLC identificou a presença de tais interferentes, permitindo uma análise crítica do resultado obtido. Nos casos de diminuição do número de eritrócitos, apenas o HPLC conseguiu detectar a porcentagem de HbA1c, devido à maior linearidade do método. Contudo, nesta situação as dosagens de HbA1c não são confiáveis, pois podem resultar valores falsamente diminuídos. **Conclusão:** Devido aos métodos serem diferentemente afetados pelos diversos interferentes, é interessante que o laboratório clínico trabalhe com duas metodologias para a confirmação de resultados incoerentes com a clínica do paciente.

552. DOENÇA DE GAUCHER. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE ESPLENOMEGALIA: RELATO DE CASO

Soares TCM, Teles LF, Lula JF, Carvalho SFG, Ramos IC, Brito DM

Universidade Estadual de Montes Claros (UNIMONTES), Montes Claros, MG, Brasil

Criança do sexo feminino, seis anos, admitida no ambulatório de Hematologia da UNIMONTES com anemia e esplenomegalia a esclarecer. Relato de anemia persistente há três anos, equimoses esporádicas, episódios de dores ósseas e abdominais de repetição. Admitida com quadro de febre, dor no membro inferior direito e radiografia sugestiva de osteomielite, a paciente foi submetida à antibioticoterapia com remissão do quadro febril. História familiar negativa para patologias hematológicas. Ao exame físico apresentava-se com hipodesenvolvimento ponderoestatural, hipocorada, hepatoesplenomegalia moderadas, afebril, anictérica, ausência de linfadenomegalias, exame neurológico sem alterações. Exames laboratoriais revelaram anemia (hemoglobina 10,4 g/dL), trombocitopenia ($93 \times 10^3/\text{mL}$), leucócitos sem alterações e transaminases levemente alteradas. A radiografia de fêmur direito apresentava lesão osteolítica permeativa na metafase distal, a radiografia de mão para avaliar a idade óssea era compatível com a idade de três anos e seis meses, a ressonância magnética de coluna lombar e fêmures com alterações de sinal difusas e dos espaços medulares das diáfises e metafises, o mielograma apresentava-se com células reticulares sugestivas de células de Gaucher. A atividade da betaglicosidase em leucócitos – 1,4 nmol/h/mg de proteínas (valor normal: 8,0-35,6 nmol/h/mg) e a atividade da quitotriosidase – 8219,0 nmol/h/mL (valor normal: 1,7-175,7 nmol/mL). Após nove meses de tratamento com imiglucerase (60UI/kg – intravenosa de 15 em 15 dias), a criança cresceu 7 cm e ganhou 2 kg e os exames hematológicos e as vísceras encontravam-se dentro dos limites da normalidade. Apesar das manifestações clínico-laboratoriais iniciarem na infância, o diagnóstico da doença de Gaucher na maioria dos casos é tardio. Os pacientes têm apresentações clínicas variáveis e nem sempre se correlacionando com genótipos específicos, indicando a existência de outros fatores, genéticos e/ou ambientais, influenciando o fenótipo. Em casos mais graves, esta doença pode afetar os pulmões, rins e sistema nervoso central. Considerando o fato de a esplenomegalia ser comum a várias patologias, faz-se necessário a inclusão da doença de Gaucher em seu vasto diagnóstico diferencial. Chama-se a atenção para o cuidado na avaliação clínica precisa e cautelosa e decisões invasivas como a esplenectomia diagnósti-

ca devem ser evitadas sempre que possível. Apesar da doença de Gaucher ser uma condição infrequente, considerada doença órfã, ela apresenta um quadro clínico muito semelhante ao de doenças de elevada prevalência, necessitando de um diagnóstico precoce e específico, com acompanhamento multidisciplinar para se obter o seu controle clínico adequado e conseqüente menor morbidade.

553. AMILOIDOSE INTESTINAL: RELATO DE CASO

Nascimento JMD, Sória TC, Rocha LKMS, Landau MB, Bulak R, Júnior CACA, Baptista G

Hospital Naval Marçílio Dias (HNMD), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Paciente de 52 anos, sexo feminino, há cinco anos iniciou quadro de dor abdominal, emagrecimento, vômitos e diarreia aquosa intercalada com constipação. Inicialmente, foi realizado MIF e constatado cisto de *Endolimax nana*, que foi tratado, e ultrasonografia abdominal mostrando hérnia umbilical. A EDA concluiu pangastrite enantematosa e duodenite inespecífica com biópsia duodenal negativa na coloração vermelho do Congo e os marcadores virais e colonoscopia foram normais. Após um ano sem melhora clínica, a paciente foi internada e submetida a novos exames: EDA apresentava dilatação importante da 2ª porção duodenal, TC de abdome com afilamento abrupto na transição da 2ª e 3ª porções duodenais, além de dilatação e espessamento de alças colônicas e enteroscopia evidenciando estase gastroduodenal com dilatação de duodeno e ausência de obstrução. Durante internação, evoluiu com abdome agudo e foi submetida à laparotomia exploradora com achado de dilatação gástrica, íleo terminal e colo, além de linfonodos mesogástricos que foram biopsiados, mas o resultado foi inconclusivos. Sequência da investigação ambulatorial e prova terapêutica para doença de Whipple, mas sem resposta. Em 2012, nova EDA com achados inespecíficos, sugerindo doença celíaca. Realizado antiendomisio, antitransglutaminase, anti gliadina, gordura fecal e alfa 1 antitripsina, todos negativos. Em 2013, nova internação na clínica médica devido à piora do quadro geral. Solicitada avaliação da hematologia quanto à possibilidade de amiloidose primária. Foi avaliada medula óssea e biópsia compatível com hipoplasia leve, a imunofenotipagem mostrou baixo percentual de plasmócito sem anomalias fenotípicas e a coloração vermelho do Congo negativo na medula óssea. Apresentava, também, imunoeletroforese de proteínas com pico monoclonal em IgA e lambda, inventário ósseo sem lesões líticas, imunoeletroforese de proteína urinária normal, HLA DQ2 e DQ8 não detectados, beta 2 microglobulina negativo e uma revisão da biópsia duodenal, coloração vermelho do Congo mostrou refringência verde maçã, compatível com amiloidose. Após 5 anos de evolução e diversas tentativas terapêuticas de insucesso para parasitose, doença celíaca e doença de Whipple, a paciente evoluiu com desnutrição importante, vômitos incoercíveis e perda total de 40 kg de peso. Foi novamente internada em 2015, suspensa dieta oral e iniciada dieta parenteral. Diante da piora do quadro, optamos por oferecer tratamento com quimioterapia para amiloidose com esquema de Bortezomibe subcutâneo e dexametasona nos dias 1, 8, 15 e 22, por 4 ciclos. Após três meses de internação e as primeiras duas doses programadas, paciente recebeu alta com dieta oral. Mantém seguimento nutricional e no ambulatório de hematologia do HNMD, com melhora progressiva do quadro e ganho de 6 kg de peso, sem episódios de vômitos, diarreia ou dor abdominal.

554. MORTALIDADE POR DOENÇAS DO SANGUE E DOS ÓRGÃOS HEMATOPOIÉTICOS E ALGUNS TRANSTORNOS IMUNITÁRIOS: ESTUDO COMPARATIVO NOS MUNICÍPIOS COM MAIORES IDHMS DO MARANHÃO ENTRE 2009 E 2013

Ericeira MAL, Silva JCO, Mendes MVG, Nicolau DI

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

Introdução: Pode-se entender como exemplos de doenças do sangue e dos órgãos hematopoiéticos e alguns transtornos imunitários, patologias como anemias de forma geral, defeitos de coagulação, púrpura e afecções hemorrágicas. Uma análise do padrão de comportamento da taxa de mortalidade relacionada a tais agravos permite uma maior compreensão e planejamento de ações mais assertivas para a promoção da saúde. **Objetivos:** Determinar e comparar as taxas de mortalidade por doenças do sangue e dos órgãos hematopoiéticos e alguns transtornos imunitários nos cinco municípios com os maiores IDHMs do estado do Maranhão, entre os anos de 2009 e 2013; caracterizar os óbitos quanto a gênero e

faixa etária. **Metodologia:** Trata-se de um estudo epidemiológico longitudinal retrospectivo, com abordagem quantitativa, descritiva e observacional, no período de 2009 a 2013. As unidades de análise foram os 5 municípios do MA que apresentam os maiores IDHMs e os óbitos por doenças do sangue e dos órgãos hematopoiéticos e alguns transtornos imunitários (tabulação do DATASUS) confirmados e notificados ao Sistema de Informação de Mortalidade (SIM). Foi calculada a taxa de mortalidade com base no total de óbitos devido às causas escolhidas ocorridos durante os cinco anos analisados no estudo e a média aritmética das populações estimadas (IBGE) dos municípios em cada ano. Os dados foram coletados no dia 31 de jul/2015. **Resultados e discussão:** Os cinco municípios com maiores IDHMs do estado do Maranhão são, respectivamente: São Luís (0,768), Imperatriz (0,731), Paço do Lumiar (0,724), São José de Ribamar (0,708) e Balsas (0,687). Observou-se que a maior taxa de mortalidade durante o período de 2009 a 2013 ocorreu no município de Balsas (16,33 óbitos/100.000 hab), seguido por Imperatriz (15,39 óbitos/100.000 hab), São Luís (15,20 óbitos/100.000 hab), Paço do Lumiar (8,33 óbitos/100.000 hab) e São José de Ribamar (6,20 óbitos/100.000 hab). O CID classifica doenças do sangue e dos órgãos hematopoiéticos e alguns transtornos imunitários em 6 grupos. O grupo de maior predominância foi o de óbitos por anemias aplásticas e outras anemias (41,20%), seguido por defeitos de coagulação, púrpura, outras afecções hemorrágicas (23,22%), anemias hemolíticas (13,48%), outras doenças do sangue e órgãos hematopoiéticos (10,49%), anemias nutricionais (10,11%) e transtornos que comprometem o mecanismo imunitário (1,50%). Com relação ao gênero, observou-se leve predominância feminina (53,75%). Já ao se comparar os óbitos por faixa etária, notou-se pouca diferença entre as classes 20 a 59 anos (42,3%) e maiores de 60 anos (41,4%), tendo a faixa etária 0 a 19 anos a menor predominância entre as três classes (16,3%). **Conclusão:** Através deste estudo, verificou-se que, entre os cinco municípios maranhenses de maior IDHMs, o que apresentou maior taxa de mortalidade por doenças do sangue e dos órgãos hematopoiéticos e alguns transtornos imunitários foi Balsas; o perfil dos óbitos foi composto de uma maioria do sexo feminino, devido a anemias aplásticas e outras anemias; e, quanto à faixa etária, houve pouca diferença entre as classes mais predominantes. Tal conhecimento permite o planejamento e execução de ações que permitam uma maior qualidade de vida aos portadores de doenças hematológicas.

555. PARACOCCIDIOMICOSE MIMETIZANDO DOENÇA LINFOPROLIFERATIVA EM ADULTO JOVEM DA REGIÃO URBANA

Fonsêca AR, Simões CP, Marques FM, Santos JS, Pivaro MF, Goncalves MV, Stanzione RL, Baiocchi OCCG

Departamento de Oncologia Clínica e Experimental, Disciplina de Hematologia e Hemoterapia

Introdução: A paracoccidiomicose (PB) é a infecção fúngica invasiva mais prevalente no Brasil, especialmente em áreas rurais. Pode manifestar-se de forma crônica e na forma aguda, mais comum em crianças, adolescentes e adultos jovens. Enquanto nas formas crônicas predomina o envolvimento pulmonar, nas formas agudas, 5% de todos os casos de PB, há disseminação do fungo pelo sistema retículo-endotelial com eventual linfadenomegalia e hepatoesplenomegalia, além de febre, perda de peso, anorexia e fraqueza. O envolvimento direto da medula óssea, nesses casos, é raro. No entanto, as alterações no hemograma são frequentes, especialmente leucocitose com desvio à esquerda, eosinofilia (presente em mais de 50% dos casos) e anemia. O exame anatomopatológico das áreas afetadas revela a presença de granulomas nos quais podem ser identificados fungos. Este quadro, quando presente em pacientes de áreas urbanas, pode representar importante diagnóstico diferencial com doenças linfoproliferativas, especialmente linfoma de Hodgkin. **Objetivo:** Relatar o caso de um paciente jovem, imunocompetente, morador da zona urbana de São Paulo avaliado pela hematologia com diagnóstico sindrômico de linfadenomegalia febril considerando o diagnóstico diferencial com as doenças linfoproliferativas. **Caso clínico:** Vinte e um anos, masculino, sem histórico de viagens no último ano. Deu entrada pelo pronto-socorro com história de dois meses de dor progressiva no flanco esquerdo acompanhada de náuseas e vômitos, além de plenitude pós-prandial precoce. No mesmo período, apresentou febre vespertina diária, sudorese noturna e emagrecimento. Um mês antes da admissão, notou o aparecimento de adenomegalias em região cervical. No exame físico apresentava-se em regular estado geral, emagrecido, descorado, icterício e não havia sinto-

mas neurológicos. Eram palpáveis os linfonodos occipital, cervicais anteriores e posteriores bilaterais, axilares, antecubitais e inguinais, todos consistência fibroelástica, indolores, medindo cerca de 2 cm. Presença de hepatoesplenomegalia. Exames laboratoriais evidenciaram hemoglobina de 9,4, VCM 91,7, leucócitos 13400/mm³, sem desvio à esquerda, 1949 eosinófilos e 301.000 plaquetas. Albumina de 1,8 g/dL, cálcio 10,8, DHL 120 U/L (re f< 240) e VHS 140mm. Estudo tomográfico evidenciou linfonodomegalias cervicais, supra e infraclaviculares, hepatoesplenomegalia, aumento do rim esquerdo, com dilatação pielocalicinal, e sinais de nefropatia obstrutiva por linfonodomegalias retroperitoneais. Devido à suspeita de doença linfoproliferativa, foi realizado estudo da medula óssea enquanto se aguardava resultados da biópsia linfonodal. Foi evidenciada hiperplasia de série eosinofílica com desvio escalonado para formas mais jovens da mesma. A biópsia de linfonodo epitroclear foi compatível com linfadenite granulomatosa com fungos. Posteriormente, a biópsia de medula evidenciou processo inflamatório crônico granulomatoso com fungos de morfologia sugestiva de paracoccidiomicose. Após 2 meses de introdução de antifúngico, houve resolução dos sintomas, normalização dos exames e diminuição dos linfonodos. **Conclusão:** Os achados laboratoriais firmam o diagnóstico de PB aguda e o paciente evoluiu com melhora clínica após tratamento. Em áreas urbanas, doenças infecciosas, como paracoccidiomicose e tuberculose, apesar de menos frequentes, ainda fazem parte do diagnóstico diferencial de doenças linfoproliferativas.

556. APLASIA MEDULAR: RELATO DE CASO

Alves WO

Universidade Paulista (UNIP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A aplasia medular (AM) é caracterizada pela falência da medula óssea, onde ocorre um distúrbio da hematopoiese caracterizada por marcada redução ou ausência de células eritroides, granulocíticas e megacariocíticas na medula óssea, com resultante pancytopenia. A AM pode ser de origem autoimune, anemia fanconi, disceratose congênita, púrpura megacariocítica ou adquirida – que pode ser causada por radiação ionizante, uso de agente químico, benzeno, organofosforados e infecções virais. O diagnóstico se baseia em sinais e sintomas apresentados pelo paciente, como fadiga, infecções recorrentes, sangramento de mucosas, microsangramentos na forma de hematomas na pele, tonturas, dores de cabeça e anemia, associados à confirmação por testes laboratoriais, como hemograma e mielograma. O tratamento é realizado com inibidores de proliferação, fármacos que estimulam a produção da medula óssea, como oximetolona, corticoterapia, ácido fólico e vitaminas e, em caso de compatibilidade, é indicado o transplante medular. **Objetivo:** Este estudo teve por objetivo relatar o caso de um paciente com aplasia medular, do Hospital das Clínicas da UFG, observando suas características frente ao avanço clínico laboratorial da doença. **Métodos:** Foram analisados dados secundários por meio de prontuários médicos. **Resultados:** Paciente com 21 anos, trabalhando nos serviços gerais em canil, procurou atendimento médico em função de uma amigdalite e equimoses difusas de surgimento espontâneo e persistente e não respondia ao tratamento antibiótico. Na ocasião, o hemograma revelou importante plaquetopenia e o paciente foi encaminhado ao Hospital de Doenças Tropicais – SUS devido suspeita de dengue hemorrágica, onde foi descartada a hipótese de dengue e sugerido quadro de AM, sendo então encaminhado com urgência ao Hospital das Clínicas da UFG para avaliação e acompanhamento hematológico especializado. O paciente foi diagnosticado com aplasia medular e começou a fazer transfusões sanguíneas até o transplante de medula óssea, uma vez que sua irmã era compatível. Com a baixa de leucócitos, começou o surgimento de infecções decorrentes, hemoculturas positivas para *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecium*, evoluindo para uma sepse e hemorragia alveolar e para o óbito. **Conclusão:** Fica clara a necessidade de um diagnóstico clínico e laboratorial preciso e rápido para início de tratamento específico, evitando infecções concomitantes que podem levar o paciente a óbito. Reforçamos, ainda, a obrigatoriedade do uso de equipamentos de segurança (EPs) em trabalhos que utilizam produtos químicos, evitando AM adquirida.

Referências:

- Shimamura A, Alter BP. Pathophysiology and management of inherited bone marrow failure syndromes. *Blood Rev.* 2010;24(3):101-22.
- DeZern AE, Guinan EC. Aplastic Anemia in Adolescents and Young Adults. *Acta Haematol.* 2014;132(3-4):331-9.

557. ESTUDO DAS SUBPOPULAÇÕES LINFOCITÁRIAS B EM INDIVÍDUOS DE ORIGEM NIPÔNICA RESIDENTES EM SÃO PAULO

Faria MF^a, Kimura EY^a, Silva MCA^a, Guirao FP^a, Dighiero G^b, Orfao A^c, Yamamoto M^a

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

^b Instituto Pasteur de Montevidéu, Montividéu, Uruguai

^c Universidad de Salamanca, Salamanca, Espanha

Introdução: O estado de deficiência imune proporciona o aparecimento de neoplasias, principalmente doenças linfoproliferativas. Estudos demonstram que os linfócitos B(LB) diminuem com a idade. Considerando que os fatores demográficos e ambientais podem exercer influência sobre a frequência das subpopulações linfocitárias, relatamos em estudo anterior a ocorrência de diminuição dos LB totais (T) com a idade em indivíduos de origem nipônica residentes em São Paulo. Assim, neste estudo, avaliamos qual compartimento dos LB estaria contribuindo para diminuição dos LBT com a idade. **Objetivos:** Avaliar as subpopulações linfocitárias B: imaturos, “naive”, de memória e plasmócitos (PL). **Métodos:** Foram estudados 115 voluntários, sem miscigenação racial, idade \geq 40 anos (mediana 66, var. 41-93 anos), 56% do gênero feminino. Amostras de SP em EDTA foram utilizadas para hemograma e imunofenotipagem por citometria de fluxo. Utilizou-se o método “Bulky-lyse” e o painel de anticorpos: CD27FITC; CD10PE; CD5PerCPCy5; CD19PECy7; CD3APC; CD38APCH7; CD45PacOrange; CD20PacBlue. A aquisição média de eventos foi 5.000.000 (3.868.398-7.583.368). **Resultados:** Os valores médios foram: hemoglobina 14,6 \pm 1,3g/dL (11,2-17,6g/dL), plaquetas 230 \pm 61 \times 10⁹/L (160-492 \times 10⁹/L), leucócitos 5,7 \pm 1,5 \times 10⁹/L (3,0-11,0 \times 10⁹/L), linfócitos 1,7 \pm 0,5 \times 10⁹/L (0,6-4,0 \times 10⁹/L), LBT 0,23 \pm 0,15 \times 10⁹/L (0,004-0,84 \times 10⁹/L), relação k/L 1,4 \pm 0,2 (0,8-3,5), LB imaturos 0,013 \pm 0,014 \times 10⁹/L (0-0,085 \times 10⁹/L), LB “naive” 0,16 \pm 0,11 \times 10⁹/L (0,002-0,67 \times 10⁹/L), LB de memória 0,048 \pm 0,041 \times 10⁹/L (0,002-0,37 \times 10⁹/L) e PL 0,006 \pm 0,009 \times 10⁹/L (0-0,075 \times 10⁹/L). Houve redução progressiva nas médias dos LBT com o aumento da idade [$<$ 65 anos (GI) = 0,254 \pm 0,166 \times 10⁹/L, 65 a 75 anos (GII) = 0,245 \pm 0,142 \times 10⁹/L e $>$ 75 anos (GIII) = 0,157 \pm 0,112 \times 10⁹/L] (GI \times GII p = 0,847; GI \times GIII p = 0,01; GII \times GIII p = 0,01), o mesmo ocorreu com os LB imaturos [(GI) = 0,013 \pm 0,010 \times 10⁹/L, (GII) = 0,014 \pm 0,011 \times 10⁹/L, (GIII) = 0,008 \pm 0,009 \times 10⁹/L] (GI \times GII p = 0,923; GI \times GIII p = 0,04; GII \times GIII p = 0,01), “naive” [(GI) = 0,180 \pm 0,128 \times 10⁹/L, (GII) = 0,172 \pm 0,094 \times 10⁹/L, (GIII) = 0,107 \pm 0,086 \times 10⁹/L] (GI \times GII p = 0,697; GI \times GIII p $<$ 0,01; GII \times GIII p $<$ 0,01), memória [(GI) = 0,050 \pm 0,027 \times 10⁹/L, (GII) = 0,052 \pm 0,056 \times 10⁹/L, (GIII) = 0,034 \pm 0,025 \times 10⁹/L] (GI \times GII p = 0,697; GI \times GIII p $<$ 0,01; GII \times GIII p $<$ 0,01) e PL [(GI) = 0,006 \pm 0,009 \times 10⁹/L, (GII) = 0,007 \pm 0,011 \times 10⁹/L, (GIII) = 0,005 \pm 0,007 \times 10⁹/L] (GI \times GII p = 0,345; GI \times GIII p = 0,02; GII \times GIII p = 0,09). O grupo dos \geq 75anos apresentou média menor de LBT (0,158 \pm 0,112 \times 10⁹/L vs 0,250 \pm 0,155 \times 10⁹/L, p $<$ 0,01) e subpopulações (imaturos = 0,08 \pm 0,09 \times 10⁹/L vs 0,014 \pm 0,015 \times 10⁹/L, p = 0,01; “naive” = 0,107 \pm 0,086 \times 10⁹/L vs 0,176 \pm 0,113 \times 10⁹/L, p $<$ 0,01; memória = 0,035 \pm 0,024 \times 10⁹/L vs 0,051 \pm 0,043 \times 10⁹/L, p = 0,05; PL = 0,05 \pm 0,007 \times 10⁹/L vs 0,005 \pm 0,007 \times 10⁹/L, p = 0,02) que os demais. Nos indivíduos com idade \geq 60 anos houve diminuição apenas dos LB de memória (0,045 \pm 0,045 \times 10⁹/L vs 0,056 \pm 0,028 \times 10⁹/L, p $<$ 0,01). **Conclusão:** Houve diminuição de todas as subpopulações de LB, confirmando o impacto do envelhecimento na contagem dessas células. Dentre outras possibilidades, essa diminuição pode ser explicada pela menor exposição a novos antígenos associada ao estilo de vida dessa faixa etária, assim como esgotamento da função dessas células, secundária às diversas ativações ao longo da vida. Nesse contexto, produzindo aumento da taxa de imunossenescência, que poderia contribuir para aumento de estados pré-malignos, como a linfocitose B monoclonal. **Agradecimentos:** FAPESP, CAPES, Hosp. Santa Cruz e IOP/GRAACC.

558. HISTIOCITOSE DE CÉLULAS DE LANGERHANS: RELATO DE CASO

Ferreira FM, Silveira MP, Campêlo DHC, Mattos VRP, Gusmão BM, Chapchap EC, Hamerschlak N

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: a histiocitose de células de Langerhans (HCL) é uma desordem rara de proliferação clonal das células fenotipicamente semelhantes a células de Langerhans, de etiopatogenia não totalmente conhecida e que abrange um largo espectro de manifestações clínicas em crianças

e adultos, que variam desde lesões autolimitadas à doença disseminada, com características inflamatórias e imunofenóticas positivas para CD1a+ e CD207+. Possui uma incidência de aproximadamente cinco casos/milhão de crianças e, embora provavelmente subdiagnosticada, um número estimado de 1-2 casos/milhão de adultos. **Caso:** M.M.F, feminino, 34 anos, quadro de dor em região maxilar direita que evoluiu em uma semana com o crescimento de uma massa em região de parótida direita, associado à dificuldade para se alimentar. Ausência de sintomas B e ausência de polidipsia ou poliúria. Foi feita a biópsia da lesão e a paciente veio encaminhada ao nosso serviço com um mês após início dos sintomas. Negava comorbidades prévias. Ao exame físico, apresentava massa de 5 cm palpável em região lateral da face à direita, ausência de linfonodomegalias palpáveis e ausência de hepatoesplenomegalia. Hemograma, bioquímica, perfil hepático e eletroforese de proteínas normais. A biópsia evidenciou um quadro histológico consistente com histiocitose de células de Langerhans. PET-CT oncológico mostrou lesão hipermetabólica centrada no ramo mandibular direito com extensão para planos musculares adjacentes. Pesquisa de mutação em BRAF negativa. Diagnóstico final de histiocitose de células de Langerhans unicêntrica de localização óssea, classificada como baixo risco. Paciente atualmente em tratamento com radioterapia dirigida para face direita, com programação de 20 frações 180 cGy/dia, corticoterapia e, após regressão do tamanho do tumor programado, estabilização óssea. **Discussão:** A histiocitose de células de Langerhan é uma doença rara e provavelmente subdiagnosticada. É mais comumente vista em crianças, porém pode acometer qualquer faixa etária. A causa da doença ainda é desconhecida, embora as possibilidades de transformação maligna do precursor mielóide das células de Langerhan e a desregulação imune estejam sendo exploradas. Recentes descobertas de mutações nos genes BRAF e MAP2K1 podem alterar o arsenal terapêutico, com quimioterapia-alvo resultando em um melhor prognóstico.

559. GLUTATIONA S-TRANSFERASE (GSTP1) EM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO DA CIDADE DE MANAUS (AM)

Oliveira MAA^a, Souza GKBB^a, Bacha TJ^b, Carneiro JS^c, Brito RS^c, Souza TSE^a, Goncalves MS^d, Lima ES^a, Neto JPM^a

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

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

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

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

As glutatona S-transferases (GSTs) catalisam reações entre a glutatona e compostos lipofílicos, levando à neutralização de compostos tóxicos, xenobióticos e produtos do estresse oxidativo. Estudo atuais demonstram que variações nos genes da GSTP1 alteram não só a metabolização de xenobióticos como também dos medicamentos, toxinas e carcinogênicos. Indivíduos portadores de alelos mutantes na GSTP1 são mais suscetíveis a efeitos prejudiciais destas toxinas, contribuindo para o desenvolvimento de doenças. Todavia, atualmente, poucos estudos correlacionam as mutações nos genes da GSTP1 com a patogenia e desenvolvimento de sintomas no lúpus eritematoso sistêmico (LES). O objetivo deste estudo foi correlacionar duas variações genéticas no gene da GSTP1, (P1 – ala105val e P2 – intron C/G) com parâmetros hematológicos, bioquímicos, estresse oxidativo e eventos clínicos em pacientes portadores de LES. Foram investigados 158 pacientes diagnosticados com LES atendidos no Ambulatório Araújo Lima da Faculdade de Medicina da UFAM. A discriminação alélica foi realizada utilizando a técnica de PCR real-time pelo sistema Taqman. As frequências genotípicas observadas nos indivíduos foram: P1 – 38,2% selvagens (n = 58); 47,4% heterozigotos (n = 72) e 14,5% homozigotos (n = 22); P2 – 67,3% selvagens (n = 105); 28,8% heterozigotos (n = 45) e 3,8% homozigotos (n = 6). Foram comparados os valores dos parâmetros hematológicos, bioquímicos e estresse oxidativo entre os indivíduos selvagens e mutantes. Resultados significativos foram observados para P1 (hematócrito -p = 0,03; hemoglobina -p = 0,03). Para a P2 foram ácido úrico -p = 0,03; catalase -p < 0,01. Ao analisar as frequências genotípicas com observações clínicas em portadores de LES foram observados os seguintes resultados: P1 – normais/hetero/homo vs rash discoide (p = 0,01); normais/portadores vs distúrbios neurológicos (p < 0,01); P2 – normais/portadores vs livedo (p = 0,03). Em relação às frequências, bases de dados internacionais demonstram em P1 prevalência de 27-44% do genótipo mutante em indivíduos caucásianos

e afro-americanos e P2 de 29-30%, corroborando com a frequência observada em nosso estudo. A característica multifatorial do LES é um desafio na busca de marcadores genéticos que determinem a etiologia da doença e dos diferentes sintomas que podem ocorrer nestes pacientes. Nosso estudo sugere a participação das variações genéticas em parâmetros comumente utilizados na prática clínica, podendo auxiliar o investigador na utilização destes marcadores para terapias específicas. Apesar da significância estatística observada nas comparações entre os parâmetros estudados, é necessária a comparação com indivíduos controles para determinação de possíveis marcadores genéticos para o aparecimento dos sintomas e da doença.

560. POLIMORFISMOS CAT262T E SOD2ALA16VAL EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO DA CIDADE DE MANAUS (AM)

Oliveira MAA^a, Souza GKBB^a, Bacha TJ^b, Carneiro JS^c, Brito RS^c, Soumanou AG^a, Goncalves MS^d, Lima DSN^a, Passos LF^a, Neto JPM^a

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

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

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

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

As enzimas catalase e superóxido dismutase atuam no sistema de defesa antioxidante, mantendo o equilíbrio de oxidorredução e produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). Diversos estudos já demonstram a participação de ROS no desenvolvimento de doenças inflamatórias, como o lúpus eritematoso sistêmico (LES). Embora a patogênese do LES seja multifatorial, a natureza inflamatória da doença implica na existência de um estado elevado de estresse oxidativo, o que contribui para disfunção sistêmica característica da doença. Entretanto, a correlação genética de alguns polimorfismos envolvendo genes de enzimas antioxidantes e o LES ainda é motivo de amplo estudo na tentativa de verificação do papel destes polimorfismos e a etiologia da doença. O objetivo deste estudo foi correlacionar polimorfismos nos genes da catalase (CAT-C-262T) e superóxido dismutase (SOD2 – ala16val) com parâmetros hematológicos e bioquímicos, estresse oxidativo e eventos clínicos em pacientes portadores de LES. Foram investigados 153 pacientes diagnosticados com LES atendidos no Ambulatório Araújo Lima da UFAM. A discriminação alélica foi realizada utilizando a técnica de PCR *real-time* pelo sistema *Taqman*. As frequências genotípicas observadas para a catalase demonstrou 84,3% selvagens e 15,7% heterozigotos, enquanto para a SOD2, 15,5% selvagens, 52,0% heterozigotos e 33,6% homozigotos. A correlação entre indivíduos selvagens (normais) e mutantes com os dados hematológicos e bioquímicos demonstraram valores significativos para CAT (fator antinuclear – $p < 0,01$); SOD2 (albumina – $p = 0,02$), SOD2 (complemento C3 – $p < 0,01$); SOD2 (glutathione redutase – $p = 0,03$). Nossos resultados corroboram com a literatura que demonstram a distribuição dos polimorfismos em outras populações: CAT (C262T) 25% e SOD2 (ala16val) 46%. As associações significativas encontradas em nosso estudo sugere a participação dos genótipos mutantes nas concentrações destas dosagens. A monitorização de pacientes com LES exige a investigação e interpretação de múltiplos fatores para determinar as fases de remissão e atividade da doença. A genotipagem de possíveis marcadores genéticos poderão ser ferramentas importantes para auxiliar o clínico na utilização de protocolos específicos para o paciente. Apesar das significâncias, são necessários mais estudos e comparação com controles para determinação da força de correlação dos parâmetros observados.

561. LEVANTAMENTO DAS CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES COM PRESENÇA DA MUTAÇÃO FLT3 /ITD

Daniel DC, Arruda VYN, Pereira DCS, Bobotis PRDS, Matsuzaki LN, Gomes CM, Chauffaille ML

Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O gene FLT3 está localizado no cromossomo 13 e tem relação direta com as leucemias mieloides agudas (LMA), leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia mieloide crônica (LMC) e síndromes mielodisplásicas (3-5%). O FLT3 é um receptor tirosinoquinase com função na sobrevida, proliferação e diferenciação celular. A superexpressão da proteína

FLT3 ocasiona um aumento da proliferação celular e redução de apoptose, aumentando a taxa de recaída e diminuindo a sobrevida do paciente. Existem dois tipos principais de mutação: duplicações internas em tandem (ITD), que consiste na duplicação de um segmento de três a 400 pares de base (pb) no éxon 11, e a mutação pontual (D835). Cerca de 20% dos pacientes com LMA apresentam FLT3/ITD com presença de leucocitose e blastos na medula óssea e pacientes adultos com t(15;17) demonstram maior prevalência de FLT3/ITD. O prognóstico do paciente está associado ao tamanho da FLT3/ITD, pois quanto maior a ITD, pior será o prognóstico. Além disso, a mutação FLT3/ITD é considerada instável, já que os alelos mutados variam durante a doença, interferindo no tratamento e na situação do paciente. Dessa forma, é de fundamental importância avaliar a clínica com os achados citogenéticos, morfológicos, imunofenotípicos e moleculares (pesquisa das mutações gênicas FLT3, KIT, NPM1 e CEBPA) com o objetivo de definir corretamente o diagnóstico e prognóstico da doença. Atualmente, a associação entre presença de FLT3/ITD e alterações citogenéticas resulta na piora do prognóstico, levando a uma menor sobrevida, com maior massa leucêmica. **Objetivo:** Avaliar as características dos pacientes com presença FLT3/ITD e o comprimento da duplicação. **Materiais e métodos:** Foi realizado um levantamento dos resultados de FLT3/ITD no Grupo Fleury, no período de jan/2013 a jul/2015. **Resultados:** Do total de 212 amostras analisadas, no período de 2013 a 2015, verificou-se a presença de mutação FLT3/ITD em 27 delas, o que corresponde a 12,7% dos casos. A média de idade dos pacientes com mutação FLT3 foi de 46 anos e 63% eram do sexo masculino e 37%, do sexo feminino. Do total de amostras com presença da mutação FLT3/ITD, 21 fizeram a pesquisa da mutação do gene NPM1, sendo que nove apresentaram presença da mutação. A pesquisa de mutação no gene CEBPA foi realizada em sete das 27 amostras com presença de FLT3/ITD (26%), sendo que apenas uma apresentou a presença de mutação p.S282fs*38. Somente em uma amostra das 27 com presença de FLT3/ITD foi pesquisada a mutação nos éxons 8 e 17 do gene C-KIT e o resultado foi ausência de mutação para ambos os éxons. A média do tamanho do comprimento da FLT3/ITD encontrado nas amostras foi de 54 pb (21 – 192), sendo que uma apresentou três picos (tamanho 21 a 51) e a maior duplicação foi de 192 pb. **Discussão e conclusão:** A maioria dos pacientes submetidos à pesquisa da mutação FLT3 não realiza acompanhamento e exames complementares para o diagnóstico das leucemias. Das 27 amostras analisadas no estudo, 81,5% também realizou outro exame molecular complementar (CEBPA, C-KIT, NPM1). O comprimento da mutação FLT3/ITD variou entre 21-192. Exames complementares, juntamente com o acompanhamento, são fundamentais para definir o diagnóstico e prognóstico do paciente e, conforme relatado na literatura, quanto maior o tamanho da ITD, pior é o prognóstico do paciente.

HEMATOLOGIA PEDIÁTRICA

HEMATOLOGIA PEDIÁTRICA

562. MORTALIDADE POR LEUCEMIA INFANTIL: CONVERGÊNCIA DE 1996 A 2012

Rocha EP, Sabino AS, Dias GR, Esteves AVF, Rocha GDS, Barbosa EMC
Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brasil

Introdução: As leucemias agudas são neoplasias mais presentes na infância.¹ No Brasil estimam-se 5.050 casos novos.² Em outros países, observa-se uma transição demográfica e epidemiológica de leucemia infantil.³ Contudo, verifica-se poucas pesquisas. Esse estudo objetivou analisar as taxas de mortalidade por leucemia em crianças de um a 14 anos, de ambos os sexos, no estado do Amazonas, no período de 1996 a 2012. **Métodos:** O estudo apresenta abordagem quantitativa, de caráter descritivo,⁴ baseado nos óbitos em crianças de ambos os sexos menores de 15 anos, residentes no Amazonas, no período de 1996 a 2012. Os dados foram obtidos do sistema de informação de mortalidade – SIM do Sistema Único de Saúde. As informações das estatísticas vitais foram do DATASUS, escolheram-se os itens “mortalidade geral”, “CID-10 (C90-C95)”, na linha “Município”, coluna “Ano de óbitos” e conteúdo “Óbito por residência”.