

31^a

Sabatina 13 MAIO 2023 de Hematologia

Auditório da Sub-unidade III da Faculdade de Medicina
Universidade de Coimbra

HEMATO-ONCOLOGIA DE PRECISÃO: DO LABORATÓRIO À CLÍNICA
IMPORTÂNCIA DA MULTIDISCIPLINARIDADE EM HEMATOLOGIA

ABSTRACT BOOK



CASOS CLÍNICOS

CC05 - PÚRPURA TROMBOCITOPÉNICA TROMBÓTICA INAUGURAL EM DOENTE COM SÍNDROME DE SJÖGREN PRIMÁRIO E DOENÇA DE KIKUCHI-FUJIMOTO

CC07 - PÚRPURA TROMBOCITOPÉNICA TROMBÓTICA CONGÉNITA OU ADQUIRIDA? UM DIAGNÓSTICO DESAFIANTE EM DOENÇA RECIDIVANTE

CC09 - ERITROCITOSE CONGÉNITA: ASSOCIAÇÃO DE UMA VARIANTE NÃO DESCRITA NO GENE PIEZO1

POSTERS

PO04 - EFEITO DE WARBURG: UMA MANIFESTAÇÃO RARA DE TRANSFORMAÇÃO DE UM LINFOMA INDOLENTE EM ALTO GRAU

PO06 - PIROPOIQUILOCILOSE HEREDITÁRIA – CASO CLÍNICO DE ANEMIA HEMOLÍTICA CONGÉNITA

PO10 - UMA APRESENTAÇÃO RARA DE UM LINFOMA COMUM

PO11 - CICLOSPORINA NA TERAPÊUTICA SALVAGE DO LINFOMA T ANGIOIMUNOBLÁSTICO: A EXPERIÊNCIA DE UM CENTRO

PO13 - EXPERIÊNCIA DE VIDA REAL EM DOENTES COM LINFOMA DE HODGKIN CLÁSSICO EM RECAÍDA/REFRATÁRIO TRATADOS COM INIBIDORES DO CHECKPOINT IMUNE

PO14 - MULTIDISCIPLINARIDADE EM HEMATOLOGIA PERANTE O DESAFIO DIAGNÓSTICO: LINFOMA CUTÂNEO PRIMÁRIO OU ENVOLVIMENTO SECUNDÁRIO POR LINFOMA DE CÉLULAS B?

PO15 - LMC: O PARADIGMA DA MEDICINA DE PRECISÃO

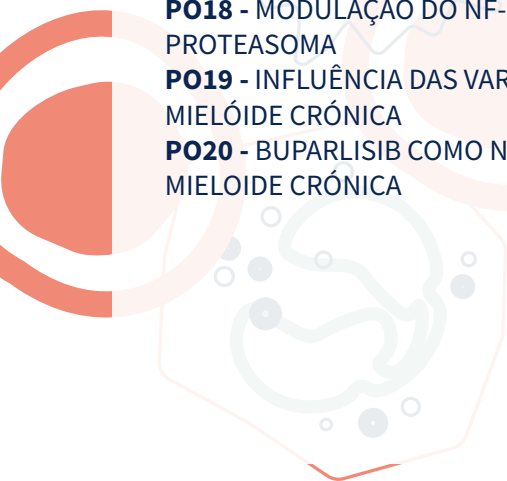
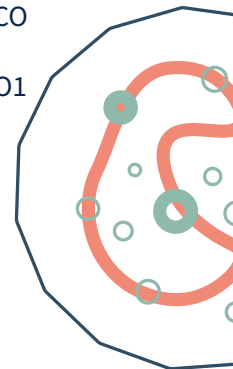
PO16 - ANEMIA HEMOLÍTICA CONGÉNITA NA INFÂNCIA POR DÉFICE DE PROTEÍNAS DE MEMBRANA ERITROCITÁRIA

PO17 - INIBIÇÃO DO NRF2 COMO NOVA ABORDAGEM TERAPÊUTICA EM NEOPLASIAS LINFÓIDES SENSÍVEIS E RESISTENTE AO BORTEZOMIB – ESTUDO PRELIMINAR

PO18 - MODULAÇÃO DO NF-KB EM MODELOS DE MIELOMA MÚLTIPLO RESISTENTES A INIBIDORES DE PROTEASOMA

PO19 - INFLUÊNCIA DAS VARIANTES GENÉTICAS DO NFE2L2 NA RESPOSTA À TERAPÊUTICA NA LEUCEMIA MIELOÍDE CRÓNICA

PO20 - BUPARLISIB COMO NOVA ABORDAGEM TERAPÊUTICA NA RESISTÊNCIA AO IMATINIB NA LEUCEMIA MIELOÍDE CRÓNICA



ÍNDICE

PO21 - O ZINCO NA MODULAÇÃO DA RESPOSTA À LESÃO DO DNA: EFEITO PREVENTIVO, GENOTÓXICO E CITOTÓXICO NA LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA

PO22 - VALIDAÇÃO DE UM PAINEL DE NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS) DE GENES DE FUSÃO DE LINHAGEM MIELÓIDE – EXPERIÊNCIA DE UM CENTRO

PO23 - O POTENCIAL TERAPÊUTICO DO AZD-7648, UM INIBIDOR DA DNA-PK, NA LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA – UM ESTUDO IN VITRO

PO24 - INIBIÇÃO DA GLUTAMINÓLISE COM TELAGLENASTAT NA LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA RESISTENTE AO IMATINIB: ESTUDO IN VITRO

PO25 - O PODER DO CAPLACIZUMAB – UM CASO DE PÚRPURA TROMBÓTICA TROMBOCITOPÉNICA ADQUIRIDA EM RECIDIVA

PO26 - TERAPÊUTICA DIRIGIDA NA LMA – A NOSSA EXPERIÊNCIA COM GILTERITINIB

PO27 - SÍNDROME HEMOFAGOCÍTICA SECUNDÁRIA A FÍSTULA ENTEROVESICAL.

PO28 - HIGH-DIMENSIONAL SPECTRAL CYTOMETRY CHARACTERIZATION OF THE CIRCULATING IMMUNE CELL PROFILE IN ASYMPTOMATIC AND SYMPTOMATIC MYELOMA PATIENTS

PO29 - INSIGHTS ON HOW MULTIPLE MYELOMA-DERIVED EXTRACELLULAR VESICLES MODULATE THE BONE MARROW IMMUNE NICHE

PO30 - MULTIPLE MYELOMA AND ADJACENT NK CELLS EXPRESS THE MACHINERY TO INTEGRATE NEURONAL SIGNALS

POSTERS SELECIONADOS PARA APRESENTAÇÃO:

PO13 - EXPERIÊNCIA DE VIDA REAL EM DOENTES COM LINFOMA DE HODGKIN CLÁSSICO EM RECAÍDA/REFRATÁRIO TRATADOS COM INIBIDORES DO CHECKPOINT IMUNE

PO22 - VALIDAÇÃO DE UM PAINEL DE NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS) DE GENES DE FUSÃO DE LINHAGEM MIELÓIDE – EXPERIÊNCIA DE UM CENTRO

PO30 - MULTIPLE MYELOMA AND ADJACENT NK CELLS EXPRESS THE MACHINERY TO INTEGRATE NEURONAL SIGNALS

CC05 - PÚRPURA TROMBOCITOPÉNICA TROMBÓTICA INAUGURAL EM DOENTE COM SÍNDROME DE SJÖGREN PRIMÁRIO E DOENÇA DE KIKUCHI-FUJIMOTO

Bruno Tiago Carvalho⁽¹⁾; Miguel Jesus⁽¹⁾; Naseelah Mussá⁽¹⁾; J. Melo Cristino⁽¹⁾; Fátima Carriço⁽¹⁾

(1) CENTRO HOSPITALAR UNIVERSITÁRIO LISBOA NORTE, E.P.E.

Introdução: A Púrpura trombocitopénica trombótica (PTT) é uma patologia hematológica rara, potencialmente fatal, causada por alteração do funcionamento normal da enzima “a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13” (ADAMTS13), responsável pela clivagem do fator de von Willebrand, resultando num estado pró-trombótico. Caracteriza-se pelo desenvolvimento de anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia, manifestações cutâneas, gastrointestinais, renais e/ou neurológicas. Confirma-se a suspeita diagnóstica com o doseamento de ADAMTS13 que ajuda na diferenciação entre causa congénita, por deficiência enzimática, ou autoimune (com presença de anticorpos inibidores).

Objetivo: Os autores apresentam o relato de um caso de PTT inaugural, num doente com Síndrome de Sjogren primário (SSp) e Doença de Kikuchi-Fujimoto (DKF).

Caso clínico e discussão: Doente do sexo masculino, 27 anos, com antecedente pessoal de doença de Kikuchi-Fujimoto diagnosticado aos 18 anos, confirmado por biópsia ganglionar. Foi admitido no Serviço de Urgência (SU) por quadro com 9 dias de evolução de palidez mucocutânea, diarreia e astenia, complicado de cefaleias, desorientação e sinais neurológicos (parestesias, diminuição da força muscular e afasia de expressão).

A avaliação analítica no SU evidenciou anemia hemolítica [Hemoglobina 8.7 g/dL, Lactato Desidrogenase (LDH) 1400 U/L, haptoglobina indetetável (<10 mg/dL)], trombocitopenia ($11.000 \times 10^9/L$), teste de Coombs positivo e presença de alguns esquizócitos no esfregaço de sangue periférico. Foi colocada a hipótese diagnóstica de PTT inaugural, com internamento em Unidade de Cuidados Intensivos, dado score Plasmic de alto risco (6), e realização de plasmaferese, corticoterapia e 4 ciclos de rituximab, com obtenção de resposta completa e resolução do quadro neurológico e hematológico.

Durante o internamento realizou-se o estudo etiológico: doseamento da ADAMTS13 (em laboratório externo, com técnica de ELISA) com atividade muito reduzida (<1%) e pesquisa de anticorpos inibidores com título muito elevado (>95 U/l); títulos aumentados de auto-anticorpos anti-SSA +++ (anti-Ro52 +++); teste de Schirmer negativo; biópsia de glândula salivar e sialometria não estimulada com valores borderline, tendo sido considerado o diagnóstico de PTT associada a SSp e a DKT.

CASOS CLÍNICOS

Após alta para o domicílio, realizou novo doseamento de ADAMTS13 que mostrou valores de atividade próximos da normalidade (49%) e diminuição dos títulos dos anticorpos inibidores (6 U/L). Manteve monitorização clínico-laboratorial regular da doença, sem episódios de recidiva, com sucessivos doseamentos de atividade de ADAMTS13 que retornaram para níveis normais (75.4-95.6%).

Conclusão: A PTT é uma patologia grave e potencialmente fatal, que deve ser ponderada na presença de sintomatologia caraterística. O laboratório apresenta um papel fundamental no diagnóstico e monitorização da doença, com recurso a diferentes parâmetros, incluindo o doseamento de ADAMTS13.

CC07 - PÚRPURA TROMBOCITOPÉNICA TROMBÓTICA CONGÉNITA OU ADQUIRIDA? UM DIAGNÓSTICO DESAFIANTE EM DOENÇA RECIDIVANTE

Miguel Jesus⁽¹⁾; Bruno Carvalho⁽¹⁾; Naseelah Mussá⁽¹⁾; J. Melo Cristino⁽¹⁾; Fátima Carriço⁽¹⁾; Ana Miranda⁽¹⁾

(1) CENTRO HOSPITALAR UNIVERSITÁRIO LISBOA NORTE, E.P.E.

Introdução: A púrpura trombocitopénica trombótica (PTT) é uma doença hematológica rara e potencialmente grave, caracterizada pela presença de microangiopatia trombótica, resultando em trombocitopenia, anemia hemolítica e lesão de órgão-alvo. A PTT pode ser classificada em congénita ou adquirida, sendo a primeira uma forma hereditária da doença causada por mutações genéticas que afetam a enzima “A Disintegrin And Metalloprotease with a ThromboSpondin type 1 motif, member 13” (ADAMTS13), responsável pela clivagem dos multímeros do fator de von Willebrand, e a segunda associada a autoanticorpos que inibem a atividade da enzima. O diagnóstico laboratorial desempenha um papel fundamental na diferenciação entre PTT congénita e adquirida, através da avaliação da atividade da ADAMTS13 e da presença de anticorpos inibidores, sendo essencial para uma abordagem terapêutica adequada.

Objetivos: Apresentar um caso clínico de PTT congénita recidivante, destacando a importância e desafios do diagnóstico laboratorial na diferenciação entre PTT congénita e adquirida.

Caso clínico: Doente do sexo masculino, de 41 anos de idade, diagnosticado com PTT congénita aos 19 anos de idade [atividade ADAMTS13 muito reduzida (16%), ausência de anticorpos anti-ADAMTS13 (após plasmaférese) e estudo molecular com ausência de variantes patogénicas no gene ADAMTS13], com múltiplos internamentos por recidiva com boa resposta terapêutica a plasma fresco congelado (PFC). Em avaliação laboratorial pré-tratamento semanal com PFC, o doente apresentava anemia normocítica normocrómica (concentração de hemoglobina de 11,5 g/dL, volume globular médio de 88,9 fL e concentração média da hemoglobina globular de 34,9 g/dL), trombocitopenia (35×10^9 plaquetas/L), presença de esquizócitos em esfregaço de sangue periférico, aumento das concentrações séricas de lactato desidrogenase (368 U/L) e de creatinina (1,34 mg/dL) e concentração sérica de haptoglobina dentro dos valores de referência (50 mg/dL), admitindo-se nova recaída da doença. Em regime de internamento, e após ausência de resposta à terapêutica com PFC, o doente foi submetido a novo estudo que revelou a presença de anticorpos anti-ADAMTS13 (20 U/mL), resultado este sugestivo de PTT adquirida, tendo iniciado corticoterapia e plasmaférese, com boa resposta clínico-laboratorial e atividade de ADAMTS13 de 67% e 70% nos três meses seguintes.

CASOS CLÍNICOS

Discussão/Conclusão: A PTT é uma doença complexa e desafiante, com diferentes formas de apresentação. O presente caso clínico enfatiza a importância de um diagnóstico laboratorial atempado, incluindo o estudo da ADAMTS13, sempre que possível antes de transfusões de produtos sanguíneos e/ou início da plasmaférese, devido à possibilidade de interferência nos resultados. Para além disso, a revisão do diagnóstico em doentes com história de recidivas e/ou evolução clínica atípica é essencial para uma abordagem terapêutica adequada, com melhoria do prognóstico nestes doentes.

CC09 - ERITROCITOSE CONGÉNITA : ASSOCIAÇÃO DE UMA VARIANTE NÃO DESCRITA NO GENE PIEZO1

Inês Damásio⁽¹⁾; João Silva Gomes⁽²⁾; Luís Relvas⁽²⁾; Janet Pereira⁽²⁾; Celeste Bento⁽²⁾;
Tabita Magalhães Maia⁽²⁾

(1) CENTRO HOSPITALAR DE TONDELA-VISEU (2) CENTRO HOSPITALAR E UNIVERSITÁRIO DE COIMBRA

Introdução: Os termos “eritrocitose” ou “poliglobulia” referem-se ao aumento absoluto ou relativo do hematócrito (Htc) e/ou hemoglobina (Hb). As eritrocitoses classificam-se em primárias ou secundárias, quando surgem na dependência de um defeito intrínseco dos progenitores eritróides ou pela presença de uma causa secundária extrínseca/defeito na via da sensibilidade do oxigénio, respetivamente. Subdividem-se em adquiridas e congénitas (tendencialmente em idades mais jovens) e caracterizam-se por grande heterogeneidade fenotípica. Mutações patogénicas no gene PIEZO1 têm sido recentemente descritas em pacientes com eritrocitose idiopática, em associação com manifestações de Xerocitose Hereditária (XH).

Objetivo: Descrição de um caso clínico de eritrocitose congénita por provável mutação não descrita no gene PIEZO1.

Material e métodos: A informação foi obtida a partir do processo clínico.

Caso Clínico: Sexo feminino, 11 anos, seguida desde os 2 anos em consulta de Patologia do Glóbulo Vermelho por poliglobulia (Hb 14,8 g/dL e Htc 43% [N:11,1-14,1 g/dL e 34-40%, respetivamente]). Antecedentes de artrite séptica da anca ao ano de idade, asma e défice de FVII da coagulação. Ao exame objetivo, anictérica, sem sinais de cianose central/periférica ou esplenomegalia. Pais não consanguíneos, com o pai a apresentar valores de Hb 16,8 g/dL, Htc 49,2% e ferritina de 609 (30-300 ng/mL). Do estudo inicialmente realizado, confirmada poliglobulia e doseamentos de Eritropoietina (EPO) discrepantes (3,4-16,9 mUI/mL). Foram excluídas causas de eritrocitose secundária adquirida, com ecocardiograma, ecografia abdominal, ecoDoppler renal, RMN cerebral e estudo polissonográfico normais. Excluíram-se também causas relacionadas com aumento da afinidade da Hb, não se identificando défice de bifosfogliceratomutase (BPGM) nem variantes de Hb por HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ou por sequenciação dos genes HBB, HBA1 e HBA2 (exões I, II e III). Não foram detetadas mutações nos genes JAK2 (V617F e exão 12-20), VHL (exões 1-3), EGLN1 (exões 1-5), HIF2α (exão 12) e EPOR. Após excluídas várias causas de eritrocitose congénita e adquirida, realizado painel NGS (Next-Generation Sequencing) de Eritrocitoses que identificou a variante PIEZO1: c.6214A>G

CASOS CLÍNICOS

(p.Ile2072Val) em heterozigotia, não descrita previamente, mas que pelas suas características e análise in silico deverá ser patogénica. A doente mantém vigilância periódica em consulta, tendo iniciado esquema de flebotomias manuais on-demand aos 4 anos, em contexto de aumento do Htc e queixas de cefaleias.

Conclusões: A associação de mutações no gene PIEZO1 está mais bem estabelecida com casos de XH e, só muito recentemente foi identificada com casos de eritrocitose secundária congénita. O estudo dos pais, na presença de poliglobulia e/ou achados de hemólise compensada com identificação da mesma variante, poderá contribuir para a definição de patogenicidade da variante encontrada não previamente descrita, embora não se possa excluir a causalidade no caso de o estudo molecular dos progenitores ser negativo, dada a possibilidade de ocorrência de mutações de novo.

PO04 - EFEITO DE WARBURG: UMA MANIFESTAÇÃO RARA DE TRANSFORMAÇÃO DE UM LINFOMA INDOLENTE EM ALTO GRAU

Inês Damásio⁽¹⁾; Mónica Santos⁽¹⁾; Helena Matos Silva⁽¹⁾

(1) CENTRO HOSPITALAR DE TONDELA-UISEU

Introdução: O Efeito de Warburg (EW) é uma complicação metabólica rara, potencialmente fatal, que se caracteriza por acidose láctica e hipoglicemias recorrentes. Resulta da capacidade das células neoplásicas utilizarem a via glicolítica em vez da fosforilação oxidativa na produção de energia, mesmo em condições de aerobiose, metabolizando a glicose em ácido láctico. Tem sido associado a vantagem na sobrevivência das células tumorais e, mais recentemente, a implicações na eficácia terapêutica e desenvolvimento de novos tratamentos antineoplásicos com base na melhor compreensão do microambiente tumoral.

Objetivo: Descrição de um caso clínico de apresentação atípica de transformação de um linfoma indolente em alto grau.

Material e métodos: A informação foi obtida a partir da consulta do processo clínico.

Caso clínico: Mulher de 75 anos, com o diagnóstico de Linfoma Folicular (LF) Grau 2, estadio IV-A, FLIPI de risco intermédio desde 2018, sem critérios de tratamento. Em março/2021 apresenta-se com astenia, anorexia, diarreia e perda ponderal, não quantificada, com uma semana de evolução. Analiticamente, com anemia (hemoglobina 10,2 g/dL) e lactato desidrogenase 726 UI/L (N:120-246 UI/L). Adicionalmente, com acidose láctica (pH 7,29, lactato 11,3 mg/dL) e hipoglicemias frequentes, inicialmente enquadradas no diagnóstico de MALA (Metformin Associated Lactic Acidosis), hipótese que veio a tornar-se menos provável, pelo agravamento da acidose metabólica e hipoglicemias recorrentes, refratárias à suspensão da metformina. Realizou ecografia abdominal que revelou alterações sugestivas de envolvimento gástrico por neoplasia e posterior tomografia computadorizada com a presença de extensas massas abdominais e elevada carga tumoral com sinal de “omental cake”. Perante a possibilidade de progressão de doença linfoproliferativa ou neoplasia sólida, foi colocada a hipótese de as alterações metabólicas se enquadrarem no EW. O resultado histológico das biópsias gástricas e da massa abdominal, confirmaram o diagnóstico de transformação em Linfoma Difuso de Grandes Células B (LDGCB). Iniciou imunoquimioterapia com R-CHOP com melhoria clínica e resolução das alterações metabólicas. Atualmente, em progressão de doença, com biópsia de adenopatia cervical a mostrar envolvimento por LF e LDGCB, proposta para imunoquimioterapia com R-GDP.

POSTERS

Conclusão: O EW é mais comum em neoplasias sólidas com elevada carga tumoral e, raramente observado em neoplasias hematológicas (mais frequentemente LDGCB). A presença de acidose láctica associada a doença neoplásica, deve levantar a suspeita de EW que, apesar de raro, quando não reconhecido precocemente pode ser potencialmente fatal. Esta condição, associa-se a um pior prognóstico, sendo fundamental a introdução precoce de terapêutica antineoplásica.

PO06 - PIROPOIQUILOCITOSE HEREDITÁRIA – CASO CLÍNICO DE ANEMIA HEMOLÍTICA CONGÊNITA

Aleksandra Maslowska⁽¹⁾; Alicia Rodrigues⁽¹⁾; Maria Rosário Sobreira⁽¹⁾; Paula Kjollerstrom⁽¹⁾; Carlos Flores⁽¹⁾

(1) CENTRO HOSPITALAR UNIVERSITÁRIO LISBOA CENTRAL E.P.E.

Introdução: A piropoiquilocitose hereditária (PPH) é uma patologia congénita rara, da membrana eritrocitária, causada por mutação autossómica recessiva da espectrina – proteína de citoesqueleto eritrocitário responsável por manter a estrutura e flexibilidade da membrana celular. A espectrina é composta por duas cadeias alfa e beta. A mutação do gene da cadeia alfa (SPTA1) provoca alterações da forma eritrocitária como: esferocitose, eliptocitose e piropoiquilocitose. Estas anomalias podem resultar em hemólise e anemia grave em recém-nascidos (RN).

Objetivos: Apresentação de caso clínico de uma criança com anemia severa ao nascer e poiquilocitose marcada no esfregaço de sangue periférico (ESP), onde o estudo citomorfológico do sangue periférico (EMSP) foi determinante na suspeita e orientação diagnóstica, com posterior diagnóstico definitivo por estudo genético PPH.

Material e Métodos: Criança, sexo masculino, de nacionalidade Porto-riquense, pais não consanguíneos, gravidez vigiada e sem intercorrências, parto eutócico. Ao nascer, apesar de palidez cutânea e necessidade de suporte com oxigénio, por síndrome de desconforto respiratório, encontrava-se assintomática e teve boa evolução psicomotora. Internado 3 vezes, no 1º, 30º dia e durante o 1º mês da vida, por anemia grave, respetivamente Hb 9,4g/dL ao nascer, 6,5g/dL e 5,9g/dL nos internamentos subsequentes, com necessidade de terapêutica transfusional. Achados do ESP: anemia microcítica, anisocromia, poiquilocitose marcada com eliptócitos, dacriócitos, esquizocitos e poiquilocitos inespecíficos. Parâmetros analíticos a destacar ainda: trombocitose (1351 109/L), reticulócitos 3-5%, 84,9 109/L; bilirrubina total -2.86mg/dL, bilirrubina conjugada 0.23 mg/dL, AST 35U/L, ALT 35U/L, LDH 336 U/L, haptoglobina <8mg/dL, teste Coombs negativo; glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) 29UI/gHb (7.9 - 16.3), piruvatoquinase eritrocitária (PK) 236U/gHb.

Doseamento das Hemoglobinas por cromatografia ao nascer: HbA 12.4%, HbF 80.3%, Hb C 7,3%.

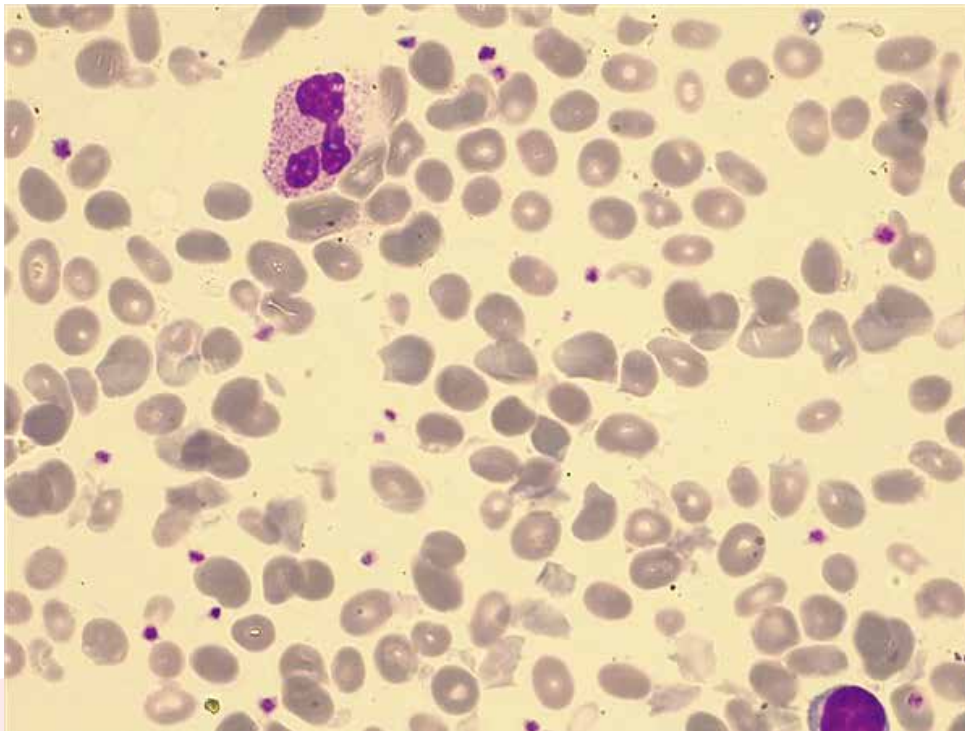
Antecedentes familiares: Mãe - 0Rh+, Hb 12,4g/dL anisocitose com microcitose, doseamento das hemoglobinas: HbA - 62.2%; HbA2 -2.9%, HbC 34,9% - Heterozigotia AC; Pai - Hb 13.6g/dL, microcitose, hipocromia, eliptocitos, doseamento das hemoglobinas: HbA- 98,1%, HbA2 -1,9%.

Resultados: Heterozigotia composta SPTA1: c.779T>C; p.Leu260Arg / polimorfismo alfa Lely

POSTERS

Discussão: A variante SPTA1: c.779T>C; p.Leu260Arg está associada a eliptocitose hereditária (EH), por défice das cadeias α -espectrina e variante benigna SPTA1:p.Leu1858Val é conhecida como polimorfismo alfa Lelley, que pode agravar o fenótipo quando está associado (em trans) com variantes patogénicas. Mutação heterozigótica composta está associada com fenotipo de PPH. A EH e a PPH são causas comuns de anemia hemolítica grave e icterícia no período neonatal, mas na maioria dos casos são assintomáticos. A morfologia dos eritrócitos na PPH parece semelhante   dos doentes com queimaduras térmicas. Não há terapêutica eficaz, sendo necessário monitoriza o e eventual suporte transfusional.

Conclusões: A PPH é uma doença rara, e possível causa de anemia hemolítica grave e icterícia em RN e crianças. O EMSP com os achados descritos   de extrema importância, sendo esta primeira avalia o determinante na suspeita e orienta o diagnóstica, com posterior confirma o com estudo genético.



PO10 - UMA APRESENTAÇÃO RARA DE UM LINFOMA COMUM

Ana Iglesias Ferreira⁽¹⁾; Alexandre Carvalho⁽²⁾; Diana Lopes⁽²⁾; Sara Marques⁽²⁾; Rita Matos Sousa⁽²⁾; Francisco Simões⁽²⁾; Juliana Andrade⁽²⁾; Teresa Ribeiro⁽²⁾; Marco Dias⁽²⁾

(1) CENTRO HOSPITALAR VILA NOVA DE GAIA / ESPINHO E.P.E. (2) HOSPITAL DE BRAGA

O linfoma B de alto grau, NOS, é uma entidade rara e agressiva, que se apresenta, na maioria dos casos, em estádios avançados com envolvimento extraganglionar comum. O envolvimento primário cardíaco é uma entidade rara, constituindo apenas 1% dos tumores cardíacos primários e 0.5% dos linfomas com envolvimento extra-ganglionar.

Doente de 70 anos e sexo feminino, com fatores de risco cardiovasculares, patologia osteoarticular e síndrome depressivo, seguida previamente em consulta de medicina interna para estudo de derrame pericárdico mas com agravamento do estado geral motivando internamento. Apresentava quadro clínico com um mês de evolução de dispneia para esforços progressivamente menores, ortopneia, dor torácica anterior com características pleuríticas e tosse seca. Ao exame objetivo apresentava palidez mucocutânea, sinais congestivos evidentes, nomeadamente, diminuição do murmúrio vesicular e crepitações bibasais, edema bimaleolar e TVJ a 45°. A destacar ainda a presença de adenopatia axilar com cerca de 2 cm.

Nos MCDT da admissão, apresentava anemia grave (Hb 6.6g/dL) e subida de marcadores inflamatórios. Realizou TAC-tórax que evidenciou derrame pericárdico, derrame pleural bilateral de médio volume e múltiplas adenomegalias localizadas no abdómen superior, na axila direita e torácicos, o maior em topografia intrapericárdica, com efeito de massa sob as câmaras cardíacas direitas, medindo 76 x 71 mm. E presença de sinais de TEP segmentar no LID.

No Eco-TT, a destacar a presença de uma estrutura ecodensa de grandes dimensões, com infiltração da parede lateral da aurícula e parede livre do ventrículo direito condicionando colapso parcial do seu lúmen.

Durante o internamento apresentou IR tipo I grave, de instalação progressiva, com necessidade de suporte ventilatório não invasivo contínuo por quadro de IC descompensada e TEP. Realizou toracocentese diagnóstica e evacuadora com caracterização de exsudado e predomínio de população linfóide polimórfica, com núcleos hipercromáticos e irregulares. Realizou biópsia excisional do gânglio axilar, cuja análise revelou proliferação de células linfóides grandes com morfologia de centroblastos e de imunoblastos, com um ki67 de ~ 80%, compatível com Linfoma B de alto grau triple-expressor. Não realizou BMO, por não reunir condições clínicas. A IFT realizada ainda durante o internamento era compatível com LBDGC.

POSTERS

Prosseguiu estudo com PET-CT, que demonstrou captação aumentada no pericárdio, mais intensa em topografia adjacente à aurícula direita e à artéria pulmonar e derrame pleural à esquerda. A RMN cardíaca revelou uma massa volumosa, com 84x48mm, localizada no sulco AV direito com prolongamento para a aurícula direita, de contornos irregulares e sem plano de clivagem com o pericárdio, deformando a parede livre das câmaras cardíacas direitas.

Iniciou terapêutica com esquema CHOP, apresentando melhoria clínica progressiva após o primeiro ciclo, com redução dos sinais de IC descompensada, permitindo desmame ventilatório e de oxigenoterapia em 12 dias. A doente teve alta estando atualmente totalmente assintomática, com ECOG 2, mantendo seguimento por Hemato-Oncologia.

O envolvimento cardíaco é uma forma de apresentação rara em doentes com diagnóstico inaugural de Linfoma B de Alto Grau. Tal como no caso apresentado, a evolução clínica pode ser rápida, condicionada pelo crescimento tumoral acelerado e compromisso da função cardíaca. Desta forma, a suspeição clínica e diagnóstico precoce nestes doentes é fundamental.

PO11 - CICLOSPORINA NA TERAPÊUTICA SALVAGE DO LINFOMA T ANGIOIMUNOBLÁSTICO: A EXPERIÊNCIA DE UM CENTRO

Cátia de Almeida⁽¹⁾; Adriana Roque⁽¹⁾; José Pedro Carda⁽¹⁾; Telma Nascimento⁽¹⁾; Raquel Guilherme⁽¹⁾; Maria Carolina Afonso⁽¹⁾; Lenka Ruzickova⁽¹⁾; Luis Francisco⁽¹⁾; Catarina Geraldés⁽¹⁾; Marília Gomes⁽¹⁾
(1) CENTRO HOSPITALAR E UNIVERSITÁRIO DE COIMBRA

Introdução: O Linfoma T Angioimunoblástico (AITL) é um linfoma raro e agressivo caracterizado por uma hiperativação imunológica de células T foliculares helper. As opções terapêuticas em doentes com doença em recidiva/refratária são escassas e pouco eficazes.

A ciclosporina (CsA), um inibidor da calcineurina que inibe a ativação das células T, é comumente usada quer no tratamento de doenças auto-imunes, quer na imunossupressão pós-transplante.

A evidência clínica, apesar de escassa e maioritariamente proveniente de casos clínicos ou pequenas séries, sugere a CsA como uma opção eficaz em terapêutica salvage de doentes com AITL.

Objetivos: Análise retrospectiva dos 5 doentes com AITL tratados com CsA num único centro.

Resultados:

Doente 1: Homem (H), 40 anos, AITL estágio IV-B. Doença primariamente refratária (DPR) após múltiplas terapêuticas (CHOEPx3, DHAPx2 e Hyper-CVADx2). Iniciou CsA 3 mg/kg/dia (associada a prednisolona), com resposta metabólica completa (RMC) após 2 meses de terapêutica. Manteve CsA (com redução gradual da dose) por 2 anos, sem intercorrências, tendo suspenso por opção própria e recusado transplante alogénico de progenitores hematopoiéticos (PH). Mantém-se em RMC 4,5 anos após o início da CsA.

Doente 2: Mulher (M), 72 anos, AITL estágio IV-B. RMC após CHOEPx8 e recidiva 6 meses após término deste regime, tendo recebido terapêutica salvage com ESHAP (1 ciclo, interrompido por intercorrências infecciosas graves), PEP-C (4 meses) e Gemcitabina em monoterapia (6 meses). Iniciou CsA 3 mg/kg/dia, com atingimento de resposta parcial; como complicações, retinite por CMV e lesão renal, culminando na sua suspensão após 10 meses. Terapêutica salvage com azacitidina (1 ciclo), tendo vindo a falecer após desenvolvimento de neoplasia mieloide relacionada com a terapêutica.

Doente 3: M, 51 anos, AITL estágio IV-B. DPR após múltiplas terapêuticas (CHOEPx1, ICEx1, ESHAPx1 e Brentuximab/ESHAPx4). Iniciou CsA 3 mg/kg/dia, apresentando doença francamente progressiva e síndrome de lise tumoral 2 semanas após o seu início. Terapêutica salvage com azacitidina, acabando por falecer por progressão da doença.

POSTERS

Doente 4: H, 45 anos, AITL estágio IV-B. DPR após CHOEPx6, com RMC após DHAPx4, prosseguindo para consolidação com transplante autólogo de PH. Doença progressiva na avaliação do D+100, tendo iniciado CsA 3 mg/kg/dia (associada a dexametasona em baixa dose). Resposta clínica inicial, com necessidade de redução da dose por mialgias de difícil controlo e reativação de CMV e EBV. Progressão clínica e imagiológica após 4 meses de terapêutica. Terapêutica salvage com azacitidina, tendo falecido de doença progressiva após o primeiro ciclo.

Doente 5: M, 66 anos, AITL estágio IV-B. DPR após CHOEPx6 (resposta parcial na PET/CT intermédia). Iniciou CsA 3 mg/kg/dia (associada a dexametasona em baixa dose), atingindo RMC 4 meses após o início da CsA. Mantém-se em terapêutica e resposta após 9 meses, com boa tolerância.

Conclusão: O AITL é uma patologia rara de prognóstico reservado. A terapêutica salvage com CsA apresenta resultados promissores, mesmo em doentes submetidos a múltiplas linhas terapêuticas, sendo bem tolerada. São necessários estudos mais robustos para corroborar estes resultados.

PO13 - EXPERIÊNCIA DE VIDA REAL EM DOENTES COM LINFOMA DE HODGKIN CLÁSSICO EM RECAÍDA/REFRATÁRIO TRATADOS COM INIBIDORES DO CHECKPOINT IMUNE

Rita Costa e Sousa⁽¹⁾; Ricardo Roque⁽²⁾; Dulcelena Neves⁽¹⁾; Maria Carolina Afonso⁽¹⁾; Adriana Roque⁽¹⁾; Lenka Ruzickova⁽¹⁾; Catarina Geraldes⁽¹⁾; Marília Gomes⁽¹⁾

(1) CENTRO HOSPITALAR E UNIVERSITÁRIO DE COIMBRA (2) INSTITUTO PORTUGUÊS DE ONCOLOGIA COIMBRA

Introdução: O Linfoma de Hodgkin clássico (LHc) é uma neoplasia de células B com taxas de cura superiores a 80%, após 1ª linha terapêutica. No entanto, cerca de 5-10% apresentam doença primariamente refratária e 10-30% recidivam após remissão completa (R/R), sendo que os doentes (dts) que apresentam má resposta a esquemas intensivos de quimioterapia e consolidação com transplante autólogo de progenitores hematopoiéticos (TAPH), têm um prognóstico adverso e representam um desafio terapêutico. Neste subgrupo de doentes, a utilização de inibidores do checkpoint imune (ICIs), nomeadamente do Nivolumab e do Pembrolizumab, anticorpos anti-Programmed Cell Death Protein-1 (anti-PD-1), demonstrou benefício clínico em termos de taxas de resposta e perfil de toxicidade.

Objetivos: Avaliação da experiência de um centro com o uso de ICIs em dts com LHc R/R.

Métodos: Estudo retrospectivo e unicêntrico de dts com LHc R/R tratados com ICIs entre novembro/2016 e fevereiro/2022. A resposta à terapêutica foi avaliada por TC e/ou PET/TC, de acordo com os critérios de Lugano.

Resultados: Foram incluídos 11 dts, 63% do sexo feminino, com idade mediana de 22 anos (17-73), a totalidade subtipo esclerose nodular e 82% com estágio avançado ao diagnóstico (classificação GHSG). Do total de dts, 55% apresentavam doença primariamente refratária e 45% em recidiva. O tempo mediano entre o diagnóstico e o início de ICIs foi de 36 meses (14-73). A mediana de linhas prévias foi 3 (2-6). A terapêutica de 1ªL foi ABVD em 91% dts; em 2ªL foi ESHAP em 82% dts; Brentuximab vedotin foi realizado em 45% dos dts e 27% realizaram TAPH. Seis dts (55%) realizaram Nivolumab durante uma mediana de 39 ciclos (5-91) e 5 dts realizaram Pembrolizumab durante uma mediana de 12 ciclos (7-31). Em termos de melhor resposta atingida à terapêutica, verificou-se uma taxa de resposta global (TRG) de 45% - 27% com remissão completa (RC) (n=3); 9% com remissão parcial (n=1); 9% com doença estável (n=1) e 55% (n=6) tiveram doença progressiva. Não foram reportados eventos adversos grau ≥ 3 (CTCAE v.6). Após um follow-up mediano de 22 meses, a sobrevivência livre de progressão (SLP) mediana após início de ICIs foi de 43 meses e a sobrevivência global (SG) mediana foi de 44 meses. À data do último follow-up, 4 dts mantinham-se sob terapêutica com ICIs. O principal motivo de descontinuação foi progressão (5 dts), seguido de consolidação com TAPH (1 dt) e óbito (1 dt). Nenhum doente descontinuou por toxicidade.

POSTERS

Conclusão: Os nossos dados de vida real evidenciam TRG e RC inferiores às reportadas em contexto de ensaio clínico e outros estudos de vida real (grupo norte-americano e turco), embora corrobore um perfil de toxicidade muito favorável. A reduzida dimensão da população, tempo de follow-up e as dificuldades na avaliação de resposta em dts tratados com ICIs podem ter contribuído para estes resultados.

Apesar da evidência mostrar que se pode atingir um bom controlo da doença com ICIs, a maioria dos doentes acaba por progredir e a ausência de opções terapêuticas subseqüentes permanece um desafio na gestão dos dts com LHc R/R.

PO14 - MULTIDISCIPLINARIDADE EM HEMATOLOGIA PERANTE O DESAFIO DIAGNÓSTICO: LINFOMA CUTÂNEO PRIMÁRIO OU ENVOLVIMENTO SECUNDÁRIO POR LINFOMA DE CÉLULAS B?

Mariana Baptista Ferreira⁽¹⁾; Lenka Ruzickova⁽¹⁾; Catarina Geraldes⁽¹⁾

(1) CENTRO HOSPITALAR E UNIVERSITÁRIO DE COIMBRA

Linfoma cutâneo primário define-se como linfoma não-Hodgkin com apresentação cutânea, sem evidência de doença extracutânea ao diagnóstico. Inclui um grupo heterogéneo de linfomas cutâneos de células T (LCCT) e de células B (LCCB). O linfoma de centro folicular primário cutâneo (LCFPC) de padrão difuso, pertence ao grupo de LCCB e apresenta-se, geralmente, como uma lesão na pele da cabeça ou tronco. A disseminação extracutânea é incomum, pelo que a radioterapia é frequentemente primeira opção, com bom prognóstico. Estes linfomas têm características clínicas, histológicas e prognósticos diferentes de outros linfomas B morfológicamente semelhantes com envolvimento secundário da pele e que requerem tratamento diferente, pelo que o estudo clínico-imagiológico é fundamental para o diagnóstico.

A propósito desta patologia, os autores apresentam o seguinte caso clínico: Homem de 52 anos, sem antecedentes pessoais de relevo, referenciado para consulta de Cirurgia Geral por lesão nodular do couro cabeludo na região frontal direita com 1 ano de evolução e noção de aumento dimensional progressivo. Ao exame objetivo, apresentava lesão com cerca de 2cmx2cm, tendo realizado biópsia excisional da lesão.

Como resultado anatomo-patológico: “Infiltração dérmica por neoplasia linfoide de padrão difuso, maioritariamente constituída por células de tamanho intermédio a grande, com citoplasma eosinófilo, de limites mal definidos e núcleos hiper cromáticos, por vezes com nucléolos proeminentes. Estudo imuno-histoquímico: As células neoplásicas são CD20+, CD79a+, PAX5+, CD5-, CD30-, CD15-, CD10-, Bcl6 +/-, CD23 +, Bcl2- /+, MUM1 - e ciclina-D1-. CD3, CD5 e CD43 evidenciam população abundante de células T acompanhante. CD21 coloca em evidência trama de células reticulares dendríticas residual. Índice proliferativo avaliado pela técnica de Ki67, de aproximadamente 20% nas células neoplásicas. Cadeias leves: sem restrição monoclonal. EBV por hibridação in situ: negativo. Os achados histopatológicos e imunofenotípicos são compatíveis com envolvimento cutâneo por linfoma de células B, primário/secundário. É necessária avaliação clínico-imagiológica e posterior integração de todos os resultados.” Foi então encaminhado para a Consulta de Hematologia Clínica. Nesta consulta, o doente referia persistência da lesão na região frontal direita, com prurido ocasional, sem dor local. Apresentava tumefação violácea na região frontal direita com aproximadamente 3cm, sem adenopatias periféricas ou organomegalias palpáveis. Realizou PET-CT que mostrou espessamento nodular sub-cutâneo hipermetabólico na região frontal direita, com cerca de 40x15mm de maiores eixos axiais compatível com a lesão neoplásica maligna conhecida, sem outras alterações de relevo, e biópsia óssea que mostrou

POSTERS

ausência de sinais de envolvimento por linfoma B. Após correlação com o estudo clínico-imagiológico efetuado e com a biópsia de medula óssea sem envolvimento por neoplasia, foi discutido o caso novamente com o Serviço de Anatomia Patológica e foi possível concluir que os achados histomorfológicos descritos e o perfil imuno-histoquímico da neoplasia eram compatíveis com LCFPC, de padrão difuso. Na sequência, foi proposto para radioterapia, que realizou sem complicações significativas.

Neste caso, a articulação entre especialidades, nomeadamente, com o Serviço de Anatomia Patológica, tornou-se imprescindível para proporcionar a orientação mais adequada do doente. O caso apresentado demonstra a importância da multidisciplinaridade em Hematologia e a relevância da discussão entre equipas perante um diagnóstico desafiante.



PO15 - LMC: O PARADIGMA DA MEDICINA DE PRECISÃO

Pedro Amorim Machado⁽¹⁾; Bárbara Marques⁽¹⁾; Ana Teresa Simões⁽¹⁾; Ana Catarina Oliveira⁽¹⁾; Margarida Coucelo⁽¹⁾; Lenka Ruzichova⁽¹⁾; José Carlos Almeida⁽¹⁾; Marília Gomes⁽¹⁾; Catarina Geraldes⁽¹⁾

(1) CENTRO HOSPITALAR E UNIVERSITÁRIO DE COIMBRA

Introdução: A Leucemia Mieloide Crónica (LMC) caracteriza-se pela presença do transcrito BCR-ABL1, cuja proteína tem atividade constitutiva tirosina cinase, promovendo proliferação celular. Os inibidores tirosina cinase (TKI) mudaram o prognóstico/tratamento da LMC. O Ponatinib foi aprovado na mutação BCR-ABL1: c.944C>T, p.T315I, contudo está associado a eventos arteriais oclusivos (EAO) potencialmente graves (até 30%).

Objetivo: Comparar a evolução da resposta terapêutica/efeitos secundários em doentes com LMC em fase crónica (LMC-FC) com mutação T315I sob Ponatinib.

Casos Clínicos:

Caso 1: Homem, 59 anos. Sem antecedentes pessoais relevantes. Diagnóstico de LMC-FC, ELTS risco intermédio. Iniciou Imatinib, com resposta ótima aos 3 e 6 meses, mas subótima aos 12 meses. Aos 18 meses apresenta perda de resposta citogenética. Identificada mutação T315I. Realizou rastreio de fatores de risco vasculares, com evidência de dislipidemia. Iniciou Ponatinib 45mg, atingindo Resposta Molecular (RM) 4.0 aos 3 e 6 meses, tendo reduzido dose para 15mg, a fim de diminuir risco de EAO.

Caso 2: Mulher, 78 anos, com múltiplos fatores de risco vasculares: diabetes mellitus, hipertensão arterial e dislipidemia. Diagnóstico de LMC-FC, Sokal alto risco; Eutos baixo risco. Iniciou Imatinib, com resposta ótima aos 3 e 6 meses, mas subótima aos 12 meses. Aos 18 meses, identificada mutação T315I. Pelas comorbilidades, iniciou Ponatinib em dose reduzida 15mg, atingindo RM3.0 após 1 mês de tratamento. Aumento da dose para 30mg atingindo RM4.0 aos 3 meses. Aos 9 meses, apresentou quadro de doença arterial periférica, iniciando anti-agregação dupla e reduzido Ponatinib para 15mg em dias alternados. Encaminhada à consulta de Cardiologia onde foi submetida a angioplastia por estenose de 90% da artéria coronária direita. Avaliação 1 mês depois com perda de resposta, tendo-se avaliado risco/benefício e aumentado dose para 30mg. Mantém-se com RM3.0 desde então até avaliação aos 18 meses.

Caso 3: Homem, 86 anos, com antecedentes de diabetes mellitus, hipertensão arterial. Diagnóstico de LMC-FC, previamente seguido noutra instituição, tratado com Imatinib, com falência de resposta. Iniciou Dasatinib mas 2 meses depois, quadro de queda, com movimentos involuntários do membro superior, sendo internado na Neurologia. Colocada hipótese de toxicidade neurológica, tendo suspenso Dasatinib. Após reintrodução, internado novamente com o mesmo quadro neurológico, com nova suspensão. Identificada mutação T315I, iniciando Ponatinib 7,5mg, atingindo RM3.0 aos 3 meses. Por quadro clínico de neuropatia periférica, suspendeu Ponatinib, iniciando Deflazacort com boa resposta.

POSTERS

Reintroduziu Ponatinib 2 meses depois, 7,5mg em dias alternados. Necessidade de redução da dose por agravamento dos sintomas neurológicos. Incremento gradual conforme tolerância, atingido RM3.0 aos 3 meses. 4 meses depois, agravamento neurológico. Realizou RMN-CE: múltiplas lesões vasculares. Dada a situação clínica e intolerância a doses superiores, manteve-se Ponatinib 7,5mg 3x/semana, com falência de resposta.

Conclusão: A medicina de precisão tem sido fundamental no diagnóstico/tratamento da LMC, sendo o Ponatinib o único TKI disponível para a mutação T315I, até ao momento. A avaliação cardiológica é importante para identificar possíveis fatores de risco que potenciam o risco de toxicidade com Ponatinib. A implementação da consulta de Cardio-Oncologia é crucial para a discussão multidisciplinar, permitindo melhor acompanhamento dos doentes com terapêutica segura e eficaz.

PO16 - ANEMIA HEMOLÍTICA CONGÊNITA NA INFÂNCIA POR DÉFICE DE PROTEÍNAS DE MEMBRANA ERITROCITÁRIA

Ana Jorge Pinto⁽¹⁾; Janet Pereira⁽¹⁾; Luis Relvas⁽¹⁾; Elizabete Cunha⁽¹⁾; João Gomes⁽¹⁾;
Tabita Magalhães Maia⁽¹⁾; Paula Kjölllerström⁽²⁾; Carolina A. Gonçalves⁽³⁾; Maria João Palaré⁽³⁾;
Anabela Ferrão⁽³⁾; Celeste Bento⁽¹⁾

(1) CENTRO HOSPITALAR E UNIVERSITÁRIO DE COIMBRA (2) CENTRO HOSPITALAR UNIVERSITÁRIO LISBOA CENTRAL E.P.E.

(3) CENTRO HOSPITALAR UNIVERSITÁRIO LISBOA NORTE, E.P.E.

Introdução: A membrana eritrocitária é responsável pelas características mecânicas, transporte iónico e diversidade antigénica do glóbulo vermelho (GV). É composta por aproximadamente 20 proteínas principais e por, pelo menos, 850 proteínas menores. A manutenção da integridade estrutural da membrana é essencial para que o eritrócito desempenhe as suas funções sem ser prematuramente destruído ou sequestrado pelo baço. As membranopatias (Esferocitose, Eliptocitose, Xerocitose e Piropoiquilocitose) são a causa mais comum de anemia hemolítica congénita e são fenotípica e genotipicamente muito heterogéneas. Existem variantes benignas no gene SPTA1 chamados de alelos de baixa expressão (Lelly, Lepra e Prague), com alta frequência na população, que condicionam uma diminuição da proteína α -spectrina; a mais abundante do citoesqueleto da membrana do eritrócito. Como esta proteína é produzida em excesso, é necessária homozigotia, dupla heterozigotia ou outra variante em trans para causar fenótipo. O estudo molecular é de grande importância uma vez que os critérios de transmissibilidade genética, bem como o impacto dos defeitos genéticos na integridade da membrana, são ainda bastante desconhecidos.

Objetivos: Fazer a caracterização molecular de doentes com anemia hemolítica e suspeita de defeito da membrana do GV, utilizando um painel de Next Generation Sequencing (NGS) desenhado para anemias hemolíticas e traçar uma relação genótipo-fenótipo nestas patologias.

Material e métodos: Após testes funcionais (ectacitometria e crioteste) realizados no nosso laboratório e observação de esfregaços de sangue periférico, 6 doentes pediátricos (com 36 dias a 9 anos de idade) com suspeita de defeito da membrana mas ainda sem diagnóstico, foram selecionados para caracterização molecular utilizando um painel de NGS concebido para anemias hemolíticas. A sequenciação de Sanger foi utilizada para confirmar as variantes encontradas nos doentes e para os estudos familiares. Foram também pesquisados os polimorfismos de baixa expressão num paciente e familiares com variante no gene SPTA1.

POSTERS

Resultados e discussão: Foram identificadas 7 variantes provavelmente patogénicas, em 6 genes diferentes, sendo 4 ainda não descritas. Uma grande deleção do SPTA1 com polimorfismo Lepra em trans, uma nonsense no gene SPTB, uma inserção no gene ANK1 com stop codão e uma deleção SLC4A1; com diferentes manifestações clínicas, mas todas associadas a esferocitose hereditária. Identificamos também uma variante PIEZO1:c.7483_7488dup associada a Xerocitose e uma KCNN4:c.1018C>A descrita como associada a Estomatocitose não desidratada.

Conclusões: Num estudo com uma população tão pequena, encontrar uma percentagem tão elevada de variantes não descritas e, adicionalmente, a caracterização molecular revelar grande heterogeneidade para pacientes com fenótipos semelhantes, torna evidente a importância de uma avaliação genética mais abrangente. A utilização de painéis de NGS nestas patologias irá trazer maior conhecimento dos padrões genéticos e do espectro de variantes genéticas, para ajudar no diagnóstico de membranopatias do GV.

PO17 - INIBIÇÃO DO NRF2 COMO NOVA ABORDAGEM TERAPÊUTICA EM NEOPLASIAS LINFOIDES SENSÍVEIS E RESISTENTE AO BORTEZOMIB – ESTUDO PRELIMINAR

Maria Rui Lopes⁽¹⁾; Joana Jorge⁽²⁾; Raquel Alves⁽²⁾; Catarina Gerales⁽³⁾; Ana Cristina Gonçalves⁽²⁾;
Ana Bela Sarmento Ribeiro⁽³⁾

(1) Laboratório de Oncobiologia e Hematologia, Faculdade de Medicina Universidade de Coimbra (FMUC)

(2) Laboratório de Oncobiologia e Hematologia, Clínicas Universitárias de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina Universidade de Coimbra (FMUC); Instituto de Investigação Clínica e Biomédica de Coimbra (iCBR)-CIMAGO; CIBB; CACC.

(3) Serviço de Hematologia Clínica, CHUC; Laboratório de Oncobiologia e Hematologia, Clínicas Universitárias de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina Universidade de Coimbra (FMUC); Instituto de Investigação Clínica e Biomédica de Coimbra (iCBR)-CIMAGO, FMUC; CIBB; CACC.

Introdução: O stress oxidativo (SO) desempenha um papel fundamental na carcinogénese, e resulta do desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigénio (ROS) e a capacidade das defesas antioxidantes. O NRF2 [nuclear factor erythroid 2-related factor 2] é um fator de transcrição regulador do equilíbrio redox celular, regulando a expressão de vários genes importantes por exemplo na destoxificação e na inflamação. Durante a leucemogénese, o NRF2 protege as células tumorais do SO levando à sobrevivência e resistência à terapêutica, tendo a sua desregulação já sido associada a neoplasias linfoides como o mieloma múltiplo e o linfoma difuso de grandes células B. Desta forma, a sua inibição farmacológica poderá fornecer novas abordagens terapêuticas em doentes sensíveis e resistentes às terapêuticas já aprovadas nestas patologias.

Objetivo: O objetivo deste trabalho consiste em avaliar o potencial terapêutico do Brusatol, um inibidor do NRF2, em linhas celulares de neoplasias linfoides, sensíveis e resistentes ao bortezomib.

Materiais e Métodos: As linhas celulares Farage (GCB-DLBCL) e H929 sensíveis e resistentes (H929-BTZ) ao bortezomib foram incubadas na ausência e na presença de diferentes concentrações de brusatol (1nM-100nM) durante 72h. A atividade metabólica foi avaliada pelo ensaio da resazurina. A morte celular foi avaliada por citometria de fluxo (CF), recorrendo à dupla marcação anexina V e 7-AAD, e por microscopia ótica (May-Grünwald-Giemsa). O ciclo celular foi avaliado por CF através da marcação com iodeto de propídio(PI)/RNase. A análise estatística foi efetuada, considerando um nível de significância de 95% (p<0,05).

POSTERS

Resultados e Discussão: Nas células tratadas com brusatol observou-se redução da atividade metabólica de forma dependente da dose, do tempo e da linha celular. A linha celular Farage demonstrou uma maior sensibilidade ao brusatol (IC50=5,6nM, 72h) comparativamente à linha H929 (IC50=26,6nM). Também a linha celular de mieloma múltiplo resistente ao bortezomib demonstrou ser mais sensível ao brusatol (H929-BTZ IC50=16,8nM), que as respetivas células sensíveis (IC50=26,6nM). O brusatol teve efeito citotóxico induzindo morte celular por apoptose, comprovado pela presença de características morfológicas de apoptose. Além disso, o brusatol demonstrou ter um efeito citostático induzindo bloqueio do ciclo celular na fase G0/G1.

Conclusões: Os nossos resultados sugerem que a inibição do NRF2 pelo brusatol poderá constituir uma nova estratégia terapêutica no tratamento do mieloma múltiplo e do linfoma difuso de grandes células B, particularmente do centro germinativo. Esta abordagem poderá ser particularmente relevante no tratamento de mieloma múltiplo em casos de resistência ao bortezomib.

PO18 - MODULAÇÃO DO NF-KB EM MODELOS DE MIELOMA MÚLTIPLO RESISTENTES A INIBIDORES DE PROTEASOMA

Joana Jorge⁽¹⁾; Inês Oliveira⁽²⁾; Raquel Alves⁽¹⁾; Beatriz Lapa⁽¹⁾; Maria Inês Costa⁽¹⁾; Ana Cristina Gonçalves⁽¹⁾; Catarina Geraldes⁽³⁾; Ana Bela Sarmento Ribeiro⁽³⁾

(1) Laboratório de Oncobiologia e Hematologia, Clínicas Universitárias de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina Universidade de Coimbra (FMUC); Instituto de Investigação Clínica e Biomédica de Coimbra (iCIBR)—CIMAGO; CIBB; CACC.

(2) Laboratório de Oncobiologia e Hematologia, Clínicas Universitárias de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina Universidade de Coimbra (FMUC);

(3) Serviço de Hematologia Clínica, CHUC; Laboratório de Oncobiologia e Hematologia, Clínicas Universitárias de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina Universidade de Coimbra (FMUC); Instituto de Investigação Clínica e Biomédica de Coimbra (iCIBR)-CIMAGO, FMUC; CIBB; CACC.

Introdução: Apesar do sucesso alcançado no tratamento do mieloma múltiplo (MM) com os inibidores do proteasoma (IPs), bortezomib (BTZ), carfilzomib (CFZ) e ixazomib (IXZ), que aumentam a esperança média de vida destes doentes e melhoraram a sua qualidade de vida, muitos doentes desenvolvem resistência a estes fármacos. Por este motivo, novos agentes terapêuticos, como o partenolide (PTL), um inibidor do NF-kB, poderão ser uteis para ultrapassar a resistência aos IPs. O NF-KB é um fator de transcrição que ativa a proliferação e diferenciação celulares e inibe a apoptose. Estes efeitos são alcançados através da transcrição de genes mediada pelo NF-KB, como o BCL2 e o MYC.

Objetivo: O principal objetivo do presente trabalho é avaliar o potencial terapêutico do PTL em modelos in vitro de mieloma múltiplo resistentes ao BTZ, CFZ e IXZ.

Materiais e Métodos: Foram utilizadas linhas celulares de MM sensíveis (H929) e resistentes aos 3 IPs (células H929-BTZ, H929-CFZ e H929-IXZ). As linhas celulares foram incubadas na ausência e na presença de PTL e o seu efeito na atividade metabólica foi avaliado com o ensaio da resazurina. O tipo de morte celular induzida pelo PTL foi analisado por citometria de fluxo (CF), utilizando a dupla marcação com anexina-V e 7-AAD, e por microscopia ótica, coloração May-Grünwald Giemsa. O efeito do PTL no ciclo celular foi avaliado por CF, recorrendo à solução de iodeto de propídio/RNase. Também por CF foram ainda avaliados os níveis de peróxidos intracelulares e o potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi_m$), utilizando as sondas DCFH2-DA e JC-1, respectivamente. O efeito do PTL na expressão génica dos genes MYC e BCL2 foi avaliado por qPCR. Os resultados foram analisados estatisticamente, tendo sido considerado um nível de significância de 95% ($p < 0,05$).

POSTERS

Resultados e Discussão: O PTL reduziu a atividade metabólica de todas as linhas celulares de forma dependente do tempo, da dose e da linha celular, sendo as células H929-IXZ as menos sensíveis (IC50 às 72h: 7 μ M) e as H929-BTZ as mais sensíveis (IC50 às 72h: 1 μ M) comparativamente às restantes linhas (IC50: H929 e H929-CFZ 2 μ M). O PTL aumentou a percentagem de células apoptóticas. Os níveis intracelulares de peróxidos aumentaram, quer nas células sensíveis aos IPs quer na resistentes, de cerca de 1,4x, 1,2x, 1,1x e 1,3x nas células H929, H929-BTZ, H929-CFZ e H929-IXZ respetivamente. Além disso, nas células H929, H929-BTZ, H929-CFZ e H929-IXZ tratadas com PTL observou-se aumento da razão M/A de JC-1 em cerca de 1,4x, 1,8x, 2,6x e 4,7x, respetivamente. Estes resultados sugerem diminuição do potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi_m$) em todas as linhas celulares, compatível disfunção mitocondrial e indução de apoptose. No entanto, na presença de PTL não se verificou alteração significativa dos níveis de expressão dos genes MYC e BCL2.

Conclusões: Este estudo sugere que o PTL induz citotoxicidade em células sensíveis e resistentes aos inibidores do proteasoma, podendo constituir uma nova abordagem terapêutica no MM resistente a estes fármacos, em particular no MM resistente ao bortezomib.

PO19 - INFLUÊNCIA DAS VARIANTES GENÉTICAS DO NFE2L2 NA RESPOSTA À TERAPÊUTICA NA LEUCEMIA MIELÓIDE CRÓNICA

Filipa Ventura⁽¹⁾; Raquel Alves⁽²⁾; Joana Jorge⁽²⁾; Gilberto Marques⁽³⁾; Margarida Coucelo⁽⁴⁾; Joana Diamond⁽⁵⁾; Paulo Freitas Tavares⁽⁶⁾; António Almeida⁽⁷⁾; Ana Cristina Gonçalves⁽²⁾; Ana Bela Sarmento Ribeiro⁽⁴⁾

(1) Laboratório de Oncobiologia e Hematologia, Faculdade de Medicina Universidade de Coimbra (FMUC), Coimbra, Portugal.

(2) Laboratório de Oncobiologia e Hematologia, Clínicas Universitárias de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina Universidade de Coimbra (FMUC); Instituto de Investigação Clínica e Biomédica de Coimbra (iCIBR)—CIMAGO; CIBB; CACC; Portugal.

(3) Serviço de Patologia Clínica, Centro Hospitalar Universitário de Coimbra (CHUC), Portugal

(4) Serviço de Hematologia Clínica, CHUC; Laboratório de Oncobiologia e Hematologia, Clínicas Universitárias de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina Universidade de Coimbra (FMUC); Instituto de Investigação Clínica e Biomédica de Coimbra (iCIBR)-CIMAGO, FMUC; CIBB; CACC; Portugal.

(5) Laboratório de Hemato-Oncologia, Instituto Português de Oncologia de Lisboa; Portugal.

(6) Serviço de Hematologia Clínica, CHUC, Portugal;

(7) Hospital da Luz e CIIS (Centro de Investigação Interdisciplinar em Saúde), Universidade Católica Portuguesa de Lisboa, Portugal.

Introdução: Na leucemia mieloide crónica (LMC), os mecanismos associados à aquisição de resistência aos inibidores tirosina cinase (TKIs) mais relevantes são os dependentes do alvo terapêutico. No entanto, o stresse oxidativo, que resulta do desequilíbrio dentre a produção de espécies reativas de oxigénio (ROS) e a sua eliminação pelas defesas antioxidantes, está também envolvido nos mecanismos de resistência a diversos fármacos. O gene do fator nuclear (derivado dos eritrócitos) - 2 tipo 2 (NFE2L2) desempenham um papel central no equilíbrio das ROS. Alterações nestes genes, quer devidas a mutações somáticas quer a variantes genéticas (SNV), estão associadas ao desenvolvimento e resposta terapêutica em neoplasias hematológicas.

Objetivo: Avaliar o papel de dois SNVs no gene NFE2L2 na resposta à terapêutica em doentes LMC e correlacionar com as características clinico-laboratorias dos doentes.

Métodos: As variantes genéticas rs6721961 e rs4893819 do gene NFE2L2 foram genotipadas, por tetra-primers-AMRS-PCR, em 197 doentes com LMC [idade mediana de 54 anos (15-86); homens n=118 (67%), mulheres n=79 (33%)]. Destes doentes, 187 foram diagnosticados em fase crónica (95,0%), 5 em fase acelerada (2,5%) e 5 em crise blástica (2,5%). Deste doentes cerca de 26% não necessitou de alterar a terapêutica de primeira linha (Imatinib) e 20% dos doentes desenvolveram mutação no gene BCR-ABL1 (22; sem mutação=109; não avaliado=89). A associação destas variantes genéticas com as características clínico-laboratorias foi avaliada por análise de teste exato de Fisher. A influência na evolução da doença e na sobrevivência foi realizada através de curvas de Kaplan-Meier (teste Mantel-Cox).

POSTERS

Resultados: Oitenta e cinco por cento dos doentes com LMC apresentaram o genótipo GG, 14% GT e 1% TT (rs6721961). Relativamente ao rs4893819, 27% apresentavam o genótipo TT, 46% CT e 27% CC. Os resultados revelaram que os doentes com genótipo TT (rs6721961) responderam melhor ao tratamento com Imatinib não requerendo alteração da terapêutica de primeira linha ($p < 0,001$). Além disso, os doentes com o genótipo CT (rs4893819) apresentam 4,2x menos probabilidade de desenvolver mutações no domínio cinásico do gene BCR-ABL1 [odds ratio: 0,240, intervalo de confiança (IC) 95%: 0,109-0,529; $p < 0,001$]. Por fim, os doentes com o genótipo CT (rs4893819) têm 7,4x mais probabilidade de evoluir para fase acelerada ou crise blástica que os doentes com os outros genótipos (hazard ratio: 7,4; IC95%: 1,8-29,9; $p < 0,001$).

Conclusão: Este estudo sugere que as variantes genéticas rs6721961 e rs4893819 do gene NFE2L2 influenciam a resposta ao tratamento com inibidores tirosina cinase, assim como a progressão dos doentes com LMC.

PO20 - BUPARLISIB COMO NOVA ABORDAGEM TERAPÊUTICA NA RESISTÊNCIA AO IMATINIB NA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA

Raquel Alves⁽¹⁾; Inês Silva⁽²⁾; Joana Jorge⁽¹⁾; Beatriz Lapa⁽¹⁾; Maria Inês Costa⁽¹⁾; Ana Cristina Gonçalves⁽¹⁾; Ana Bela Sarmiento-Ribeiro⁽³⁾

(1) Laboratório de Oncobiologia e Hematologia, Clínicas Universitárias de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina Universidade de Coimbra (FMUC); Instituto de Investigação Clínica e Biomédica de Coimbra (iCBR)—CIMAGO; CIBB; CACC. (2) Laboratório de Oncobiologia e Hematologia, Clínicas Universitárias de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina Universidade de Coimbra (FMUC) (3) Serviço de Hematologia Clínica, CHUC; Laboratório de Oncobiologia e Hematologia, Clínicas Universitárias de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina Universidade de Coimbra (FMUC); Instituto de Investigação Clínica e Biomédica de Coimbra (iCBR)-CIMAGO, FMUC; CIBB; CACC.

Introdução: A Leucemia Mieloide Crónica (LMC) é uma neoplasia mieloproliferativa caracterizada pela presença do gene de fusão BCR-ABL. Este gene codifica a oncoproteína BCR-ABL1, que possui atividade tirosina cinase (TK) desregulada e que constitui o principal alvo terapêutico da LMC. Apesar da elevada taxa de resposta aos inibidores de tirosina cinase (TKIs), como o Imatinib (IMA), alguns doentes desenvolvem resistência ao tratamento. Vários mecanismos estão envolvidos na resistência aos TKIs, entre os quais a activação de múltiplas vias de sinalização pela oncoproteína BCR-ABL, tais como a via PI3K/AKT/mTOR, uma via associada ao aumento da sobrevivência celular e resistência à apoptose. Torna-se assim necessária a identificação de novas alternativas terapêuticas para o tratamento da LMC resistente aos TKIs.

Objetivo: O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial terapêutico do Buparlisib, um inibidor do PI3K, em monoterapia e em associação terapêutica com o Imatinib, em modelos in vitro de LMC sensíveis e resistentes ao Imatinib.

Materiais e Métodos: Neste sentido, as linhas celulares sensíveis (K-562) e resistentes (K-562 RC e K-562 RD) foram incubadas durante 72 horas na ausência e presença de doses crescentes de BKM-120 e o ensaio da resazurina usado para analisar a atividade metabólica. Avaliou-se o potencial terapêutico de dois esquemas de administração em monoterapia (toma única e fracionada) e um esquema de combinação terapêutica com o Imatinib. A citometria de fluxo foi utilizada para avaliar o ciclo celular usando a marcação com iodeto de propídio (PI)/RNase. A morte celular foi avaliada por citometria de fluxo recorrendo à dupla marcação das células com anexina V e 7-aminoactinomicina D (7-AAD) e por microscopia de ótica através da coloração de May Grünwald-Giemsa. Os dados foram analisados estatisticamente, considerando-se um nível de significância de 95%.

POSTERS

Resultados e Discussão: Os resultados do estudo da administração única do fármaco mostraram que o Buparlisib reduziu a atividade metabólica de forma dependente do tempo e da dose e independente da linha celular. De facto, após 72 horas de incubação, o IC50 das K-562 foi de 1,08 μM , 1,18 μM para as K-562 RC e 1,04 μM para as K-562 RD. Após o estudo da administração fracionada, foi possível entender que este esquema constitui uma boa estratégia terapêutica nas três linhas celulares, na medida em que os valores de atividade metabólica foram muito inferiores aos da administração única. A associação de Buparlisib com Imatinib também demonstrou ter um impacto significativo na redução da atividade metabólica comparativamente aos fármacos em monoterapia, independentemente da linha celular. Além disso, o BKM-120 induziu morte celular significativa, maioritariamente por apoptose. Além do efeito citotóxico, o BKM-120 induziu também efeito citostático, bloqueando as células na fase G2/M do ciclo celular.

Conclusão: Assim, podemos concluir que o Buparlisib é um agente terapêutico eficaz, principalmente quando administrado em regime fracionado e em associação com o Imatinib, podendo representar uma boa abordagem terapêutica no tratamento da Leucemia Mielóide Crónica, sensível e resistente ao imatinib.

PO21 - O ZINCO NA MODULAÇÃO DA RESPOSTA À LESÃO DO DNA: EFEITO PREVENTIVO, GENOTÓXICO E CITOTÓXICO NA LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA

Maria Inês Costa⁽¹⁾; Beatriz Lapa⁽¹⁾; Joana Jorge⁽¹⁾; Raquel Alves⁽¹⁾; Ana Bela Sarmiento Ribeiro⁽²⁾;
Ana Cristina Gonçalves⁽¹⁾

(1) Laboratório de Oncobiologia e Hematologia, Clínicas Universitárias de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra (FMUC), Instituto de Investigação Clínica e Biomédica de Coimbra (iCBR) - CIMAGO; CIBB; CACC (2) Serviço de Hematologia Clínica, CHUC, Laboratório de Oncobiologia e Hematologia, Clínicas Universitárias de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra (FMUC), Instituto de Investigação Clínica e Biomédica de Coimbra (iCBR) - CIMAGO; CIBB; CACC

Introdução: A resposta à lesão do DNA (DDR) é fundamental na prevenção da instabilidade genómica, sendo o zinco (Zn) um dos seus reguladores. Na leucemia mieloblástica aguda (LMA) os níveis plasmáticos de Zn estão frequentemente diminuídos e observam-se alterações da DDR. No entanto, os efeitos do Zn na modulação da DDR na LMA e o potencial terapêutico da suplementação não são ainda compreendidos.

Objetivos: Avaliar os efeitos do Zn na modulação da DDR e investigar o seu potencial terapêutico em combinação com citarabina (terapêutica convencional) e olaparib (inibidor da DDR) na LMA.

Material e métodos: As células HEL (LMA) e IMC (linfócitos normais) foram mantidas em condições normais de Zn, depleção e suplementação de Zn (40µM de ZnSO₄) durante 2, 7 e 15 dias. As células foram depois expostas a H₂O₂ e radiação UV. A lesão cromossómica foi avaliada pelo teste do micronúcleo; a lesão genómica e cinética de reparação pela expressão de γH2AX (0h, 1h e 24h), por citometria de fluxo (CF). Para avaliar o potencial da suplementação na modulação da terapêutica, células HEL, NB-4 e K-562 (LMA) foram incubadas (72h) com concentrações crescentes de olaparib e citarabina (monoterapia e combinação com ZnSO₄). Avaliou-se a densidade e viabilidade celulares pelo teste do azul de tripano. O tipo de morte e o ciclo celular foram avaliados pela marcação com anexina V/7-AAD e PI/RNase, por CF. Avaliaram-se marcadores de proliferação (incorporação de BrdU), apoptose (caspase-3 ativada, PARP clivada), e lesão (γH2AX) por CF. A expressão de genes (CDK12, CDKN1B, CDKN1C, CHEK1, CHEK2, INPP5D, FEN1, PARP1, XRCC1, DDB2, XPA, PMS2, MSH2, MSH6, PRKDC, XRCC6, PALB2, RAD51) foi avaliada por qPCR. Os resultados foram analisados estatisticamente considerando um nível de significância de 95% (p<0,05).
Resultados e Discussão: Nas células HEL, a suplementação com Zn potenciou a genotoxicidade do H₂O₂ e da radiação UV, aumentando a lesão genómica e cromossómica (p<0,05). A cinética de reparação nestas células foi também significativamente comprometida (p<0,01). Contrariamente, nos linfócitos normais, o Zn melhorou a reparação. O ZnSO₄ potenciou os efeitos antiproliferativos e citotóxicos do olaparib e citarabina (p<0,05). A combinação com ZnSO₄ diminuiu 2,7-8,7x o IC50 do olaparib às 48h, e 5,9-19,3x o IC50 da citarabina (dependendo da linha celular). As combinações terapêuticas aumentaram

POSTERS

significativamente a indução de apoptose, observando-se aumento dos níveis dos marcadores de apoptose e lesão do DNA ($p < 0,05$). Verificou-se também diminuição da incorporação de BrdU nas combinações terapêuticas e modificação do efeito citostático do olaparib (G2/M) e citarabina (S), por bloqueio em G0/G1 ($p < 0,05$). Diferentes genes da DDR foram também modulados pelas combinações terapêuticas ($p < 0,05$).

Conclusões: O Zn apresentou um duplo papel na modulação da DDR, prevenindo a instabilidade genómica em células normais e potenciando a genotoxicidade em células de LMA. Os efeitos terapêuticos do olaparib e citarabina foram potenciados pela combinação com Zn, através da redução da proliferação, indução de morte celular e lesão genómica, e modulação de genes de DDR. O Zn reduziu consideravelmente os IC50 dos compostos, o que poderá resultar em regimes terapêuticos mais eficientes e com menor toxicidade secundária.

PO22 - VALIDAÇÃO DE UM PAINEL DE NEXT GENERATION SEQUENCING (NGS) DE GENES DE FUSÃO DE LINHAGEM MIELÓIDE – EXPERIÊNCIA DE UM CENTRO

Mariana Santos⁽¹⁾; Ana Teresa Simões⁽¹⁾; Ana Catarina Oliveira⁽¹⁾; Teresa Fidalgo⁽¹⁾; Margarida Coucelo⁽¹⁾

(1) Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

Introdução: A tecnologia de Next Generation Sequencing (NGS) veio revolucionar o estudo genético das neoplasias hematológicas na rotina laboratorial. A abordagem por painel de genes de DNA veio permitir num só estudo a caracterização do espectro mutacional e mais recentemente a abordagem por painel de RNA a identificação de translocações menos frequentes, por vezes, crípticas e não identificáveis por citogenética convencional.

Objetivo: Avaliar um painel de NGS para 29 genes de fusão de linhagem mielóide num laboratório de diagnóstico molecular.

Métodos: Foram estudadas 13 amostras por painel NGS de RNA que inclui 29 genes-driver de fusão (OncoPrint Myeloid Research Assay, ThermoFisher). Destas, 5 tinham translocações recorrentes conhecidas: BCR::ABL1 p190, RUNX1::RUNX1T1, CBFβ::MYH11; PML::RARA; KMT2A-MLLT3; 7 Leucemia Mielóide Aguda (LMA) com estudo genético completo e sem alterações moleculares classificadoras de doença e 1 com Eosinofilia Persistente. A análise dos dados foi realizada no software IonReporter (ThermoFisher).

Resultados: O estudo por painel de fusões identificou correctamente as 5 amostras com translocações recorrentes conhecidas e permitiu identificar os seus pontos de quebra. Numa LMA sem alterações genéticas recorrentes foi identificado o gene de fusão ETV6::MECOM que resulta da translocação t(3;12)(q26;p13). Nas restantes 7 o estudo por painel de fusões de NGS foi negativo.

Discussão: Nas 5 amostras testadas o painel de genes de fusão identificou as alterações genéticas recorrentes conhecidas BCR::ABL1 p190, RUNX1::RUNX1T1, CBFβ::MYH11; PML::RARA; KMT2A-MLLT3. A identificação do gene de fusão ETV6::MECOM numa LMA sem alterações recorrentes, permitiu a re-classificação em “LMA com rearranjo MECOM” de acordo a classificação WHO 2022 e no grupo de prognóstico adverso de acordo com a classificação da ELN AML 2022.

Conclusão: A utilização do painel de fusões de linhagem mielóide na rotina laboratorial permite num só estudo a identificação de genes de fusão menos frequentes, contribuindo para uma melhor classificação das neoplasias hematológicas de acordo com as recomendações da WHO 2022, bem como na estratificação de risco ELN AML 2022.

PO23 - O POTENCIAL TERAPÊUTICO DO AZD-7648, UM INIBIDOR DA DNA-PK, NA LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA – UM ESTUDO IN VITRO

Beatriz Santos Lapa⁽¹⁾; Maria Inês Costa⁽¹⁾; Diana Figueiredo⁽²⁾; Joana Jorge⁽¹⁾; Raquel Alves⁽¹⁾; Ana Raquel Monteiro⁽²⁾; Maria Reis Silva⁽³⁾; Lina Carvalho⁽³⁾; Ana Bela Sarmento-Ribeiro⁽⁴⁾; Ana Cristina Gonçalves⁽¹⁾

(1) Laboratório de Oncobiologia e Hematologia, Clínicas Universitárias de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina Universidade de Coimbra (FMUC); Instituto de Investigação Clínica e Biomédica de Coimbra (iCBR)—CIMAGO; CIBB; CACC. (2) Laboratório de Oncobiologia e Hematologia e Clínicas Universitárias de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina (FMUC), Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal; (3) IAP-PM - Instituto de Anatomia Patológica & Patologia Molecular, FMUC, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal; Serviço de Anatomia Patológica, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC), Coimbra, Portugal (4) Serviço de Hematologia Clínica, CHUC; Laboratório de Oncobiologia e Hematologia, Clínicas Universitárias de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina Universidade de Coimbra (FMUC); Instituto de Investigação Clínica e Biomédica de Coimbra (iCBR)-CIMAGO, FMUC; CIBB; CACC.

Introdução: A reparação da lesão do DNA (DDR) é fundamental para a manutenção da integridade do genoma e da viabilidade celular. A DNA-PK (cinase dependente do DNA) é uma proteína nuclear cuja principal função é reparar quebras de cadeia dupla do DNA através da via de reparação da junção de extremidades não homólogas. A alteração dos mecanismos de reparação do DNA tem sido implicada na patogénese de várias neoplasias hematológicas, como é o caso da leucemia mieloblástica aguda (LMA), e poderá constituir um novo alvo terapêutico para o tratamento desta patologia.

Objetivo: Avaliar o potencial terapêutico de um inibidor da DNA-PK, o AZD-7648, em monoterapia, em modelos in vitro de LMA.

Materiais e Métodos: Neste estudo foram usadas três linhas celulares de LMA (as células HEL, K-562 e LAMA-84). As mutações em genes envolvidos na DDR foram obtidas do banco de dados “COSMIC”. Os níveis de lesão cromossómica e a cinética da DDR foram medidos pelo ensaio do micronúcleo com bloqueio da citocinese. Os níveis de expressão de seis genes relacionados com a DDR e o comprimento dos telómeros foram avaliados por qPCR. As células foram incubadas na ausência ou presença de concentrações crescentes de AZD-7648. A densidade e a viabilidade celulares foram analisadas, por 72 horas, pelo ensaio de azul de tripano. A morte celular (dupla marcação com Anexina V/7-AAD), os níveis de PARP clivada e de caspase-3 ativada, o ciclo celular (iodeto de propídio/RNase), a proliferação celular (incorporação de BrdU) e a lesão do DNA (γ H2AX) foram avaliados por citometria de fluxo. Os resultados foram analisados estatisticamente, considerando um nível de significância de 95%.

POSTERS

Resultados e Discussão: As linhas celulares testadas apresentaram mutações e níveis de lesão distintos. A linha celular HEL apresentou os níveis mais elevados de γ H2AX e a linha LAMA-84 de lesão cromossómica. O menor comprimento dos telómeros foi encontrado nas células K-562 e a linha celular LAMA-84 apresentou os níveis de expressão mais elevados dos genes estudados. Todas as linhas celulares demonstraram possuir uma reparação eficiente. O AZD-7648 reduziu a proliferação e a viabilidade celulares de uma forma dependente da dose, do tempo e da linha celular. As células HEL foram as mais sensíveis, com um IC50 de aproximadamente $150\mu\text{M}$, às 24h, e as K-562 as mais resistentes com um $\text{IC}_{50} > 200\mu\text{M}$, em todos os tempos estudados. Este inibidor aumentou a percentagem de células em apoptose assim como os níveis de PARP clivada e caspase-3 ativada, induziu bloqueio do ciclo celular na fase G0/G1 e reduziu a proliferação celular. Os níveis de lesão cromossómica e do DNA aumentaram após a incubação com AZD-7648.

Conclusão: Estes resultados demonstraram a eficácia do AZD-7648 em modelos in vitro de LMA, dependendo do subtipo celular e/ou das alterações genéticas, apoiando assim uma investigação mais aprofundada do potencial deste inibidor como uma nova terapêutica neste tipo de leucemias o que poderá, em última análise, melhorar o resultado dos doentes com LMA.

PO24 - INIBIÇÃO DA GLUTAMINÓLISE COM TELAGLENASTAT NA LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA RESISTENTE AO IMATINIB: ESTUDO IN VITRO

Rafael Gomes⁽¹⁾; Joana Jorge⁽²⁾; Beatriz Lapa⁽²⁾; Maria Inês Costa⁽²⁾; Ana Cristina Gonçalves⁽²⁾; Raquel Alves⁽²⁾; Ana Bela Sarmiento-Ribeiro⁽³⁾

(1) Laboratório de Oncobiologia e Hematologia, Faculdade de Medicina Universidade de Coimbra (FMUC) (2) Laboratório de Oncobiologia e Hematologia, Clínicas Universitárias de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina Universidade de Coimbra (FMUC); Instituto de Investigação Clínica e Biomédica de Coimbra (iCBR)—CIMAGO; CIBB; CACC. (3) Serviço de Hematologia Clínica, CHUC; Laboratório de Oncobiologia e Hematologia, Clínicas Universitárias de Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina Universidade de Coimbra (FMUC); Instituto de Investigação Clínica e Biomédica de Coimbra (iCBR)-CIMAGO, FMUC; CIBB; CACC.

Introdução: Uma das características fundamentais das células tumorais é a capacidade de reprogramação metabólica. De forma a sustentar as elevadas necessidades biossintéticas e proliferativas, as células neoplásicas adaptam o seu metabolismo promovendo ativação de vias metabólicas compensatórias, como a glutaminólise. Esta consiste numa reação anaplerótica através da qual a glutamina reabastece o ciclo dos ácidos tricarbóxicos, podendo ainda ser utilizada para a síntese de novo de aminoácidos, nucleótidos e ácidos gordos. Apesar do enorme sucesso terapêutico dos inibidores tirosina cinase (TKIs), como o imatinib, na leucemia mieloide crónica (LMC), cerca de 25 a 30% dos doentes desenvolvem resistência ao tratamento. Diversos mecanismos de resistência têm sido identificados como a presença de mutações pontuais, alterações na concentração intracelular do TKI e a ativação de vias alternativas, como a reprogramação metabólica, entre outras. Assim a reprogramação metabólica assume um papel relevante não só no desenvolvimento de neoplasias, mas também na aquisição de resistência a múltiplos fármacos. Neste sentido, o potencial terapêutico de inibidores do metabolismo da glutamina, como o Telaglenastat (CB-839), têm sido avaliados em diferentes neoplasias. Contudo, o seu papel na LMC resistente ao imatinib não está ainda clarificado.

Objetivo: Este estudo teve como objetivo avaliar o potencial terapêutico do Telaglenastat em modelos in vitro de LMC sensíveis e resistentes ao Imatinib.

Materiais e Métodos: Neste contexto, utilizámos três linhas celulares de LMC: as células K562 (sensíveis ao imatinib) e as células K562-RC e K562-RD (resistentes ao imatinib). As células foram incubadas na ausência e na presença de concentrações crescentes de Telaglenastat durante 72 horas. As curvas dose-resposta foram determinadas pelo ensaio metabólico da resazurina a cada 24h de incubação. A morte celular foi analisada por microscopia óptica (coloração May-Grunwald Giemsa) e citometria de fluxo, recorrendo à dupla marcação com anexina V e 7-aminoactinomicina D (7-AAD). O ciclo celular foi

POSTERS

avaliado por citometria de fluxo, usando a marcação com iodeto de propídio (PI)/RNase. Foi efetuada a análise estatística adequada considerando-se um nível de significância de 95%.

Resultados: Os resultados mostram que o Telaglenastat induz redução da atividade metabólica de forma dependente do tempo, da dose e da linha celular. As linhas celulares resistentes ao imatinib foram as mais sensíveis ao Telaglenastat, com IC50 às 48h de 50nM nas K562-RD e 1 μ M nas K562-RC, comparativamente com a linha parental sensível K562 (IC50 às 48h de 100 μ M). Este inibidor induz morte celular por apoptose comprovada por citometria de fluxo e pela análise da morfologia celular por microscopia óptica. O Telaglenastat não demonstrou efeitos citostáticos significativos.

Conclusão: Os nossos resultados preliminares sugerem o potencial terapêutico do Telaglenastat na leucemia mielóide crónica, em particular em casos de resistência ao imatinib.

PO25 - O PODER DO CAPLACIZUMAB – UM CASO DE PÚRPURA TROMBÓTICA TROMBOCITOPÉNICA ADQUIRIDA EM RECIDIVA

Duarte Pacheco Silva⁽¹⁾; Mariana Baptista⁽¹⁾; Pedro Amorim Machado⁽¹⁾; Bárbara Marques⁽¹⁾;
Telma Nascimento⁽¹⁾; Emília Cortesão⁽¹⁾
(1) CENTRO HOSPITALAR UNIVERSITÁRIO DE COIMBRA

Introdução: A púrpura trombótica trombocitopénica adquirida (PTTa), sendo definida por anemia hemolítica microangiopática e trombocitopenia, com o défice imunomediado da atividade de ADAMTS13 (protease de clivagem do fator von Willebrand). Muitas vezes associada a complicações renais e neurológicas, podendo ser fatal sem tratamento eficaz. O Caplacizumab é um nanocorpo humanizado bivalente que inibe a adesão plaquetária excessiva mediada pelo fator von Willebrand.

Objetivos: Descrever principais diferenças evolução da PTT aquando de tratamento com Caplacizumab.

Materiais: Descrição clínica e laboratorial de um caso clínico.

Resultados/discussão: Mulher de 54 anos, recorreu ao serviço de urgência em outubro 2022 por quadro de astenia e cefaleia temporal bilateral. Sem medicação habitual e sem alergias conhecidas. Como antecedentes pessoais, teve diagnóstico PTT em outubro de 2014, com internamento com 1 mês de duração, com intercorrência trombótica após plasmaferese (enfarte agudo miocárdio). Durante o internamento iniciou Rituximab e realizou um total de 29 sessões de plasmaferese, com remissão completa.

No 2º episódio, apresentava equimoses e petéquias nos membros inferiores bilateralmente, sem outras alterações relevantes ao exame objetivo. Laboratorialmente apresentava anemia (Hb 9,6 g/dL) e trombocitopenia (plaquetas 17 x10⁹/L), com reticulócitos normais; LDH aumentada (610 U/L) mas bilirrubina total normal e teste antiglobulina direto negativo. No esfregaço de sangue periférico encontravam-se alguns esquizócitos, sem outras alterações morfológicas aparentes.

Iniciou Prednisolona e plasmaferese (com um total de 5 sessões), e posteriormente Caplacizumab em D3 e Rituximab em D8 de internamento. Normalização da contagem plaquetar em D5 e da atividade ADAMTS13 em D7, com um total de 9 dias de internamento, sem intercorrências. Atualmente em remissão completa há 7 meses.

Conclusão: O tratamento com Caplacizumab reduziu o número médio de sessões de plasmaferese, o tempo até resposta plaquetária e o tempo médio de internamento hospitalar, assim como descrito na literatura, reduzindo assim a probabilidade de complicações.

PO26 - TERAPÊUTICA DIRIGIDA NA LMA – A NOSSA EXPERIÊNCIA COM GILTERITINIB

Mafalda Vidal Urbano⁽¹⁾; Pedro Moura⁽¹⁾; Bárbara Marques⁽¹⁾; Telma Nascimento⁽¹⁾; Marta Pereira⁽¹⁾; Sandra Marini⁽¹⁾; Emília Cortesão⁽¹⁾

(1) CENTRO HOSPITALAR E UNIVERSITÁRIO DE COIMBRA

Introdução: No ensaio de fase 3 ADMIRAL, a terapêutica com Gilteritinib, inibidor da tirosina-quinase 3 FMS-like (FLT3), demonstrou um aumento na sobrevida global (OS) nos doentes da leucemia mielóide aguda (LMA) em recidiva/refractária (R/R) com mutação FLT3 em comparação com quimioterapia de resgate.

Objetivos: Avaliar a eficácia da terapêutica com Giletritinib (resposta completa (RC), sobrevida livre de progressão (PFS) e OS e a tolerabilidade desta terapêutica na coorte de doentes do nosso centro.

Métodos: Estudo unicêntrico e retrospectivo em doentes com LMA R/R e FLT3 mutado, tratados com gilteritinib entre abril/2021 e março/2023. Realizada caracterização diagnóstica (WHO 2016), estratificação de risco (ELN 2017/2022), avaliação da resposta e perfil de toxicidade.

Resultados: Os 9 doentes que realizaram terapêutica com gilteritinib tinham uma idade mediana de 53,3 anos e 55,6% (n=5) eram do género masculino (55,6%).

33,3% (n=3) tinham diagnóstico de LMA-ARM (alterações relacionadas com mielodisplasia), 33,3% (n=3) LMA, NOS, 22,2% (n=2) LMA com mutação RUNX1 e 11,1% (n=1) LMA com mutação NPM1.

De acordo com a classificação de risco ELN 2022, 88,9% (n=8) apresentavam risco adverso e 11,1% (n=1) apresentava risco intermédio.

O Gilteritinib foi utilizado em 2ª linha em 66,7% (n=6) dos doentes, nos restantes em 3ª linha. 2 doentes (22,2%) não completaram 1 ciclo, apresentando progressão de doença.

33,3% (n=3) dos doentes tinha realizado terapêutica prévia com Midostaurina na 1ª linha, (sendo primariamente refratários) e nenhum deles apresentou resposta ao Gilteritinib.

22,2% (n=2) apresentaram RC, permitindo em 1 deles avançar para consolidação com transplante alogénico. No que concerne as toxicidades, 4 (44,4%) doentes apresentaram toxicidade cardíaca, 11,1% (n=1) hepática (n=1) e 22,2% (n=2) neutropenia febril.

Apenas 1 doente ainda se encontra a fazer terapêutica.

Tempo mediano do diagnóstico até início de Gilteritinib foi de 6,6 (2,3-23,3) meses.

A PFS mediana após início foi de 2,5 (0,0-6,6) meses e a OS mediana de 4,8 (0,6-9,0) meses.

POSTERS

Discussão: Em comparação com o estudo AMIRAL: a OS dos nossos doentes foi inferior (4,8 vs 9,3 meses), a PFS também inferior (2,5 vs 2,8) e a percentagem de resposta completa foi comparável (22,2% vs 21.1%). Contudo, a nossa população apresentava pior prognóstico (risco adverso ao diagnóstico 88,9% vs 26%) e maior proporção de doentes FLT3+ ad iniciium (FLT3 ao diagnóstico 33,3% vs 6,2%). Verificámos menos episódios de neutropenia febril (22,2% vs 45,9%), mas mais hepatotoxicidade. Contudo, esta comparação tem valor limitado dado o pequeno número de doentes. Os doentes que apresentaram refratoriedade à terapêutica com associação de Midostaurina em 1ª linha também apresentaram doença progressiva após tratamento com Gilteritinib.

Conclusão: A nossa população de doentes sob Gilteritinib apresentou OS e PFS inferior ao esperado. É pertinente no futuro o estudo da terapêutica com Gilteritinib em maiores coortes de doentes que apresentem risco adverso ao diagnóstico. A resposta ao Gilteritinib em doentes já previamente tratados com terapêutica com associação de Midostaurina em 1ª linha e que apresentam refratoriedade neste contexto deverá ser melhor caracterizada (nomeadamente a redução da eficácia na obtenção de resposta).

PO27 - SÍNDROME HEMOFAGOCÍTICA SECUNDÁRIA A FÍSTULA ENTEROVESICAL.

Raquel Costa Marques⁽¹⁾; Telma Nascimento⁽¹⁾; Marta Pereira⁽¹⁾; Catarina Geraldês⁽¹⁾

(1) CENTRO HOSPITALAR UNIVERSITÁRIO DE COIMBRA

Introdução: A Síndrome Hemofagocítica (SHF) é um quadro potencialmente fatal caracterizado por hiperinflamação descontrolada causada por disfunção auto-imune primária (genética) ou adquirida (secundária a infeções, neoplasias e patologias autoimunes ou auto-inflamatórias), sendo esta última muito mais frequente. Apresenta-se com um espectro de sintomas inespecíficos que incluem febre persistente, hepatoesplenomegália, exantema petequial, citopenias progressivas, elevação das transaminases, aumento da proteína C reativa com diminuição paradoxal da velocidade de sedimentação eritrocitária, hipertrigliceridémia, hipofibrinogénemia e hiperferritinémia severa, frequentemente associados a disfunção multiorgânica.

Caso Clínico: Descrevemos o caso de uma mulher, 66 anos, sem antecedentes pessoais de relevo, que recorre ao serviço de urgência da área de residência por tonturas, perda de força nos membros inferiores e vertigem com 2 dias de evolução, precedido de edema dos membros inferiores com 3 meses de evolução em agravamento. Referia hipersudorese nocturna frequente, sensação de calor, indisposição e palpitações que agravavam em decúbito, com meses de evolução.

Foi internada por pielonefrite não obstrutiva sem gérmen identificado (com imagem de dilatação pielocalicial em rim único funcionante), apresentando ainda anemia com necessidade de suporte transfusional, trombocitopenia, hepatoesplenomegália, hiperferritinémia e hipertrigliceridémia, CD25 4063.1pg/ml, elevação das enzimas hepáticas e dos parâmetros inflamatórios, e emagrecimento de 15% do peso corporal durante o mês de internamento. Por suspeita de SHF realizou avaliação medular (compatível com hemofagocitose), iniciou dexametasona e foi transferida para o Serviço de Hematologia de um hospital terciário para continuação de cuidados.

O internamento foi complicado de uma Síndrome Confusional Aguda, com e punção lombar, TC e RM cranioencefálicas sem alterações, e eletroencefalograma com Encefalopatia inespecífica. Sendo assumida uma alteração de estado de consciência associada a síndrome hemofagocítica, fez administração intratecal de dexametasona e metotrexato, com evolução clínica favorável, e escalamento para protocolo HLH-94, com dexametasona e etoposido sistémico. A doente teve alta clínica, melhorada, na quarta semana de internamento, com manutenção da terapêutica em ambulatório.

POSTERS

Três semanas após a alta (e com seguimento em consulta, assintomática), recorre ao Serviço de Urgência por quadro de disúria, dor suprapúbica, e febre com 3 dias de evolução. Os exames complementares revelaram novamente dilatação pielocalicial, elevação dos parâmetros inflamatórios, com urocultura com *E. coli* ESBL+ e *E. faecium*, sendo internada com diagnóstico de pielonefrite. Durante o internamento, foi evidenciada eliminação de conteúdo fecaloide franco pela sonda vesical, com perdas extra-algália, levantando suspeita de fístula enterovesical. Realizou TC pélvica que revelou formação abcedada com trajectos fistulosos estabelecendo ligação entre o sigmóide e o tecto vesical, em relação com diverticulite complicada perfurada, e corpos estranhos a nível ileal e cecal (espinhas de peixe). Foi proposta electivamente para sigmoidectomia com cistectomia parcial e recessão do trajecto fistuloso. À reavaliação hematológica, encontrava-se estável do ponto de vista da SHF, sem evidência de recidiva, e sem terapêutica dirigida à mesma, assumindo-se o abscesso intra-abdominal como causa primária.

Conclusões: A SHF é um quadro clínico subdiagnosticado de alta morbilidade e mortalidade. É essencial a pesquisa activa e exclusão de causas secundárias ocultas e correção das mesmas para resolução do quadro.

PO28 - HIGH-DIMENSIONAL SPECTRAL CYTOMETRY CHARACTERIZATION OF THE CIRCULATING IMMUNE CELL PROFILE IN ASYMPTOMATIC AND SYMPTOMATIC MYELOMA PATIENTS

Joana Caetano⁽¹⁾; Filipa Barahona⁽¹⁾; Manuel Neves⁽¹⁾; Bruna Velosa Ferreira⁽¹⁾; Sónia Leocádio⁽¹⁾;
Ana Queirós⁽¹⁾; Paulo Lúcio⁽¹⁾; Cristina João⁽¹⁾
(1) FUNDAÇÃO CHAMPALIMAUD

Background: Immune system dysfunction is a hallmark of multiple myeloma (MM), contributing to disease progression and therapy resistance. Efforts to understand the immune landscape are essential but most studies detail the immune bone marrow niche, implying an invasive approach. The use of liquid biopsies to assess patients' peripheral immune populations with high sensitivity is currently possible due to novel multi-parameter, single-cell analysis such as full-spectrum flow cytometry. This research may enlighten situations of immune suppression while revealing alterations associated with prognosis.

Aim: The objective of this study is to widely characterize the profile of peripheral immune cells enabling the detection of relevant variations throughout myeloma disease stages.

Methods: The cohort is composed of 5 healthy donors (HD 2 female; median age 70), 22 monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS; 12 female; median age 68), 7 smoldering myeloma (SMM; 2 female; median age 70) and 12 MM (6 female; median age 63) patient. Peripheral blood samples were evaluated in a 5-laser Aurora spectral flow cytometer (Cytek) using a 25-antibody panel. Data and statistical analyses were performed in FCS Express 7 (De Novo Software).

Results: Distribution and functional state of the circulating immune populations were different across myeloma disease stages. MGUS patients showed higher levels of naïve and central memory CD4 T cells compared to SMM and MM. These cell subsets showed lower levels of CD127 and PD1, and higher of CD38. Overall, the expression of PD1 in effector cell subsets was higher in MM patients compared to HD and MGUS (1.5x and 2x, respectively). In both active and indolent MM there was a higher frequency of regulatory T cells (1.5x) with higher levels of PD1 and lower of CD38. Central memory CD8 T cells were lower in MM patients compared to other groups. MGUS showed higher frequencies of naïve, early-like and early effector CD8 T cells than MM. MM patients showed higher levels (1.5x) of terminal effector cells with CD28 expression. The naïve B cell subpopulation was increased in MGUS compared to SMM (1.5x) and overt MM (1.5x). Memory B cells were mostly IgD- in all patients, with the frequency of plasmablasts being higher in MM. Higher levels of NK and NKT cells were identified in MM compared to SMM or MGUS, with less

POSTERS

differentiated phenotype. Gamma-delta T cells were also increased (1.5x) in MM. Higher levels of dendritic cells were found in MM with the CD11c+CD16- subpopulation being more frequent. Classical monocytes were increased in MM, with lower expression of CD38. In general, the differences in the various immune cell populations' abundance and activation status seem to indicate higher exhaustion and less naiveness phenotype in active MM, reflecting the immunocompromised state of these patients.

Summary/Conclusions: These results suggest the potential application in routine practice of high-dimensional spectral immune profile as a biomarker for clinical monitoring. Further investigation is ongoing to increase the study cohort and address the clinical benefit of its use in a combined liquid biopsy approach and as a tool to informed- treatment selection.

PO29 - INSIGHTS ON HOW MULTIPLE MYELOMA-DERIVED EXTRACELLULAR VESICLES MODULATE THE BONE MARROW IMMUNE NICHE

Raquel Lopes⁽¹⁾; Joana Caetano⁽¹⁾; Filipa Barahona⁽¹⁾; Bruna Velosa Ferreira⁽¹⁾; Diana Lourenço⁽¹⁾; Ana C. Queirós⁽¹⁾; Rune Matthiesen⁽¹⁾; Emilie Arnault Carneiro⁽¹⁾; Karine Serre⁽¹⁾; Cristina João⁽¹⁾
(1) FUNDAÇÃO CHAMPALIMAUD, LISBOA

Background: Multiple myeloma (MM) is a plasma cell cancer mainly occurring in the bone marrow (BM) that affects 176 thousand people per year worldwide. Cell-to-cell communication between myeloma and immune cells plays a role in myelomagenesis. In this context, MM-derived extracellular vesicles (EVs) have emerged as key mediators of this communication.

Aim: To decipher the immune alterations induced by MM-derived EVs.

Methods: The MM mouse cell line MOPC315.BM was transfected to express green fluorescent protein (GFP) and intravenously injected into immunocompetent BALB/c mice. When paralysis of hind limbs occurred, BM infiltration was assessed by histology, magnetic resonance imaging (MRI), multiparametric flow cytometry, RT-qPCR and SORT-Seq. MOPC315.BM-derived EVs were isolated, fluorescently labelled and retro-orbitally injected into mice three times a week, for three consecutive weeks. Proteomic analysis was performed by mass spectrometry.

Results: This MM cell line induced paralysis in a median of 25 days post-injection due to spinal cord compression, as shown by histology and MRI techniques. Upon tumor-induced symptoms, BM analysis of MM-bearing mice revealed a dual phenotype: decrease in the expression of SIRP, NDUFC2 and an increase of IL-1b in macrophages; lower expression of CD27 and higher expression of CD44 by gd T cells; and an increase of PD-1+ NK cells. We found also a decrease of CD4+CD25+; CD4+CD62L+ and CD4+TCF7+ and an increase of CD4+IFN-g+, CD4+Granzyme b+, CD4+Perforin+, CD4+OX40+, CD4+CD27+, CD4+CTLA-4+, CD4+Lag3+, CD4+Tim3+, CD4+PD-1+ or CD4+IL-10+. Regarding CD8+T cells, we found a decrease of CD27+ expression together with an increase of IFN-g+Granzyme b+Perforin+CD44+CTLA-4+Lag3+PD-1+IL-10+NDUFC2+ and TOX+. Even with this anti-tumor signature there was no prevention of MM development. To test whether MM-derived EVs would change disease manifestation, mice were retro-orbitally injected with MM-derived EVs before tumor cells implantation. The kinetics of paralysis was similar; nonetheless, the surfaceome of lymphoid T cells in the treated cohort of mice revealed an increase in the expression of CD25 by gd T cells, decreased expression of PD-1 by NK cells, a decrease in the

POSTERS

expression of CD27 with an increase of CD25 by CD4+T cells; and a decrease of CD27+CD44+ CD8+T cells, compared with MM-bearing mice. By exploring the proteomic content of EVs from the MOPC315.BM cell line and also the EVs from the BM of MM-bearing mice by mass spectrometry, we found upregulated proteins involved in ribosomal function, namely SDCBP, NCL or the RPL5, compared to controls. By contrast, downregulated proteins in the EVs were associated to metabolic function and immune response, such as the ASNS, STAT3, or the APRT.

Conclusion: Overall, our results suggest the involvement of MM-derived EVs protein content as drivers of BM immune niche modulation. This strengthens the prospect of MM-derived EVs as a resource to understand MM pathophysiology and possible therapeutic target.

PO30 - MULTIPLE MYELOMA AND ADJACENT NK CELLS EXPRESS THE MACHINERY TO INTEGRATE NEURONAL SIGNALS

Ana Filipa Barahona Afonso⁽¹⁾; Roel Klein Wolterink⁽²⁾; Antonio Galzerano⁽¹⁾; Emilie Carneiro⁽¹⁾; Joana Caetano⁽¹⁾; Bruna Velosa Ferreira⁽¹⁾; Ana Queirós⁽¹⁾; Cristina João⁽¹⁾
(1) FUNDAÇÃO CHAMPALIMAUD (2) MAASTRICHT UNIVERSITY MEDICAL CENTER+

Introduction: Multiple Myeloma (MM) is characterised by the accumulation of monoclonal plasma cells in a dynamic and permissive bone marrow (BM) microenvironment. Most immune cells express neuronal receptors and neurotransmitters, allowing the crosstalk between these multicellular networks. Neuronal-immune cells interactions have been reported to regulate organ physiology and contribute to cancer. NK cells are important players in MM, and adrenergic signals were shown to directly influence NK function. Retrospective studies show that MM patients under β -adrenergic receptor blockers have significantly improved prognosis and overall survival. However, MM-neuronal interaction, in the suppressive tumour microenvironment, remains poorly understood.

Objectives: To unravel how neuronal innervation is altered in MM BM microenvironment and how neuronal interactions directly influence MM function and immune cells infiltration in the tumour microenvironment.

Methods: Immunohistochemistry was used to characterise and quantify neuronal fibres in BM biopsies of newly diagnosed MM patients and controls (n=5+5). Expression of pan-neuronal marker (TUBB3), and specific markers for adrenergic (TH) and cholinergic (VACHT) neurons were scored. BM patients' biopsies without disease infiltration were used as controls.

Publicly available scRNAseq datasets of MM-infiltrating immune cells and controls were used to determine the transcription of genes encoding the machinery to integrate neuronal signals. NK cells from BM of newly diagnosed MM and control patients (n=13+7) were identified using R software and transcribed neuronal receptors were determined.

Results: We observed a 2-fold increase in neuronal fibres in MM patients compared to controls. Like in BM from controls, MM BM was mainly innervated by adrenergic (TH+) fibres (Fig1).

Interestingly, 1.2% of MM cells transcribed ADRB2 receptor for adrenaline, the main sympathetic neurotransmitter, in contrast to 0% in BM control plasma cells. Furthermore, MM cells extensively transcribed GRIK4, a major excitatory neurotransmitter, described to induce B cell proliferation and Ig production: 3.9% (19.5-fold) compared to normal plasma cells from controls.,

POSTERS

NK cells were the main population expressing neuronal adrenergic receptors. ADRB1 and ADRB2 were present in 2.1% vs 4.5% respectively, of total NK cells within the BM of MM patients in comparison to controls (0.8% vs 3.4%). MM patients have a 2.6-fold ADRB1 and ADRB2 1.3-fold increase compared to control, supporting the idea that adrenalin influences NK cells function via adrenergic receptors in MM BM niche. In addition, CD38neg NK cells, a residual NK subpopulation displaying high proliferative potential and functional antitumor activity, was slightly more abundant in control BM (48.7% of total NK cells vs 42.2% in MM BM). ADRB2 transcription in this subset was higher in MM patients vs control (10.1% vs 7.7%). Results suggest that BM from MM patients have a disadvantageous NK profile and are more susceptible to influence of adrenergic activity.

Conclusions: MM Patients' BM is more innervated than controls due to sympathetic contribution. A higher number of sympathetic fibres and a consequent increase of adrenaline/noradrenaline production may trigger the transcription of adrenergic receptors in MM and NK cells. These discrete but important results may reflect differences in the spatial distribution of MM and adjacent and remote immune and neuronal cells in the MO.

ORGANIZAÇÃO



PATROCINADORES CIENTÍFICOS



PATROCINADORES INSTITUCIONAIS



GRUPO PORTUGUÊS
DE LINFOMAS



SPH SOCIEDADE
PORTUGUESA
DE HEMATOLOGIA

AGÊNCIA OFICIAL

factorchave[®]
marketing integrado

FactorChave.pt

(+351) 21 4 30 7 740
secretariado@factorchave.pt

