

725

ESTUDOS CITOGENÉTICOS DOS GENES CMYC, BCL2 E BCL6 EM LINFONODO: IMPORTÂNCIA DO ESTUDO EM MATERIAL FRESCO

R.M.S.O. Safranauskas^a, C.H. Garcia^a, D. Borri^a, R.K. Kishimoto^a, M.G. Cordeiro^{a,b}, C. Dobo^a, D.C. Pasqualin^a, R.Z. Filippi^a, A.M.P.S. Bezerra^a, E.D.R.P. Velloso^{a,b}

^a Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa, Hospital Israelita Albert Einstein (IIEP-HIAE), São Paulo, SP, Brazil

^b Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, São Paulo, SP, Brazil

Objetivo: Comparar os resultados do cariótipo e os rearranjos de cMYC, BCL2 e BCL6 detectados pelo FISH realizados em tecidos parafinados e em células fixadas em ácido acético-metanol de amostras de linfonodos com suspeita de diagnóstico de Linfoma Não Hodgkin (LNH). **Matériaiais e métodos:** Foram utilizadas 4 amostras de linfonodos, sendo dois casos de Linfoma difuso de grandes células B, um caso de Linfoma do manto e um carcinoma metastático. Para o cariótipo, células de amostras de linfonodos foram obtidas após desagregação mecânica, cultivadas por 24 horas sem mitógeno e 72 horas com forbol-12-miristato 13-acetato (TPA), colhidas e submetidas ao bandamento G de acordo com o protocolo padrão. Utilizamos as mesmas sondas cMYC, BCL2, BCL6 (Break-apart, Cytocell®) para os estudos por FISH em tecidos parafinados em formalina tamponada a 10% e em células fixadas em ácido metanol-acético. Em alguns casos, outras sondas foram usadas para confirmar os achados do cariótipo, por exemplo, FISH para detectar o rearranjo do gene IGH pela sonda CCND1-IGH. Os estudos pela técnica de FISH foram realizados de acordo com as recomendações do fabricante, bloco de parafina com seção de espessura de 2 µm ou células de suspensão. Cem células foram analisadas manualmente em cada caso por dois biólogos e revisadas por hematopatologistas especializados. **Discussão e conclusão:** Os resultados dos cariótipos foram complexos, mostrando rearranjo IGH em 2 casos, sendo 1 com t (11;14) CCND1/IGH. Estudou-se o FISH para t (11;14) ou rearranjo IGH nestes casos tanto em tecido parafinado como em suspensão, que se mostraram concordantes. Os rearranjos dos genes cMYC, BCL2 e BCL6 em parafina e em células em suspensão foram negativos, e em 3 casos mostraram cópias extras do gene BCL6, sendo concordantes com trissomia do cromossomo 3 observado em cariótipo. Embora não tenhamos conseguido amostras com LNH double e/ou triple-hit para comparar esses rearranjos em células em suspensão, observamos concordância no estudo por FISH do rearranjo IGH e cópias extras de BCL6 em tecido parafinado e em células em suspensão. Além disto, o estudo por cariótipo foi capaz de determinar anormalidades importantes para caracterização de subtipos genéticos dos LNH, apesar de importante, não tem sido utilizado como rotina pela dificuldade de obter amostras frescas de biópsias. Na prática clínica, a detecção do LNH double e/ou triple-hit pode direcionar terapêutica.



<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.727>

726

GRÂNULOS VERDES EM NEUTRÓFILOS: QUAL O SIGNIFICADO CLÍNICO DA PRESENÇA DOS GRÂNULOS DA MORTE?

B.C. Leal, F.C.F. Pereira, L.A.M. Oliveira, S.C. Mourad, C.F. Oliveira, A.F. Sandes, N.C. Maretto, J.M. Carrilho

Grupo Fleury, Brasil



Introdução: A análise morfológica de neutrófilos é uma parte imprescindível do hemograma, sendo muito útil na avaliação de infecções, doenças hereditárias e neoplasias hematológicas. A identificação de granações tóxicas no citoplasma dos neutrófilos é um forte indicio laboratorial associado a quadro de infecção bacteriana. Outros achados como vacuolização citoplasmática e corpúsculos de Dohle também favorecem esta hipótese. Por outro lado, a presença de hipogranulação e/ou hiposegmentação dos neutrófilos sugere a presença de displasia granulocítica. Em outras situações, a presença de inclusões de cor cinza azulada é um forte indicativo de portadores da síndrome de May Hegglin, caracterizados por depósitos de produtos de lisossomos secundários à mutação genética MYH9. Na síndrome de Chediak Higashi também podemos encontrar a presença de inclusões grosseiras em neutrófilos característicos desta doença genética. Mais recentemente, um novo tipo de grânulos de coloração azul-esverdeada foi descrito em neutrófilos de pacientes com insuficiência hepática e iminência de morte, recebendo a nomenclatura de “grânulos da morte”. O objetivo deste trabalho, é fazer uma revisão da literatura sobre este novo tipo de granulação neutrofílica e discutir os seus principais achados. **Discussão:** Os dois primeiros casos de neutrófilos com grânulos verdes foram descritos em 2009 por Harris et, al. Neste trabalho, embora o autor não explique a origem dos grânulos verdes em neutrófilos, ele faz uma associação com a presença de lesão hepática, uma vez que os pacientes apresentavam dosagens de AST, ALT e bilirrubinas alteradas. Os grânulos verdes foram observados em uma pequena parcela dos neutrófilos (menos que 10% destas células); e por último, mas talvez a informação mais importante, é que os pacientes que apresentaram tais grânulos em sangue periférico foram a óbito em até 24 horas após o achado morfológico. Após este primeiro relato, vários outros estudos foram publicados com o objetivo de elucidar o significado do achado da granulação azul-esverdeada em neutrófilos. Em 2015, Hodson et al. relatou uma das maiores séries de casos, que analisou 20 casos com grânulos verdes brilhantes em neutrófilos: 19 dos 20 pacientes apresentavam marcadores hepáticos alterados; e 13 casos foram a óbito, sendo que doze ocorreram em até 72 horas após a detecção da anormalidade citomorfológica. Até o momento, mas que 70 casos foram publicados na literatura. Análises histológicas demonstraram que os grânulos verdes são compostos por lipofusina, uma espécie de pigmento de desgaste celular secretado por células hepáticas. Nestas circunstâncias, estes pigmentos são fagocitados pelos neutrófilos, que posteriormente migraram para a corrente sanguínea levando o material em seu citoplasma. Mais