

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). **Matérias 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 neutrofilica 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 lipofuscina, 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

recentemente, os grânulos verdes foram descritos em casos graves de pacientes com COVID-19. **Conclusão:** A presença de grânulos verdes intracitoplasmáticos em neutrófilos são associados a presença de quadros clínicos graves. A associação deste achado morfológico com elevada taxa de mortalidade mostra a importância de se relatar esta inclusão neutrofilica peculiar no resultado dos hemogramas, especialmente em pacientes com insuficiência hepática.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.728>

727

HEMOGLOBINOPATIAS GRAVES EM RECÉM-NASCIDOS NO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL



A.C.M. Berti^a, G.S. Parente^a, T.C. David^a, J.S. Palmieri^b, M. Zanchin^b, I.C. Pereira^b, E.B. Júnior^a

^a Laboratório de Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campus de Três Lagoas (UFMS/CPTL), Três Lagoas, MS, Brasil

^b Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais, Instituto de Pesquisa e Educação de Campo Grande (APAE/IPED), Campo Grande, MS, Brasil

Objetivo: Relatar a incidência de hemoglobinopatias graves em recém-nascidos (RN) identificados pelo Serviço de Triagem Neonatal do estado de Mato Grosso do Sul (MS) – APAE/Iped-Campo Grande. **Material e métodos:** Estudo transversal, descritivo e quantitativo, realizado entre janeiro de 2019 e fevereiro de 2020 com 42.032 RN do MS por meio do Programa Nacional de Triagem Neonatal. Nesse período, 1073 amostras com hemoglobinas anormais foram analisadas por meio de técnicas eletroforéticas, cromatográficas (HPLC-Ultra2 e Genesys, Trinity Biotech) e moleculares (RFLP-PCR, PCE-RE e GAP-PCR) pela APAE/Iped-Campo Grande e pelo Laboratório de Genética e Biologia Molecular da UFMS/CPTL, para rastreamento de hemoglobinopatias graves. Os dados obtidos após as análises foram utilizados para observação da incidência da mutação S no MS e posterior comparação com os números dos outros estados do país apresentados pela literatura. **Resultados:** As análises iniciais e complementares levantaram 1073 RN (idade média: 12,5 dias) apresentando Hb anormais, sendo os seguintes perfis identificados: 792 (73,8%) HbFAS, 238 (22,2%) HbFAC, 12 (1,1%) HbFSA, 10 (0,9%) HbFCA, 7 (0,7%) HbFAD, 4 (0,4%) HbFS, 4 (0,4%) HbFSC, 1 (0,1%) HbFC e 5 (0,5%) outros perfis de Hb não detectados. **Discussão:** As hemoglobinopatias são consideradas problema de saúde pública no Brasil devido à sua alta morbidade e mortalidade. Elas são caracterizadas por alterações hereditárias que afetam a característica da hemoglobina (Hb) normal, podendo ser estruturais (hemoglobinas variantes) ou quantitativas, envolvendo a deficiência de síntese das globinas (talassemias). A partir dos testes confirmatórios, foi possível diagnosticar 20 RN com doença falciforme (DF), 792 RN com traço falciforme e 256 com outros perfis de Hb. Os dados levantados demonstram que o traço para Hb S é o mais incidente, seguido pelo traço da Hb C, sendo que ambos não apre-

sentam repercussões clínicas significativas. Já para os casos sintomatológicos, destaca-se os pacientes com DF de diferentes genótipos (Hb SS, Hb SC e Hb S/Beta+ talassemia). A incidência da mutação S foi de 1:52 entre os RN triados. Segundo valores apresentados pela literatura, estados com maiores concentrações de afrodescendentes relatam maior incidência da mutação, como Bahia (1:17) e Rio de Janeiro (1:21). **Conclusão:** O Programa Nacional de Triagem Neonatal exerce papel no diagnóstico das hemoglobinas anormais em RN, principalmente de fenótipo grave, para direcionamento clínico adequado, ainda em fase pré-sintomática. A partir da Triagem Neonatal é possível rastrear os perfis de Hb anormais em RN e direcionar o diagnóstico molecular conclusivo de hemoglobinopatias graves. A caracterização precisa dos perfis de Hb possibilita, aos profissionais de saúde, conduta terapêutica apropriada para os casos graves e dispensa de acompanhamento para os assintomáticos.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.729>

728

ILHAS ERITROBLÁSTICAS NA LEUCEMIA AGUDA



J.B.A. Neto, V.M. Sthel, P. Vicari, G.M. Sales, F.R. Cardoso, V.L.P. Figueiredo

Serviço de Hematologia, Hospital do Servidor Público Estadual (IAMSPE), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A eritropoiese é organizada em ilhas eritroblásticas (Is-Erit), nicho especializado, no qual os precursores eritróides proliferam e se diferenciam. Consistem em um macrófago central que estende as saliências citoplasmáticas a um anel de eritroblastos circundantes. A interação das células nas Is-Erit é essencial para os estágios inicial e tardio da maturação eritróide. Apesar do papel do macrófago parecer ser essencial para a diferenciação dos precursores eritropoéticos, seu significado na anemia, principal sintoma das síndromes mielodisplásicas (SMD), e nas leucemias agudas permanece incerto. Estudos avaliando biópsias medulares de SMD, detectaram alterações de Is-Erit em uma proporção significativa e associada à anemia grave e ao pior prognóstico da doença. **Objetivos:** Relatar e discutir um caso de leucemia eritroblástica aguda com acentuada quantidade de IS-Erits medular. **Relato de caso:** Homem, 79 anos cardiopata, hipertenso e com fibrilação atrial crônica procura serviço médico por perda ponderal de 6 kg em 1 mês. Laboratorialmente apresentou: Hb 9,7 g/dL; Ht 28%; Leucócitos 7.650 mm³ (Neutrófilos 918 mm³) com 9% de blastos; Mielograma Hiper celular com acentuada diseritropoese, presença de ilhas eritroblásticas frequentes, macrófagos contendo resíduos celulares intracitoplasmáticos e 20% de blastos mielóides; Imunofenotipagem com aumento de precursores eritróides e positividade na população blástica dos marcadores CD2, CD7 parcial, CD13, CD33, CD34, CD56, CD117, HLA-DR; Cariótipo 45,XY,t(34)(q21q31),-7[20]; FISH para deleção da região 7q22 positivo para monossomia em 90,5% das células. Devido a condição clínica e comorbidades prévias associadas, o paciente não foi candidato a terapêutica agressiva, recebendo suporte clínico e transfusional. Infelizmente, o óbito ocorreu