

UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
CAMPINAS

BC/9201
IB/80021

MESTRADO

INSTITUTO DE BIOLOGIA

1988

ELIZABETH MARIA COSTA DE OLIVEIRA

*Este exemplar corresponde à redação final da
tese defendida pela candidata Sra. Elizabeth Maria Costa
de Oliveira e aprovada pelo Conselho Julgador
Campus, 04 de janeiro de 1988
Ass. *

ESTUDO CROMOSSÔMICO EM SÍNDROMES MIELODISPLÁSICAS

Tese apresentada ao Instituto de
Biologia da Universidade Estadual
de Campinas para a obtenção do
Título de Mestre em Ciências
Biológicas na área de Genética.

CAMPINAS

1988

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Classif. T/UNIC/mt
utor OL4e
Ex.
ambo BC/ 9201
IB 769

IB/ 80021
BC/ 9201

ORIENTADORA: Profa. Dra. CHRISTINE HACKEL
Profa. Assistente Doutora do Departamento
de Genética Médica da Faculdade de Ciências
Médicas da Universidade Estadual de
Campinas.

Aos meus pais e ao Leandro

AGRADECIMENTOS

A execução deste trabalho não teria sido possível se a autora não houvesse contado com a colaboração e amizade dos professores, funcionários e colegas da Universidade Estadual de Campinas.

Não tendo palavras que possam expressar a minha gratidão, limito-me a mencioná-los com a certeza de que serei compreendida.

- Prof.Dr. Walter Pinto Júnior, Depto. de Genética Médica da Faculdade de Ciências Médicas.
- Professores do Depto. de Genética Médica da Faculdade de Ciências Médicas, na pessoa do Prof.Dr. Antônio Sérgio Ramalho.
- Prof.Dr.Cármino Antônio de Souza, Dra. Sara Terezinha Olalla Saad, Dr.Olavo Cláudio Ferreira Amaral Filho, Dra. Regina Yoko, e demais médicos da Disciplina de Hematologia do Depto. de Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas.
- Prof.Dr. Rolf Dietter Illg, coordenador da subcomissão de pós-graduação de Genética do Instituto de Biologia
- Profa.Dra. Anne Heidi Dolder, Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biologia.

- Dra. Maria de Lourdes Rios Barjas, ex-residente da Disciplina de Hematologia do Depto. de Clínica Médica Da FCM e atual docente do Departamento de Clínica Médica Da Faculdade de Medicina de Marília.
- Funcionários do Depto. de Genética da FCM: Antônio Conceição Costa, Emílio Sambo Júnior, Henry Norberto Ciolfi, Inára Ignacchitti de Sena, Jossimar Aparecida Alves do Nascimento, Maria Cláudia Furlan, Maria Madalena Vasconcelos Rosa, Sônia Aparecida Alípio dos Santos, e em especial à Dona Geralda Luzia Alves.
- Colegas de pós-graduação, em especial à Andréa Trevas Maciel, Antonia Paula Marques de Faria, Carmen Sílvia Bertuzzo Martins, Denise Pontes Cavalcanti e Rosa Chelminski Teixeira.
- Srta. Maria Tereza de Paula e Sra. Antônio Maria Ferreira Lima, funcionárias do Centro de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biologia.
- Sra. Hortência Alves Pereira Marques, bibliotecária da Fundação Maria Cecília, São Paulo - SP.
- Ana Maria, Renata, Alexandra, Denise e Wilson Norato, minha querida família campineira.
- Gérson Luiz da Silva Ritter, Marcelo Damato, Maria do Céu Rafael, Setsuko Asanuma e Valéria Reginatto, amigos de todos os momentos.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

- A Profa. Dra. Christine Hackel, orientadora e amiga.
- A Dasdorí, minha querida avó e companheira.

Este trabalho foi realizado no Departamento de Genética Médica Da Faculdade Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, com auxílio da Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

INDICE

I. Introdução	1
II. Objetivos	9
III. Material e Métodos	10
III.1. Casuística	10
III.2. Metodologia	12
III.2.1. Técnica de Preparação Direta	12
III.2.2. Técnica de Cultura de 24 Horas	13
III.3. Análise Cromossômica	14
III.3.1. Coloração Usual	14
III.3.2. Banda G	14
III.3.3. Banda Q	15
III.3.4. Critérios de Classificação	15
III.4. Análise Estatística	16
IV. Resultados	17
V. Discussão	35
V.1. Alterações Numéricas	37
V.1.1. Hipodiploidia	37
V.1.2. Monossomia do cromossomo 7	39
V.1.3. Poliploidia	42
V.2. Alterações Estruturais	46
V.2.1. Microcromossomo	47
V.2.2. Cromossomo 22q-	48
V.2.3. Translocações	50
V.3. Alterações Múltiplas	54

V.4. Análise do cariótipo como fator prognóstico nas SMDs	55
V.1. Conclusões	57
VII. Resumo	58
VIII. Summary	60
IX. Bibliografia	62
Apêndice	78

I. INTRODUÇÃO

Síndromes mielodisplásicas (SMDs) são alterações hematológicas adquiridas com defeitos na maturação, na divisão celular e na proliferação das séries eritroblástica, granulocítica e megacariocítica, que podem ser identificadas em cerca de 25 a 50% dos pacientes que desenvolvem leucemia não linfocítica aguda (LNLA) (Saarni & Linman, 1973; Dreyfus, 1976; Koeffler & Golde, 1980). As SMDs ocorrem predominantemente em indivíduos do sexo masculino com idade superior a 50 anos, sendo de evolução crônica e refratária a várias modalidades de tratamento (Saarni & Linman, 1973; Dreyfus, 1976). Nesses casos, a medula óssea é, geralmente, hipercelular e apresenta alterações morfológicas nas células precursoras, mais acentuadas nos megacariócitos e nos granulócitos (Koeffler & Golde, 1980).

A transformação leucêmica ocorre, na maioria das vezes, dentro de um a dois anos após o surgimento das primeiras alterações hematológicas (Linman & Bagby, 1976). As causas mais comuns de óbito, em pacientes portadores de SMD antes do pleno desenvolvimento da leucemia, são as infecções e hemorragias decorrentes, respectivamente, da neutropenia e da trombocitopenia (Linman & Bagby, 1978). Com o estabelecimento da leucemia aguda observa-se uma diminuição da sobrevivência desses pacientes quando comparados com aqueles portadores de leucemia *de novo*.

Apesar das SMDs precedentes à manifestação da leucemia não linfocítica aguda serem mais frequentes em pacientes com idade avançada, elas também podem se manifestar em crianças onde os sintomas clínicos e achados hematológicos são semelhantes àqueles des-

critos em adultos (Wegelius, 1986). Tais crianças podem desenvolver ainda leucemia linfocítica aguda (LLA), com aplasia transitória da medula óssea que usualmente envolve as três linhagens celulares. Existem, contudo, casos isolados nos quais a medula óssea apresenta hiperplasia apenas da série eritroblástica (Sills & Stockman, 1981; Saarinen & Wegelius, 1984). Entre os pacientes pediátricos que evoluem para LLA observa-se uma maior incidência do sexo feminino, ao contrário do que acontece com aqueles que desenvolvem LNLA (Wegelius, 1986).

Nos últimos anos, tem-se observado que pacientes de diversas faixas etárias que são tratados com radioterapia e/ou certas drogas citotóxicas, particularmente agentes alcoilantes, possuem um alto risco de desenvolver LNLA (Tricot e cols., 1985; Wegelius, 1986). Tal neoplasia pode ser precedida, por meses ou anos, por uma SMD denominada secundária (Anderson e cols., 1981; Pedersen-Bjergaard & Larsen, 1982; Frisch & Bartl, 1986). As manifestações das SMDs secundárias variam de acordo com: 1) idade do paciente; 2) tipo e quantidade de radiação e/ou droga utilizados e 3) duração do tratamento. De acordo com Galton (1986), as displasias morfológicas características observadas nas células do sangue periférico e da medula óssea são indistinguíveis daquelas presentes nas SMD primárias, mas a medula óssea é, frequentemente, hipocelular e fibrótica.

As SMDs foram inicialmente descritas como anemia pré-leucêmica por Hamilton-Paterson (1949) e preleucemia por Block e colaboradores (1953). Desde então esses termos passaram a ser utilizados como sinônimos por Saarni & Linman (1973) e Linman & Bagby (1978), entre outros. Thiele e colaboradores (1980) e Georgii e colaboradores (1981) propuseram a substituição das designações anteriores por dis-

plasia mielóide, uma vez que os estudos realizados por esses autores permitiram constatar a existência de alterações morfológicas comuns na medula óssea de pacientes que evoluíram para LNLA ou leucemia mielóide crônica (LMC). Em 1982, o grupo cooperativo francês-americano-britânico (FAB) (Bennett e cols.) introduziu o termo síndrome mielodisplásica que passou a ser utilizado pela maioria dos pesquisadores (Nielsen e cols., 1984; May e cols., 1985; Frisch & Bartl, 1986 entre outros). Alguns autores porém continuaram utilizando as denominações anteriores (Geary, 1983; Degnan e cols., 1984; Van Dijk e cols., 1985).

Em 1986, Galton concluiu que os termos preleucemia e mielodisplasia não deveriam ser utilizados como sinônimos de SMD. Segundo o autor, o termo preleucemia deve ser excluído porque também é utilizado para descrever estados que precedem o reconhecimento clínico da LNLA, os quais devem ser descritos como leucemia precoce. Em relação à mielodisplasia, o autor considera que esse termo define uma constelação de anormalidades morfológicas observadas em todas as linhagens celulares, ao passo que nas SMDs, podem estar comprometidos um ou mais compartimentos celulares. Portanto, o termo mais apropriado para designar o grupo de pacientes portadores de citopenias periféricas associadas à hemopoiese ineficaz, com medula óssea geralmente hipercelular e alto risco de transformação leucêmica é o de síndromes mielodisplásicas.

As SMDs foram classificadas, de acordo com os critérios propostos pelo grupo FAB (Bennett e cols., 1982), em 5 tipos: 1) anemia refratária (AR), com reticulocitopenia e percentual de blastos inferior a 1% em sangue periférico (SP), alterações diseritropoiéticas com hiperplasia eritróide com quantidade de blastos inferior a 5% na

medula óssea (MO); 2) anemia refratária com sideroblastos em anel (ARS), com um percentual de sideroblastos em anel superior a 15% dos eritroblastos da MO; 3) anemia refratária com excesso de blastos (AREB), com uma quantidade de blastos inferior a 5% em SP, hiperplasia de granulócitos e/ou eritroblastos, evidências de disgranulopoiese e/ou dismegacariocitopoiese e percentual de blastos variando entre 5 e 20% na MO; 4) anemia refratária com excesso de blastos em transformação leucêmica (AREBt), com percentual de blastos superior a 5% em SP e entre 20 e 30% em MO, podendo apresentar bastonetes de Auer; 5) leucemia mielomonocítica crônica (LMMC), com um número absoluto de monócitos superior a $1 \times 10^9/l$ no SP, aumento na maturação granulocítica com ou sem evidências de disgranulopoiese, aumento significativo nos precursores de monócitos (promonócitos) e quantidade de blastos inferior a 5% na MO. De acordo com esses critérios, um percentual de blastos superior a 30% em medula óssea caracteriza a LNLA.

Embora os trabalhos realizados sobre SMD procurem deixar bem claro que a origem dessas entidades deriva de clones neoplásicos atípicos não diferenciados, pouco se sabe sobre os fatores responsáveis pela transformação leucêmica (Schmalzl & Hellriegel, 1979; Degnan e cols., 1984). No entanto, é de consenso até o momento que os estudos cromossômicos em medula óssea são indicadores sensíveis na detecção de clones celulares neoplásicos (Schmalzl & Hellriegel, 1979; Georgii e cols., 1981; Degnan e cols., 1984; Borgstroem, 1986).

Estudos cromossômicos em medula óssea têm sido realizados com o objetivo de demonstrar a utilidade da análise do cariótipo no diagnóstico e prognóstico das SMDs (Nowell, 1971; Jensen & Philip, 1973; Lisker e cols., 1973; Pierre, 1974). Dados relativos a 233

pacientes citopênicos, examinados por Pierre (1974), mostraram a presença de anomalias cromossômicas em 76 (32%), dos quais 21 evoluíram para leucemia aguda (LA). Dos 58 pacientes examinados por Nowell (1978), 22 (38%) apresentaram alterações cromossômicas e 11 deles evoluíram para óbito num período de 6 meses, sendo que 9 faleceram subsequentemente à manifestação de LA.

Dentre os casos de pacientes citopênicos relatados na SEGUNDA REUNIÃO INTERNACIONAL SOBRE CROMOSSOMOS E LEUCEMIAS (1980) 51% apresentaram alterações cromossômicas. As anomalias mais frequentes foram a monossomia total ou parcial do cromossomo 7, a trissomia do cromossomo 8 e perdas intersticiais do cromossomo 5. Tais anomalias apresentaram-se isoladas ou associadas a outras alterações cromossômicas. Nessa ocasião, observou-se também que tanto os pacientes portadores de metáfases anormais (AA), quanto os com metáfases normais e anormais (NA) progrediam mais rápida e frequentemente para LNLA, apresentando menor sobrevida e resposta terapêutica menos satisfatória do que o grupo de pacientes com metáfases normais (NN). Esses últimos dados foram posteriormente confirmados em estudos realizados por Nowell (1982), Ayrand e colaboradores (1983) e Todd & Pierre (1986).

Nowell (1981) examinando 80 pacientes com SMD, verificou alterações cromossômicas em células da medula óssea em 31 (39%), dos quais 25 (81%) progrediram para L.A. Nos 49 pacientes que apresentaram cariótipo normal, a transformação leucêmica ocorreu em 18 (37%). Os dados de Larripa e colaboradores (1983), referentes ao estudo citogenético de 26 pacientes caucasóides, mostraram 18 (69%) pacientes com alterações numéricas e/ou estruturais, sendo que, dentre esses, 10 (55%) evoluíram para LNLA. Dos oito pacientes portadores de cariótipo normal apenas dois (25%) desenvolveram LNLA.

Em 1986, Nowell e colaboradores, examinando citogeneticamente 144 portadores de SMD, detectaram alterações cromossômicas em 63 (44%), dos quais 47 (74%) evoluíram para LNLA. Dentre os 81 com cariótipo normal, a evolução leucêmica ocorreu em 30 (37%). Yunis e colaboradores (1986) observaram aberrações cromossômicas em 44 (78%) com SMD, dois quais 15 (34%) desenvolveram LNLA. Em contrapartida, dentre os 12 (22%) portadores de cariótipo normal nenhum evoluiu para LNLA.

Knapp e colaboradores (1985) detectaram clones celulares cromossomicamente anormais em 64 dos 167 (38%) pacientes com SMD. Tais clones foram mais frequentemente observados em pacientes com AREBt e LMMC e, mais raramente, entre pacientes com AR ou ARS. De acordo com Borgstroem (1986), a presença de um clone cromossômico aberrante confirma o diagnóstico de SMD, enquanto que a sua ausência não exclui esse diagnóstico.

As alterações cromossômicas mais frequentes nas SMD são: monossomia total ou parcial dos cromossomos 5 e 7 (-5; 5q-; -7 e 7q-), monossomia parcial do cromossomo 20 (20q-) e trissomia dos cromossomos 8 e 19, que também são encontradas nas LNLA. Por outro lado, algumas das principais translocações descritas nessas leucemias, tais como a t(8;21)(q22;q22), na leucemia mieloblástica com maturação e a t(15;17)(q22;q21), na leucemia promielocítica, não são encontradas nas SMDs. Isso pode indicar que algumas leucemias são precedidas por SMD, enquanto que em outras o mesmo não acontece (Borgstroem, 1986). De modo geral, poucas das translocações observadas nas LNLA são descritas nas SMDs, sendo as mais importantes a t(1;7), que resulta na trissomia parcial do cromossomo 1 e na monossomia parcial do cromossomo 7

(Borgstroem e cols.,1985) e a translocação recíproca $t(2;11)(p21;q23)$ (de la Chapelle e cols.,1986).

Nas SMDs secundárias as alterações cromossômicas mais frequentes são a monossomia parcial ou total do cromossomo 5 e 7. Vários autores (Rowley e cols.,1977; Pedersen-Bjegaard e cols.,1981; Arthur & Bloomfield,1984) sugerem que o cariótipo pode estar relacionado com o tipo da doença anterior e/ou com o tratamento recebido, além de interferir na resposta terapêutica. Bloomfield (1986) verificou que em pacientes com tumores sólidos prévios à manifestação da SMD a alteração cromossômica mais encontrada foi a monossomia parcial do cromossomo 5 ($5q-$). Em pacientes portadores de neoplasias hematológicas prévias constatou-se o predomínio da monossomia do cromossomo 7. Essa alteração foi também observada em pacientes com diagnóstico inicial de tumor sólido ou neoplasia hematológica submetidos à quimioterapia agressiva. Nos indivíduos portadores de anomalias envolvendo o cromossomo 5, principalmente $5q-$, a remissão com quimioterapia convencional foi muito difícil de ser conseguida, enquanto que nos portadores de outras alterações cromossômicas, tais como $t(15;17)$ e $t(6;11)$, obteve-se a remissão e um aumento significativo da sobrevida.

Uma entidade clínico-hematológica distinta, denominada de síndrome $5q-$, define uma anemia refratária que apresenta as seguintes características: predominância em mulheres idosas, anemia macrocítica, número de plaquetas normal, número de precursores eritróides na medula óssea normal ou diminuído e hipolobulação dos megacariócitos. Apesar disso é de curso clínico benígno quando comparada ao das SMDs secundárias. Nesses pacientes o $5q-$ aparece como alteração cromossômica única, enquanto que naqueles com SMD primária ou secundária

ria é usualmente acompanhado de outras alterações (Van Den Berghe, 1986). Com exceção da síndrome do 5q-, não foram observadas associações entre aberrações cromossômicas específicas e os tipos de SMD da classificação FAB (Knapp e cols., 1985).

II. OBJETIVOS

Tendo em vista que alterações cromossômicas de diversos tipos são eventos frequentes nas síndromes mielodisplásicas, que sua presença indica uma tendência aumentada ao desenvolvimento de leucemia não linfocítica aguda, e que investigações citogenéticas em pacientes portadores dessas anomalias são praticamente inexistentes no Brasil, julgamos importante proceder ao estudo do complemento cromossômico em uma amostra de pacientes com síndromes mielodisplásicas.

Dentro desse contexto, o presente trabalho tem por objetivos:

- verificar o tipo de alteração cromossômica presente em indivíduos portadores de síndromes mielodisplásicas em uma população brasileira,
- comparar as alterações observadas às descritas na literatura, e
- relacionar o diagnóstico cromossômico ao prognóstico individual da evolução leucêmica.

III. MATERIAL E MÉTODOS

III.1. Casuística

Os pacientes foram selecionados dentre aqueles atendidos pela Disciplina de Hematologia do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, onde foi realizado o diagnóstico hematológico, clínico e laboratorial. O estudo da medula óssea constou de: citologia, histologia e colorações citoquímicas (PAS, peroxidase e azul da Prússia). O estudo cromossômico foi realizado nos pacientes que apresentaram citopenia e displasia medular não relacionadas à rádio e/ou quimioterapia ou carências vitamínicas (ferro, vitamina B12 e ácido fólico). Para a classificação das SMDs foram adotados os critérios propostos pelo grupo cooperativo francês-americano-britânico (FAB) (Bennett e cols., 1982).

Foram estudados 13 pacientes (oito homens e cinco mulheres) com idades entre 21 e 70 anos ($\bar{x}$ = 51,85). Cinco deles apresentaram AR, quatro AREB, dois AREBt, um ARS e um, SMD não classificada dentro dos critérios FAB (SMDnc1). A Tabela I apresenta a distribuição dos pacientes de acordo com o sexo, idade, grupo étnico e diagnóstico hematológico. O resumo do quadro clínico de cada paciente encontra-se discriminado no Apêndice.

TABELA I. Distribuição dos pacientes quanto ao sexo, idade, grupo étnico (*) e diagnóstico hematológico (**) (classificação FAB, 1982).

Paciente	Sexo	Idade (anos)	Grupo étnico	Diagnóstico hematológico
1- J.G.L.	M	55	C	AR
2- S.A.	M	23	C	AR
3- L.S.M.	F	66	C	AR
4- R.O.C.	F	46	C	AR
5- C.H.S.	M	56	C	AR
6- T.H.	M	64	M	AREB
7- F.G.D.	F	70	N	AREB
8- F.C.	M	68	C	AREB
9- J.L.M.	M	21	N	AREB
10- O.F.	M	45	C	AREBt
11- F.T.	M	60	C	AREBt
12- F.S.S.	F	52	C	ARS
13- Z.Q.P.	F	48	C	SMDnc1

*- C: caucasóide; M: mongolóide; N: negróide

** - AR: anemia refratária; ARS: AR com sideroblastos em anel;
AREB: AR com exesso de blastos; AREBt: AREB em transformação;
SMDnc1: SMD não classificada

III.2. Metodologia

O material utilizado para a análise cromossômica foi o aspirado de medula óssea, coletado de acordo com os critérios técnico-cirúrgicos usuais, ao nível da espinha ilíaca pósterio-superior ou do esterno. Para a obtenção de metáfases utilizou-se a técnica de preparação direta adaptada de Testa e Rowley (1980).

III.2.1. Técnica de Preparação Direta de Células de Medula óssea

- 1) puncionar e aspirar cerca de 0,5 a 1,0 ml de medula óssea;
- 2) inocular o material em um frasco contendo:
 - 10 ml de meio de cultura Ham F-10 (DIFCO);
 - 0,2 ml de heparina (Liquemine ^R Roche);
- 3) distribuir o material em 4 frascos contendo 2,5 ml de meio de cultura Ham F-10 com 15% de soro fetal bovino (CULTILAB) e 0,1 ml de colquicina SIGMA 4×10^{-5} M;
- 4) incubar durante 30 minutos a 37°C;
- 5) centrifugar a 800 r.p.m., durante 5 minutos, retirar o sobrenadante e ressuspender as células com auxílio de pipeta Pasteur;
- 6) adicionar 1ml de solução hipotônica (KCl 0,075 M), aquecida a 37°C, a cada 10 minutos até completar 60 minutos;
- 7) adicionar 0,5 ml de fixador (metanol-ácido acético, 3:1) e ressuspender as células delicadamente;
- 8) repetir a etapa de nº 5;
- 9) adicionar 1 ml de fixador (metanol-ácido acético, 3:1), ressuspen-

dender delicadamente as células e adicionar mais 4 ml de fixador;

- 10) repetir a etapa de nº 5;
- 11) efetuar o processo de fixação por mais 3 ou 4 vezes com adição de 5 ml de metanol-ácido acético ao sedimento a cada troca. Ao final de cada etapa ressuspender o material e centrifugá-lo a 800 r.p.m durante 5 minutos;
- 12) Após a última centrifugação acrescentar a cada tubo 0,5 ml de fixador;
- 13) distribuir, com auxílio de pipeta Pasteur, 3 a 4 gotas da suspensão celular sobre lâminas limpas e secas;

Em seis casos (pacientes de nº 1, 2, 5, 7, 8 e 13) utilizou-se uma parte do material para a realização de cultura de 2 horas (Testa & Rowley, 1980).

III.2.2. Técnica de Preparação de Células de Medula óssea em Cultura de 24 horas

- 1) distribuir cerca de metade do material em dois tubos contendo meio de cultura Ham F-10 e 15% de soro fetal bovino (CULTILAB);
- 2) incubar durante 23 horas e 30 minutos, a 37°C;
- 3) adicionar 0,1 ml de colquicina (SIGMA) 4×10^{-5} M;
- 4) a partir desse ítem obedeceu-se a sequência anteriormente descrita para a técnica de preparação direta a partir da etapa de nº 4.

A técnica de sincronização pela aminopterina para a análise em alta-resolução de cromossomos de células leucêmicas descrita por Yunis (1982), foi testada em três casos (pacientes de nº 2, 8 e 9) sem resultados satisfatórios.

III.3. Análise Cromossômica

A análise cromossômica foi realizada por intermédio da coloração usual com o corante de Giemsa (Gurr) e com auxílio das técnicas de produção de bandas G (segundo Sanchez e cols., 1973) e Q (segundo Caspersson e cols., 1970).

III.3.1. Coloração Usual pelo Giemsa

1) preparar uma solução corante da seguinte maneira:

6 ml de corante Giemsa (Gurr), previamente filtrado em 20 ml de tampão fosfato de Sorensen pH 6,8 e completar até 100 ml com água desionizada;

2) colocar a solução corante em uma cuba de coloração e imergir a lâmina por 10 a 12 minutos;

3) lavar em água corrente;

4) secar ao ar.

III.3.2. Técnica de Produção de Bandas G

1) incubar a lâmina na estufa a 65°C por 18 a 36 horas;

- 2) voltar à temperatura ambiente por 2 a 14 dias;
- 3) corar em corante de Wright (REAGEN) (0,25% em metanol) diluído em tampão fosfato 0,06 M (pH=6,8) durante 2 a 3 minutos.

III.3.3. Técnica de Produção de Bandas Q

- 1) hidratar as lâminas, passando-as por uma série de álcoois: álcool absoluto, 70%, 50% e 20% por 5 minutos;
- 2) incubar em tampão MacIlvaine (pH 4,5) a 37°C durante 5 minutos;
- 3) corar em solução de Mostarda de Quinacrina (Sigma) (0,5% em tampão MacIlvaine) a 37°C por 1 hora;
- 4) lavar em três banhos de tampão MacIlvaine a 37°C por 15 segundos em cada banho, agitando sempre;
- 5) montar as lâminas em tampão MacIlvaine e vedar a lamínula com esmalte.

Em algumas ocasiões (casos de nº 3, 4, 10 e 12), as lâminas coradas e analisadas pela coloração usual foram subsequentemente submetidas à técnica de produção de bandas Q, processando-se a sua descoloração em álcool absoluto.

III.3.4. Critérios de Classificação

A nomenclatura adotada para descrever as células com alterações cromossômicas foi a do Sistema Internacional de Nomenclatura de Citogenética Humana (ISCN, 1978). A documentação das mesmas

foi realizada em fotomicroscópio e microscópio de fluorescência Zeiss, empregando-se filme Kodak Panatomic X (32 ASA). As ampliações fotográficas foram feitas em papel fotográfico F-4, da Kodak.

Por definição, um clone representa uma população de células descendentes de um precursor inicial (Sandberg, 1980) e os números mínimos de células citogeneticamente idênticas utilizados para a defini-lo são: uma célula com cariótipo normal, duas com a mesma alteração numérica e/ou estrutural e três com perda do mesmo cromossomo (Knuutila e cols., 1984).

III.4. Análise Estatística

A comparação dos dados relativos à sobrevida dos pacientes com cariótipo normal e com cariótipo anômalo após o diagnóstico inicial, bem como à taxa de transformação leucêmica em ambos os grupos foi realizada pela prova de Fischer (Siegel, 1975). Em ambos os casos, adotou-se o nível de significância de 5%. Para a aplicação dessa prova foram considerados apenas 12 pacientes, uma vez que a paciente de número 7 não retornou ao ambulatório.

IV. RESULTADOS

Todos os aspirados de medula óssea foram submetidos à técnica de preparação direta, sendo que em um deles (caso 13) não foram obtidas metáfases. Em seis casos (pacientes de nº 1, 2, 5, 7, 8 e 13) foram utilizadas, simultaneamente, as técnicas de preparação direta e de cultura de 24 horas. Em seis pacientes (casos 2, 5, 7, 8, 9 e 13) foram realizados exames cromossômicos em duas ocasiões diferentes com o intuito de se fazer o seguimento citogenético. Não foram obtidos resultados em um dos exames nos casos de nº 5, 7 e 9. Em relação ao paciente de nº 13, o resultado do primeiro estudo cromossômico não foi considerado devido ao pequeno número de metáfases analisadas. Os dados referentes ao número de células analisadas por tipo de preparação cromossômica podem ser visualizados na Tabela II.

As preparações cromossômicas de todos os pacientes foram examinadas tanto pela coloração usual quanto pela técnica de produção de bandas Q. Em apenas três casos (pacientes de nº 1, 5 e 13), foram obtidos resultados satisfatórios com a técnica de produção de bandas G. O número de células analisadas em cada tipo de coloração é apresentado na Tabela III.

A Tabela IV discrimina os dados relativos aos resultados das análises cromossômicas onde foram utilizadas, simultaneamente, as técnicas de preparação direta e de cultura de 24 horas. Ambos os exames foram reunidos sob um único resultado uma vez que não se detectaram diferenças no cariótipo modal. A Tabela V. resume os dados referentes ao cariótipo e a evolução clínica dos 13 pacientes.

TABELA II. Número de células analisadas de acordo com o tipo de preparação cromossômica.

Paciente	Tipo de preparação cromossômica			
	Data do exame citogenético	Preparação direta	Cultura de 24 horas	Total
1	12/11/85	15	32	47
2	30/05/84	18	NR	39
	11/11/85	07	14	
3	22/08/84	18	NR	18
4	09/05/85	31	NR	31
5	17/04/85	SR	NR	62
	13/11/85	13	49	
6	24/07/85	38	NR	38
7	09/01/85	SR	NR	40
	21/11/85	18	22	
8	16/10/85	10	NR	48
	13/11/85	08	30	
9	07/08/85	58	NR	58
	16/10/85	SR	SR	
10	01/03/85	31	NR	31
11	19/12/85	38	NR	38
12	07/05/84	24	NR	24
13	01/12/84	04	NR	NC
	01/11/85	SR	90	90

SR - sem resultado

NR - não realizado

NC - não considerado

TABELA III. Número de células analisadas de acordo com o tipo de coloração.

Paciente	Coloração usual	Banda G	Banda Q	Total
1	35	01	11	47
2	12 (1º exame)	--	06	18
	20 (2º exame)	--	01	21
3	18	--	07*	18
4	31	--	05*	31
5	46	10	06	62
6	33	--	05	38
7	38	--	02	40
8	10 (1º exame)	--	--	10
	30 (2º exame)	--	08	38
9	50	--	08	58
10	31	--	07*	31
11	38	--	05*	38
12	24	--	23*	24
13	62	10	18	90

* - células analisadas pela coloração usual e pela técnica de produção de bandas Q.

TABELA IV. Resultado do exame citogenético de acordo com o tipo de preparação cromossômica.

Tipo de preparação cromossômica		
Paciente	Preparação direta	Cultura de 24 horas
1	NN	NN
2	NN	NN
5	NN	NN
7	NN	NN
8 (2º exame)	NA	NA
13	SR	NA

NN - cariótipo normal

NA - cariótipo com células normais e anormais

SR - sem resultado

TABELA V. Cariótipo e curso clínico nos pacientes com SMD.

Paciente	Cariótipo	Evolução clínica	Sobrevida (meses)
1	NN	anemia e leucopenia	25
2	NN (1º exame) NN (2º exame)	leucopenia e trombocitopenia	43
3	NN	óbito no pós opera- tório de cirurgia cardíaca	12
4	NN	anemia, leucopenia e trombocitopenia	31
5	SR (1º exame) NN (2º exame)	anemia	32
6	NN	óbito por hemorragia intestinal	25
7	SR (1º exame) NN (2º exame)	-	-
8	NN (1º exame) NA (2º exame)	LNLA -> óbito	04
9	NA (1º exame) SR (2º exame)	LNLA -> óbito	04
10	NA	LNLA -> óbito	23
11	NA	LNLA -> óbito	01
12	NA	pancitopenia com óbito por sangra- mento subaracnóide	06
13	NC (1º exame) NA (2º exame)	anemia, leucopenia, trom- bocitopenia e óbito por broncopneumonia	23,5

NN -cariótipo com células normais

NA-cariótipo com células normais e anormais

LNLA - leucemia não linfocítica aguda

SR-sem resultado

NC-não considerado

Sete pacientes apresentaram cariótipo normal. Desses, cinco tinham diagnóstico de AR e dois de AREB. Excetuando-se os pacientes de números 3, que morreu no pós-operatório de cirurgia cardíaca, 6, que foi a óbito por hemorragia intestinal e 7, que não retornou ao ambulatório, os demais estão vivos e apresentam anemia (caso 5); anemia e leucopenia (caso 1); leucopenia e trombocitopenia (caso 2); anemia, leucopenia e trombocitopenia (caso 4). Nesses casos não foram observados sinais de evolução leucêmica até o momento, sendo que o tempo médio de doença, a partir da data do exame cromossômico, foi de 32,8 meses com variação entre 25 e 43 meses.

Dos seis pacientes com alterações cromossômicas quatro (66,7%) evoluíram para LNLA. Desses casos dois possuíam diagnóstico inicial de AREB (casos 8 e 9) e os outros AREBt (casos 10 e 11) e todos evoluíram para óbito num período de 1 a 23 meses após o diagnóstico cromossômico. Os pacientes que não apresentaram sinais de transformação leucêmica foram os casos número 12 e 13. A paciente 12, com diagnóstico inicial, de ARS evoluiu para pancitopenia com óbito por sangramento subaracnóide seis meses após o diagnóstico cromossômico. A paciente 13, com SMDncl, manifestou anemia, leucopenia, trombocitopenia e medula óssea com intensa fibrose, falecendo em consequência de broncopneumonia 23,5 meses após o diagnóstico.

A comparação dos grupos de pacientes com cariótipo normal e com cariótipo anômalo segundo sua sobrevida nos primeiros seis meses após o diagnóstico evidenciou a existência de uma diferença significativa entre os grupos ($p=0,03$), indicando que as alterações cromossômicas estão efetivamente associadas a uma sobrevida reduzida. Por outro lado, entre os pacientes com sobrevida superior a 24 meses,

há um excesso significativo daqueles com cariótipo normal em relação aos que apresentam cariótipo anômalo ($p=0,008$). O número de pacientes que sofreram transformação leucêmica foi significativamente maior no grupo com cariótipo anômalo quando comparado ao de carótipo normal ($p=0,03$).

As alterações cromossômicas encontradas nos seis pacientes podem ser visualizadas na Tabela VI, cujos resultados demonstram um predomínio de alterações numéricas, tais como a poliploidia (quatro pacientes) e a hipodiploidia (dois pacientes), além da existência de uma linhagem celular normal. As alterações estruturais foram observadas em três pacientes, associadas à aberrações numéricas acima mencionadas.

O paciente 8 foi examinado cromossomicamente em duas ocasiões. Na primeira, apresentou cariótipo normal nas 10 metáfases examinadas. Na segunda, o número de células com cariótipo normal foi de 22 em 38 (58%). Além disso a presença de hipodiploidia, com ausência de cromossomos dos grupos A, B, C, D e G, foi verificada em 16 metáfases (42%). O predomínio da linhagem celular normal foi também observado no paciente 9, que apresentou cariótipo 46,XY em 52 das 58 metáfases (90%) e poliploidia (com nº cromossômico superior a $3n$) em 6 células (10%), incluindo-se nessas últimas uma metáfase com desespiralização centromérica nos cromossomos 1, 9 e 16 (Figura 1). Em um segundo exame realizado após 2 meses, não foi possível a determinação do cariótipo, devido à presença universal de metáfases com cromossomos "fuzzy".

TABELA VI. Alterações cromossômicas presentes em pacientes com SMD

Paciente	Diagnóstico	Cariótipo	Distribuição percentual de cada tipo celular
8	AREB-→LNLA	46,XY	100% (1º exame)
		46,XY/	58% (2º exame)
		Hipodiploidia	42%
9	AREB-→LNLA	46,XY/	90%
		Poliploidia	10%
10	AREB-→LNLA	45,XY,-7/	78%
		46,XY/	06%
		Poliploidia	16%
11	AREBt-→LNLA	46,XY/	31,6%
		46,XY,min/	15,8%
		46,XY,22q-/	18,4%
		Poliploidia,min/	5,3%
		Poliploidia,min,22q-/	5,3%
		Poliploidia	23,6%
12	ARS	46,XX/	8,3%
		Poliploidia,	
		ins dir (10;1)/	37,5%
		Poliploidia,22q-/	25%
13	SMDnc1	Poliploidia	29,2%
		46,XX/	62%
		Hipodiploidia/	34%
		46,XX,-4,-10,+mar1,+mar2	01%
		Hipodiploidia,+mar1,	
		t(2q;?),t(21p;?),t(11;22) (q1?;q1?),del(11q1?)	03%

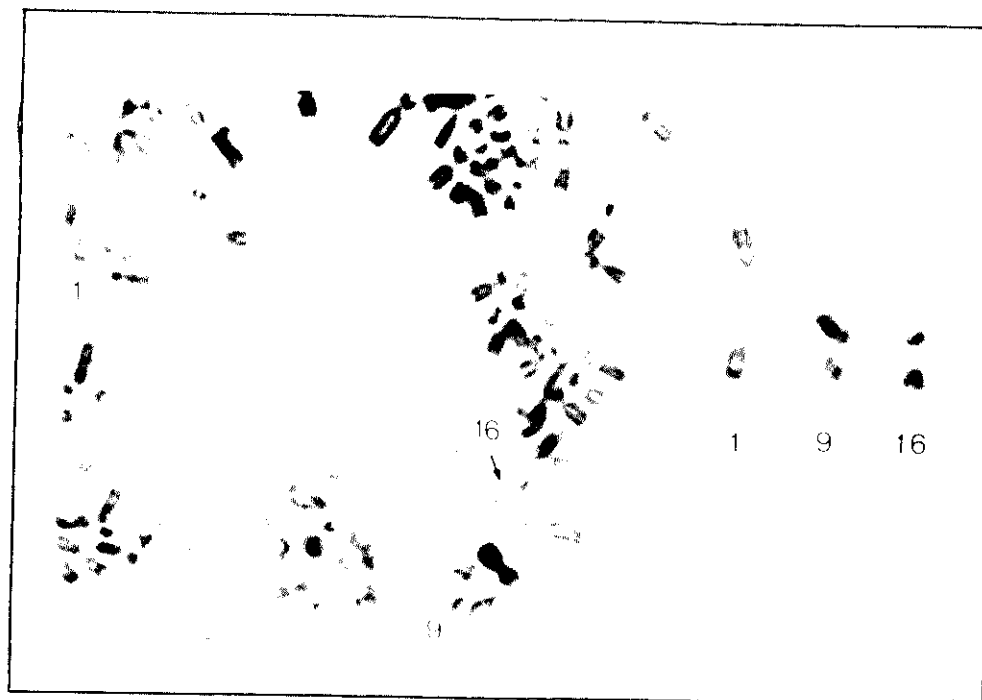


Fig.1- Desespiralização centromérica dos cromossomos 1, 9 e 16 em metáfase poliplóide obtida por preparação direta de células da medula óssea do paciente 9.

A Figura 2 mostra o emparelhamento cromossômico de uma célula representativa do clone anormal do paciente 10, cujo o cariótipo foi identificado como 45,XY,-7 em 24 células (78%), 46,XY em duas (6%) e poliploidia em cinco (31%) das 31 metáfases examinadas.

No caso 11, a presença dos cromossomos 22q- foi verificada em sete células (18,4%) e "microcromossomo" em oito (21,1%). Esses dois tipos de alterações estruturais foram simultaneamente observados em duas metáfases (5,3%). Além disso, foram encontradas 12 células (31,6%) com cariótipo diplóide normal e nove (23,6%) com cariótipo poliplóide. Essas alterações podem ser visualizadas nas Figuras 3a e 3b.

No caso 12, duas células (8,3%) apresentaram cariótipo normal, nas demais foram observadas poliploidia em sete (29,2%) e poliploidia associada à alterações estruturais em 15 (62,5%). As alterações estruturais detectadas nas metáfases da paciente 12 são apresentadas nas figuras 4a e 4b.

A Figura 4a mostra o emparelhamento de 72 cromossomos, onde um dos rearranjos estruturais foi interpretado como uma inserção direta do braço longo do cromossomo 1 no braço longo do cromossomo 10. Nessa última metáfase foram ainda observados um cromossomo 10 com aparente deficiência terminal, além de um cromossomo de origem não determinada. Os cromossomos do par 1 estão aparentemente normais. O cariograma apresentado na Figura 4b é representativo de uma célula com 80 cromossomos contendo um cromossomo 22q-, sem outras alterações adicionais.

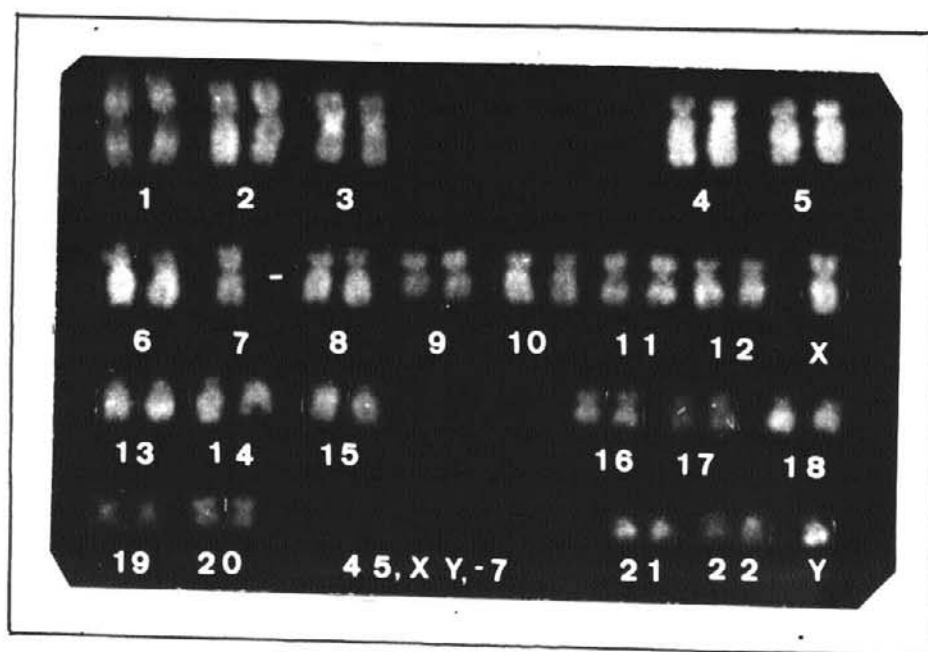


Fig.2- Metáfase 45,XY,-7, corada pela técnica de Banda Q
(Paciente 10)

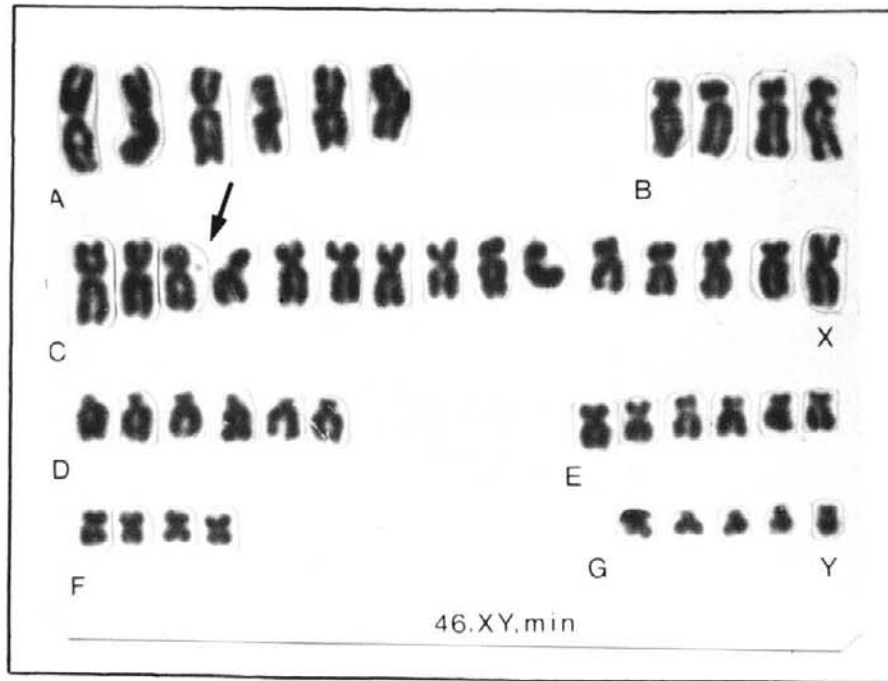


Fig.3a- Metáfase 46,XY,min representativa de um dos clones
anormais do paciente 11.

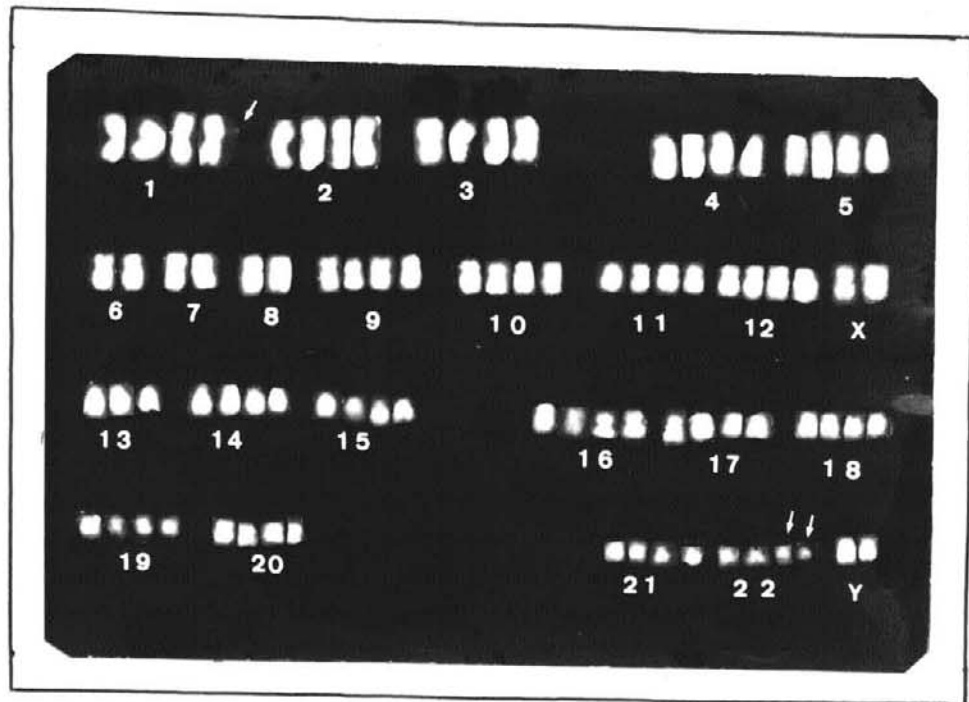


Fig.3b- Metáfase 85,XXYY,-6,-6,-7,-7,-8,-8,-13,min,22q-,22q-
(Paciente 11).

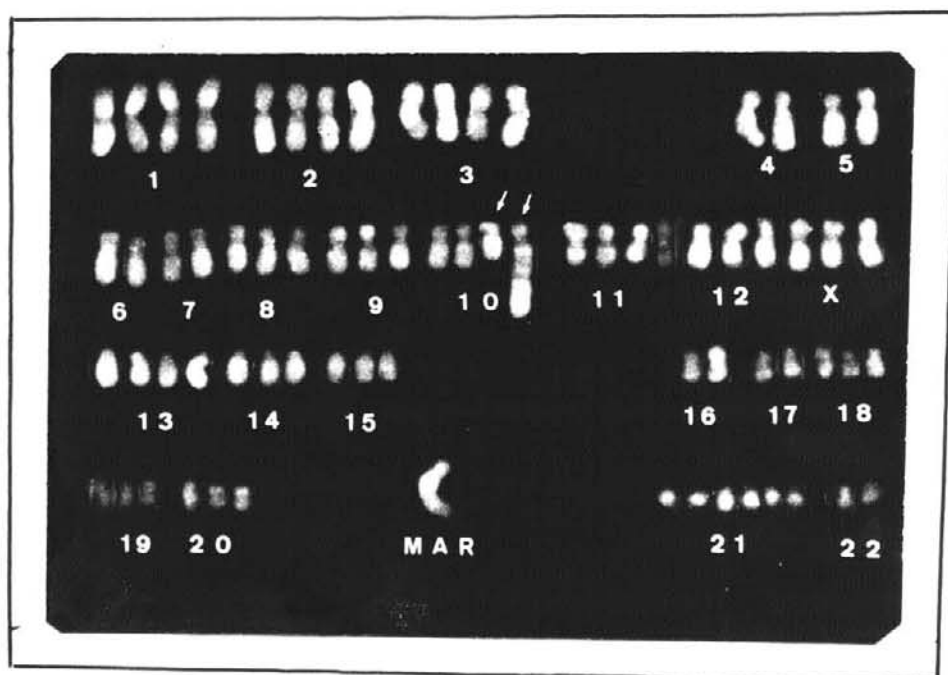


Fig.4a- Paciente 12: Metáfase com 72 cromossomos apresentando:

- ins dir (10;1)(10pter →10q2?::1q1? →1qter)
- del (10q2? →qter)
- cromossomo marcador

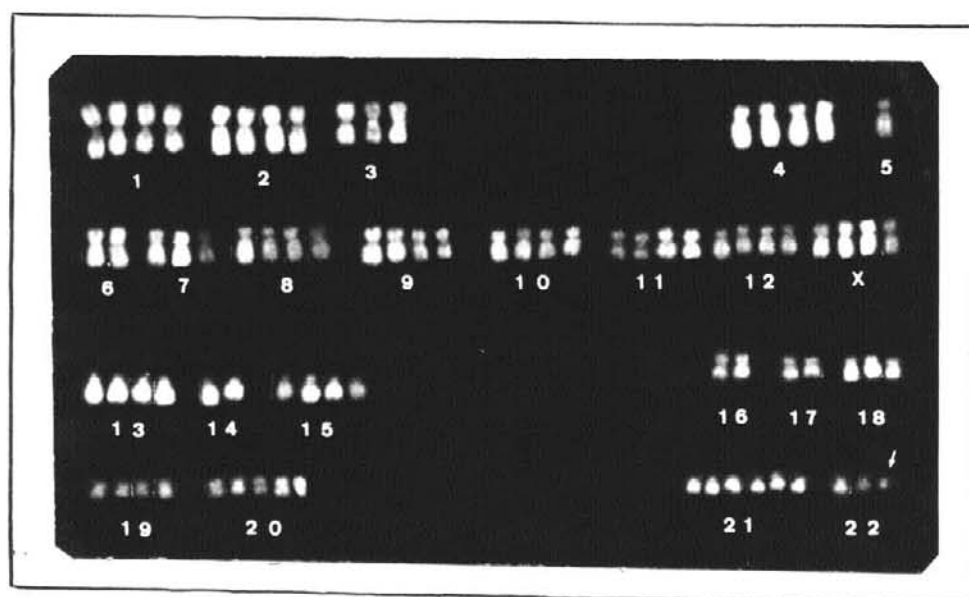


Fig.4b- Paciente 12: Metáfase 80,XXXX,-5,-5,-5,-6,-6,-7,-14,-14,-16,-16,-17,-18,+21,+21,-22,del(22q11 →qter)

No caso 13 foram realizados dois exames cromossômicos. No primeiro foram analisadas apenas quatro células com cariótipo normal. Por ocasião do segundo exame, quando foram analisadas 90 células, verificamos a presença de linhagem celular normal em 56 (62%), hipodiploidia (envolvendo cromossomos de todos os grupos) em 31 (34%) e um cromossomo marcador (mar 1), aparentemente derivado do cromossomo 4, em três células (4%). Esse marcador foi inicialmente observado em uma metáfase corada em banda G e cariótipo 46,XX,-4,-10,+mar1,+mar2 e também em duas células em banda Q, contendo rearranjos mais complexos entre os cromossomos 2, 4, 11, 12, 21 e 22 (Figuras 5a e 5b).

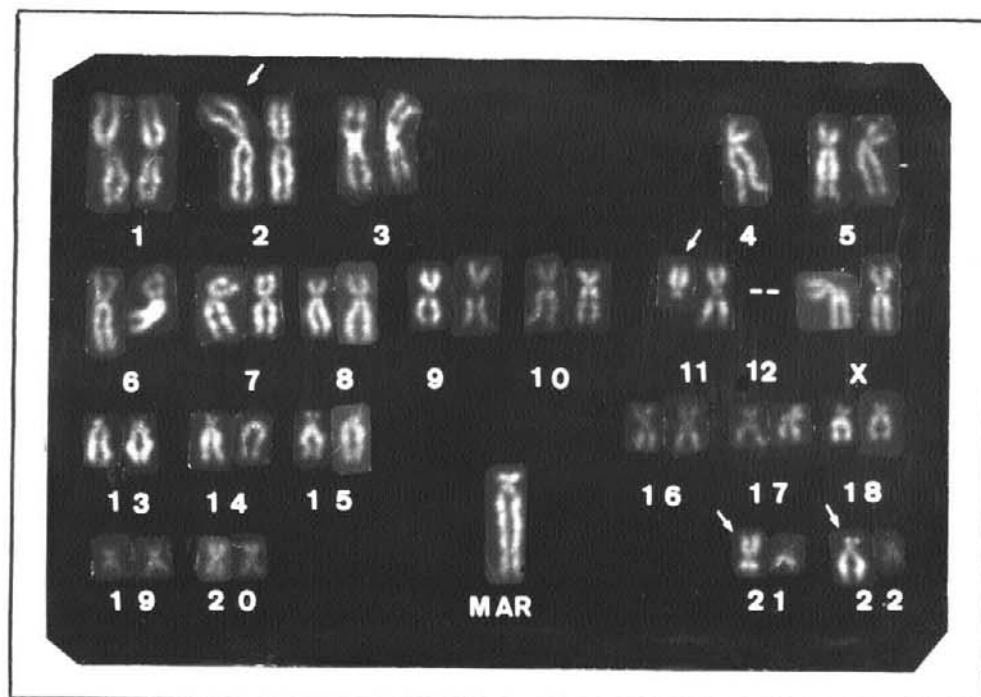


Fig.5a- Paciente 13: Metáfase 44,XX,-4,-12,-12,+mar1,
 $t(2q;?)$, $t(21;?)$, $t(11;22)(q1?;q1?)$, $del(11q1?)$

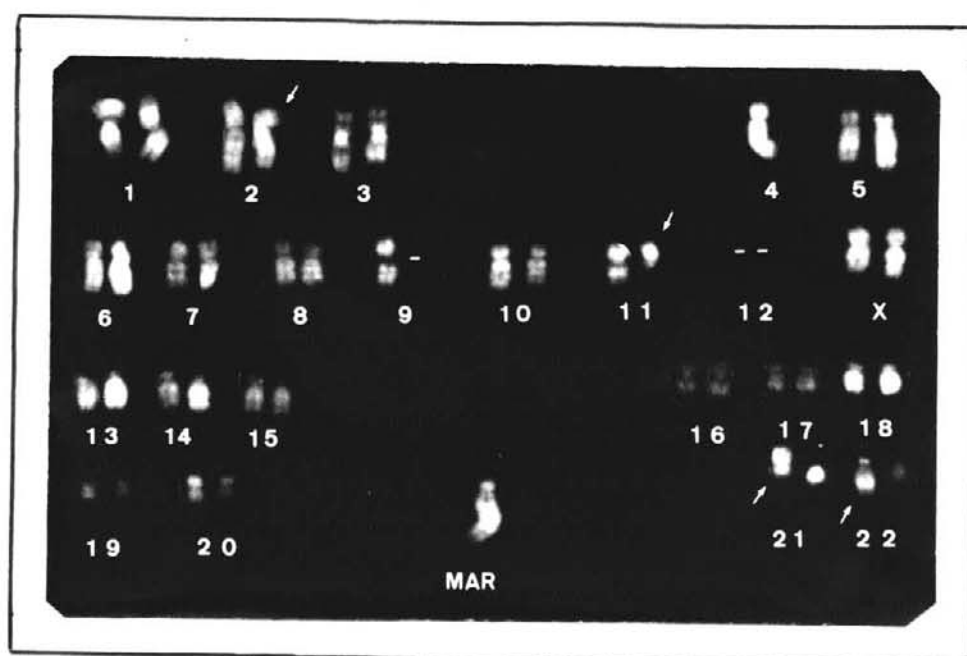


Fig.5b- Paciente 13: Metáfase 43,XX,-4,-9,-12,-12,+mar1,
 $t(2q;?)$, $t(21p;?)$, $t(11;22)(q1?;q1?)$, $del(11q1?)$

V. DISCUSSÃO

É consenso geral que a ocorrência de aberrações cromossômicas adquiridas indica a existência de uma condição maligna ou pré-maligna. Consequentemente, a investigação de associação entre aberrações cromossômicas e SMD é relevante, e deve propiciar elementos para que a análise do cariótipo de células da medula óssea possa ser utilizada para monitorar e avaliar essas doenças hematológicas (Borgstroem, 1986 e Yunis e cols., 1986).

A detecção de clones cromossômicos anormais em células da medula óssea de pacientes com SMD varia entre 31 e 51% dos indivíduos examinados, quando se empregam as técnicas de preparação direta e cultura de 24 horas (Anderson & Bagby Jr. 1982; Knapp e cols., 1985; Borgstroem, 1986; Galton, 1986; Jacobs e cols., 1986 e Nowell e cols., 1986.). Nesse aspecto, nossos dados são comparáveis com os relatados na literatura, na medida em que células com aberrações cromossômicas foram identificadas em seis pacientes (46%) dos 13 examinados. Entretanto, Yunis e colaboradores (1986) acreditam que essa frequência deva ser mais elevada, pois com o emprego de técnicas de alta resolução para a análise citogenética, esses autores foram capazes de identificar aberrações cromossômicas de natureza clonal em 79% dos pacientes examinados.

De maneira geral, os estudos realizados até o momento demonstram que os diferentes tipos de SMD da classificação FAB apresentam prognósticos variáveis quanto à evolução da doença. Koeffler (1986) observou um tempo de duração de doença mais prolongado e uma menor frequência de transformação leucêmica nos indivíduos por-

tadores de ARS e AR quando comparados aos portadores de LMMC, AREB e AREBt. Nesses últimos, constatou-se uma sobrevida média menor e uma frequência mais elevada de evolução para LNLA. Galton (1986) também observou que pacientes com ARS possuem um prognóstico mais favorável quando comparados àqueles com AREBt, podendo apresentar um quadro clínico estável por vários anos.

Ao contrário dos prognósticos variáveis encontrados quando se leva em conta a classificação FAB, os resultados da análise cromossômica permitem estabelecer prognósticos mais uniformes, mostrando que mecanismos simples ou múltiplos de alterações cromossômicas são muito frequentes nas SMD primárias. A presença dessas alterações não implica, necessariamente, em uma transformação leucêmica rápida, mas ela é mais frequentemente observada nos pacientes com cariótipo anormal do que naqueles com cariótipo normal (Anderson & Bagby Jr, 1982; Knapp e cols., 1985; Borgstroem, 1986; Galton, 1986; Jacobs e cols., 1986; Nowell e cols., 1986 e Yunis e cols., 1986).

Em um estudo prospectivo, Todd & Pierre (1983) encontraram uma diferença significativa na sobrevida média de pacientes portadores de cariótipos normais (3,4 anos) e anormais (1,8 anos). Tais observações reforçam a idéia de que os pacientes portadores de anomalias cromossômicas possuem um curso clínico mais agressivo e uma sobrevida menor quando comparados àqueles portadores de cariótipo normal.

Dos nossos seis pacientes com cariótipo anormal, quatro (2 AREB e 2 AREBt) desenvolveram LNLA, sendo que três apresentaram uma sobrevida curta ($\bar{x}=3m$) e um foi a óbito 23 meses após o exame cromossômico. Os outros dois, com diagnósticos de ARS e SMSncl, não

apresentaram sinais de evolução leucêmica, mas evoluíram para óbito seis e 23,5 meses após o exame citogenético.

Os nossos dados nos permitem concluir que pacientes com alterações cromossômicas efetivamente apresentam uma sobrevida diminuída e uma alta taxa de transformação leucêmica e representam um grupo de mal prognóstico. Por outro lado, pacientes portadores de cariótipo normal constituem um grupo de melhor prognóstico, tendo em vista que, dentre os sete pacientes que não apresentaram alterações cromossômicas, nenhum evoluiu para LNLA e a sobrevida média foi de 28 meses (25 a 43).

V.1. Alterações Numéricas

As alterações cromossômicas observadas no presente estudo compreendem tanto as hipodiploidias quanto as poliploidias, associadas ou não a alterações estruturais.

V.1.1. Hipodiploidia

De acordo com Knuutila e colaboradores (1976) a frequência de células hipodiplóides em células da medula óssea de indivíduos hematologicamente normais varia de 0 a 16,7% . Deve se considerar, contudo, que o achado citogenético de células hipodiplóides com perdas de diferentes cromossomos ao acaso pode ser resultante da própria técnica de preparação citológica.

Entretanto, ao passo que a ocorrência de hipodiploidia é rara nas LLAs (3% dos casos), ela é um achado relativamente

frequente nas LNLA's (39% dos pacientes) (Cimino e cols., 1979), as quais constituem o grupo de transformação leucêmica preferencial das síndromes mielodisplásicas.

O número cromossômico modal nas LNLA's pode variar entre 42 e 48 cromossomos. Segundo Sandberg e colaboradores (1968), apesar dessas aneuploidias não representarem alterações cariotípicas específicas, a sua presença pode indicar uma tendência anômala de multiplicação das células leucêmicas conduzindo à perdas ou ganhos cromossômicos na mesma medula.

Na eritroleucemia (LNLA - M6 da classificação FAB), a hipodiploidia foi encontrada em 12 dentre 17 pacientes estudados por Sakurai & Sandberg (1976), com número modal variando entre 41 e 45 cromossomos e uma tendência à perda preferencial de cromossomos dos grupos B, 17/18, F e G. É curioso observar-se que essa doença hematológica parece ser o tipo mais comum de transformação aguda das SMDs (Mecucci & Van Den Berghe, 1986).

Nas SMDs, apenas Larripa e colaboradores (1983) referem o achado da hipodiploidia inespecífica em quatro pacientes dos 26 estudados, não mencionando, contudo, a frequência dessa alteração ou a variação do número modal nessa população.

No presente estudo, a frequência de células hipodiploides de natureza não clonal apresentou uma variação de 0 a 14% em 10 pacientes, o que permite considerar tais valores dentro dos normais esperados. É de se salientar, contudo, que dois dentre esses 10 pacientes, apresentavam, simultaneamente, hipo e hiperdiploidia com variações do número modal entre 41 e 47 cromossomos em um caso e entre 43 e 48 em outro. Por outro lado, foram observadas frequências muito

elevadas (30 e 42%) de hipodiploidia inespecífica em dois pacientes que apresentaram progressivo agravamento de seu curso clínico. Um deles (caso nº8), com 42% de hipodiploidia, evoluiu de AREB para LNLA e foi a óbito quatro meses após o diagnóstico inicial. O outro paciente (caso 13), com 31% de hipodiploidia inespecífica e que apresentava rearranjos estruturais mais complexos em duas células hipodiplóides adicionais, foi a óbito 23,5 meses após o diagnóstico inicial, sem apresentar sinais de transformação leucêmica.

Embora tais fenômenos individuais não sejam conclusivos, permitem supor que variações acentuadas em torno do número modal podem eventualmente conduzir à formação de clones celulares neoplásicos, e desse modo, influir desfavoravelmente no prognóstico de pacientes portadores dessas alterações.

V.1.2. Monossomia do cromossomo 7

A monossomia total ou parcial do cromossomo 7 é uma das alterações mais observadas entre os pacientes portadores de LNLA ou de SMDs, estando associada a um prognóstico reservado nas duas entidades nosológicas (Streuli e cols.,1980; Second International Workshop on Chromosomes in Leukemia,1980; Knapp e cols.,1985; Borgstroem,1986; Michiels e cols.,1986, entre outros).

Pasquali e colaboradores (1982) investigaram 14 pacientes com doenças mieloproliferativas que apresentavam monossomia do cromossomo 7. Sete pacientes dentre os nove eram portadores de SMD evoluíram para LNLA num período de um a seis anos ($\bar{x}=2,24$) após o exame cromossômico. Dezza e colaboradores (1983) descreveram dois casos

de SMD com monossomia do cromossomo 7 e desenvolvimento de LNLA 12 e 19 meses depois do exame citogenético. Essa alteração cromossômica também foi identificada por Yunis e colaboradores (1986) nas células de 16 pacientes dos 56 estudados, de forma isolada ou associada à outras aberrações. Nesse grupo, a transformação leucêmica ocorreu em sete (44%) casos, observando-se uma sobrevida média de 8,5 meses.

No presente trabalho, a monossomia total do cromossomo 7 foi verificada em 78% das células do paciente 10, que apresentou episódios repetidos de infecção e evoluiu para LNLA 23 meses após o exame cromossômico, com óbito subsequente.

Os pacientes com LNLA e monossomia do cromossomo 7 têm uma maior incidência de episódios febris e infecciosos, quando comparados àqueles com cromossomos 7 normais (Borgstroem e cols., 1980 e Ruutu e cols., 1981). O estudo das características hematológicas apresentadas por esses pacientes levou à descoberta de uma deficiência na capacidade de quimiotaxia dos neutrófilos desses indivíduos (Ruutu e cols., 1977a), associada à redução na quantidade de uma glicoproteína de alto peso molecular (GP 130) (Gahmberg e cols., 1979). Tal deficiência também foi observada em pacientes portadores de SMD com a mesma aberração cromossômica (Ruutu e cols., 1977b; Pasquali e cols., 1982; Michiels e cols., 1986; Kere e cols., 1987) sempre associada a episódios de infecções recorrentes, mesmo na ausência de neutropenia grave (Dreyfus, 1976; Martin e cols., 1983).

Defeitos na função fagocitária dos granulócitos *in vitro* são comuns em pacientes portadores de SMD, estando geralmente associados à uma susceptibilidade maior às infecções (Ruutu e cols., 1977; Ruutu e cols., 1981; Boogaerts e cols., 1983; Martin e cols.,

1983). Não há uma distribuição preferencial na frequência desses defeitos nos subgrupos da classificação FAB, mas existe uma forte associação entre a monossomia do cromossomo 7 e motilidade deficiente dos neutrófilos (Boogaerts e cols., 1983).

A utilização de ensaios moleculares no estudo da constituição genética de leucócitos de indivíduos com SMD e monossomia total ou parcial do cromossomo 7 permitiu a identificação dos elementos do sangue periférico portadores dessa aberração. A análise da hibridização do ADN de indivíduos heterozigotos para polimorfismos de tamanho dos fragmentos gerados por enzimas de restrição (RFLPs = restriction-fragment-length polymorphisms) com sondas específicas para a região 7q, revelou que granulócitos e monócitos apresentam deficiências nas sequências gênicas dessa região cromossômica (Kere e cols., 1987). Tais achados sugerem a existência de genes no braço longo desse cromossomo, que devem desempenhar papel relevante na expressão da glicoproteína GP130 e na iniciação da resposta imune, sendo a sua perda possivelmente responsável pela diminuição da resistência às infecções.

Os proto-oncogenes *c-erb-B*, homólogo ao receptor do fator de crescimento epidérmico, e o *c-met*, similar ao oncogene da quinase de tirosina e aos genes que codificam receptores de insulina humana, foram mapeados no cromossomo 7. O proto-oncogene *c-erb-B* está situado na região compreendida entre 7p13 e 7q22, e o locus do *c-met* na região 7q21-22, a qual é perdida na deficiência cromossômica (Kondo & Shinizu, 1983; Dean e cols., 1985; Wainwrigth e cols., 1985). Contudo, os dados disponíveis até o momento não sugerem nem estabelecem um papel patogênico desses oncogenes nas SMDs e nas LNLAs (Kere e cols., 1987). É possível que a monossomia permita a expressão de genes mutantes recessivos que desempenham funções importantes na gênese de

tumores, de modo semelhante ao que ocorre no retinoblastoma (Dryja e cols., 1984) e no tumor de Wilm's (Koufous e cols., 1984). Um mecanismo similar envolvendo genes desconhecidos localizados no 7, poderia explicar a susceptibilidade à SMD e à LNLA em pacientes portadores dessa aberração cromossômica (Michiels e cols., 1985; Kere e cols., 1987).

V.1.3. Poliploidia

Na literatura, são raras as descrições de poliploidia entre portadores de SMD. Borgstroem e colaboradores (1976) observaram um paciente com cariótipo peritriplóide ($3n=81+/-4$) que desenvolveu leucemia mielomonocítica aguda. Larripa e colaboradores (1983), descreveram o achado de células triplóides e tetraplóides em quatro pacientes que evoluíram para LNLA. Foram também descritos indivíduos com SMD e número cromossômico peritetraplóide ($4n=92+/-11$). Em um deles, o paciente evoluiu para óbito, sem sinais de transformação leucêmica, três meses depois da realização do exame citogenético (Heim e cols., 1986). No outro, o diagnóstico inicial foi de AREB com evolução para AREBt em um período de um mes (Pedersen & Kerndrup, 1986a). Esses dados sugerem que a presença de células poliplóides na medula óssea de indivíduos portadores de SMD é sinal de prognóstico reservado.

Um percentual de células poliplóides de 0 a 2% é observado na medula óssea de indivíduos hematologicamente normais (Knuutila e cols., 1976). Índices de poliploidia superiores a 10% são esporadicamente observados em pacientes leucêmicos que possuem, predominantemente, número cromossômico modal diplóide ou peridiplóide (Sandberg e cols., 1968; Trujillo e cols., 1971; Mitelman e

cols.,1974 e Borgstroem e cols.,1976). No presente trabalho, os pacientes portadores de células com baixo grau de poliploidia não apresentaram sinais de evolução leucêmica. Em contrapartida, dos quatro pacientes com frequência de poliploidia superior a 10%, três desenvolveram LNLA e um foi a óbito seis meses após a realização do exame citogenético (Tabela VII).

Em situações normais, as células poliplóides da medula óssea são consideradas precursoras de megacariócitos. Segundo Trujillo e colaboradores (1971), a transformação neoplásica desses elementos poderia dar origem às células leucêmicas. Essa hipótese é contestada por Borgstroem e colaboradores (1976), entre outros, que afirmam não existirem evidências clínicas do comprometimento da linhagem megacariocítica em indivíduos com frequência elevada de células poliplóides. Com efeito, Testa e colaboradores (1983) verificaram uma diminuição do número de megacariócitos em dois pacientes com alto grau de poliploidia nas células da medula óssea. Além disso, observaram que as células leucêmicas não apresentavam características de megacarioblastos quando examinadas por intermédio da microscopia eletrônica de transmissão.

No presente estudo, dentre os seis pacientes com 0% de poliploidia, verificou-se uma hiperplasia de série megacariocítica em dois casos e hipocelularidade nos demais. Nos três indivíduos com baixa frequência de células poliplóides (1,4 a 4,1%) observou-se um discreto aumento na quantidade de megacariócitos em um dos casos, enquanto que nos outros observou-se um quadro normocelular. Curiosamente, três dos quatro pacientes com níveis de poliploidia superiores a 10% (Tabela VIII), apresentaram uma intensa hipoplasia da série mega-

Tabela VII. Frequência de células poliplóides e evolução clínica.

Paciente	Percentual de poliploidia	nº total de células	número cromossômico	Quadro clínico atual
4	2,4	41	73	oligoassintomático
5	1,4	71	86	sintomático
7	4,1	49	98-365	NRA
9	10,6	104	70-177	LNLA -> óbito
10	16	31	75-90	LNLA -> óbito
11	32,4*	68	72-188	LNLA -> óbito
12	91,7*	24	72-84	sangramento->óbito

NRA = não retornou ao ambulatorio

* - % de células poliplóides com alterações estruturais :

caso 11 = 5,9; caso 12 = 62,5

Tabela VIII. Frequência de poliploidia e Celularidade da medula óssea

Paciente	% de poliploidia	Celularidade das séries		
		eritrocítica	granulocítica	megacariocítica
1	0	↑ intensa	↓	↑ discreta
2	0	↓	↓	↓
3	0	↓	↓ intensa	↓
4	2,4	↑	↓ intensa	↑
5	1,4	nl	nl	nl
6	0	↓ intensa	↓ intensa	↓ intensa
7	4,1	↑*	↓*	nl*
8	0	↓ intensa	↓ intensa	↓ intensa
9	10,6	↑ moderada	↓ discreta	↓ intensa
10	16	↑ discreta	↓ discreta	↓ discreta
11	32,4	↑*	↑*	↓*
12	91,7	↑*	↑*	↑*
13	0	↑	↓*	↑*

↑ - hiperplasia

* - atipias nucleares

↓ - hipoplasia

nl - normal

cariocítica. Tais observações parecem reforçar a hipótese de que o aumento de poliploidia não deve estar associada à hiper celularidade megacariocítica.

Alguns autores acreditam que exista uma relação direta entre a presença de mitoses poliplóides e a incidência de células blásticas na medula óssea de pacientes portadores de LNLA (Sakurai & Sandberg, 1976 e Testa e cols., 1983). Na eritroleucemia, Sakurai & Sandberg (1976) demonstraram a existência de uma correlação positiva, porém não significativa, entre o aumento da incidência de células poliplóides e o aumento da frequência de proeritroblastos e de eritroblastos.

É possível que tal associação também seja válida para as SMDs, uma vez que observamos quatro pacientes com níveis de poliploidia elevados (10,6% a 91,7%), dentre os sete com hiperplasia de série eritrocítica. Entretanto, nossos dados devem ser encarados com cautela, pois a frequência de células poliplóides foi obtida por intermédio da análise de um número de células relativamente pequeno, embora representativo da leitura total de duas ou mais lâminas.

V.2. Alterações Estruturais

As alterações estruturais observadas foram caracterizadas como : (a) microcromossomo; (b) deficiência do braço longo do cromossomo 22 e (c) cromossomos marcadores derivados de translocações (2;?), (10;1), (11;22) e (21;?), sempre associadas às aberrações numéricas.

V.2.1. Microcromossomo

Os microcromossomos ou cromossomos "minutes" são pequenas estruturas cromatídicas com, aproximadamente, metade do tamanho dos cromossomos do grupo G. A ocorrência desses fragmentos é considerada um fenômeno normal em algumas plantas superiores, insetos, répteis, aves e algumas espécies de mamíferos (Cowell, 1982). Entretanto, sua presença no cariótipo humano tem sido associada à anormalidade, pois são observados em alguns tipos de tumores sólidos (Levan e cols., 1968) e nas LNLAs (Crossen e cols., 1969). Esses cromossomos foram detectados por Pierre e colaboradores (1971) nas células de nove pacientes com leucemia mielomonocítica aguda, sendo que em dois casos eles estavam presentes antes do estabelecimento da leucemia.

Estruturas semelhantes aos microcromossomos, porém destituídas de centrômero, denominadas de "double minutes" (DMs) também têm sido descritas em algumas neoplasias humanas, principalmente nos tumores neurogênicos (Mark, 1977) e, em menor extensão, nos carcinomas de ovário, pulmão, útero e tireóide (Barker & Hsu, 1979). Essas estruturas também foram observadas nas células de pacientes expostos a agentes mutagênicos e/ou carcinogênicos ou com história de doenças malignas anteriores (Marinello e cols., 1980 e Wen e cols., 1982). Nas doenças hematológicas, são frequentes nas LNLAs e raros nas SMDs e nas doenças linfoproliferativas (Ohyashiki e cols., 1985, 1987).

A presença de DMs em células leucêmicas é geralmente associada a um prognóstico reservado. Alguns autores acreditam que a presença desses fragmentos em doenças hematológicas identifica um clone anormal ou indica uma transformação maligna, na ausência de ou-

tras alterações cromossômicas (Marinello e cols., 1980; Cooperman & Klinger, 1981).

Nas células do paciente 11, de nossa amostra, visualizamos uma pequena estrutura cromatídica de tamanho comparável ao de um "double minute", porém não duplicada. Dessa forma, optamos por classificá-la como um microcromossomo. Essa estrutura foi observada como alteração isolada em células diplóides (15,8%) e em células poliplóides associadas ou não à presença de um cromossomo 22q- (10,6%). A evolução para LNLA ocorreu dentro de um mês, o que sugere que a presença do microcromossomo possa estar relacionada ao fenômeno de transformação leucêmica.

V.2.2. Cromossomo 22q-

O cromossomo 22q-, também conhecido como cromossomo Philadelphia (Ph₁), é observado em 85% dos casos de leucemia mielóide crônica (Sandberg, 1980), em 25% dos pacientes adultos com leucemia linfocítica aguda (Berrebi e cols., 1984) e, mais raramente em outras doenças hematológicas tais como a trombocitopenia essencial (Verhest & Monsieur, 1983). Na maioria dos casos examinados com auxílio das técnicas de produção de bandas, o cromossomo Ph₁ surge como resultado da transferência de parte do braço longo do cromossomo 22 para a região q34 do cromossomo 9 (Rowley, 1980).

Dois oncogenes foram mapeados nos cromossomos 9 e 22: o *c-abl* na região 9q34 → qter e o *c-sis* na região 22q11 → qter. O primeiro está ativo em todos os estágios de diferenciação da linhagem hematopoiética, enquanto o segundo parece estar, normalmente, ina-

tivo. A formação do cromossomo Ph_i , a partir da $t(9;22)(q34;q11)$, envolve, em alguns casos, uma translocação recíproca do oncogene $c-abl$ para o cromossomo 22q- e do $c-sis$ para o cromossomo 9. Com a mudança de posição, esses oncogenes podem ter sua estrutura e/ou expressão alteradas. Entretanto, seu papel na gênese das neoplasias hematológicas ainda não foi estabelecido (Pimentel, 1985).

Nas SMDs, Berrebi e colaboradores (1984), observaram a presença do cromossomo 22q- nas células de uma paciente com ARS que não respondeu ao tratamento e Roth e colaboradores (1980), em outra que desenvolveu LNLA três anos após o exame citogenético. Nessas pacientes, a translocação entre os cromossomos 9 e 22 [$t(9;22)$] foi identificada em todas as metáfases portadoras do 22q-. Um cromossomo Ph_i , derivado da translocação entre os cromossomos 18 e 22 [$t(18;22)(p11;q11)$], foi descrito por Michalski e colaboradores (1982) em um paciente com SMD secundária, com diagnóstico inicial de doença de Hodgkin.

Em nossa casuística, o cromossomo 22q- foi encontrado nas células de dois pacientes (casos 11 e 12). Entretanto, em virtude do acentuado grau de compactação dos cromossomos não foi possível verificar a ocorrência de uma eventual translocação.

Na opinião de Koeffler (1986), o cromossomo Ph_i não está associado às SMDs. Essa afirmação deve ser reavaliada, tendo em vista os dados de literatura e os presentes resultados.

V.2.3. Translocações

Translocações cromossômicas características foram descritas para alguns tipos de leucemias, tais como: 1) $t(9;22)(q34;q11)$ - leucemia mielóide crônica (Sandberg,1980); 2) $t(8;14)(q24;q32)$ - leucemia linfocítica aguda (Yunis,1981); 3) $t(8;21)(q22;q22)$ - leucemia mieloblástica com maturação e 4) $t(15;17)(q22;q12)$ - leucemia promielocítica aguda (Borgstroem,1985). Outras alterações envolvendo os cromossomos 1, 7 e 11 vêm sendo frequentemente associadas às leucemias.

Segundo Sandberg e colaboradores (1985), a $t(1;7)(p11;p11)$ é observada de modo não casual em doenças hematológicas, e parece estar relacionada com exposição a agentes leucemogênicos. Nas SMDs, ela foi originalmente descrita por Scheres e colaboradores (1984) em pacientes holandeses. Esses autores acreditavam que a distribuição geográfica dessa aberração estivesse limitada à Holanda. Contudo, a mesma anomalia foi verificada nas células de indivíduos provenientes de regiões industriais de outros países (Mecucci e cols., 1985; Sandberg e cols.,1985; Smadja e cols.,1985b).

Scheres e colaboradores (1985) propuseram que um dos mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento dessas doenças hematológicas seria decorrente da ativação do gene que codifica o receptor para fator de crescimento epidérmico (homólogo ao oncogene *c-erb-B*) pela translocação. É interessante notar que o outro ponto de quebra envolvido nessa alteração cromossômica também coincide com a localização de um oncogene, o *c-N-ras* (1p32 → cen) (Pimentel,1985).

Quanto às alterações estruturais envolvendo o cromossomo 11, nas leucemias não linfocíticas agudas foram descritas as $t(9;11)(p22;q23)$ e $t(4;11)(q21;q23)$ (Hagemeijer e cols., 1982 e Nagasaka e cols., 1983). Nas SMDs, foram observadas as $t(2;11)(p21;q23)$ e $t(11;22)(q17;q17)$ (Feder e cols., 1985; De La Chapelle e cols., 1986 e presente trabalho) e as deficiências terminais $del(11)(q23)$ e $del(11)(q21 \text{ ou } q22)$ (Hyder e cols., 1978; Smadja e cols., 1985; Pedersen & Kernudrup, 1985b). É curioso observar-se que os pontos de quebra das translocações estão preferencialmente localizados na região q23 do cromossomo 11. Nesse sítio cromossômico Taisne e colaboradores (1984) mapearam o oncogene $c\text{-}ets$, homólogo ao gene do vírus E26 que induz leucemia em aves.

As relações entre a ativação de oncogenes celulares e o desenvolvimento de neoplasias ainda não foram conclusivamente demonstradas. Apesar disso, existem várias evidências de que as alterações citogenéticas estão associadas à expressão desses oncogenes nas leucemias, e desempenham um papel relevante na patogênese neoplásica (Oyashiki e cols., 1986).

Na Tabela IX podem ser visualizadas as translocações descritas nas SMDs nos últimos dez anos. Entre elas encontram-se as $t(1;10)$, $t(11;22)$, $t(2q;?)$ e $t(21p;?)$ observadas no nosso estudo.

De acordo com Smadja e colaboradores (1985) as alterações estruturais mais frequentes nas ARS envolvem os cromossomos 19 e 20. No único caso de ARS citogeneticamente examinado por nós observamos a presença de uma translocação entre os cromossomos 1 e 10, derivada da inserção direta do braço longo do 1 no braço longo do 10. Segundo Yunis e colaboradores (1986), pacientes com ARS e cariótipo

TABELA IX. Translocações observadas nas SMDs.

Translocação	Referência bibliográfica
t(1;?)(p;?)	Geraedts e cols., 1980
t(1;?)(p32;?)	Knapp e cols., 1985
t(1q-;4q+)	Benitez e cols., 1981
t(1q-;8q+)	Tomonaga e cols., 1985
t(1;2)(q12;q37)	Jacobs e cols., 1986
t(1;2)(q21;q21)	Yunis e cols., 1986
t(1;7)(p11;p11)	Scheres e cols., 1984; Mecucci e cols., 1985; Smadja e cols., 1985b; Yunis e cols., 1986
t(1;7)(q21;q22)	Yunis e cols., 1986
t(1;11)(p22;p15.1)	
t(1;13)(p32;q12)	Knapp e cols., 1985
t(1;22)	Tricot e cols., 1985a
t(2;?)((q37;?)	Knapp e cols., 1985
t(2q;?)	presente trabalho (caso 13)
t(2;3)(q?;p?)	Geraedts e cols., 1980
t(2;3)(p23;q27)	Yunis e cols., 1986
t(2;6)(p23;p21.3)	
t(2;11)(p21;q25)	Kardon e cols., 1982
t(2;11)	Tricot e cols., 1985a
t(2;11)(p21;q23)	Feder e cols., 1985;
t(2p;11q)	De La Chapelle e cols., 1986
	Nowell e cols., 1986
t(3;3)(q26;q29)	Pedersen & Kerndrup, 1986b
t(3;5)(p13;q13)	Knapp e cols., 1985
t(3;6)(p1-;pter;p12)	Panani e cols., 1977
t(3;12;12)(q23;p13;q15)	Jacobs e cols., 1986
t(3;13)(p25;q11)	Knapp e cols., 1985
t(4;11)(q13;q23)	Ohyashiki e cols., 1985
t(4;15)(q35;q15)	Yunis e cols., 1986
t(5;17)(q12;q11)	Ohyashiki e cols., 1986
t(5;19)(q33;p13)	Jacobs e cols., 1986
t(5;20)(q15;q13)	Stelmack & Nowell, 1987
t(6;?)(p11;?)	Knapp e cols., 1985
t(6;?)(p21;?)	
t(6;?)(p25;?)	Jacobs e cols., 1986
t(6;5)(q27;q22)	Oyashiki e cols., 1986
t(6;9)(q23;q34)	Knapp e cols., 1985
t(6;16)(q25;p21)	Yunis e cols., 1986
t(6;17)(p11;q11)	Knapp e cols., 1985
t(6;17)(p23;q21)	Jacobs e cols., 1986
t(7;9)(p11.2;p11.2)	Yunis e cols., 1986

continua

TABELA IX. Continuação

t(8;11;?)(q11;q11→q23;?) t(8;12)(q21;q24) t(8;X)	Oyashiki e cols., 1986 Yunis e cols., 1986 Tricot e cols., 1985a
t(9;?)(q21;?) t(9;?)(q24;?) t(9;11)(q11;p15)	Jacobs e cols., 1986 Mecucci & Van Den Berghe, 1986
t(10;?)(p13;?) t(10;1)(q25;q?→qter)	Knapp e cols., 1985 presente trabalho (caso 12)
t(11;?)(q11;?) t(11;4)(p11.2;q13) t(11;17)(q11?;q11) t(11;21)(q22,q21) t(11;22)(q1?;q1?)	Oyashiki e cols., 1986 Yunis e cols., 1986 Oyashiki e cols., 1985 Tricot & Van Den Berghe, 1982 presente trabalho (caso 13)
t(12;?)(p13;?) t(12;?)(q13;?) t(12;?)(q24;?) t(12;13)(p13;q12) t(12;15)(q12;p11.2) t(12;22)(p11.2;q11.2)	Jacobs e cols., 1986 Knapp e cols., 1985 Yunis e cols., 1986
t(15;21) t(15;21)(p11;q11)	Tricot e cols., 1985a Knapp e cols., 1985
t(16;17)(q11.2;p11.2)	Yunis e cols., 1986
t(17;18)(q21;p11) t(17;18?)(p11;q11?)	Mecucci e cols., 1986 Stelmach & Nowell, 1987
t(18;22)(p11.1;q11.1) t(18;?)(q23;?)	Michalski e cols., 1982 Knapp e cols., 1985
t(19;?)(q13;?)	Knapp e cols., 1985
t(20;21;22)(q11.2,q11.2;p11.1)	Yunis e cols., 1986
t(21;?)(p13;?) t(21p;?)	Knapp e cols., 1985 presente trabalho (caso 13)
t(X;8)(q11?;q11?) t(X;20)(q21;p11)	Mecucci e cols., 1986
t(Y;?)(p11;?) t(Y;12)(q11;p13)	Knapp e cols., 1985

anormal possuem uma sobrevida menor quando comparados àqueles com cariótipo normal, além de apresentarem um quadro clínico mais agressivo, como o observado na nossa paciente.

Quanto à $t(11;22)$, ela foi observada por nós nas células de uma paciente com SMDnc1, associada à outras alterações estruturais [$t(2q;?)$, $t(21;p)$; $del(11;q1?)$]. Como mencionado anteriormente, o braço longo do cromossomo 11 parece estar envolvido em processos de leucemogênese anormal. Alterações estruturais no cromossomo 2 também têm sido referidas nas SMDs, mas as translocações envolvendo o cromossomo 21 parecem ser raras (Tabela IX).

V.3. Alterações Múltiplas

A presença de alterações cromossômicas nas células de pacientes com SMD parece, efetivamente, ser um sinal de prognóstico reservado. Estudos citogenéticos têm sugerido que esse prognóstico é mais grave quando as aberrações são múltiplas, isto é, duas ou mais anomalias na mesma célula (Borgstroem, 1985).

Dos 144 pacientes com SMD, examinados por Nowell e colaboradores (1986), 63 apresentavam cariótipo anormal, sendo que 28 eram portadores de alterações simples e 35, de alterações múltiplas. Dentre os indivíduos que apresentaram células portadoras de aberrações simples 18 (64,3%) desenvolveram LNLA com sobrevida média de um ano. Em contrapartida, nos portadores de anomalias múltiplas, a progressão para leucemia ocorreu em 26 (74,3%) e a sobrevida média foi de seis meses. Yunis e colaboradores (1986) observaram que nove (28%), dos 32 pacientes com alterações simples, e seis (50%), dos 12 com alterações múltiplas, evoluíram para LNLA. A sobrevida média foi de 14 meses no

primeiro grupo e de quatro meses no segundo. Já outros autores afirmam, que não existem diferenças prognósticas entre esses dois grupos de pacientes (Tricot e cols.,1985b; Kerkhofs e cols.,1987).

No presente estudo, dentre os seis pacientes com cariótipo anormal, três apresentavam alterações simples (casos 8 a 10) e três eram portadores de alterações múltiplas (casos 11 a 13). A sobrevida média foi semelhante nos dois grupos (10,3 e 10,2 meses, respectivamente). Quanto à transformação leucêmica, ela ocorreu em todos os pacientes do primeiro grupo e apenas em um do segundo.

V.4. Análise do Cariótipo como Fator Prognóstico nas SMDs

Segundo Yunis e colaboradores (1986), os tipos de SMD da classificação FAB podem apresentar diferenças prognósticas que se tornam mais expressivas quando se leva em conta a presença ou ausência de anomalias cromossômicas. Pacientes com SMD primária do tipo ARS e cariótipo normal têm uma sobrevida maior e uma menor probabilidade de desenvolver LNLA do que aqueles com cariótipo anormal. Pacientes com AR, que tradicionalmente são considerados portadores de melhor prognóstico, também podem evoluir para LNLA na presença de alterações cromossômicas.

Em relação à AREB, Yunis e colaboradores (1986), observaram que os pacientes portadores de alterações cromossômicas simples possuíam um melhor prognóstico do que aqueles portadores de aberrações múltiplas ou de alterações envolvendo os cromossomos de números 7 e 8. Esses autores afirmam que os estudos cromossômicos podem vir a delinear diferentes grupos prognósticos dentro dessa categoria da classificação FAB.

No nosso estudo, os pacientes que apresentaram uma sobrevida maior foram os cinco portadores de AR e dois de AREB que não apresentavam aberrações cromossômicas nas células da medula óssea. Quatro pacientes com diagnósticos iniciais de AREB (3 casos) ou AREBt (1 caso), com cariótipos anormais, desenvolveram LNLA. Os outros dois pacientes com alterações cromossômicas e diagnósticos iniciais de ARS e SMDncl, foram a óbito sem sinais de transformação leucêmica.

No presente estudo, foram constatadas aberrações cromossômicas pouco comuns nas SMDs, além de duas translocações ainda não descritas na literatura. Por isso, parece pertinente recomendar-se que averiguações citogenéticas sequenciais sejam rotineiramente efetuadas em pacientes portadores de SMD em nossa população. Essa análise deverá ser feita, preferencialmente em culturas sincronizadas para alta resolução, que deverão obrigatoriamente serem padronizadas em nosso meio.

Dentro desse contexto, além de uma possível caracterização do padrão de alteração cromossômica, nos diferentes tipos de SMD de nossa população, poder-se-á ainda detectar o surgimento do clone celular neoplásico e acompanhar sua evolução.

VI. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos e comparados com os descritos na literatura, confirmam as seguintes conclusões:

1. De maneira geral, as SMDs não apresentam marcadores cromossômicos específicos como os verificados em alguns tipos de leucemias;
2. A presença de anomalias cromossômicas está associada a uma sobrevida menor e a um risco mais elevado de transformação leucêmica;
3. Estudos cromossômicos em Síndromes Mielodisplásicas fornecem subsídios para a elaboração de prognósticos mais uniformes dentro dos diferentes subtipos da classificação FAB;
4. A caracterização das alterações citogenéticas pode vir a definir subgrupos específicos de SMDs associados à transformação leucêmica.

Além disso, os resultados obtidos no presente trabalho ainda permitem acrescentar aos dados da literatura:

1. Frequências elevadas de células poliplóides ou de hipodiplóides inespecíficas devem ser valorizadas do ponto de vista prognóstico;
2. Averiguações citogenéticas devem ser rotineiramente realizadas em pacientes, brasileiros portadores de Síndromes Mielodisplásicas.

VII. RESUMO

As síndromes (SMDs) podem preceder a manifestação das leucemias não linfocíticas agudas (LNLAs) e compreendem cinco entidades hematológicas: 1) anemia refratária (AR), 2) anemia refratária com sideroblastos em anel (ARS), 3) anemia refratária com excesso de blastos (AREB), 4) anemia refratária com excesso de blastos em transformação leucêmica (AREBt) e 5) leucemia mielomonocítica crônica (LMMC). As alterações cromossômicas mais frequentemente encontradas nas SMDs são as monossomias totais ou parciais dos cromossomos 5 e 7, a monossomia parcial do cromossomo 20, as trissomias dos cromossomos 8 e 9 e rearranjos estruturais mais complexos.

No presente trabalho, com os objetivos de averiguar o tipo de alteração cromossômica presente em indivíduos portadores de SMD em uma população brasileira, comparar as alterações observadas às descritas na literatura, e de relacionar o diagnóstico cromossômico ao prognóstico individual de evolução leucêmica, efetuou-se a análise citogenética em células da medula óssea de 13 pacientes que apresentavam citopenia e displasia medular não relacionadas à quimioterapia, radioterapia e carências vitamínicas.

Dentre os sete pacientes que apresentaram cariótipo normal (5 AR e 2 AREB), um não retornou ao ambulatório, um faleceu em decorrência de complicações no pós-operatório de cirurgia cardíaca e outro foi a óbito devido à hemorragia intestinal. Os demais estão vivos e sem sinais de evolução leucêmica após 25 a 43 meses de seguimento.

Os seis pacientes com células portadoras de anomalias cromossômicas (2 AREB, 2 AREBt, 1 ARS e 1 SMD não classificada) faleceram em um intervalo de 1 a 24 meses após o diagnóstico inicial, sendo que quatro haviam evoluído para LNLA. As alterações cromossômicas observadas foram: monossomia do 7, microcromossomo, monossomia parcial do 22, hipodiploidia com aberrações estruturais múltiplas [t(2;?), t(11;22), del(11q), +mar], poliploidia com rearranjos estruturais [der ins (10;1), del (10q), +mar] e hipodiploidia inespecífica acentuada. Esses resultados, associados ao descritos na literatura, permitem concluir que aberrações cromossômicas são indicativas de prognóstico desfavorável em relação à sobrevida e implicam em um alto risco de transformação leucêmica em pacientes com SMD.

VII. SUMMARY

The mielodysplastyc syndromes (MDS) can precede the development of acute nonlymphocytic leukemia (ANLL) and are classified as five different hemotological groups 1) refractory anaemia (RA), 2) refractory anaemia with ring sideroblasts (RAS), 3) refractory anaemia with excess blasts (RAEB), 4) refractory anaemia with excess blasts in transformation (RAEBt) and 5) chronic myelomonocytic leukemia (CMML). The chromosomal alterations most frequently met with in the MDS are chromosomes 5 and 7 partial or complete monosomies, chromosome 20 partial monosomy, chromosomes 8 and 9 trisomies and more complex structural rearrangements.

The objective of this work was to determine the chromosomal alterations in MDS patients of brazilian population, to compare the alterations observed with those descrited in medical literature and to correlate the chromosomal diagnosis to the individual prognosis of the leukemic evolution. A chromosomal analysis of the bone marrow was performed on thirteen patients who presented signs of cytopenia and bone marrow dysplasia not due to chemotherapy, radioterapy or vitaminic deficiencies.

Seven patients showed normal cariotype (5 RA and 2 RAEB). Of these, one didn't return to the out-patient clinic, one died due to post-operative complications after heart surgery, and one died of intestinal hemorage. The others are alive and have showed no signs of leukemic evolution after 25 to 43 months follow-up.

The six patients in which there were chromosomal alterations (2 RAEB, 2 RAEBt, 1 RAS e 1 nonclassified MDS) all died

with 1 to 24 months after initial diagnosis. Four of these patients had ANLL. The chromosomal alterations found in these patients were: monosomy 7, microchromosomes, partial monosomy 22, hypodiploidy with multiple structural aberrations [t(2;?), t(11;22), del (11q), t(21;?) +mar], polyploidy with structural rearrangements [der ins (10;1), del(10q),+ mar] and remarkable non-specific hypodiploidy. These results, along with those reported in medical literature allowed us to conclude that chromosomal aberrations are indicative of an unfavourable prognosis in relation to patient survival and also imply in a high risk of leukemic transformation in patients with MSD.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ANDERSON, R.L.; BAGBY JR, G.C.; RICHERT-BOE, K.; MAGENIS, R.E. & KOLER, R.D. Therapy-related preleukemic syndrome. *Cancer*, 47: 1867-1871, 1981.
2. ANDERSON, R.L. & BAGBY JR, G.C. The prognostic value of chromosome studies in patients with the preleukemic syndrome (Hematopoietic Dysplasia). *Leuk. Res.*, 6(2):176-181, 1982.
3. ARTHUR, D.C. & BLOOMFIELD, C.D. Banded chromosome analysis in patients with treatment-associated acute nonlymphocytic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 12:189-199, 1984.
4. AYRAUND, N.; DONZEAU, M.; RAYNAUD, S. & LAMBERT, J.-C. Cytogenetic study of 88 cases of refractory anemia. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 8:243-248, 1983.
5. BARKER, P.E. & HSU, T.C. Double minutes in human carcinoma cell lines, with special reference to breast tumors. *J. Natn. Cancer Inst.*, 62(2):257-262, 1979.
6. BENITEZ, J.; SANCHEZ FAYOS, J.; TOME, P.; AYUSO, C. & JIMENEZ, A. Possible origen multiclonal en las etapas tempranas de los procesos preleucémicos. *Sangre*, 26(5):556-566, 1981.
7. BENNETT, J.M.; CATOVSKY, D.; DANIEL, M.T.; FLANDRIN, G.; GALTON, D.A. G.; GRALNICK, H.R. & SULTAN, C. The French-American-British (FAB) Co-operative Group. Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *Br. J. Haematol.*, 51:189-199, 1982.
8. BERREBI, A.; BRUCK, R.; SHTALRID, M. & CHEMKE, J. Philadelphia

- chromosome in idiopathic acquired sideroblastic anemia. *Acta Haematol.*, 72(5):343-345, 1984.
9. BLOCK, M.; JACOBSON, L.O. & BETHARD, W.J. Preleukemia acute human leukemia. *J. Amer. Ass.*, 152 (11):1018 - 1028, 1953.
 10. BLOOMFIELD, C.D. Chromosome abnormalities in secondary myelodysplastic syndromes. *Scand. J. Haematol.*, 36(Suppl 45): 82- 90, 1986.
 11. BOOGAERTS, M.A.; NELISSEN, V.; ROELANT, C. & GOOSSENS, W. Blood neutrophil function in primary myelodysplastic syndromes. *Br. J. Haematol.*, 55:217-227, 1983.
 12. BORGSTROEM, G.H.; VUOPIO, P. & DE LA CHAPELLE, A. Polyploidy of the bone marrow. *Scand. J. Haematol.*, 17:123-131, 1976.
 13. BORGSTROEM, G.H.; TEERENHOVI, L.; VUOPIO, P.; DE LA CHAPELLE, A.; VAN DEN BERGHE, H.; BRANDT, L.; GOLOMB, H.M.; LOUWOGIE, A.; MITELMAN, F.; ROWLEY, J.D. & SANDBERG, A.A. Clinical implication of monosomy 7 in acute nonlymphocytic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 2:115-126, 1980.
 14. BORGSTROEM, G.H.; BLOOMFIELD, D.C. & DE LA CHAPELLE, A. Translocation 1;7 with resulting monosomy 7q and trisomy 1q; a common recurring abnormality in myelodysplastic syndromes. *Cytogenet. Cell Genet.*, 40:584, 1985.
 15. BORGSTROEM, G.H. Cytogenetics of the myelodysplastic syndromes. *Scand. J. Haematol.*, 36(Suppl 45):74-77, 1986.
 16. CASPERSSON, T.; ZECH, L.C. & MODEST, R.J. Identification of human chromosome by DNA-BINDING FLUORESCENT AGENTS. *Chromosoma*, 30: 215-228, 1970.

17. CIMINO;M.C.; ROWLEY,J.D.; KINNEALEY,A.; VARIAKOSIS,D. & GOLOMB,
H.M. Banding studies of chromosomal abnormalities in patients
with acute lymphocytic leukemia. *Cancer Res.*, 39: 227- 238,
1979.
18. COOPERMAN;B.S. & KLINGER,H.P. Double minute chromosome in a case
of acute myelogenous leukemia resistant to chemotherapy.
Cytogenet.Cell Genet., 30(1):25-30,1981.
19. COWELL;J.K.: Double minutes and homogeneously staining regions:
Gene amplification in mammalian cells. *Ann.Rev.Genet.*, 16: 21
- 59,1982.
20. CROSSEN,P.E.; FITZGERALD,P.H.; MENZIES,R.C. & BREHAUT,L.A. Chro-
mosomal abnormality, megaloblastosis, and arrested DNA synthe-
sis in erythroleukaemia. *J.Med.Genet.*, 6(1):95-104,1969.
21. DEAN,M.; PARK,M.; LE BEAU,M.; ROBINS,T.S.; DIAZ,M.O.; ROWLEY,
J.D., BLAIR,D.G. & WOUDE,G.F.V. The human met oncogene is re-
lated to the tyrosine kinase oncogenes. *Nature*, 318:385-388,
1985.
22. DEGNANT,T.; WEISELBERG,L.; SCHULMAN,P. & BUDMAN,D.R. Dysmyelo-
poietic syndrome: Current concepts. *Am.J.Med.*, 76:122-128,
1984.
23. DE LA CHAPELLE,A.; KNUUTILA,S. & ELONEN,E. Translocation (2;11)
(p21;q23) in acute nonlymphocytic leukaemia: A non-random as-
sociation. *Scand.J.Haematol.*, 36(Suppl 45):91-97,1986.
24. DEZZA,L.; CAZZOLA,M.; BERGAMASCHI,G.; BURGIO,V.L.; STELLA,C.C.;
FENOGLIO,C.; GHIZZI,A.; NALLI,G.; SACCHI,F & ASCARI,E. Myelo-
dysplastic syndrome with monosomy 7 in adulthood: A distinct

- preleukaemic disorder. *Haematologica (Pavia)*, 68:723-735, 1983.
25. DREYFUS, B. Preleukemic states. I. Definition and classification. II. Refractory anemia with an excess of myeloblasts in the bone marrow (Smoldering acute leukemia). *Blood Cells*, 2: 33 - 55, 1976.
 26. DRYJA, T.H.P.; CAVENEE, W.; WHITE, R.; RAPAPORT, J.; PETERSEN, R.; ALBERT, D.M. & BRUNS, G.A.P. Homozygosity of chromosome 13 in retinoblastoma. *N. Engl. J. Med.*, 310(9):550-553, 1984.
 27. FEDER, M.; FINAN, J.; BESA, E. & NOWELL, P. A 2p:11q chromosome translocation in dysmyelopoietic preleukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 15(1-2):143-150, 1985.
 28. FRISCH, B. & BARTL, R. Bone marrow histology in myelodysplastic syndromes. *Scand. J. Haematol.*, 36(Suppl 45):21-37, 1986.
 29. GAHMBERG, G.C.; ANDERSSON, L.C.; RUUTU, P.; TIMONEN, T.T.T.; HAEMNNEN, A.; VUOPIO, P. & DE LA CHAPELLE, A.: Decrease of the major molecular weight surface glycoprotein of granulocytes in monosomy 7 associated with defective chemotaxis. *Blood*, 54(2): 401-406, 1979.
 30. GALTON, D.A.G. The myelodysplastic syndromes. *Scand. J. Haematol.*, 36(Suppl 45):11-20, 1986.
 31. GEARY, C.G. The diagnosis of preleukaemia. *Br. J. Haematol.*, 55: 1 - 6, 1983.
 32. GEORGIU, A.; THIELE, J. & VYKOUPIK, K.-F. Myeloid dysplasia: The histopathology of preleukemia. In: NETH, R.; GALLO, R.C.; GRAF, T.; MANNWEILER, K. & WINKLER, K. (eds). *Modern Trends in Human Leukemia IV*. Berlin, Springer-Verlag, p.34-35, 1981.

33. GERAEDTS, J.P.M.; WEBER, R.F.A.; KERKHOF, H. & LEEKSMA, C.H.W. The preleukemic syndrome. II Cytogenetic findings. *Acta Med. Scand.*, 207(6):447-454, 1980.
34. HAGEMEIJER, A.; HAHLEN, K.; SIZOO, W. & ABELS, J. Translocation (9;11)(p21;q23) in three cases of acute monoblastic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 5:95-105, 1982.
35. HAMILTON-PATERSON, J.L. Pre leukemia anaemia. *Acta Haematol.*, 2: 309 - 316, 1949.
36. HEIM, S.; MITELMAN, F. & JERNTORP, P. A case of dysmyelopoietic syndrome with hypotetraploid karyotype. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 18(2):179 - 182, 1985.
37. HYDER, D.M.; BOTTOMLEY, S.S. & BOTTOMLEY, R.H. A new chromosome abnormality in idiopathic sideroblastic anemia: 46,XX,del(11q23) *Am. J. Haematol.*, 5:239 - 1978.
38. ISCN - An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. *Cytogenet. Cell Genet.*, 21:309 - 404, 1978.
39. JACOBS, R.H.; CORNBLEET, M.A.; VARDIMAN, J.W.; LARSON, R.A.; LE BEAU, M.M. & ROWLEY, J.D. Prognostic implications of morphology and karyotype in primary myelodysplastic syndromes. *Blood*, 67(6): 1765 - 1772, 1986.
40. JENSEN, M.K. & PHILIP, P. Cytogenetics studies in haematological disorders which may terminate in acute leukaemia. *Acta Med. Scand.*, 193:353-357, 1973.
41. KARDON, N.; SCHULMAN, P.; DEGNAN, T.J.; BUDMAN, D.R.; DAVIS, J. & VINCIGUERRA, V. Cytogenetic findings in the dysmyelopoietic syndrome. *Cancer*, 50:2834-2838, 1982.

42. KERE, J.; RUUTU, T. & DE LA CHAPELLE, A. Monosomy 7 in granulocytes and monocytes in myelodysplastic syndromes. *N.Engl.J.Med.*, *316*(9):499 - 503, 1987.
43. KERKHOF, H.; HERMANS, J.; HAAK, L. & LEEKSMA, C.H.W. Utility of the FAB classification for myelodysplastic syndromes: Investigations of prognostic in 237 cases. *Br.J.Haematol.*, *65*(1):73 - 81, 1987.
44. KNAPP, R.H.; DEWALD, G.W. & PIERRE, R.V. Cytogenetic studies in 174 consecutive patients with preleukemic or myelodysplastic syndromes. *Mayo Clin.Proc.*, *60*(8):507 - 516, 1985.
45. KNUUTILA, S.; SIMELL, O.; LIPPONEN, P. & SAARINEN, I. Bone-marrow chromosomes in healthy subjects. *Hereditas*, *82*(1):29-36, 1976a.
46. KNUUTILA, S. Polyploid mitoses in human bone-marrow cell. *Hereditas*, *82*(2):263 - 265, 1976b.
47. KNUUTILA, S.; TEERENHOVI, L. & BORGSTROEM, G.H. Chromosome instability is associated with hypodiploid clones in myelodysplastic syndromes. *Hereditas*, *101*:19 - 30, 1984.
48. KOEFFLER, H.P. & GOLDE, D.W. Human Preleukemia. *Ann.Intern.Med.*, *93*(2):347 - 353, 1980.
49. KOEFFLER, H.P. Myelodysplastic syndromes (Preleukemia). *Semin.Hematol.*, *23*(4):284 - 299, 1986.
50. KONDO, I. & SHIMIZU, N.: Mapping of the human gene for epidermal growth factor receptor (EGFR) on the p13 ->q22 region of chromosome 7. *Cytogenet.Cell Genet.*, *35*(1):9 - 14, 1983

51. KOUFOS, A.; HANSEN, M.F.; LAMPKIN, B.C.; WORKMAN, M.L.; COPELAND, N. G.; JENKINS, N.A. & CAVENEE, W.K. Loss of alleles at loci on human chromosome 11 during genesis of Wilms' tumour. *Nature*, 309:170-172, 1984.
52. LARRIPA, I.; BIANCHI DE RISIO, C.; BARBICH, M.; FADEL DE TARSITANO, M. & BRIEUX DE SALUM, S. Estudio citogenético y granulopoyético en síndromes mielodisplásticos. Su correlación. *Sangre*, 2 (4):429-438, 1983.
53. LEVAN, A.; MANALOV, G.; & CLIFFORD, P. Chromosomes of a human neuroblastoma: A new case with accessory minute chromosomes. *J. Natl. Cancer Inst.*, 41:1377 - 1387, 1968.
54. LINMAN, J.W. & BAGBY Jr, G.C. The preleukemic syndrome: Clinical and laboratory features, natural course, and management. *Blood Cells*, 2:11 - 31, 1976.
55. LINMAN, J.W. & BAGBY Jr, G.C. The preleukemic syndrome (Hemopoietic Dysplasia). *Cancer*, 42:854 - 864, 1978.
56. LISKER, R.; COBO DE GUTIÉRREZ, A. & VELAZAQUES-FERRARI, M. Longitudinal bone marrow chromosome studies in potential leukemic myeloid disorders. *Cancer*, 31:509 - 515, 1973.
57. MARINELLO, M.J.; BLOOM, M.L. & DOEBLIN, T.D. Double minute Chromosomes in human leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 303(12):704, 1980.
58. MARK, J. Chromosomal abnormalities and their specificity in human neoplasms: An assessment of recente observations by banding techniques. *Adv. Cancer Res.*, 24:165 - 222, 1977.
59. MARTIN, S.; BALDOCK, S.C.; GHONEIM, A.I.M. & CHILD, J.A. Defective neutrophil function and microbicidal mechanisms in the myelo-

- dysplastic disorders. *J.Clin.Pathol.*, **36**(10):1120-1128, 1983
60. MAY, S.J.; SMITH, S.A.; JACOBS, A.; WILLIAM, S.A. & BAILEY-WOOD, R.
The myelodysplastic syndrome: Analysis of laboratory characteristics in relation to the FAB classification. *Br.J.Haematol.*, **59**:311 - 319, 1985.
 61. MECUCCI, C; GHIONE, F.; TRICOT, G. & VAN DEN BERGHE, H Combined trisomy 1q and monosomy 7q due to translocation 1;7 in myelodysplastic syndromes. *Cancer Genet.Cytogenet.*, **18**(3):193-197, 1985.
 62. MECUCCI, C. & VAN DEN BERGHE, H. A t(9,11)(q11;p15) translocation in a myelodysplastic syndrome with erythroleukemic trait. *Cancer Genet.Cytogenet.*, **23**(3):281-282, 1986.
 63. MECUCCI, C.; REGE-CAMBRIN, G.; MICHAUX, J.-J; TRICOT, G. & VAN DEN BERGHE, H. Multiple chromosomally distinct cell populations in myelodysplastic syndromes and their possible significance in the evolution of disease. *Br.J.Haematol.*, **64**:699-706, 1986.
 64. MICHALSKI, K.A.; MILES, J.H. & PERRY, M.C. Unusual PH₂ translocation in a Preleukemia. *Cancer Genet.Cytogenet.*, **6**:89-90, 1982.
 65. MICHIELS, J.J.; MALLIOS-ZORBALA, H.; PRINS, M.E.F.; HAEMLEN, K. & HAGEMEIJER, A. Simple monosomy 7 and myelodysplastic syndrome in thirteen patients without previous cytostatic treatment. *Br.J.Haematol.*, **64**:425 - 433, 1986.
 66. MITELMAN, F. & BRANDT, L. Chromosome banding pattern in acute myeloid leukaemia. *Scand.J.Haematol.*, **13**:321-330, 1974.
 67. NAGASAKA, M.; MAEDA, S.; MAEDA, H.; CHEN, H.; KITA, K.; MABUCHI, O.;

- MISU, H.; MATSUO, T. & SUGIYAMA, T. Four cases of t(4;11) acute leukemia and its myelomonocytic nature in infants. *Blood*, 61 (1):1174 - 1181, 1983.
68. NIELSEN, B.; THIEDE, T.; SUNDSTROEM, C. & HAGBERG, H. Classification of patients with myelodysplastic syndromes according the FAB co-operative group's proposals. *Scand. J. Haematol.*, 32: 531 - 535, 1984.
69. NOWELL, P.C. Marrow chromosome studies in "Preleukemia". Further correlation with clinical course. *Cancer*, 28:513-518, 1971.
70. NOWELL, P.C. & FINAN, J. Chromosome studies in preleukemia states. IV. Myeloproliferative versus cytopenic disorders. *Cancer*, 42: 2254 - 2261, 1978.
71. NOWELL, P.C. Preleukemias. *Hum. Pathol.*, 12(6):522-530, 1981.
72. NOWELL, P.C. Cytogenetics of preleukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 5:265 - 278, 1982.
73. NOWELL, P.C.; BESA, E.C.; STELMACH, T. & FINAN, J.B. Chromosome studies in preleukemic states. V. Prognostic significance of single versus multiple abnormalities. *Cancer*, 58: 2571- 2575, 1986.
74. OHYASHIKI, K.; YOSHIDA, M.A.; OHYASHIKI, J.; KIYOKAWA, M.; TSURUMI, N.; KATSUNUMA, H. & SANDBERG, A.A. Involvement of chromosomes 4, 11, and 17 in case of myelodysplastic syndrome. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 18(3):265-273, 1985.
75. OHYASHIKI, K.; YOSHIDA, M.A.; GIBAS, L.M.; OHYASHIKI, J.H.; KATSUNUMA, H.; RYAN, D.H.; ROWLEY, J.D. & SANDBERG, A.A. Cytogenetic changes at 11q11, 11q23, and 17q11 in myelo-

- dysplastic syndrome. *Cancer Genet.Cytogenet.*, 21:287- 295, 1986.
76. OHYASHIKI,J.K.; OHYASHIKI,K.; MILLER,K.B.; CUIFFO,B.P. & SANDBERG,A.A. Acute myelomonocytic leukemia with double minute chromosomes and normal karyotype. *Cancer Genet.Cytogenet.*, 25:1 - 6,1987.
77. PANANI,A.; PAPAYANNIS,A.G.; KYRKOU,K. & GARDIKAS,C. Cytogenetic studies in preleukemia using G-banding staining technique. *Scand.J.Haematol.*, 18:301 - 308,1977.
78. PASQUALI,F.; BERNASCONI,P.; CASALONE,R.; FRACCARO,M.; BERNASCONI,C.; LAZZARINO,M.; MORRA,E.; ALESSANDRINO,E.P.; MARCHI,M.A. & SANGER,R. Pathogenetic significance of "pure" monosomy 7 in myeloproliferative disorders. Analysis of 14 cases. *Hum.Genet.*, 62:40 - 51,1982.
79. PEDERSEN-BJERGAARD,J.; PHILIP,P.; MORTENSEN,B.T.; ERSBOLL,J.; PANDURO,J. & THOMSEN,M. Acute nonlymphocytic leukemia, preleukemia and acute myeloproliferative syndrome secondary to treatment of other malignant diseases: Clinical and cytogenetic characteristics and results of in vitro culture of bone marrow and HLA typing. *Blood*, 57(4):712 - 723,1981.
80. PEDERSEN-BJERGAARD,J. & LARSEN,S.O. Incidence of acute nonlymphocytic leukemia, preleukemia and acute myeloproliferative syndrome up to 10 years after treatment of Hodgkin's disease. *N.Engl.J.Med.*, 307(16):965 - 971,1982.
81. PEDERSEN-BJERGAARD,J. & KERNDROP,G. Specific minor chromosome deletions consistently occurring in myelodysplastic syndromes.

- Cancer Genet.Cytogenet.*,23(1):61 - 75,1986a.
82. PEDERSEN-BJERGAARD,J. & KERNDROP,G. Another case of myelodysplastic syndrome with a chromosome mode in the tetraploid range. *Cancer Genet.Cytogenet.*,23(2):175 - 178,1986b.
 83. PIERRE,R.V.; HOAGLAND,H.C. & LINMAN,J.W. Microchromosomes in human preleukemia and leukemia. *Cancer*,27(1):160-175,1971.
 84. PIERRE,R. Preleukemic States. *Sem.Hematol.*,11(1):73-92,1974.
 85. PIMENTEL,E. Oncogenes and human cancer. *Cancer Genet.Cytogenet.*,14(3-4):347 - 368,1985.
 86. ROTH,D.G.; RICHMAN,C.M. & ROWLEY,J.D. Chronic myelodysplastic syndrome (Preleukemia) with the Philadelphia chromosome. *Blood*, 56(2):262 - 264,1980.
 87. ROWLEY,J.D.; GOLOMB,H.M. & VARDINAM,J. Nonrandom chromosome abnormalities in acute nonlymphocytic leukemia in patients treated for Hodgkin disease and non-Hodgkin lymphomas. *Blood*,50: 759 - 770,1977.
 88. ROWLEY,J.D. Chromosomal abnormalities in human leukemia. *Ann. Rev.Genet.*,14:17 - 39,1980.
 89. RUUTU,P.; RUUTU,T.; VUOPIO,P.; KOSUNEN,T.V. & DE LA CHAPELLE,A. Defective chemotaxis in monosomy-7. *Nature*,265:146-147, 1977a.
 90. RUUTU,P.; RUUTU,T.; VUOPIO,P.; KOSUNEN,T.V. & DE LA CHAPELLE,A. Function of neutrophils in preleukaemia. *Scand.J.Haematol.*, 18:317 - 325,1977b.
 91. RUUTU,P.; RUUTU,T.; REPO,H.; VUOPIO,P.; TIMONEN,T.; KOSUNEN,T.U. & DE LA CHAPELE,A. Defective neutrophil migration in monosomy 7. *Blood*,58(4):739 - 745,1981.

92. SAARINEN, U.M. & WEGELIUS, R. Preleukemic syndrome in children. *Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.*, 6(2):137-145, 1984.
93. SAARNI, M.I. & LINMAN, J.W. Preleukemia: The hematologic syndrome preceding acute leukemia. *Am. J. Med.*, 55:38-48, 1973.
94. SAKURAI, M. & SANDBERG, A.A. Chromosome and causation of human cancer and leukemia. XIII. An evaluation of karyotypic findings in erythroleukemia. *Cancer*, 37:790-804, 1976.
95. SANCHEZ, O.; ESCOBAR, J.J. & YUNIS, J.J. A simple G-banding technique. *Lancet* II:269, 1973.
96. SANDBERG, A.A.; TAKAGI, N.; SOFUNI, T. & CROSSWHITE, L.H. Chromosomes and causation of human cancer and leukemia. V. Karyotypic aspects of acute leukemia. *Cancer*, 22:1268 - 1282, 1968.
97. SANDBERG, A.A. The Leukemias: Chronic Granulocytic Leukemia. In: SANDBERG, A.A. (ed.) *Chromosomes in Human Cancer and Leukemia*. New York, Elsevier-North-Holland, pp 183, 1980.
98. SANDBERG, A.A.; MORGAN, R.; HECHT, B.K. & HECHT, F. Translocation (1;7)(p11;p11): A new myeloproliferative hematologic entity. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 18(3):199-206, 1985.
99. SCHERES, J.M.J.C.; HUSTINX, T.W.J.; HOLDRINET, R.S.G.; GERAEDTS, J.P.M.; HAGEMEIJER, A. & VAN DEN BLI-PHILIPSEN, M. Translocation 1;7 in dyshematopoiesis: Possibly induced with a nonrandom geographic distribution. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 12:283-294, 1984.
100. SCHERES, J.M.J.C.; HUSTINX, T.W.J.; GERAEDTS, J.P.M.; LEEKSMA, C.H.W. & MELTZER, P.S. Translocation 1;7 in hematologic disorders: A brief review of 22 cases. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 18(3):

207- 213,1985.

101. SCHMALZL,F. & HELLRRIEGEL,K.P. Preleukemia. Problems and Trends.
In: SCHMALZL,F.; HELLRRIEGEL,K.P.(eds). *Preleukemia*, Berlin,
Hidelburg, Springer-Verlag, pp 189,1979.
102. SECOND INTERNATIONAL WORKSHOP ON CHROMOSOMES IN LEUKEMIA. Leuven,
1979. *Cancer Genet.Cytogenet.*,2(2):89-113,1980.
103. SIEGEL,L. O caso de duas amostras independentes. In: *Estatística
não-paramétrica (Non-parametric statistics for the behavioral
sciences)*, Farias,A.A. (trad.). São Paulo, McGraw-Hill, 1975,
pps.107-116.
104. SILLS,R.H. & STOCKMAN,A. Preleukemic state in children with acu-
te lymphoblastic leukemia. *Cancer*,48:110-112,1981.
105. SMADJA,N.; KRULIK,M.; DE GRAMONT,A.; BRISSAUD,P. & DEBRAY,J. Ac-
quired idiopathic sideroblastic anemia and terminal deletion
of chromosome 11. *Cancer Genet.Cytogenet.*,16(3): 275 - 278,
1985a.
106. SMADJA,N.; KRULIK,M.; DE GRAMONT,A.; BRISSAUD,P. & DEBRAY,J. Ac-
quisition of a Philadelphia chromosome concomitant with trans-
formation of a refractory anemia into an acute leukemia.
Cancer,55(7):1477-1481,1985b.
107. SMADJA,N.; KRULIK,M.; DE GRAMONT,A.; AUDEBERT,A.A. & DEBRAY,J.
Translocation 1;7 in preleukemic states. *Cancer Genet.
Cytogenet.*,18(3):189-192,1985c.
108. STELMACH,T. & NOWELL,P.C. Two cases of myelodysplastic syndrome
with both t(5;20) and 17p+ translocations. *Cancer Genet.
Cytogenet.*,24:371-373,1987.

109. STREULI, R.A.; TESTA, J.R.; VARDIMAN, J.M.; MINTZ, H.M. & ROWLEY, J.D.
Dysmyelopoietic syndrome: Sequential clinical and cytogenetic studies. *Blood*, 55:636-648, 1980.
110. TAISNE, C.; GEGONNE, A.; STEHELIN, D.; BERNHEIM, A. & BERGER, R.
Chromosomal localization of the human proto-oncogene c-ets. *Nature*, 310:581-583, 1984.
111. TESTA, J.R. & ROWLEY, J.D. Chromosomes in leukemia e lymphoma with special emphasis on methodology. In: CATOVSKY, D. (ed.). *The Leukemia Cell*. Ediburg, Churchill-Liingston, pp 184, 1980.
112. TESTA, J.R.; OGUMA, N.; POLLAK, A. & WIERNIK, P.H. Near-tetraploid clones in acute leukemia. *Blood*, 61(1): 71 - 78, 1983.
113. THIELE, J.; VYKOUPIK, K.F. & GEORGII, . Myeloid Dysplasia (MD): a hematological disorder preceding acute and chronic myeloid leukemia. *Virchows. Arch. A. Path. Anat. Hist.*, 389:343-367, 1980.
114. TODD, W.M. & PIERRE, R.V. Preleukemia: A long-term prospective study of 326 patients. *Scand. J. Haematol.*, 36(Suppl 45): 114 - 120, 1986.
115. TOMONAGA, M.; TOMONAGA, Y.; KUSANO, M. & ICHIMARU, M. Sequential karyotypic evolutions and bone marrow aplasia preceding acute myelomonocytic transformation from myelodysplastic syndrome. *Br. J. Haematol.*, 58:53 - 60, 1984
116. TRICOT, G. & VAN DEN BERGHE, H. Isolated peripheral thrombocytopenia as presenting symptom in preleukemia: A report of two cases with 11q+. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 5:147-151, 1982.
117. TRICOT, G.; BOOGAERTS, M.A.; DE WOLF-PEETERS, C. & VAN DEN BERGHE, H.
The myelodysplastyc syndromes: Different evolution patterns

- based on sequential morphological and cytogenetic investigations. *Br.J.Haematol.*, 59:659 - 670, 1985a.
118. TRICOT,G.; VLIENTINK,R.; BOOGAERTS,M.A.; HENDRICKY,B.; DE WOLF-PEETERS,C.; VAN DEN BERGH,H. & VERWILGHEN,R.L. Prognostic factors in the myelodysplastic syndromes: Importance of initial data on peripheral blood counts, bone marrow cytology, trephine biopsy and chromosomal analysis. *Br.J.Haematol.*, 60:19 - 32, 1985b.
 119. TRICOT,G.; VLIETINCK,R. & VERWILGHEN,R.L. Prognostic factors in the myelodysplastic syndromes: A review. *Scand.J.Haematol.*, 36 (Suppl 45):107 - 113, 1986.
 120. TRUJILLO,J.M.; CORK,A.; HART,J.S. & FREIREICH,E.J. Case report: tetraploid leukemia. *Blood*, 38(5):632 - 637, 1971.
 121. VAN DEN BERGHE,H. The 5q- syndrome. *Scand.J.Haematol.*, 6 (Suppl 45):78-81, 1986.
 122. VAN DIJK,J.M.; SONNENBLICK,M.; KORNBERG,A. & ROSIN,A.J. Preleukemic syndrome in elderly patients - report of 11 cases. *Israel J.Med.Sci.*, 21(3):292 - 295, 1985.
 123. VERHEST,A. & MONSIEUR,R. Philadelphia chromosome positive thrombocythemia with leukemic transformation *N.Engl.J.Med.*, 308: 1603, 1983.
 124. WAINWRIGHT,B.; SCAMBLER,P.J.; SCHMIDTKE,J.; WATSON,E.A.; LAW, H-Y.; FARRALL,M.; COOKE,H.J.; EIBERG,H. & WILLIAMSON,R. Localization of cystic fibrosis locus to human chromosome 7cen ->q22. *Nature*, 318:384-385, 1985.
 125. WEGELIUS,R. Preleukaemic states in children. *Scand. J. Haematol.*, 36(Suppl 45):133-139, 1986.

126. WEN, H.J.; ZSCHABER, R. & HOSSFELD, D.K. Double minute chromosomes: A frequent marker in leukemic patients with a previous history of malignant disease? *Cancer Genet.Cytogenet.*, 5:279-280, 1982.
127. YUNIS, J.J. Chromosomes and Cancer: New nomenclature and future directions. *Hum.Pathol.*, 12(6):494-502, 1981.
128. YUNIS, J.J. Comparative analysis of high-resolution chromosome techniques for leukemic bone marrow. *Cancer Genet.Cytogenet.*, 7:43, 1982.
129. YUNIS, J.J.; RYDELL, R.E.; OKEN, M.M.; ARNESEN, M.A.; MAYER, M.G. & LOBELL, M. Refined chromosome analysis as an independent prognostic indicator in *de novo* myelodysplastic syndromes. *Blood*, 67(6):1721-1730, 1986.

APÊNDICE

Caso 1.: J.G.L., sexo masculino, 55 anos, com queixas de fraqueza, cansaço, palidez e febre de até 40°C. Ao exame físico apresentava fígado e baço palpáveis a 2 cm do RCD e E respectivamente, hemograma: hemácias= $3,7 \times 10^6/\mu\text{l}$, Hb=9,8g/dl, leucócitos= $10 \times 10^3/\mu\text{l}$ (2-3-15-20)-7-1-51-1, plaquetas= $150.000/\text{mm}^3$ e reticulócitos=0,6%. Medula óssea hipercelular, com intensa hiperplasia da série eritroblástica, moderado aumento da série megacariocítica e discreta diminuição da série granulocítica, apresentando sideroblastos em anel (12%) - AR. Durante a evolução clínica apresentou um episódio de pneumonia lobar e um surto de necrose hepática. Desenvolveu colicistite aguda sendo colistectomizado e esplenectomizado, apresentando condições regulares no pós-operatório. Atualmente, sem tratamento específico com Hb=7,5g%, 50 a 100% de eritroblastos no S.P. e 5% de reticulócitos.

Caso 2.: S.A., sexo masculino, 23 anos, que apresentou contato com agrotóxicos por 10 meses há 6 anos (1981) e posterior aparecimento de manchas roxas pelo corpo. Ao exame físico não apresentava visceromegalias. Hemograma: hemácias= $3,06 \times 10^6/\mu\text{l}$, Hb=11,5g/dl, leucócitos= $3,9 \times 10^3/\mu\text{l}$ (2-37)-2-0-54-5 e plaquetas= $8.000/\text{mm}^3$. Hemogramas subsequentes revelaram neutropenia, plaquetopenia e macrocitose. A biópsia de MO revelou parênquima celular hipocelular, em sua maioria composto por

tecido adiposo, células das linhagens branca e vermelha diminuídas em número, além de não terem sido observados megacariócitos. Após discussão para o diagnóstico diferencial com Aplasia Medular decidiu-se pelo diagnóstico de AR. Atualmente, hemácias= $4,13 \times 10^6 / \mu l$, Hb=15,2 g/dl, leucócitos= $5,4 \times 10^3 / mm^3$ (0-52)-1-0-40-7 e plaquetas= $29.000 / mm^3$. Assintomático.

Caso 3.: L.S.M., sexo feminino, 66 anos, com queixa de anemia. Hemograma apresentando Hb=7,99g/dl, leucócitos= $3,4 \times 10^3 / \mu l$ (7-42)-0-0-49-2, plaquetas normais e reticulócitos=3,8%. MO hipoplásica com micromegacariócitos abundantes, mastocitose, diminuição da série granulocítica e série vermelha com eritrócitos grandes e em grupos. Diagnóstico de AR. O último hemograma revelou hemácias= $2,41 \times 10^6 / \mu l$, Hb=8,0g/dl, leucócitos= $4,6 \times 10^3 / mm^3$ e plaquetas normais. Paciente faleceu no pós-operatório de cirurgia cardíaca.

Caso 4.: R.O.C., sexo feminino, 46 anos, com queixas de anemia e infecções de repetição. Hemograma: hemácias= $4,1 \times 10^6 / \mu l$, Hb=11,0g/dl, leucócitos= $2,6 \times 10^3 / mm^3$ (6)-0-0-94-0 e plaquetas normais. A biópsia de MO revelou tecido hematopoiético hipocelular às custas, predominantemente, de intensa hipoplasia da série granulocítica, série eritroblástica hiperplásica com predomínio de células jovens, megacariócitos aumentados em número e com atipias celulares moderadas. Diagnóstico de AR. Atualmente, assintomática, hemácias= $3,6 \times 10^6 / \mu l$, Hb=9,9 g/dl, leucócitos= $3,0 \times 10^3 / mm^3$ (3-11)-0-0-84-2, plaquetas= $100.000 / mm^3$ e reticulócitos=4%.

Caso 5.: C.H.S., sexo masculino, 56 anos, com exposição ocupacional a defensivos agrícolas. Apresentava queixas de fraqueza, cansaço e perda de apetite. Hemograma: hemácias= $3,73 \times 10^6$ / μ l, Hb=11,1g/dl, leucócitos= $6,2 \times 10^3$ / μ l (3-64)-2-0-28-3, plaquetas normais e reticulócitos=0,8%. MO normocelular com aumento dos elementos jovens na série eritroblástica, série granulocítica com morfologia e maturação normais e megacariócitos com número e forma normais. Diagnóstico de AR. Atualmente está sendo submetido a um programa de hipertransfusão e apresenta insuficiência renal de causa ainda não determinada. Hemograma: hemácias= $3,26 \times 10^6$ / μ l, Hb=8,7g/dl, leucócitos= $6,6 \times 10^3$ / μ l (2-61)-1-0-33-3, número normal de plaquetas e reticulócitos=0,4%.

Caso 6.: T.H., sexo masculino, 64 anos, com processo infeccioso em membro superior e grave anemia. Hemograma: hemácias= $1,8 \times 10^6$ / μ l, Hb=6,4g/dl, leucócitos= $6,7 \times 10^3$ / μ l (11-34)-0-0-48-7, plaquetas= $12.000/\text{mm}^3$ e reticulócitos=1,3%. MO hipercelular com 11% de blastos - diagnóstico de AREB. Na evolução apresentou síndrome anêmica requerendo transfusões repetidas. Último hemograma: hemácias= $3,16 \times 10^6$ / μ l, Hb=10,1/dl, leucócitos= $2,2 \times 10^3$ / μ l (16-34)-0-0-48-2 e plaquetas= $42.000/\text{mm}^3$. Óbito por hemorragia intestinal.

Caso 7.: F.G.D., sexo feminino, 70 anos, com exposição a defensivos agrícolas. Apresentava pancitopenia a esclarecer. Hemograma: hemácias= $4,08 \times 10^6$ / μ l, Hb=10,6g/dl, leucócitos = $1,5 \times 10^3$ / μ l (33)- 0- 0- 53-14 e plaquetas= $134.000/\text{mm}^3$. MO normocelular com hiperplasia da série eritroblástica, série granulocítica

hipoplasiada, exibindo elementos predominantemente maduros com discretas atipias, série megacariocítica numericamente normal, porém com alguns elementos atípicos, geralmente micromegacariócitos. Presença de 7% de blastos - diagnóstico de AREB. Último hemograma: hemácias= $3,81 \times 10^6/\mu\text{l}$, Hb=11,2g/dl, leucócitos= $2,1 \times 10^3/\text{mm}^3$ (29)-5-3-55-8 e plaquetas= $60.000/\text{mm}^3$. Não retornou ao ambulatório.

Caso 8.: F.C., sexo masculino, 68 anos, com exposição à inseticidas na lavoura de café. Apresentava queixas de fraqueza, tontura, sonolência e cansaço. Hemograma: Hb=8,0g/dl, leucócitos= $1,6 \times 10^3/\mu\text{l}$ (2-14)-0-0-68-16 e plaquetas= $32.000/\text{mm}^3$. MO hipocelular com 11% de blastos - diagnóstico de AREB. Último hemograma: hemácias= $3,42 \times 10^6/\mu\text{l}$, Hb=9,8g/dl, leucócitos= $15 \times 10^3/\mu\text{l}$ com desvio à esquerda, plaquetas= $35.000/\text{mm}^3$ e 13% de blastos. Na evolução desenvolveu LNLA e óbito decorrente de sangramento.

Caso 9.: J.L.M., sexo masculino, 21 anos, com história de epistaxe e gengivorragia. Hemograma: hemácias= $1,36 \times 10^6/\mu\text{l}$, Hb=5,2g/dl, leucócitos= $2,8 \times 10^3/\mu\text{l}$ (1-35)-1-0-58-5, plaquetas= $5.000/\text{mm}^3$ e reticulócitos=4,3%. MO com celularidade reduzida, moderada hiperplasia da série eritroblástica, série granulocítica ligeiramente hipoplásica com 7% de blastos e série megacariocítica intensamente reduzida - diagnóstico de AREB. Último hemograma: hemácias $1,83 \times 10^6/\mu\text{l}$, Hb=5,1g/dl, leucócitos= $0,8 \times 10^3/\mu\text{l}$ (0-)-5-75-20 e plaquetas= $1.000/\text{mm}^3$. Desenvolveu LNLA e óbito subsequente.

Caso 10.: O.F., sexo masculino, 45 anos. Recebeu durante dois anos (1979 e 1980) Procarbazina (50mg/dia). Em 1980 apresentou repetidos episódios de febre sem foco infeccioso detectável, pancitopenia e MD hipocelular (não confirmada). Desde essa época apresentou pancitopenia e ocasionalmente febre sem infecção detectável, alguns episódios de artrites localizadas e remissão espontânea, prurido generalizado, além de emagrecimento significativo. Recebeu como terapêutica ácido fólico, corticosteróide, piridoxina e oximetolona, sem modificações nos quadros clínico e hematológico. Hemograma: hemácias = $3,23 \times 10^6 / \mu l$, Hb = 11,5g/dl, leucócitos = $1,8 \times 10^3 / mm^3$ (1-0-25-10)-0-0-50-14, plaquetas = $40.000 / mm^3$. MD com progressivo aumento de blastos (0%, 6% e 20%) e 10% de sideroblastos - diagnóstico de AREBt. último hemograma: hemácias = $2,76 \times 10^6 / \mu l$, Hb = 9,3g/dl, leucócitos = $2,3 \times 10^3 / \mu l$ (20)-0-4-64-12 e plaquetas = $24.000 / mm^3$. Na evolução apresentou anemia, artralgia, infecções e progressivo agravamento do estado geral, com óbito decorrente de LNLA.

Caso 11.: F.T., sexo masculino, 60 anos, com queixa de anemia. Hemograma: hemácias = $3,4 \times 10^6 / \mu l$, Hb = 7,9g/dl, leucócitos = $5,0 \times 10^3 / \mu l$ (3-57)-0-0-34-6. MD com hiperplasia da série eritroblástica e acentuado grau de atipias, série granulocítica hiperplásica com aumento de elementos jovens e atípicos, presença de 8% de blastos, biópsia de MD subsequente revelou 25% de blastos - diagnóstico de AREBt. Em um mês evoluiu para LNLA (44% de blastos) com óbito subsequente.

Caso 12.: F.S.S., sexo feminino, 52 anos, apresentando contato prévio com inseticida (BHC) e queixas de anemia e sangramento. Hemograma: Hb=4,0g/dl, leucócitos= $3,6 \times 10^3/\mu\text{l}$ com desvio à esquerda e plaquetas= $12.000/\text{mm}^3$. MO normocelular com sideroblastos em anel (25%) - diagnóstico de ARS. Último hemograma: Hb=11,2g/dl, leucócitos= $6,0 \times 10^3/\mu\text{l}$ com desvio à esquerda e plaquetas= $23.000/\text{mm}^3$. Evoluíu para pancitopenia com óbito decorrente de sangramento subaracnóide.

Caso 13.: Z.Q.P., sexo feminino, 48 anos, apresentando quadro de pancitopenia e hipermenorragia. Hemograma: hemácias= $3,0 \times 10^6/\mu\text{l}$, Hb=8,0g/dl, leucócitos= $2,7 \times 10^3/\mu\text{l}$. (9-55)-3-0-24, plaquetas= $52.000/\text{mm}^3$ e reticulócitos=5%. MO com intensa fibrose, hiperplasia das séries eritroblástica e megacariocítica e hipoplasia da série granulocítica - diagnóstico de SMDnc1. Na evolução apresentou quadro clínico grave decorrente de anemia refratária ao tratamento necessitando de transfusões periódicas. Último hemograma: hemácias= $3,3 \times 10^6/\mu\text{l}$, Hb=8,6g/dl, leucócitos= $3,0 \times 10^3/\mu\text{l}$, plaquetas= $35.000/\text{mm}^3$ e reticulócitos=2%. óbito por broncopneumonia.