

Claudia Teresa de Oliveira

Mielopatia Infiltrativa por Tumores não-Hematológicos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Pesquisa e Desenvolvimento – Biotecnologia Médica - Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP, para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lúgia Niero-Melo

Botucatu – SP

2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus

Oliveira, Claudia Teresa de.

Mielopatia infiltrativa por tumores não-hematológicos / Claudia Teresa de Oliveira. – Botucatu : [s.n.], 2009.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu, 2009.

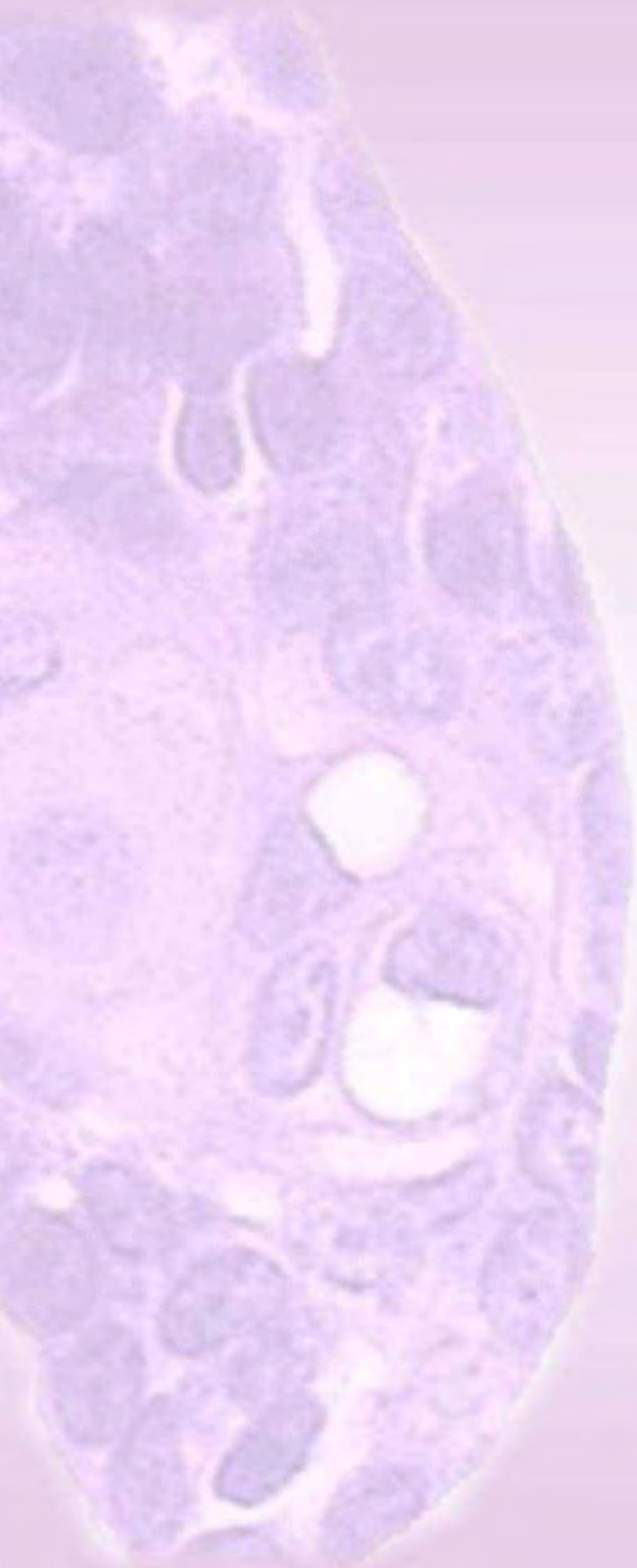
Orientadora: Lígia Niero-Melo

Assunto CAPES: 40101002

1. Câncer - Tratamento 2. Medula óssea - Biopsia 3. Biotecnologia médica

CDD 616.992

Palavras-chave: Biópsia de medula óssea; Medula óssea; Metástase; Micro-ambiente da MO; Tumores não hematológicos; Tumores sólidos



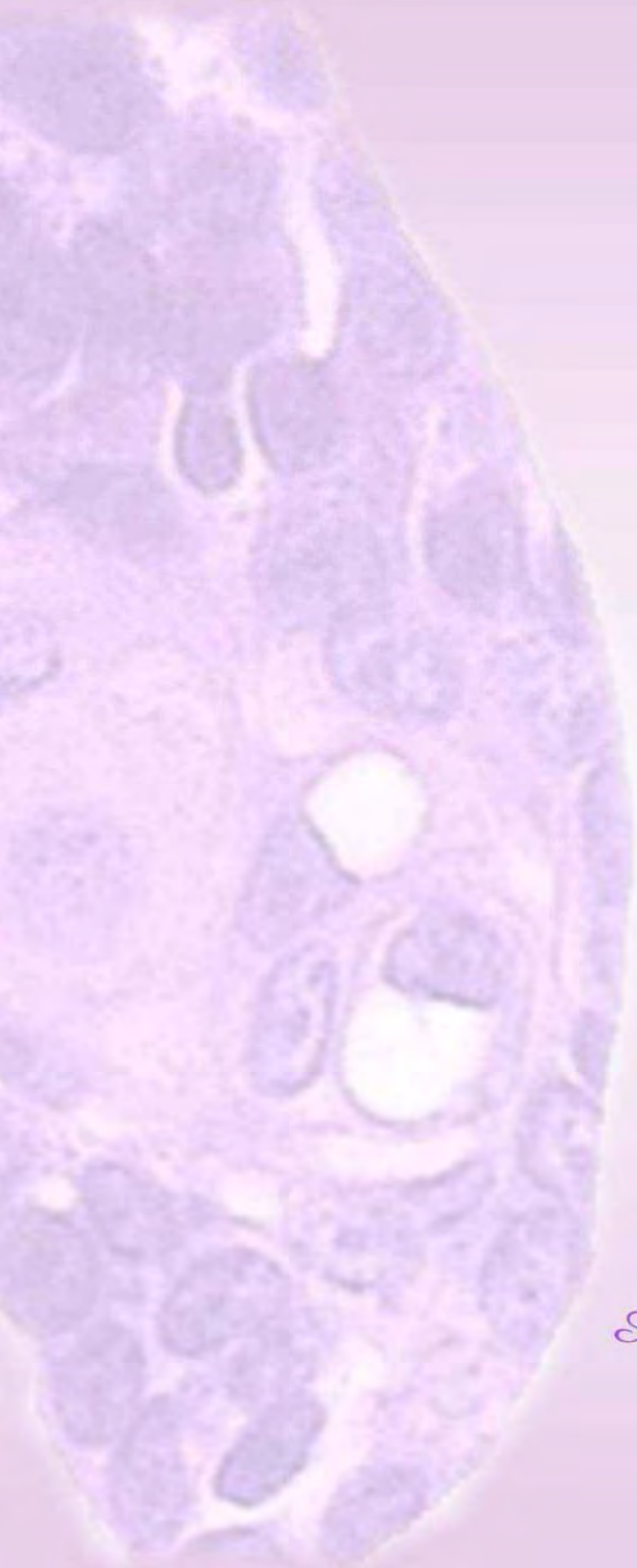
Dedicatória

"Ainda que eu falasse a língua dos homens, e falasse a língua dos anjos, sem amor, eu nada seria..."

("Monte Castelo" Renato Russo, com citação da Bíblia Sagrada, I Coríntios 13)

Aos meus pais, Jair e Maria Aparecida, pelo amor, esforço e dedicação incansáveis na educação dos filhos. Aos meus irmãos Júnior, Gislaine e Fábio pelo apoio e amor incondicional em todas as minhas escolhas.

Amo vocês!



*Agradecimentos
Especiais*

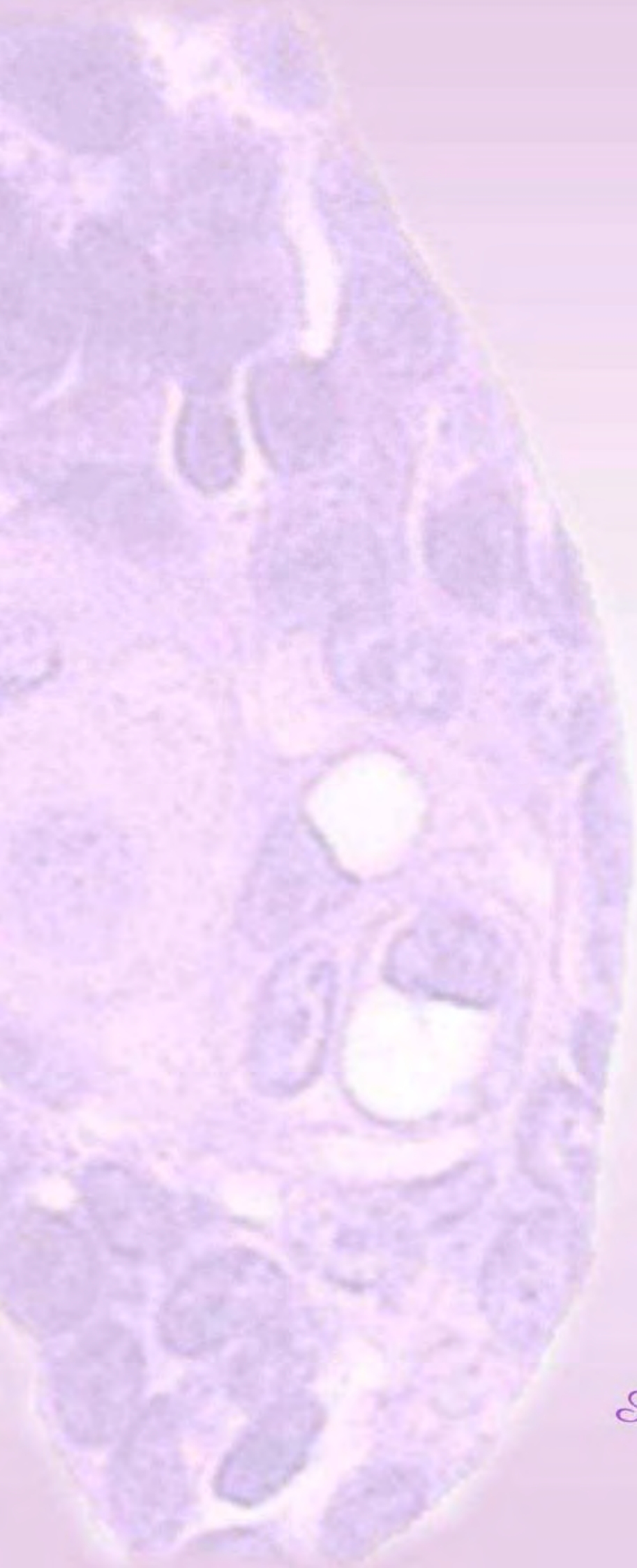
“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.”

Cora Coralina

À minha orientadora Profa. Dra. Lígia Niéro Melo, Professora Assistente Doutora da Disciplina de Hematologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, por ter-me ensinado “o pensar na hematologia”, pelo apoio na realização deste trabalho e, principalmente, pelos laços de amizade que nos unem.

À Dra. Ana Lúcia Coradazzi, amiga-irmã de coração, pela cumplicidade no trabalho e na vida, pelo apoio contínuo, disponibilidade e paciência. Pela enorme colaboração na realização deste trabalho.

Ao Dr. Mair Pedro de Souza, por ter me revelado a paixão pela Hematologia, por sempre acreditar no meu potencial e proporcionar oportunidades para participar desta equipe maravilhosa e principalmente, por me incluir como parte de sua família.



Agradecimientos

Ao Staff Médico do Departamento de Oncologia Clínica, Hematologia, Oncologia Pediátrica e Transplante de Medula Óssea do Hospital Amaral Carvalho, nas pessoas dos Drs. José Getúlio Martins Segalla, Vergílio Antonio Rensi Colturato, Marcos Augusto Mauad, Mair Pedro de Souza, Carlos Augusto de Mendonça Beato, Maura Rosane Valério Ikoma, Ana Lúcia Coradazzi, Gustavo Fernando Veraldi Ismael e Andiará Vasconcelos Cantarelli, pelo exemplo de profissionalismo, ética e estímulo contínuo ao crescimento profissional e pessoal.

À Dra Eda Manzo de Mendonça Beato, pela amizade, parceria na Pediatria e pela paciência nos muitos períodos de minha ausência para a realização deste trabalho.

À Claudia Conte, pelo carinho, companheirismo e enorme paciência.

Ao Dr. Paulo Eduardo de Abreu Machado cujas ações pioneiras na Faculdade de Medicina de Botucatu e na parceria com o Hospital Amaral Carvalho proporcionaram a concretização desta dupla de sucesso.

À Pós-Graduação em Pesquisa e Desenvolvimento – Biotecnologia Médica - na pessoa da Dr^a. Maria Inês de Moura Campos Pardini, por ter proporcionado condições para a realização deste trabalho.

Ao Jefferson Burgo Perigolo, da Universidade Corporativa do Hospital Amaral Carvalho – UCAE pelo enorme apoio na informática

Ao Anderson João Simiane, pela colaboração na estatística deste trabalho.

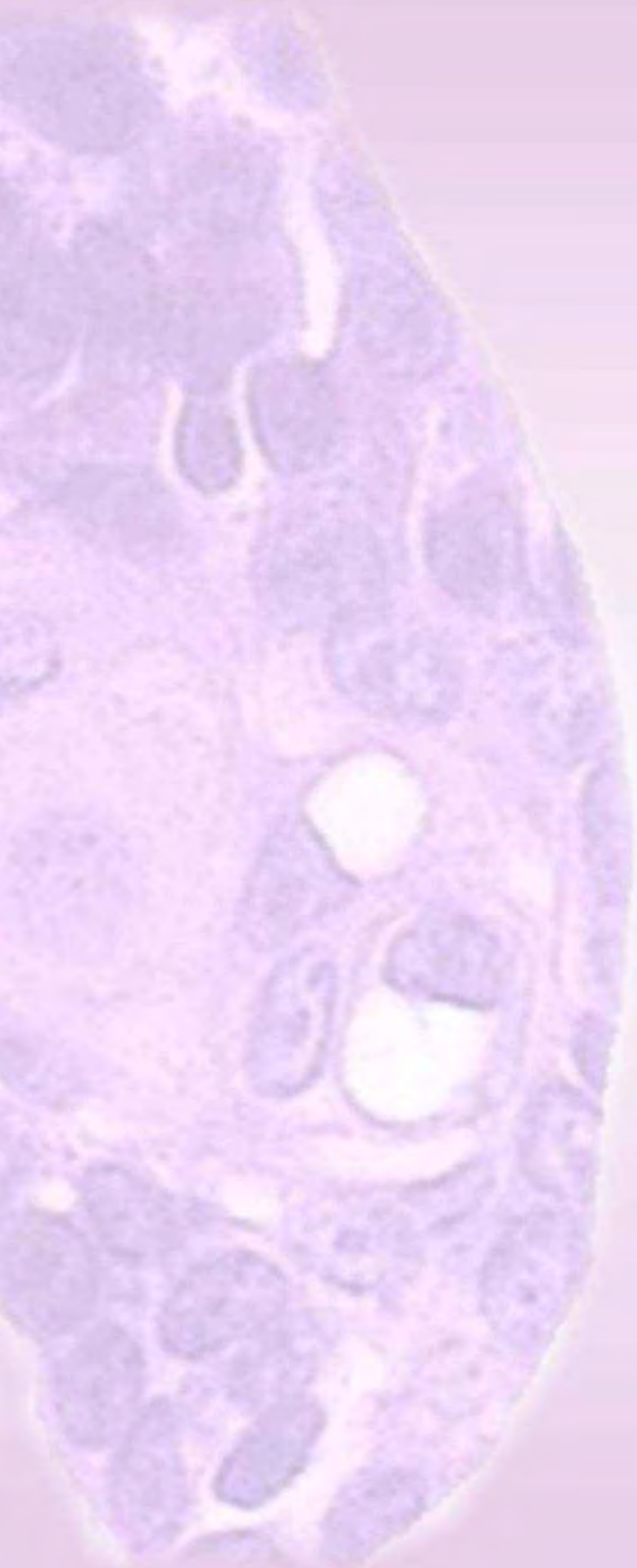
Aos pacientes, pela contribuição fundamental para a realização deste trabalho. Em especial, às crianças em tratamento oncológico, pelos ensinamentos diários na luta pela vida.

Ao Departamento de Patologia do Hospital Amaral Carvalho, nas pessoas do Dr. Francisco Carlos Quevedo, pela disponibilização do arquivo, Dr. Francisco Alves Moraes Neto, pela utilização de seus equipamentos de fotografia e funcionárias, pela disponibilidade no resgate e separação dos materiais arquivados para análise.

À Marinalva, funcionária responsável pela citologia do Hemocentro da FMB – Unesp, pela separação das lâminas do arquivo de medula óssea.

Às secretárias e amigas Silvia Simões, Márcia Morelli e Eislaine Fassina, pela dedicação incondicional e constante à nossa equipe.

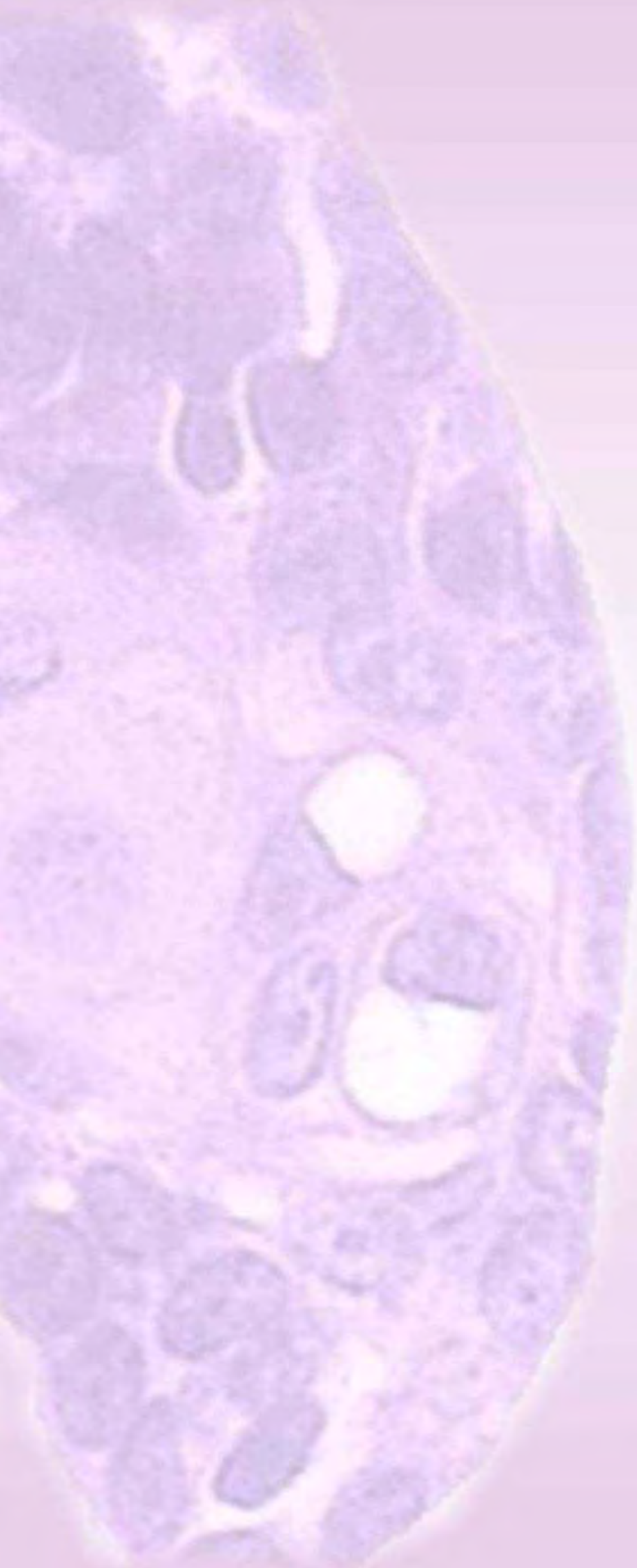
Aos médicos e residentes do Hospital Amaral Carvalho – Jaú e da Disciplina de Hematologia da FMB – Unesp, pela assistência aos pacientes e pela coleta da maioria das medulas ósseas avaliadas neste trabalho.



Resumo

A infiltração de MO por tumores não-hematológicos tem sido descrita desde 1935 e, mais recentemente, desperta interesse da comunidade científica, pois inúmeros trabalhos têm relacionado a presença de células tumorais na MO com o processo de carcinogênese e a progressão tumoral. O presente estudo teve por objetivo o levantamento dos casos com diagnóstico de mielopatia infiltrativa por tumores não-hematológicos, provenientes da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP e do Hospital Amaral Carvalho – Jaú, avaliados, retrospectivamente, no período de 1998 a 2008 (num universo de 15.191 coletas de MO). Incluímos 193 pacientes, dos quais 171 eram adultos e 22 crianças (idade ≤ 21 anos), com paridade entre os sexos (1:1) e mediana de idade de 55 anos. Foram analisados dados clínicos, diagnóstico e estadiamento do tumor primário, sítios de metástases, características laboratoriais (hemograma e marcadores tumorais séricos), características da MO, tratamento e a relação desses fatores com a sobrevida dos pacientes, através do programa de estatística SPSS®. Os resultados encontrados apontam que os tumores que mais frequentemente infiltraram a MO nos adultos foram: tumores de mama, próstata e sítio primário indeterminado, e neuroblastoma nas crianças. A análise da MO revelou positividade de 80% para mielograma e BMO, e presença de fibrose em 32% dos pacientes (40%, quando associados a áreas de necrose no mesmo material). Na avaliação hematológica observamos: anemia, alteração de leucócitos e plaquetopenia. Houve diferença, estatisticamente significativa, com maior mediana de sobrevida global ($p= 0,000$) para pacientes do sexo feminino, portadores de adenocarcinoma de mama, em estádios iniciais e que receberam algum tipo de tratamento (químio, radio e/ou hormonioterapia). Na análise de sobrevida, a partir do diagnóstico de mielopatia infiltrativa, houve diferença, estatisticamente significativa, com menor sobrevida para pacientes adultos, com diagnósticos de tumores de sítio primário indeterminado, melanoma, tumores do trato gastrointestinal, entre outros; com reação leucoeritroblástica e plaquetopenia severa ao hemograma. Nossos resultados reforçam a discussão sobre a importância do microambiente da MO no processo de carcinogênese e o papel da coleta de BMO no estadiamento dos tumores sólidos.

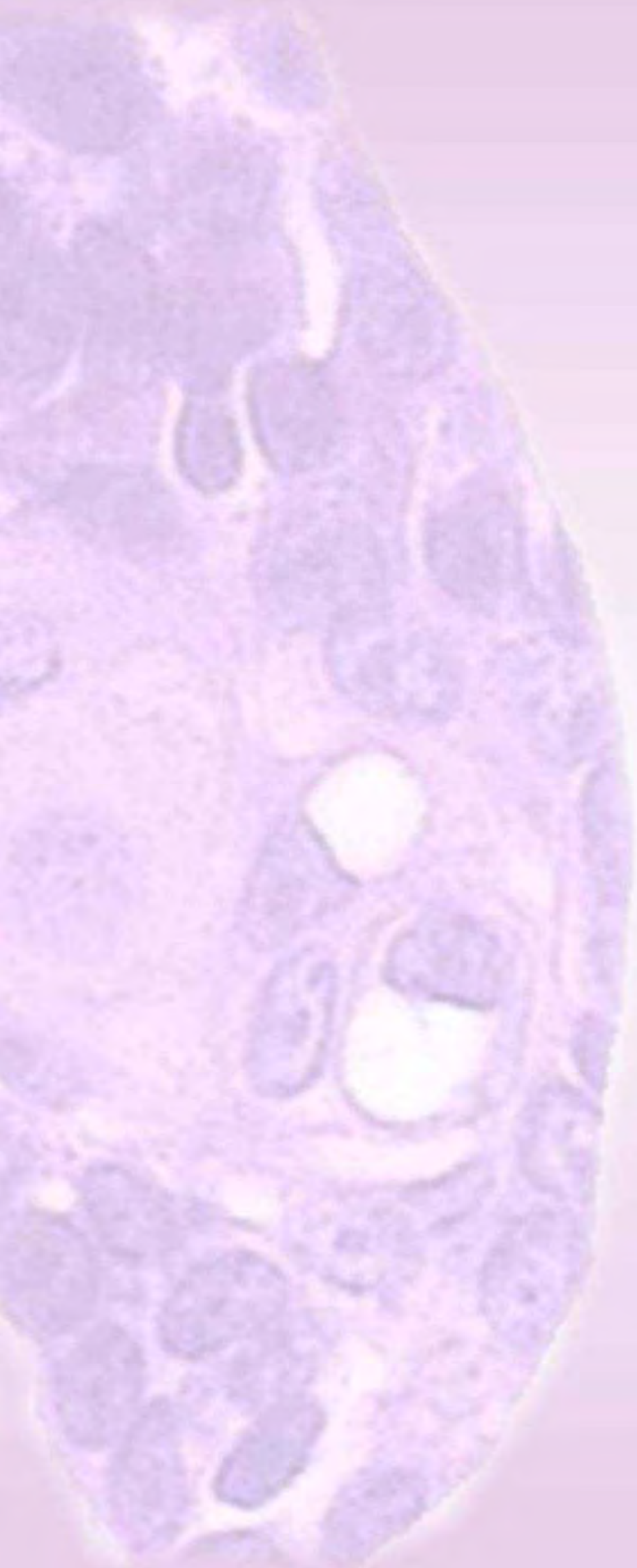
Palavras-chave: Biópsia de medula óssea. Medula óssea. Metástases e microambiente da MO. Tumores não-hematológicos e tumores sólidos.



Abstract

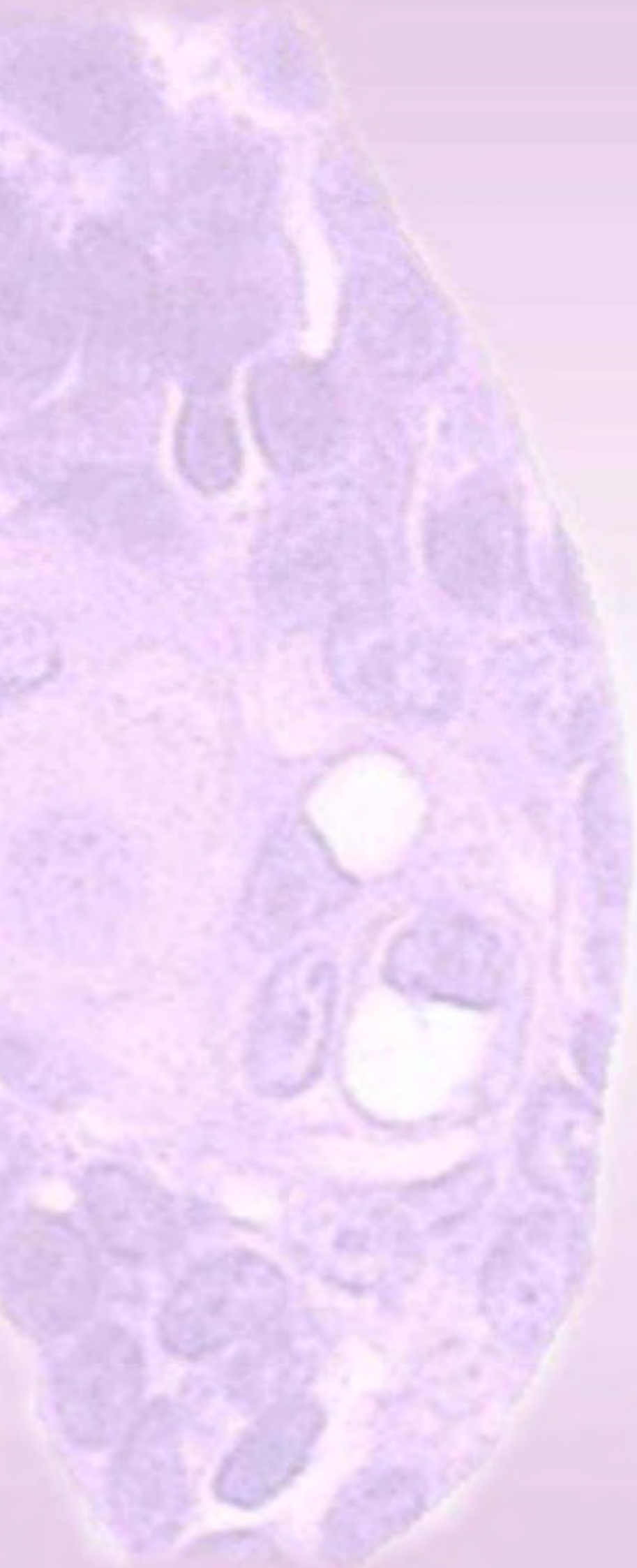
Bone marrow (BM) infiltration by nonhematopoietic tumors has been described since 1935, and a increased number of papers about this topic have been published. Some of the studies have related the relationship between the presence of peripheral circulating tumors cells, bone marrow infiltration, carcinogenesis and tumor progression. This study has, as essential objective, the evaluation of infiltrative mielopathy by nonhematopoietic tumors from Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP and Hospital Amaral Carvalho – Jaú. Data were analised retrospectively from 1998 January to 2008 August (15.191 bone marrow samples). We have included 193 patients. One hundred seventy one were adults and 22 were children (considered age ≤ 21 years), with similar number of patients by gender, and median age 55 years. Medical records from the selected patients were analised, with focus on clinical aspects, primary site of tumor, initial stage, metastatic sites, hematologic and bone marrow features, treatment and the relationship between this data and survival. Results have demonstrated that most frequent solid tumors in adults were breast cancer, prostate cancer and undetermined primary site, and neuroblastoma among children. Bone marrow revealed infiltration in 80% of samples by myelogram and BM biopsy, and fibrosis in 32% (40% when associated with necrosis area). We observed anaemia, leukocyte alterations and thrombocytopenia as hematologic features. There were significant differences in global survival, wich was better among female patients, diagnosis of breast cancer, initial clinical stages and who has received any type of treatment (chemotherapy, radiotherapy and/or hormoniotherapy). When we analised survival since diagnosis of infiltrative mielopathy, adult patients with leucoeritroblastic reaction and trombocytopenia, and undetermined primary site tumors, melanoma or gastrointestinal tumors had worst prognosis ($p=0,000$). Our results support the discussion about the importance of bone marrow microenvironment in the carcinogenesis process and the significance of the realization of bone marrow biopsy in the stage of solid tumors.

Key Words: Bone marrow metastasis. Solid tumors. Micrometastases and bone marrow biopsy. Bone marrow neoplasms, nonhematologic metastasis and metastatic carcinoma.



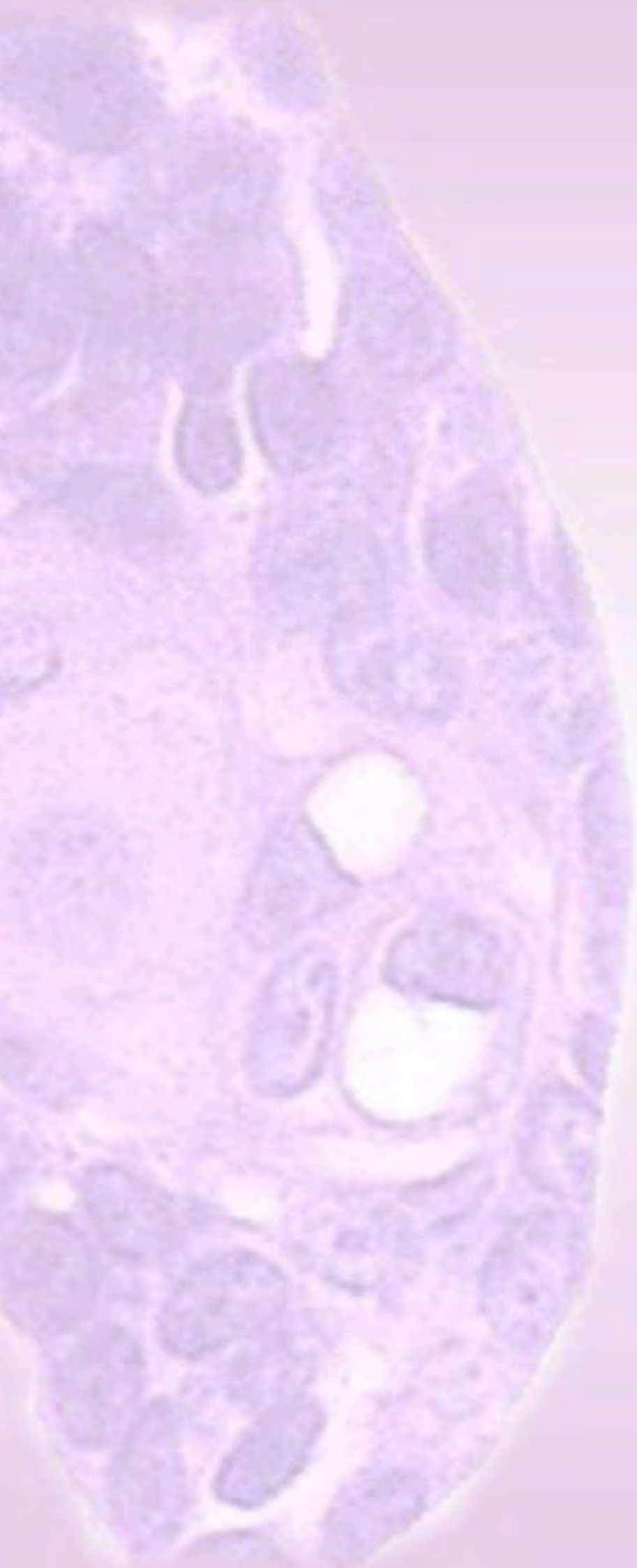
Sumário

LISTA DE ABREVIATURAS.....	16
LISTA DE FIGURAS	18
LISTA DE GRÁFICOS	22
LISTA DE TABELAS	24
1. INTRODUÇÃO.....	26
1.1. Medula óssea (MO) e mielopatia infiltrativa (MI).....	28
1.1.1. Fisiopatologia da relação entre o microambiente da MO e a progressão tumoral.....	31
2. OBJETIVOS.....	40
3. PACIENTE E METODOLOGIA.....	42
3.1. Seleção de pacientes e levantamento de dados	43
3.2. Procedimento para coleta de medula óssea	44
3.2.1. Topografia da coleta.....	44
3.2.2. Antissepsia e anestesia.....	44
3.2.3. Realização de aspirado de MO.....	45
3.2.4. Realização de biópsia de MO.....	45
3.2.5. Encaminhamento dos respectivos materiais.....	46
3.3. Variáveis de estudo.....	46
3.3.1. Características demográficas e dados do tumor primário.....	46
3.3.2. Análise da medula óssea.....	46
3.3.3. Características do hemograma pré ou Peri coleta.....	47
3.3.4. Características dos marcadores tumorais.....	47
3.3.5. Tipos de tratamentos realizados.....	48
3.3.6. Coleta de BMO após tratamento.....	48
3.3.7. Status final.....	48
3.4. Análise estatística.....	48
4. RESULTADOS.....	50
5. DISCUSSÃO.....	87
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	97
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	100
ANEXOS.....	107



Lista de Abreviaturas

MO	medula óssea
BMO	biópsia de medula óssea
AMO	aspirado de medula óssea
DHL	desidrogenase láctica
FMB	Faculdade de Medicina de Botucatu
HAC	Hospital Amaral Carvalho
BMDC	célula derivada da MO
HSC	célula-tronco hematopoiética
VEGFR	receptor do fator de crescimento vascular endotelial
EPC	células progenitoras endoteliais
EC	células endoteliais
BMDSC	célula-tronco derivada da MO
NE	nicho endosteal
NV	nicho vascular
SDF-1	fator 1 derivado do estroma
MMP-9	metalloproteinase 9 da matriz
mKit-L	Kit-ligante associado a membrana
PIGF	fator de crescimento derivado da placenta
EGF	fator de crescimento epidermal
IL-6	interleucina 6
TNF	fator de necrose tumoral
PTHrP	peptídeo relacionado ao hormônio paratireóide
OPG	osteoprotegerina
OAF	fatores ativadores de osteoclastos
CT	células tumorais
MI	mielopatia infiltrativa
Hb	hemoglobina
PNET	tumor neuroectodérmico primitivo
CEA	antígeno carcinoembrionário
PSA	antígeno prostático-específico
DHL	desidrogenase láctica
CEC	carcinoma espinocelular

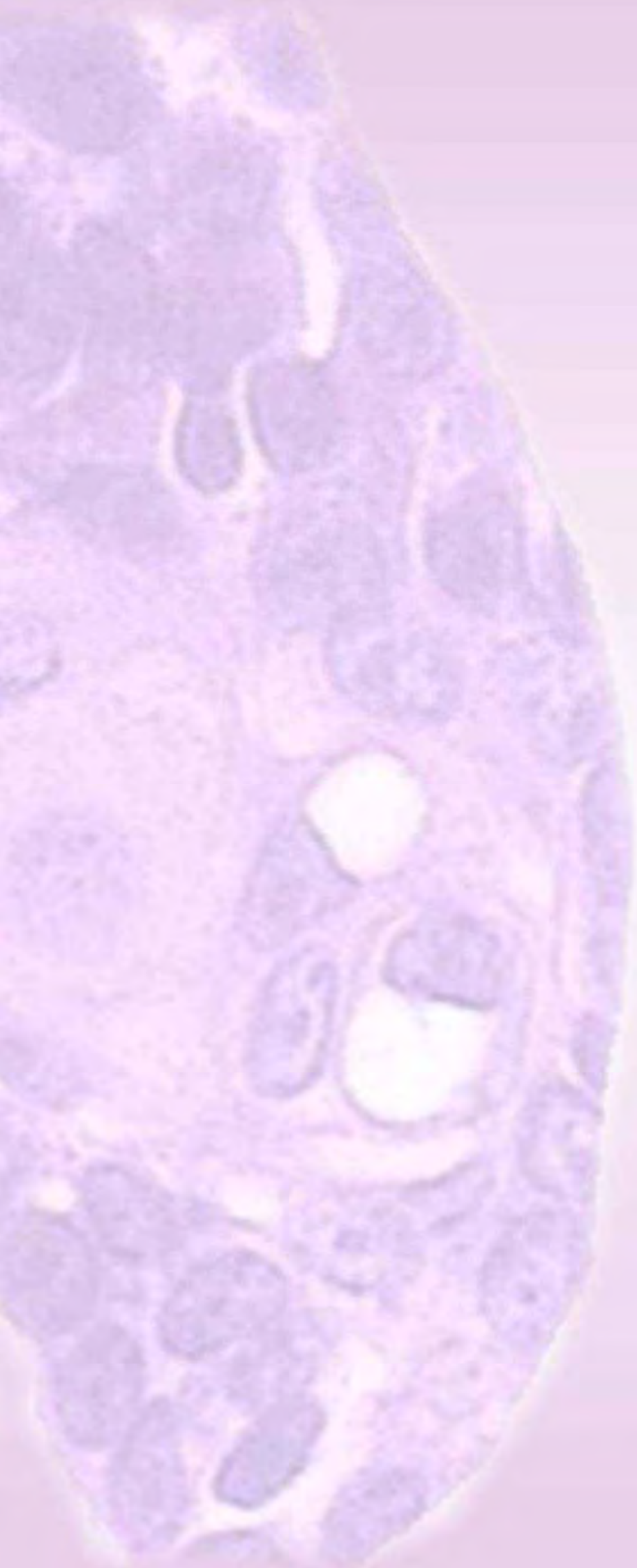


Lista de Figuras

Figura 1 –	Esquema de interação entre as células-tronco e o microambiente da MO e seus nichos endosteal e vascular. Migração das HSC do nicho endosteal (NE) para o nicho vascular (NV). HSC permanecem aderidas a NE pela adesão célula-a-célula via Tie-2/angio-1 e pela adesão célula-matriz via osteopontina. A MMP-9 (1) mobiliza as células VEGFR-1 + e VEGFR-2 + para o NV, através da degradação de SDF-1 e osteopontina (2), solubilização do cKit-L e degradação da membrana basal (4). Adaptado de Chanttrain et al. Cancer Microenvironment, 2008.....	34
Figura 2 –	Esquema de recrutamento das BMDC e células inflamatórias pelo tumor primário, através da liberação de citocinas. (1)Cél. Tumoraís liberam SDF-1, VEGF, PIGF e outras citocinas que atraem HSC e MSC. No tecido tumoral, cél. VEGFR-1+ dão origem a células inflamatórias e cél. VEGFR-2+ dão origem a cél. endoteliais, que contribuem para a formação da perivascularização. MSC são recrutadas pelo TU, dão origem a pericitos, que expressam CCL-5/RANTES, que estimula a migração das CT e a formação de metástases. Adaptado de Chanttrain et al. Cancer microenvironment, 2008.....	36
Figura 3 –	Mecanismo de participação das BMDC no processo de estabelecimento de metástases à distância. (1) Cél. BMDC VEGFR-1+ colonizam órgãos distantes via adesão a fibronectina formando nichos pré-metastáticos (2) Estas cél. liberam SDF-1 que atraem cel. tumorais circulantes CXCR-4. (3) Dentro do nicho pré-metastático, o TU secreta VEGF, PIGF e outras citocinas, que atraem cel. BMDC VEGFR-2+ que contribuirão para a neoangiogênese. Adaptado de Chanttrain et al. Cancer microenvironment, 2008.....	39
Figura 4 –	Frequência de mielopatia infiltrativa nos adultos (idade ≥ 22 anos). Total de 171 pacientes.....	52
Figura 5 –	Frequência de mielopatia infiltrativa na faixa etária pediátrica (idade < 22 anos). Total de 22 pacientes.....	52
Figura 6 –	MJDA, 46a, fem.. Histologia de medula óssea com carcinoma de mama com infiltração tipo “lençol”, difusa e compacta, assumindo todo o espaço hematopoiético; HE 100x, 400x.....	64
Figura 7 –	RGO, 63a, masc., carcinoma de próstata. A) Cortes histológicos de medula óssea revelando reação osteoblástica e numerosas trabéculas-filhas. B,C,D) Microácinos rodeados por fibrose colágena (seta) e alinhamento de osteoblastos em endósteo (seta). E, F) Detalhe das metástases microacinares. HE 100x, 400x.....	65
Figura 8 –	JBC, 64a, masc., carcinoma de sítio primário indeterminado. A, B, C, D) Histologia de medula óssea com área de transição entre tecido hematopoético residual e infiltração submaciça por carcinoma, com formações acinares (setas) e luz acinar (seta), HE 100x, 400x. E, F) Citologia de medula óssea com área de hematopoese residual (esquerda) e bloco acinar neoplásico, isolado, permeado por tecido medular normal (seta); Leishman, 100x, 400x.....	66

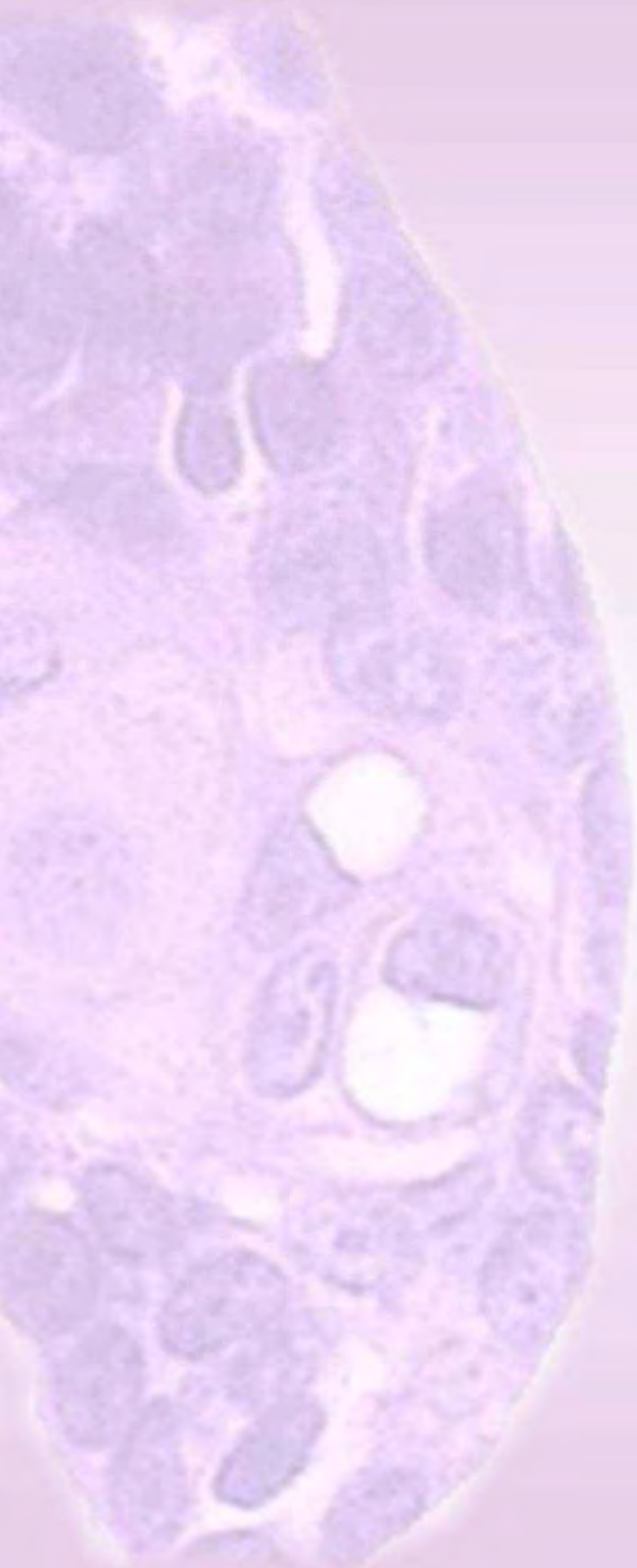
Figura 9 –	LSS, 55a, fem., carcinoma gástrico. A, B, C, D) Histologia de medula óssea com infiltração maciça por adenocarcinoma em “anel de sinete” (setas), HE, 100x e 400x. E, F) Citologia de medula óssea com blocos de células secretoras atípicas, Leishman, 400x.....	67
Figura 10 –	MJDA, 46a, masc., carcinoma espinocelular (CEC) de pulmão. A e B) Desarranjo na arquitetura medular, com neoformação óssea (reação osteoblástica) e intenso pleomorfismo celular, HE 100x. C) Irregularidade no padrão nuclear e cromatina em aspecto de “sal e pimenta”, HE 400x.....	68
Figura 11 –	DAB, 25a, masc., angiossarcoma de pulmão. A, B, C, D) Histologia de medula óssea revelando infiltração maciça e extensa área de necrose de coagulação, HE, 100x, 400x. E, F) Citologia revelando células tumorais atípicas e bizarras, isoladas, Leishman, 400x.....	69
Figura 12 –	AJAC, 50a, masc., adenocarcinoma de cólon. A, B, C,D) Histologia de medula óssea com formação de ácinos e reação osteoblástica, HE, 100x, 400x. E, F) Citologia de medula óssea com blocos de células grandes, atípicas e citoplasma tipo secretor. Observar os nucléolos grandes e atípicos (seta), Leishman, 400x.....	70
Figura 13 –	CN, 61a, masc., melanoma maligno. A) Infiltração medular maciça, HE, 100x. B,C,D) Lençóis de células tumorais com núcleo hiperocrômico e citoplasma abundante. Na seta, observar pseudoinclusão nuclear, HE, 400x.....	71
Figura 14 –	JBj, 40a, masc., carcinoma medular de tireóide . A a E) Cortes histológicos de medula óssea; HE, 100x, 400x. A) tecido colapsado, com aspecto de fibrose associada. B, C, D) Observar nichos de tecido tireoideo formando agregados. E) Células tumorais na citoinclusão do coágulo. F,G,H) Blocos de células atípicas na citologia, Leishmann 100x, 400x.....	72
Figura 15 –	KGGO, 3a, masc., neuroblastoma. A) Histologia de medula óssea (HE, 100x, 400x): intensa reação osteoblástica com neoformação de trabéculas ósseas, fibrose mutilante e foco de infiltração tumoral (seta). B) Áreas de tumor e fibrose colágena separadas por neotrabécula óssea. C, D) Histologia de medula óssea com inúmeras formações tipo “pseudo-roseta”, típicas de neuroblastoma. E) Histologia e citologia (F) de medula óssea com intensa necrose tecidual, esta com “smudged cells” (seta). G, H) Citologia de medula óssea com blocos de células tumorais em organização tipo “pseudo-roseta” (setas), Leishman, 100x.....	73
Figura 16 –	MFEGV, 2a, fem., neuroblastoma. Citologia e Histologia de medula óssea com blocos de células tumorais, com formação de neurofibrilas, Leishman 100x, HE, 400x, respectivamente.....	74
Figura 17 –	RGA, 11a, masc., rabdomiossarcoma. A, B) Avaliação histológica de medula óssea por citoinclusão, com infiltração focal, HE, 100x, 400x. C, D) Citologia de medula óssea com blocos de células grandes, atípicas e vacuolizadas (setas), Leishman, 100x, 400x.....	74

Figura 18 – LPS, 2a, fem., retinoblastoma. A,B,C) Histologia de medula óssea com bloco metastático (setas) infiltrando tecido hematopoético normal; em B há área de necrose subjacente à metástase, HE, 100x, 400x. D) Citologia de medula óssea com bloco metastático permeado por tecido hematopoético normal; notar pseudo-inclusão nuclear e amoldamento celular (setas), Leishman, 400x.....	75
Figura 19 – AMG, 53a, masc., adenocarcinoma gástrico. A,B,C,D) Cortes histológicos de medula óssea com infiltração maciça por adenocarcinoma, HE 100x, 400x (B). E,F) Detalhe da formação de estruturas acinares (seta), HE, 400x.....	76
Figura 20 – MDGSP, 33a, fem., adenocarcinoma gástrico. Histologia de medula óssea com infiltração maciça por adenocarcinoma, com formação de estruturas acinares, HE, 100x e 400x.....	77
Figura 21 – JSN, 57a, masc., adenocarcinoma de sítio primário indeterminado. A,B,C) Citologia de medula óssea com blocos de células tumorais atípicas, amoldadas entre si, Leishman, 100x e 400x. D) Citoinclusão do coágulo com de células tumorais atípicas, HE, 400x. E, F, G, H) Histologia de medula óssea com infiltração maciça por adenocarcinoma, HE, 100x e 400x.....	78
Figura 22 – (reação osteoblástica),HE 100x, 400x. D) Histologia de medula óssea com células tumorais em formação acinar (seta), permeadas por raras células hematopoéticas residuais, HE, 400x.....	79
Figura 23 – JG, 27 ^a , fem., carcinoma de mama, histologia de MO, HE, 100x, 400x. A) Reação osteoblástica, neoformação óssea (seta). B) Extensa área de necrose de coagulação e trabécula-filha. C) Bloco de infiltração (seta) ao lado de área hipoplásica. D) Osteócitos em trabécula neoformada (seta), com carcinoma em área paratrabecular. E) Ácinos de carcinoma de mama, com formação de luz acinar (seta).....	80



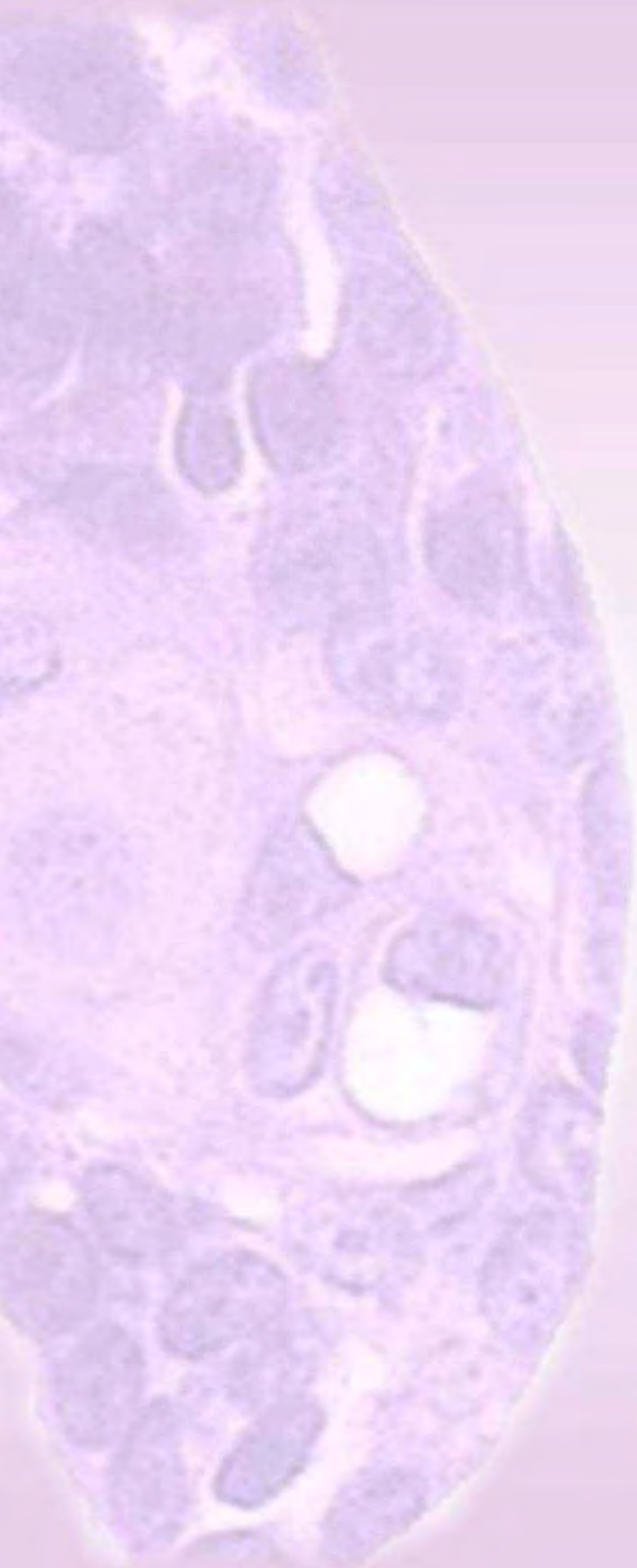
Lista de Gráficos

Gráfico 1 –	Representação gráfica da curva de sobrevida global para os pacientes com diagnóstico de MI (Kaplan-Meier).....	81
Gráfico 2 –	Representação gráfica das curvas de sobrevida global para os pacientes com diagnóstico de MI, segundo o sexo (Kaplan-Meier).....	81
Gráfico 3 –	Representação gráfica das curvas de sobrevida global para os pacientes com diagnóstico de MI, segundo o sítio primário da neoplasia (Kaplan-Meier).....	82
Gráfico 4 –	Representação gráfica das curvas de sobrevida global para os pacientes com diagnóstico de MI, segundo o tipo histológico da neoplasia (Kaplan-Meier).....	82
Gráfico 5 –	Representação gráfica das curvas de sobrevida global para os pacientes com diagnóstico de MI, segundo o estágio da neoplasia (Kaplan-Meier).....	83
Gráfico 6 –	Representação gráfica das curvas de sobrevida global para os pacientes com diagnóstico de MI, segundo realização de tratamento (Kaplan-Meier).....	83
Gráfico 7 –	Representação gráfica das curvas de sobrevida dos pacientes a partir do diagnóstico da MI, segundo faixa etária (Kaplan-Meier).....	84
Gráfico 8 –	Representação gráfica das curvas de sobrevida dos pacientes a partir do diagnóstico da MI, segundo sítio primário da neoplasia (Kaplan-Meier).....	84
Gráfico 9 -	Representação gráfica das curvas de sobrevida dos pacientes a partir do diagnóstico da MI, segundo nível de leucócitos (Kaplan-Meier).....	85
Gráfico 10 –	Representação gráfica das curvas de sobrevida dos pacientes a partir do diagnóstico da MI, segundo desvio à esquerda ao hemograma (Kaplan-Meier).....	85
Gráfico 11 –	Representação gráfica das curvas de sobrevida dos pacientes a partir do diagnóstico da MI, segundo nível de plaquetas (Kaplan-Meier).....	86



Lista de Tabelas

Tabela 1 –	Valores normais do número de células no sangue: variação com a idade.....	47
Tabela 2 –	CTCAE versão 3.0 – Critérios de toxicidade para hemoglobina e plaquetas, de acordo com Instituto Nacional do Câncer Americano, 2003.....	48
Tabela 3 –	Número e percentagem de pacientes segundo características demográficas, clínicas e laboratoriais.....	53
Tabela 4 –	Número e percentagem de pacientes segundo avaliação diagnóstica.....	55
Tabela 5 –	Número e percentagem de pacientes segundo alterações hematológicas.....	56
Tabela 6 –	Número e percentagem de pacientes segundo achados citológicos do esfregaço de SP.....	57
Tabela 7 –	Número e percentagem de pacientes segundo tipos de tratamento.....	58
Tabela 8 –	Mediana de sobrevida global dos pacientes incluídos segundo características demográficas, clínicas e laboratoriais.....	59
Tabela 9 –	Mediana de sobrevida global dos pacientes incluídos segundo característica histológica e alterações hematológicas.....	61
Tabela 10 –	Mediana de sobrevida a partir do diagnóstico de MI dos pacientes incluídos segundo características demográficas, clínicas e laboratoriais.....	62
Tabela 11 –	Mediana de sobrevida a partir do diagnóstico de MI dos pacientes incluídos segundo característica histológica e alterações hematológicas.....	63



1. Introdução

Na atualidade, as causas mais comuns de óbito são as doenças crônico-degenerativas, principalmente as doenças cardiovasculares e o câncer. No ano de 2005, segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2006), de um total de 56 milhões de mortes no mundo, 7,6 milhões foram causadas pelo câncer, o que corresponde a 13% dos óbitos. A incidência de neoplasias tem aumentado em todo o mundo e a estimativa para o ano de 2020 será algo em torno de 15 milhões de casos novos. No Brasil, segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), estima-se que para os anos de 2008 e 2009, teremos 466.730 novos casos de câncer.

No atual contexto de avanço tecnológico em todos os campos da Medicina, mais acentuadamente nas áreas de Oncologia e Hematologia, intensificaram-se, nas últimas décadas, os estudos sobre a carcinogênese e o processo de desenvolvimento de metástases nas neoplasias. E, nesses processos, o microambiente da medula óssea (MO) parece ter uma grande participação.

Nesse sentido, este trabalho de pesquisa tem por objetivo a análise retrospectiva do diagnóstico, achados clínicos e laboratoriais e evolução clínica mais frequentes na mielopatia infiltrativa por tumores não-hematológicos, além de verificar se há relação entre os achados e a sobrevida dos pacientes estudados.

Partimos da premissa de que a partir da avaliação da frequência de mielopatia infiltrativa encontrada em nossos serviços, e pouco descrita em nosso país, estaremos mais preparados a propor estudos futuros com associação de análise cito-morfológica e estudos moleculares, que possam ser comparados aos estudos internacionais, e que resultem em melhoria na assistência a esses pacientes.

1.1. Medula óssea (MO) e mielopatia infiltrativa (MI)

A medula óssea (MO) é um dos maiores órgãos do corpo humano, é o sítio de formação das células sanguíneas e contém aproximadamente um trilhão de células. No adulto normal, sua produção e exportação celulares diárias para o sangue periférico giram em torno de 2,5 bilhões de hemácias, 2,5 bilhões de plaquetas e 1 bilhão de granulócitos por quilo de peso corporal. Essa produção é mantida por um pequeno número de células-tronco (*stem cells*), que representam, aproximadamente, 0,1% das células nucleadas da MO. O processo envolvido na gênese das células do sangue, a partir das células-tronco, denomina-se hematopoese, e requer a existência de um microambiente normal, capaz de sintetizar fatores de crescimento necessários à sobrevivência das células progenitoras, acomodar as células em desenvolvimento e favorecer as interações entre células de diferentes tipos (1-3)

Na vida intra-uterina, a hematopoese se inicia nas ilhotas sanguíneas do saco vitelínico e, nas primeiras semanas de gestação, restringe-se, praticamente, à eritropoese. Após a 6^a- 8^a semana de gestação, o fígado fetal passa a ser o principal sítio de hematopoese até, aproximadamente, a metade da gestação. A partir do 5^o mês, a MO passa a ser o principal órgão hematopoiético.

A MO é dividida em dois compartimentos: células hematopoiéticas e estroma, constituídos por um componente celular, representado por fibroblastos, adipócitos, macrófagos, linfócitos e células endoteliais dos sinusóides medulares, e um componente acelular, representado pela matriz extracelular. O compartimento das células hematopoiéticas inclui as células-tronco, as células precursoras e as células diferenciadas. A regulação da hematopoese pelo estroma é realizada através

da secreção de fatores solúveis ou pelas interações célula-célula e célula-matriz extracelular (1-3)

A punção de MO é de grande importância para avaliação da celularidade e maturação das células hematopoiéticas, estadiamento e diagnóstico de doenças hematológicas e não-hematológicas. Foi descrita, inicialmente, por Pianese em 1905, posteriormente por Seifarth e Airikin em 1923, que realizaram a punção com uma agulha do tipo lombar em região esternal. Em 1945, Vandenberghe e Blitstein, foram os primeiros a utilizar a crista ilíaca na obtenção de MO e Heindenreich e Heindenreich obtiveram MO do processo espinhoso. Em 1952, Bierman descreveu a crista ilíaca como um local seguro para a punção de MO (1) e, em 1958, Dameshek e McFarland definiram a técnica de coleta na crista ilíaca posterior, como é realizada até os dias de hoje (4;5)

A infiltração de medula óssea (MO) por tumores sólidos tem sido descrita desde 1935 (6), e há inúmeros estudos sobre os eventos envolvidos nesse processo, assim como uma grande variabilidade na incidência desse tipo de infiltração, que pode estar relacionada aos diferentes tipos de seleção de pacientes e às técnicas de identificação da mielopatia infiltrativa (MI). Sua frequência é descrita, em geral, de duas maneiras: por meio do diagnóstico no estadiamento de tumores de sítio primário conhecido, ou pela análise da frequência de infiltração em séries de biópsias consecutivas, como em nosso estudo (5)

Historicamente, Jonsson e Rundles (1951) (5;7) descreveram uma série de 152 pacientes com neoplasias, sendo 71 casos de infiltração de MO por tumores não-hematológicos, entre eles carcinoma de próstata, pulmão, mama, estômago e neuroblastoma. Em 1964, Ellis et al em uma série de 1445 biópsias de medula óssea (BMO) consecutivas detectaram 25 casos de tumor metastático na MO; e Delta e Pinkel, no mesmo ano, reportaram 28 casos de 79 aspirados de MO em

crianças com infiltração de MO por neuroblastoma, rabdomiossarcoma, osteossarcoma e sarcoma de ewing (5). Singh et al (1976), (8) após avaliação de 6500 avaliações de MO, descreveram 101 casos de metástases em MO, sendo os sítios mais comuns mama, próstata, pulmão, trato gastrointestinal e melanoma, resultados semelhantes aos encontrados em 1971 por Contreras et al (5;9)

Os tumores primários que mais frequentemente infiltram a MO em adultos são próstata, mama e pulmão, com incidências que variam de 5 a 20%, a depender da neoplasia e do subtipo histológico (4;10). Aproximadamente, 4% dos pacientes com tumores do trato gastrointestinal apresentam envolvimento da MO ao diagnóstico, sendo adenocarcinomas de estômago e colon os mais comuns. Outros tumores que também infiltram a MO, com menor frequência, são: melanoma maligno, carcinoma de células renais, carcinoma de tireóide, carcinoma de pâncreas, carcinoma de ovário e testículo, carcinoma de células transicionais, carcinoma de nasofaringe, rabdomiossarcoma, sarcoma de ewing, sarcoma de Kaposi e outros tumores vasculares. Muitos destes e outros tumores malignos podem, ocasionalmente, metastatizar para a MO, em geral, nos estágios mais avançados da doença (5;11-15)

Em crianças, neuroblastoma é o tumor sólido responsável pela maioria das infiltrações de MO, com uma incidência que varia de 50 a 60% dos casos ao diagnóstico inicial, e que pode evoluir para 70% de comprometimento da MO durante o curso clínico da neoplasia. Outros tumores que podem infiltrar a MO são: ganglioneuroblastoma, rabdomiossarcoma, sarcoma de Ewing, retinoblastoma e meduloblastoma (6;10;15-17)

Os achados hematológicos e não hematológicos da infiltração de MO por tumores sólidos são variáveis e não específicos. Anemia e trombocitopenia e, mais raramente, neutropenia são algumas das alterações observadas. Em muitos casos,

os pacientes podem não apresentar nenhuma alteração hematológica. A associação de dor óssea, hipercalcemia, aumento de fosfatase alcalina, sinais de reação leucoeritroblástica, níveis aumentados de desidrogenase láctica (DHL) e plaquetopenia com níveis abaixo de $100.000/\text{mm}^3$, podem estar relacionadas a mielopatia infiltrativa por tumores não-hematológicos (10;15;18)

Em muitos estudos, a maioria dos casos descritos foi diagnosticada apenas por autópsia, em geral, na presença de anemia ou trombocitopenia.

A importância da avaliação de MO tem sido recentemente descrita como procedimento de rotina no estadiamento de tumores sólidos ou no diagnóstico do sítio primário da neoplasia, em determinados pacientes (19).

A compreensão sobre os mecanismos envolvidos no desenvolvimento de metástases por tumores não-hematológicos no microambiente da MO, e como este microambiente pode favorecer a progressão do câncer, ainda são incertos e têm sido objeto de muitos estudos mais recentemente (20-22)

1.1.1. Fisiopatologia da relação entre o microambiente da MO e a progressão tumoral

A medula óssea é um microambiente único para as células tumorais e há uma relação de reciprocidade importante entre essas células e a MO. Células tumorais (CT) deixam o tumor primário, caem na circulação sanguínea e são ativamente recrutadas para o microambiente da MO, onde encontram um santuário de fatores de crescimento, citocinas e citocinas, que promovem sua proliferação e sobrevivência.

Uma vez dentro da MO, essas células promovem um desbalanço homeostático entre a osteogênese e a osteólise, transformam o microambiente, recrutam células precursoras, derivadas da própria MO (BMDC), que caem na

circulação, colonizam o tumor primário, e contribuem para reação inflamatória e formação de neo-vascularização, que afeta a transformação maligna e a progressão tumoral. Como parte do processo de metastatização, as células precursoras derivadas da MO (BMDC) podem alojar-se em órgãos distantes, onde formam nichos pré-metastáticos, que atraem as células tumorais circulantes, que promoverão o desenvolvimento de tumores macroscópicos (20;23;24)

▪ ***A célula-tronco derivada da MO (BMDSC)***

O microambiente da MO é constituído por nichos específicos que dão suporte para a proliferação e manutenção das células-tronco hematopoiéticas (HSC): nicho endosteal (NE) e nicho vascular (NV). As interações entre as HSC e seu microambiente são responsáveis pela sua manutenção, proliferação, diferenciação e migração dentro da circulação sanguínea. Quando maduras, as HSC podem expressar duas formas de receptor de fator de crescimento vascular endotelial (VEGFR): VEGFR tipo 1, responsável pela proliferação, diferenciação e migração da HSC dentro da circulação sanguínea; e VEGFR tipo 2, responsável pela diferenciação das HSC em células progenitoras endoteliais circulantes (EPC), e posteriormente, células endoteliais (EC), que formarão vasos sanguíneos adjacentes à vasculatura do tumor.

O nicho osteoblástico localiza-se na região endosteal, é constituído por osteoblastos, células estromais derivadas das células mesenquimais (tais como, células reticulares, fibroblastos e adipócitos) e tem como função a manutenção da HSC em estado quiescente e indiferenciado. Na região central da MO, há o nicho denominado vascular, constituído por células endoteliais e sinusóides, local onde as

células-tronco derivadas da MO (BMDSC) se proliferam, sofrem diferenciação e migração através dos sinusóides para a circulação sanguínea.

A interação entre os nichos endosteal e vascular e a mobilização das células-tronco para a circulação periférica é modulada por citocinas, enzimas proteolíticas e moléculas de adesão. As HSC expressam o receptor da tirosinokinase Tie2 e aderem-se aos osteoblastos por meio da expressão de angiopontina 1 (adesão célula a célula) e à matriz do nicho endosteal, via $\alpha 4\beta 1$ integrina (adesão célula – matriz). Essas interações são responsáveis pela manutenção do estado de quiescência da HSC e sua adesão ao osso (20).

Dentre os fatores humorais, a citocina fator 1 derivado do estroma (SDF-1) – também chamada CXCL12 – produzida pelas células estromais da MO e pelos osteoblastos, liga-se ao receptor CXCR-4 expresso na superfície das BMDSC, mantendo-as no nicho osteoblástico. Também importante é a metalloproteinase 9 da matriz (MMP-9), uma protease expressa pelas células estromais e pela HSC na MO, com atividade proteolítica sobre várias proteínas responsáveis pela proliferação e destino das HSC na MO. Os mecanismos principais de atuação da MMP-9 são: clivagem do Kit-ligante associado a membrana (mKit-L), expresso pelas células estromais numa forma solúvel de Kit-L (sKit-L), que promove a proliferação das HSC; degradação das proteínas de ancoragem – osteopontina – que permite a migração das HSC do nicho osteoblástico para o nicho vascular; clivagem do SDF-1 em peptídeo Ser4-Lys5 que inativa a proteína; e degradação do colágeno tipo IV da membrana basal, que promove o intravasamento das BMSC para dentro dos vasos sanguíneos (20;25-27) (Figura 1).

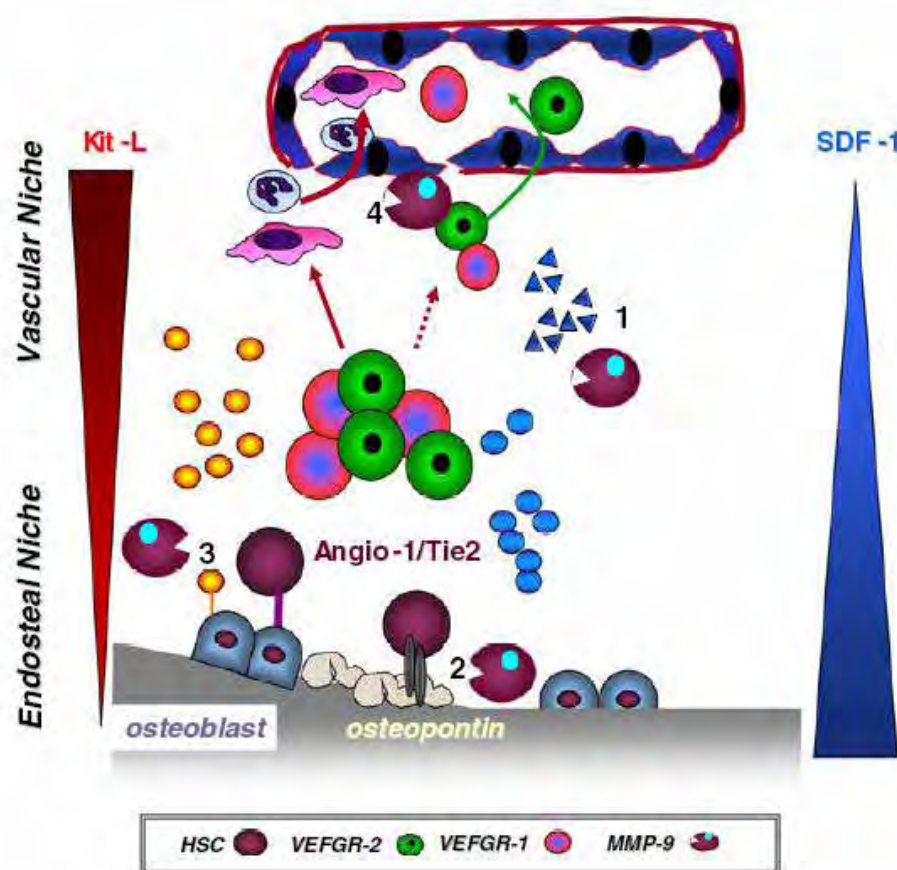


Figura 1 – Esquema de interação entre as células-tronco e o microambiente da MO e seus nichos endosteal e vascular. Migração das HSC do nicho endosteal (NE) para o nicho vascular (NV). HSC permanecem aderidas a NE pela adesão célula-a-célula via Tie-2/angio-1 e pela adesão célula-matriz via osteopontina. A MMP-9 (1) mobiliza as células VEGFR-1 + e VEGFR-2 + para o NV, através da degradação de SDF-1 e osteopontina (2), solubilização do cKit-L e degradação da membrana basal (4). Adaptado de Chantry et al. Cancer Microenvironment, 2008

Temos que baixos níveis de MMP-9 resultam em altos níveis de mKit-L, baixa liberação de sKit-L e altos níveis de SDF-1, que mantêm a HSC no sítio osteoblástico. De modo contrário, altos níveis de MMP-9 são responsáveis por liberação de sKit-L, inativação de SDF-1 e migração das HSC, por meio do sítio vascular, até a circulação periférica. Este mecanismo tem sido descrito como parte do processo de metastatização de tumores como mama, próstata, rabdomiossarcoma e neuroblastoma para a MO (27;28)

Estudos demonstraram que a presença de células de TU de mama na MO ao diagnóstico pode ser um fator isolado de mau prognóstico(29-31). Isto pode estar relacionado a aumento na expressão de CXCR4 nas células cancerígenas, que facilitaria o *homing* para MO, onde seu ligante SDF-1 α encontra-se expresso em altos níveis (32). A sinalização do complexo CXCR4/ SDF1 α também tem sido demonstrada, experimentalmente, em metástases de rabdomiossarcoma na infância (28;33) e outros tumores, inclusive neoplasias de esôfago, estômago, colon, pâncreas, pulmão e próstata (34-40)

- **Carcinogênese e progressão tumoral**

Os tumores primários recrutam, ativamente, as células derivadas da MO (BMDC), por meio da liberação de várias citocinas tais como SDF-1, VEGF, fator de crescimento derivado da placenta (PIGF), que contribuem para a atração de células-tronco hematopoiéticas e células mesenquimais. Ainda, no tecido tumoral, as células VEGFR-1 positivas dão origem a células mielomonocíticas, macrófagos e mastócitos, que contribuem para reação inflamatória e formação da perivasculatura tumoral.

As células inflamatórias contribuem para a proliferação tumoral por meio da liberação de fatores de crescimento, tipo fator de crescimento epidermal (EGF) e citocinas, entre elas, interleucina 6 (IL-6), fator de necrose tumoral (TNF) e SDF-1, que aumenta o recrutamento de leucócitos. Macrófagos, associados ao tumor, expressam moléculas imunossupressoras como interleucina 10 (IL-10) e prostaglandina E-2 (PGE-2), e contribuem para o intravasamento das células tumorais. As células-tronco hematopoiéticas VEGFR-1 produzem proteases, principalmente MMP-9, que solubiliza o VEGF, e outros fatores de crescimento, e

estimula o recrutamento de pericitos, ao longo das células endoteliais, resultando num importante papel na regulação da angiogênese tumoral (20;41) (Figura 2).

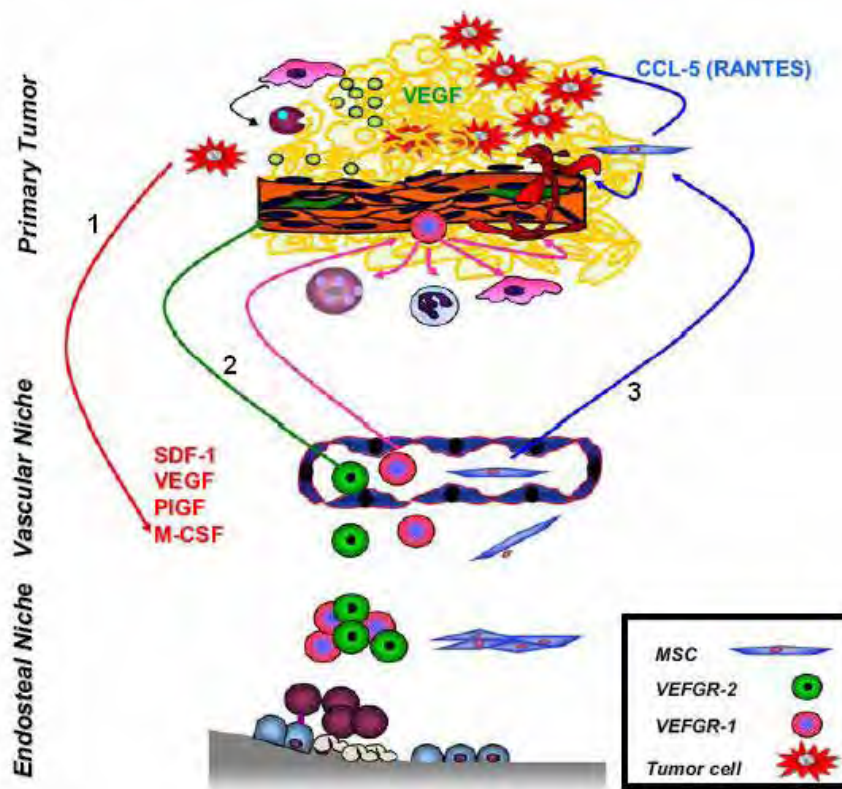


Figura 2- Esquema de recrutamento das BMDC e células inflamatórias pelo tumor primário, através da liberação de citocinas. (1)Cél. Tumorais liberam SDF-1, VEGF, PlGF e outras citocinas que atraem HSC e MSC. No tecido tumoral, cél. VEGFR-1+ dão origem a células inflamatórias e cél. VEGFR-2+ dão origem a cél. endoteliais, que contribuem para a formação da perivascularização. MSC são recrutadas pelo TU, dão origem a pericitos, que expressam CCL-5/RANTES, que estimula a migração das CT e a formação de metástases. Adaptado de Chantrain et al. Cancer microenvironment, 2008

Dessa forma, as células inflamatórias, derivadas da MO ,contribuem para a transformação e a proliferação das células tumorais, modulação da resposta imune e desenvolvimento da vascularização tumoral, um processo que necessita de linfócitos B (42;43). Sabe-se que os processos inflamatórios crônicos têm sido considerados como fator predisponente em várias neoplasias, entre elas mama, fígado, colon, bexiga, próstata, estômago, ovário e pele (20;43-45).

▪ **Papel das BMDC nas metástases**

Células tumorais circulantes podem ser identificadas no sangue periférico em muitas neoplasias e podem ser ativamente recrutadas pela MO por meio da liberação de citocinas pelas células estromais da MO, que liberam SDF-1, atraindo as células tumorais que expressam CXCR-4, assim como as células-tronco hematopoiéticas. Assim que estão na MO, as células tumorais interagem com osteoblastos e osteoclastos e interferem no equilíbrio entre eles. A interrupção da remodelação óssea, observada nos tumores metastáticos, é resultado da combinação de fatores humorais e de células de adesão entre as células tumorais e as células estromais no microambiente da MO.

Um dos mecanismos envolvidos está ligado à liberação de peptídeo, relacionado ao hormônio paratireóide (PTHrP) pelas células tumorais, que estimula os osteoblastos a expressarem o RANKL, um membro da família de citocinas TNF- α , que regula a osteoclastogênese. A ligação da RANKL a seu receptor RANK - presente na superfície dos precursores de osteoclastos - é regulada por meio da osteoprotegerina (OPG), que também é uma citocina da família TNF- α , produzida pelos osteoblastos e células estromais da MO. Essa ligação estimula a expressão de genes necessários para a adesão do osteoclasto ao osso, formação da lacuna osteolítica e degradação óssea.

As células tumorais também podem ativar os osteoclastos de maneira direta (sem interação com os osteoblastos) por meio do estímulo à secreção de vários fatores ativadores de osteoclastos (OAF) pelas células-tronco mesenquimais, tais como, IL-1, IL-6, MIP1- α , M-CSF ou RANKL, que estimularão a degradação óssea.

Dados mais atuais sugerem que as células inflamatórias são as primeiras a alcançar os sítios de metástases, formando nichos pré-metastáticos que atraem as

células tumorais circulantes. O mecanismo responsável por esse processo seria por meio da deposição de fibronectina nestes sítios, que atrai as BMDC VEGFR-1+ que colonizam esses locais, liberam citocinas, como a SDF-1, que atrai as células tumorais. Uma vez que as TC estão implantadas nos sítios metastáticos, há recrutamento das BMDC VEGFR-2 positivas, que serão responsáveis pela neoangiogênese. Este mecanismo tem sido demonstrado experimentalmente em modelos de tumor de mama e pulmão (46) (Figura 3).

Dessa forma, fica claro que a MO e seu microambiente possuem um papel importante na carcinogênese, tumorigênese, angiogênese e metastatização dos tumores, e que os estudos nessa área são fundamentais para novas abordagens na terapia oncológica. A utilização de drogas, cujo alvo não é a célula tumoral propriamente dita, mas o microambiente que a sustenta e as moléculas responsáveis pelo seu desenvolvimento, tais como moléculas de adesão, citocinas e citocinas, já estão em investigação, e muitas destas drogas têm sido utilizadas na prática clínica, com boa resposta.

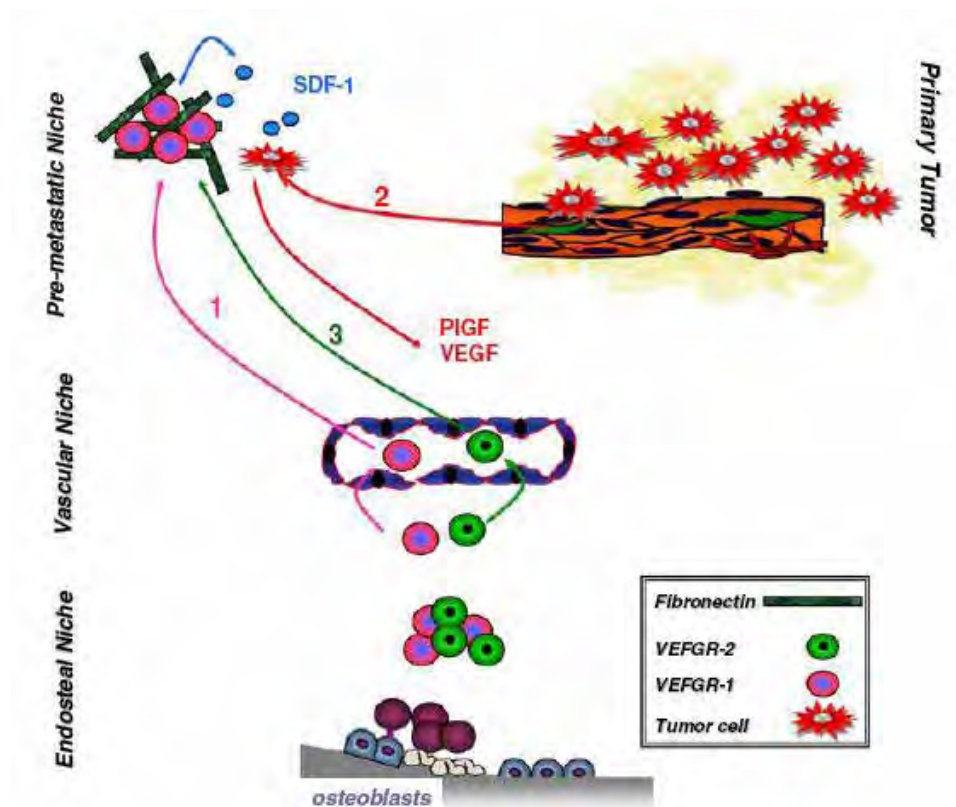
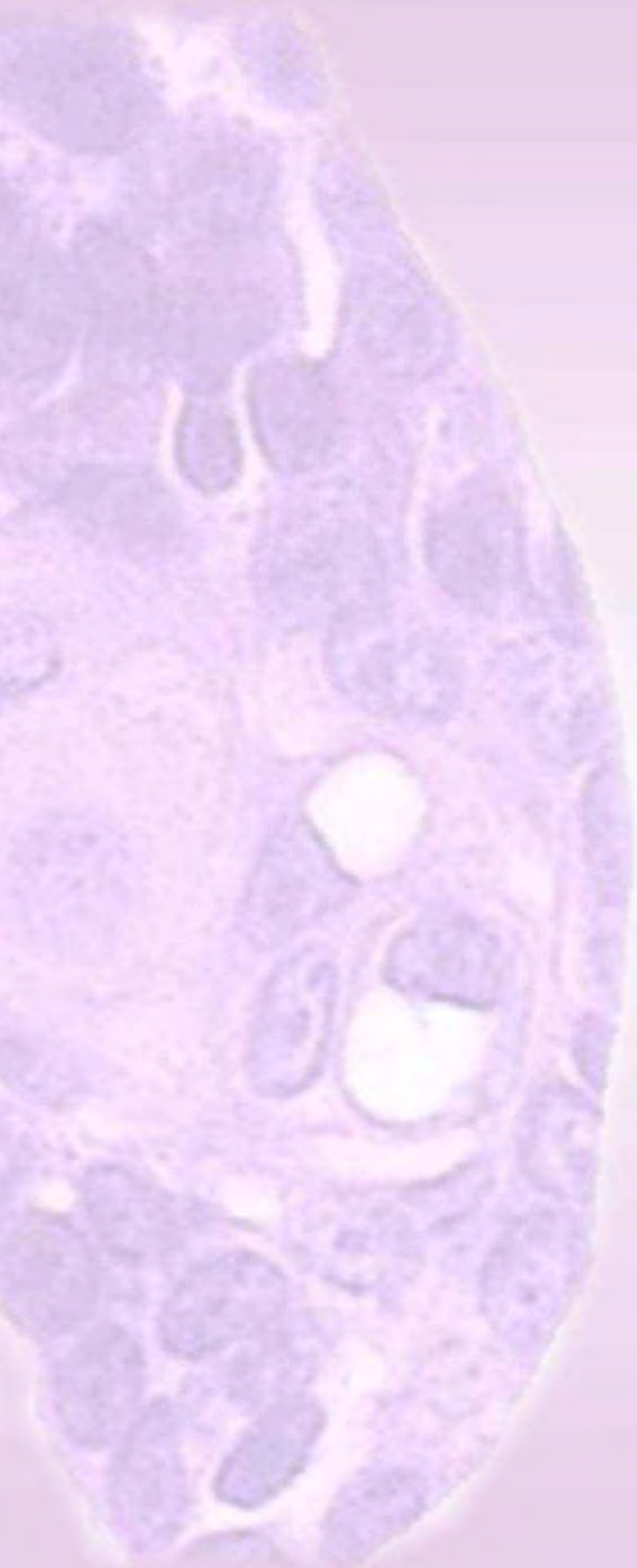


Figura 3 – Mecanismo de participação das BMDC no processo de estabelecimento de metástases à distância. (1) Cél. BMDC VEGFR-1+ colonizam órgãos distantes via adesão a fibronectina formando nichos pré-metastáticos (2) Estas células liberam SDF-1 que atraem células tumorais circulantes CXCR-4. (3) Dentro do nicho pré-metastático, o TU secreta VEGF, PIGF e outras citocinas, que atraem células BMDC VEGFR-2+ que contribuirão para a neoangiogênese. Adaptado de Chantre et al. Cancer microenvironment, 2008

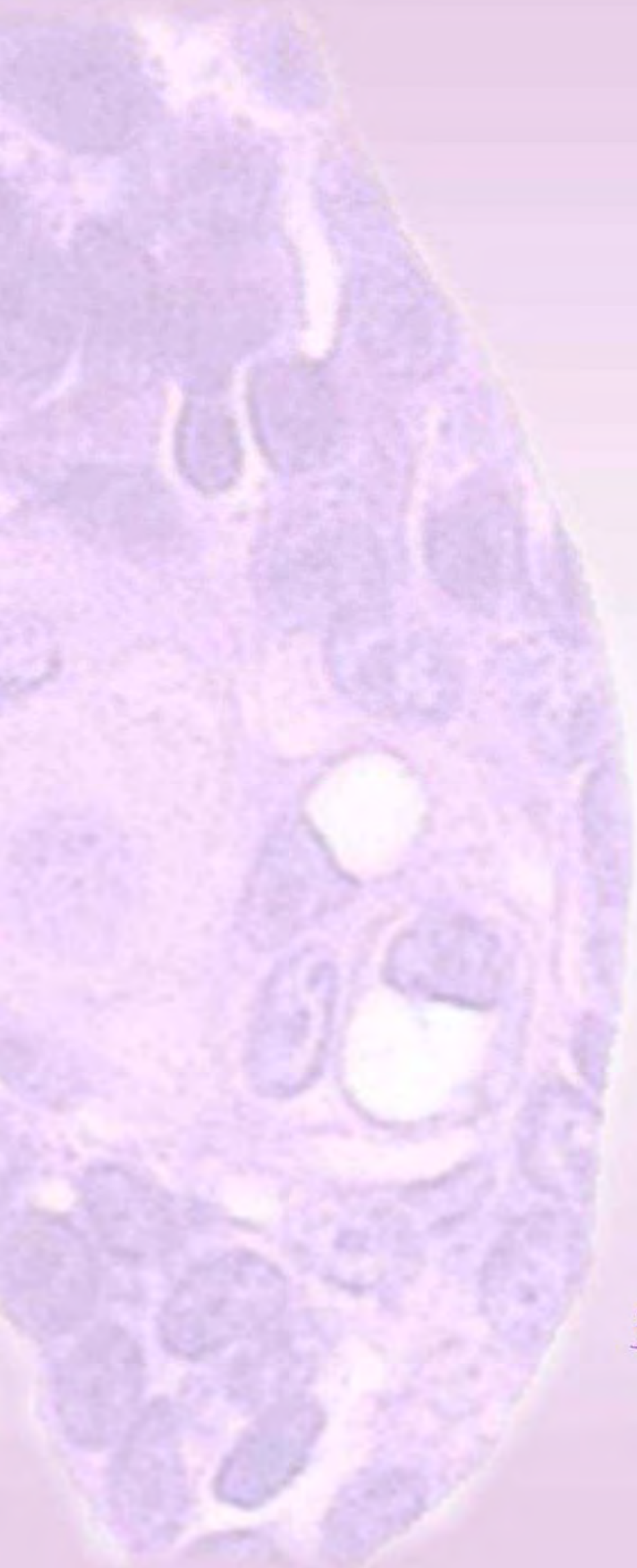
Certamente, novas investigações e um melhor entendimento deste processo mudarão nossa maneira de administrar quimioterapia e demais tratamentos citotóxicos aos pacientes com câncer, com menor toxicidade e melhores resultados nos índices de cura.



2. Objetivos

Analisar o diagnóstico, achados clínicos e laboratoriais, características da medula óssea e evolução clínica mais frequentes na mielopatia infiltrativa por tumores não-hematológicos.

Verificar se há relação entre os achados e a sobrevida dos pacientes estudados.



3. Pacientes e Metodologia

3.1. Seleção de pacientes e levantamento de dados

Foram estudados todos os casos de mielopatia infiltrativa por tumores não-hematológicos diagnosticados no Hospital Amaral Carvalho (HAC), em Jaú, e na Disciplina de Hematologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), no período de janeiro de 1998 a agosto de 2008.

Foram identificados todos os casos cadastrados nos arquivos de MO da Disciplina de Hematologia da FMB, num total de 40 pacientes com diagnóstico de mielopatia infiltrativa por tumores não-hematológicos, dentre as 3.971 MO colhidas no período do estudo. Não foi possível localizar os prontuários médicos de 17 pacientes, porém, foram utilizados os dados clínicos e laboratoriais descritos no pedido de coleta de MO para sua caracterização.

No Hospital Amaral Carvalho, foram revisados todos os laudos anatomo-patológicos de MO, do Departamento de Citologia e Patologia do HAC, sendo separados para avaliação todos os prontuários dos pacientes, com laudos compatíveis com infiltração de MO por tumores não-hematológicos. De um total de 11.220 exames, foram identificados 153 pacientes com diagnóstico de infiltração de MO por tumores não-hematológicos. Todos os prontuários desses pacientes do HAC foram encontrados.

Foram revistas as lâminas dos mielogramas, coágulos e biópsias de MO, referentes à época do diagnóstico, selecionando-se os casos que ofereceram material citológico e/ou histológico para confirmação do diagnóstico de mielopatia infiltrativa por tumores não-hematológicos.

Por meio de um instrumento específico (anexo A), foram levantados dados dos prontuários médicos (quando disponíveis) e do pedido de solicitação de MO da Disciplina de Hematologia da FMB – Unesp sobre história clínica, diagnóstico e

estadiamento do tumor primário, sítios de metástases, caracterização do hemograma pré ou peri-coleta da MO, características da MO, perfil dos marcadores tumorais séricos, tipos de tratamentos realizados, coleta de BMO pós tratamento e evolução clínica.

O presente estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa do Hospital Amaral Carvalho – Jaú (anexo B) e pelo Hospital das Clínicas da FMB – Unesp (anexo C). Não foi aplicado termo de consentimento livre e esclarecido por tratar-se de estudo retrospectivo, com a maioria dos pacientes tendo evoluído a óbito. Ambas as Instituições dispõem de termo de consentimento próprio, assinado no momento do cadastro do paciente, onde este autoriza a utilização dos dados disponíveis em seu prontuário médico, desde que respeitado o princípio da confidencialidade.

3.2. Procedimento para coleta de medula óssea

3.2.1. Topografia da coleta

a) Região esternal: na linha longitudinal mediana do manúbrio esternal, um centímetro abaixo da fúrcula, com paciente em decúbito dorsal horizontal. Utilizada para aspirado de MO em adultos e adolescentes.

b) Crista ilíaca postero-superior: paciente posicionado em um dos decúbitos laterais, com coxas e pernas fletidas. Utilizada para aspirado de MO em crianças e BMO em qualquer idade.

3.2.2. Antissepsia e anestesia

a) Desnudamento da área escolhida.

b) Antissepsia local com povidine e gaze estéril, e colocação de campo estéril sobre a área.

c) Anestesia local com cloridrato de lidocaína, utilizando-se seringa e agulha estéreis e descartáveis. Este procedimento pode não ser realizado nas situações em que as crianças recebem sedação no centro cirúrgico, realizada pela equipe de anestesia.

3.2.3. Realização de aspirado de MO

a) Utilização de agulha de aço inoxidável hipodérmica com mandril, tamanho 40x12, estéril, introduzida perpendicularmente ao esterno, através de movimentos rotatórios, atingindo-se a MO.

b) Retirada do mandril da agulha, conexão de seringa plástica descartável ao canhão da mesma, aspiração de um ml de MO.

c) Realização de 6 a 8 esfregaços de MO em lâminas de vidro para microscopia óptica, secas em ar ambiente.

d) Colocação do coágulo de MO, excedente aos esfregaços, em frasco de vidro identificado, contendo solução de formol tamponado.

3.2.4. Realização de biópsia de MO

a) Introdução da agulha de BMO, tipo jamishid (adulta ou pediátrica), estéril, na crista ilíaca postero-superior, através de movimentos rotatórios, para coleta de aspirado (em crianças) e fragmento de MO.

b) Aposição e rolamento do fragmento de MO sobre 4 a 6 lâminas de vidro para microscopia óptica, para realização dos *imprints* de MO, secos em ar ambiente.

c) Colocação do fragmento de BMO (e/ou aspirado de MO em crianças) em frasco de vidro identificado, contendo solução de formol tamponado.

3.2.5. Encaminhamento dos respectivos materiais

a) Os materiais citológicos (lâminas de esfregaço e *imprints*), juntamente com o pedido de mielograma foram entregues no Laboratório de Citologia e Citoquímica da Disciplina de Hematologia da FMB e do HAC para os procedimentos de rotina.

b) Os materiais histológicos (coágulo e fragmento de BMO), juntamente com o pedido de exame anatomo-patológico, foram entregues no Departamento de Patologia das respectivas instituições para o mesmo fim.

3.3. Variáveis do estudo

3.3.1. Características demográficas e dados do tumor primário

- a) sexo: feminino e masculino
- b) Data de nascimento e idade ao diagnóstico
- c) Tipo de tumor primário e data do diagnóstico
- d) Estádio inicial de acordo com normatização TNM (De VITA et al, 2008)
- e) Sítios metastáticos: ossos/MO, fígado, pulmão, sistema nervoso central, linfonodos e outros

3.3.2. Análise da medula óssea

- a) Mielograma: infiltrado, não infiltrado, material insuficiente
- b) Citoinclusão do coágulo MO: infiltrado, não infiltrado, material insuficiente
- c) BMO: infiltrado, não infiltrado, material insuficiente, presença de fibrose e/ou necrose
- d) Estudo imunohistoquímico: material analisado (tumor primário, medula óssea ou em ambos), marcadores utilizados e não realização

3.3.3. Características do hemograma pré ou peri coleta

Os dados do hemograma foram levantados de acordo com a referência de normalidade específica para a idade (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores normais do número de células no sangue: variação com a idade

Células	1 ano	10 anos	Adultos
Total de Leucócitos	6.000 – 17.500	4.500 – 13.500	4.000 – 11.000
Neutrófilos Bastonetes	0 – 1.000	0 – 1.000	0 – 700
Neutrófilos Segmentados	1.000 – 8.500	1.800 – 7.000	1.800 – 7.000
Eosinófilos	50 - 700	0 - 600	0 - 450
Basófilos	0 - 200	0 - 200	0 - 200
Linfócitos	4.000 – 10.500	1.500 – 6.500	1.000 – 4.800
Monócitos	50 – 1.100	0 - 800	0 - 800
Plaquetas	150.000 – 450.000		
Hemoglobina	10,6 – 13,0 g/dl	11,5 – 14,5	Homens: $\geq 14,0$ Mulheres: $\geq 12,3$

Adaptado de Hematologia: fundamentos e prática, 1. ed., cidade: Atheneu, 2001, São Paulo

a) Níveis de hemoglobina e plaquetas: classificados por graus de acordo com *Common Terminology Criteria for Adverse Events* (CTCAE) versão 3.0, definidos pelo Instituto Nacional do Câncer Americano (NCI), ano 2003 (Tabela 2).

b) Níveis de leucócitos e diferenciação (avaliação de desvio à esquerda).

c) Achados citológicos do esfregaço de sangue periférico: eritroblastos circulantes, células indiferenciadas circulantes, policromasia e anisocitose.

3.3.4. Características dos marcadores tumorais

a) Coleta de marcadores: sim (normal ou aumentado) ou não.

b) Marcadores colhidos: CEA, PSA, DHL, Ca19.9, Ca15.3, Ca125, outros.

3.3.5. Tipos de tratamentos realizados

- a) Quimioterapia
- b) Radioterapia
- c) Hormonioterapia
- d) Nenhum tratamento

3.3.6. Coleta de BMO após tratamento

- a) Coleta realizada: aspecto da MO, se infiltrada ou não.
- b) Não colhido.

3.3.7. Status final

- a) Óbito ou data do último contato até final de janeiro de 2009

Tabela 2 – CTCAE versão 3.0 - Critérios de toxicidade para hemoglobina e plaquetas, de acordo com Instituto Nacional do Câncer Americano (NCI), 2003

Evento	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
Hemoglobina g/dl	≥ 10,0	< 10,0 – 8,0	< 8,0 – 6,5	< 6,5
Plaquetas /mm ³	≥ 75.000	< 75.000 – 50.000	< 50.000 – 25.000	< 25.000

Fonte – Disponível em: < <http://ctep.cancer.gov>>.

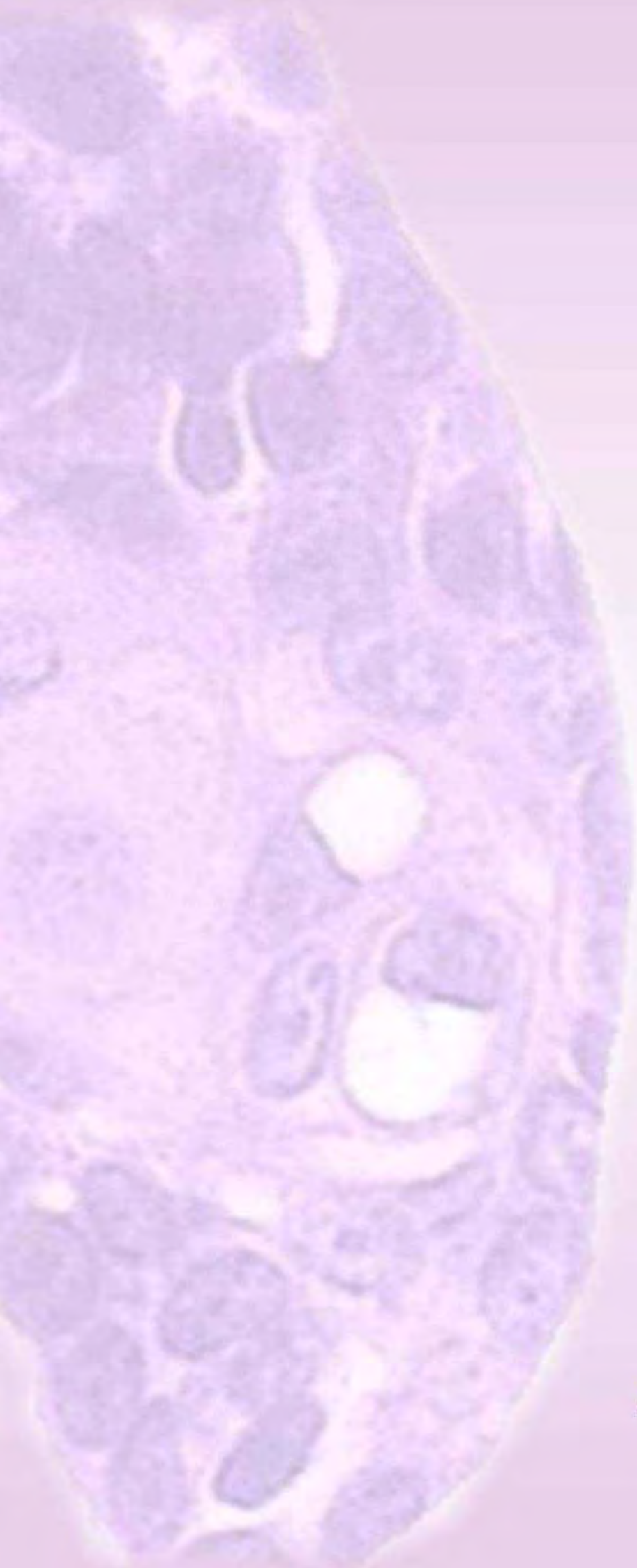
3.4. Análise estatística

Os dados levantados foram tabulados em tabela do software Microsoft office excel e analisados pelo programa de estatística *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) versão 10.0.

Foi realizada a caracterização dos pacientes, utilizando-se as frequências absoluta (n) e relativa (%) e a mediana. A seguir, foi analisada a associação entre

mielopatia infiltrativa e as características demográficas, clínicas, histopatológicas da medula óssea e alterações do hemograma, utilizando-se o teste do qui-quadrado.

As análises de sobrevida foram realizadas pelo método de Kaplan-Meier e, em todas as análises foi considerado o nível de significância de 5%.



4. Resultados

Entre os 193 pacientes incluídos no presente estudo, a maioria (79,3%) foi diagnosticada no HAC e 20,7% foram diagnosticados na FMB. Foi observada paridade (1:1) entre os sexos, sendo 96 (49,7%) do sexo masculino e 97 (50,3%) do sexo feminino. A mediana de idade da casuística foi de 55 anos (variação de quatro meses a 79 anos). Da amostra estudada, 171 casos (88,6%) eram adultos, com idade mediana de 57 anos, e apenas 22 (11,4%) eram crianças – consideradas, no estudo, com idade igual ou inferior a 21 anos – e idade mediana de três anos.

As neoplasias que mais frequentemente infiltraram a medula óssea em adultos foram: mama em 31,6%, próstata em 18,7%, tumores de sítio primário indeterminado em 16,4% e tumores esôfago-gástricos em 12,9% (22 casos, sendo um de esôfago e 21 de estômago) (Figuras 6, 7, 8 e 9). Observamos, ainda, infiltração por tumores de pulmão (seis casos de adenocarcinomas, um carcinoma de pequenas células, três tumores neuroendócrinos primitivos (PNET), um carcinoma espinocelular e um caso de angiossarcoma) (Figuras 10 e 11), aparelho genito-urinário (dois casos de carcinoma de bexiga, um carcinoma renal e um carcinoma espinocelular (CEC) de pênis), colo-retal (quatro carcinomas de colon e um carcinoma de reto) (Figura 12), além de outras neoplasias, menos freqüentes, como melanoma (três casos) (Figura 13), tumor de tireóide (três casos) (Figura 14), sarcoma de Ewing (dois casos), além de dois casos de CEC de língua (Tabela 3) (Figura 4).

Na população pediátrica, neuroblastoma foi o tumor que mais frequentemente infiltrou a MO em 72,7% (16 casos), com raros casos de rabdomiossarcoma, sarcoma fusocelular, tumor de Askin, sarcoma de Ewing e retinoblastoma (Tabela 3) (Figuras 5, 15, 16, 17 e 18).

Em relação à classificação histológica, em 132 casos (68,4%), o tumor era do tipo adenocarcinoma; em 25 casos carcinoma (13%), neuroblastoma em 16

casos (8,3%), oito casos de tumor neuroendócrino/PNET e nove casos de outros tipos, entre eles, sarcoma (fusocelular, angiossarcoma e rabdomiossarcoma), retinoblastoma e melanoma (Tabela 3) (Figuras 19, 20).

O estágio inicial da maioria dos pacientes, ao diagnóstico, era avançado, com 156 pacientes em estádios III e IV (14,5 e 66,3%, respectivamente) e, apenas, 16 pacientes em estádios iniciais I e II (8,3%). Em 21 pacientes (10.9%), esse dado estava indisponível por não termos encontrado os prontuários (Tabela 3).

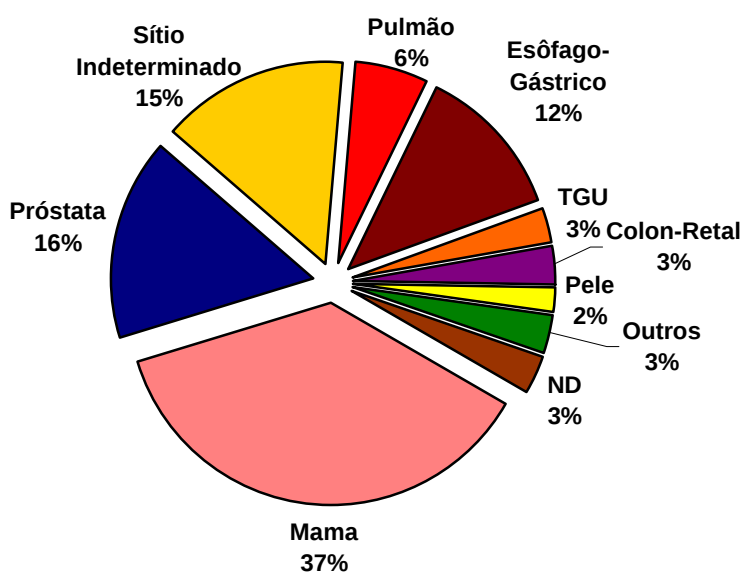


Figura 4 - Frequência de mielopatia infiltrativa nos adultos (idade ≥ 22 anos). Total de 171 pacientes

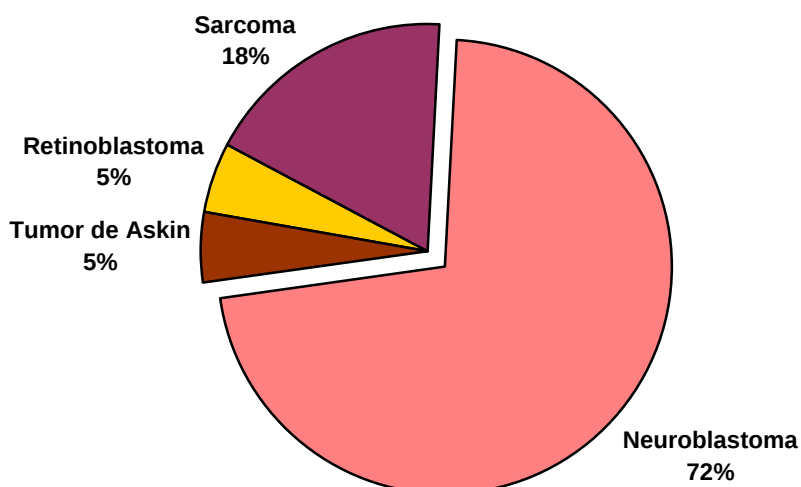


Figura 5 - Frequência de mielopatia infiltrativa na faixa etária pediátrica (idade < 22 anos). Total de 22 casos. Na categoria sarcoma estão incluídos 4 casos com os subtipos: rabdomiossarcoma (2), fusocelular (1) e sarcoma de Ewing (1).

Tabela 3 – Número e percentagem de todos os pacientes segundo características demográficas, clínicas e laboratoriais

Variáveis	Características	n	%
Sexo	Masculino	96	49,7
	Feminino	97	50,3
Local do Diagnóstico	HAC	153	79,3
	FMB	40	20,7
Faixa Etária	Crianças	171	88,6
	Adultos	22	11,4
Sítio Primário da Neoplasia	Mama	54	28,0
	Próstata	32	16,6
	Sítio Indeterm	29	15,0
	Supra-renal	14	7,3
	Pulmão	13	6,7
	Esôfago-gástrico	22	11,4
	TGU	05	2,6
	Colon-retal	05	2,6
	Pele	03	1,6
	Outros	10	5,2
	ND	06	3,1
Diagnóstico AP	Adenocarcinoma	132	68,4
	Neuroblastoma	16	8,3
	Carcinoma	25	13,0
	PNET/neuroend.	08	4,1
	Outros	09	4,7
	ND	03	1,6
Estadio Inicial	I	05	2,6
	II	11	5,7
	III	28	14,5
	IV	128	66,3
	ND	21	10,9
Sítios de Metástase	MO/ossos	78	40,4
	2 sítios	77	39,9
	3 sítios ou mais	22	11,4
	ND	16	8,3
Marcadores Tumorais	aumentado	107	55,4
	normal	22	11,4
	NR	49	25,4
	ND	15	7,8
Total		193	100

n = nº de pacientes ; HAC = Hospital Amaral Carvalho; FMB = Faculdade de Medicina de Botucatu

O sítio metastático mais comum foi ossos/MO, sendo o sítio único em 40,4%. Nos demais pacientes, houve a associação de mais de um sítio metastático (ossos/MO associado a fígado, pulmão, sistema nervoso central e/ou linfonodos, entre outros), sendo que, 39,9% apresentavam dois sítios e 11,4% três ou mais sítios metastáticos (Tabela 3).

A mediana de tempo decorrido entre o diagnóstico do tumor primário e o diagnóstico da infiltração de MO foi de 0,62 meses, com mediana de 0,36 meses para a faixa etária pediátrica, e 0,79 meses para os adultos, sem diferença estatisticamente significativa entre eles ($p = 0,119$).

Na realização do diagnóstico de MI, a análise da MO mostrou que a maioria dos pacientes apresentava infiltração ao mielograma (84,5%), com apenas 6,2% com mielograma negativo e 7,3% com material insuficiente. A citoinclusão do coágulo da MO mostrou infiltração em 53,4% dos casos (103 casos), sendo que a BMO foi positiva para infiltração em 80,3% dos casos e, negativa em apenas 1%; em 16,1% dos casos não foi realizada (Tabela 4) (Figura 21).

Em relação aos achados histológicos, observamos graus variáveis de fibrose em 32,1% (62 casos), associação de áreas de fibrose e necrose no mesmo material em 21 casos (10,9%) e presença de necrose isolada em 21 casos. A coloração de reticulina foi realizada em apenas 8,9% (17 casos), com 6,8% de reticulina graus III e IV (Tabela 4) (Figuras 22 e 23).

A complementação do diagnóstico com exame imunohistoquímico foi realizada em 95 casos (49,2%), notando-se que, na maioria destes, apenas no tumor primário (30,6%), e em 15,5%, isoladamente, na MO (Tabela 4).

Na avaliação das alterações hematológicas, observamos alteração de hemoglobina, com algum grau de anemia na maioria dos casos (92,2%), sendo

anemia severa com níveis de hemoglobina iguais ou inferiores a 8,0 g/dl, observada em 80 casos (41,5%). As alterações em leucócitos ocorreram em 51,3% (99 casos), com leucocitose em 40,4% dos casos (Tabela 5), desvio à esquerda em 42,5% (82 casos) e linfopenia em apenas 17,6% dos casos (Tabela 6).

Tabela 4 – Número e percentagem de pacientes segundo avaliação diagnóstica

Variáveis	Características	n	%
Mielograma	Positivo	163	84,5
	Negativo	12	6,2
	MI	14	7,3
	NR	04	2,1
Coágulo de MO	Positivo	103	53,4
	Negativo	17	8,8
	MI	29	15,0
	NR	44	22,8
Biópsia de MO	Positivo	155	80,3
	Negativo	02	1,0
	MI	05	2,6
	NR	31	16,1
Fibrose/ Necrose	Fibrose	62	32,1
	Necrose	21	10,9
	Fibrose +	21	10,9
	Necrose	88	45,6
	Ausência	01	0,5
	ND		
Retículo	Grau I	01	0,5
	Grau II	03	1,6
	Grau III	04	2,1
	Grau IV	09	4,7
	NR	176	91,2
Imunohistoquímica	Tumor Primário	59	30,6
	MO	30	15,5
	Tu Primário + MO	06	3,1
	NR	82	42,5
	ND	16	8,3
Total		193	100

n = nº de pacientes ; MO = medula óssea; NR = não realizado; MI = material insuficiente
ND = não disponível

Os níveis de plaquetas estavam alterados em 69,4% dos casos, com predomínio de plaquetopenia em 67,4% (130 casos), sendo que plaquetopenia severa - com níveis iguais ou inferiores a 50.000/mm³- estava presente em 58 casos (30,1%) (Tabela 5).

Tabela 5 - Número e percentagem de pacientes segundo alterações hematológicas

Variáveis	Características	n	%
Presença de anemia	Sim	178	92,2
	não	15	7,8
Nível de Hemoglobina (g/dl)	Normal	15	7,8
	≥ 10,0	37	19,2
	8,0 – 10,0	61	31,6
	6,5 – 8,0	43	22,3
	< 6,5	37	19,2
Nível de Leucócitos	Normal	94	48,7
	Leucopenia	21	10,9
	Leucocitose	78	40,4
Nível de Plaquetas (mm ³)	150.000 – 450.000	59	30,6
	75.000 – 150.000	41	21,2
	50.000 – 75.000	31	16,1
	25.000 – 50.000	37	19,2
	< 25.000	21	10,9
	> 450.000	04	2,1
Total		193	100

n = nº de pacientes

Os achados observados, no esfregaço do sangue periférico, ao diagnóstico foram: 31,6% de eritroblastos circulantes, 50,3% de anisocitose, ausência de policromasia na maioria dos casos (92,7%) e raros pacientes com células imaturas circulantes (5,7%) (Tabela 6).

Os marcadores tumorais séricos foram analisados em 66,8% dos casos, sendo que estavam aumentados em 55,4% (107 pacientes) e, dentro dos limites normais, em 11,4%; não foram realizados em 25,4% dos casos (49 pacientes) e estavam indisponíveis em 7,5% (15 casos sem acesso ao prontuário médico). Os

níveis séricos de desidrogenase láctica (DHL) estavam aumentados em 44 pacientes (22,8%) (Tabela 3).

Tabela 6 – Número e percentagem de pacientes segundo achados citológicos do esfregaço de SP

Variáveis	Características	n	%
Eritroblastos circulantes	Presente	61	31,6
	ausente	132	68,4
Desvio à Esquerda	Presente	82	42,5
	Ausente	111	57,5
Linfopenia	Presente	34	17,6
	Ausente	159	82,4
Policromasia	Presente	14	7,3
	Ausente	179	92,7
Anisocitose	Presente	97	50,3
	Ausente	96	49,7
Células imaturas circulantes	Presente	11	5,7
	Ausente	182	94,3
Total		193	100

n = nº de pacientes ; SP = sangue periférico

A maioria dos pacientes estudados (72%) recebeu algum tipo de tratamento, 18,1% não foram tratados para a neoplasia e não temos essa informação em 9,8% dos casos.. Quimioterapia foi realizada em 59,1% (114 pacientes), radioterapia em 33,7% (65 pacientes) e hormonioterapia em 25,4% dos casos (Tabela 7).

Uma nova coleta de MO, após tratamento, foi realizada em apenas 13,5% dos pacientes (em geral crianças), sendo que os demais (78,8%) não realizaram esse exame de reavaliação. Em 7,3% dos casos este dado estava indisponível.

Tabela 7 – Número e percentagem de pacientes segundo tipos de tratamento

Variáveis	Características	n	%
Tratamento	Sim	139	72
	Não	35	18,1
	ND	19	9,8
QT	Sim	114	59,1
	Não	60	31,1
	ND	19	9,8
RXT	Sim	65	33,7
	Não	107	55,4
	ND	21	10,9
HT	Sim	49	25,4
	Não	124	64,2
	ND	20	10,4
Total		193	100

N = nº de pacientes; QT = quimioterapia; RXT = radioterapia; HT = hormonioterapia
 ND = não disponível

A maioria dos pacientes estudados (85,5%) evoluiu a óbito, com mediana de sobrevida global de 12,62 meses (Gráfico 1).

A análise de sobrevida global de Kaplan-Meier (ano), de acordo com sexo, revelou mediana de 9,19 meses para os homens e 27,86 meses para as mulheres ,com diferença estatisticamente significativa ($p=0,000$) (Gráfico 2). Os pacientes portadores de tumor de mama, neuroblastoma e tumor de próstata apresentaram maiores medianas de sobrevida quando comparados aos outros sítios primários, com significância estatística entre eles ($p=0,000$) (Tabela 8) (Gráfico 3). O tipo histológico e o estadiamento ao diagnóstico também revelaram diferenças estatisticamente significantes para sobrevida ($p=0,000$), com melhor sobrevida para os pacientes portadores de adenocarcinoma (Gráfico 4), em estádios mais iniciais (Tabela 8 e Gráfico 5).

Tabela 8 – Mediana de sobrevida global dos pacientes incluídos segundo características demográficas, clínicas e laboratoriais

Variáveis	Características	Mediana (meses)	p*
Sexo	Masculino	9,19	0,000
	Feminino	27,86	
Faixa Etária	crianças	16,28	0,448
	adultos	12,83	
Sítio Primário da neoplasia ^e	Mama	45,68	0,000
	Próstata	12,62	
	Supra-renal	23,76	
	Sítio Indeterm	0,56	
	Pulmão	8,69	
	Pele	1,45	
	Esôfago-gástrico	8,36	
	TGU	7,90	
	Colon-retal	5,85	
	Outros	7,60	
Diagnóstico AP ^e	Adenocarcinoma	20,36	0,000
	Neuroblastoma	23,76	
	Carcinoma	4,13	
	PNET	13,52	
	Outros	3,57	
Estadio Inicial ^e	I	45,68	0,000
	II	72,46	
	III	42,24	
	IV	8,13	
Sítios de Metástase ^e	MO/ossos	16,00	0,702
	2 sítios	10,08	
	3 sítios ou mais	22,21	
Marcadores Tumorais ^e	Aumentado	11,24	0,096
	Normal	18,64	
Tratamento ^e	Sim	22,11	0,000
	não	0,49	

TGU = trato genito-urinário; AP = anatomo-patológico; MO = medula óssea

PNET = tumor neuroectodérmico primitivo

* teste de associação pelo qui-quadrado; $p \leq 0,05$ = significativo^e = excluídos os pacientes com dados não disponíveis

Os pacientes que realizaram algum tipo de tratamento clínico, seja quimioterapia, seja radioterapia e/ou hormonioterapia, apresentaram sobrevida global, estatisticamente significante, quando comparados aos pacientes não tratados ($p=0,000$)(Tabela 8, Gráfico 6).

Não houve diferença, estatisticamente significativa, na sobrevida global na análise por: faixa etária (adultos e crianças), na avaliação de acordo com número de sítios metastáticos, características dos marcadores tumorais séricos, presença de fibrose/necrose e alterações hematológicas em nível de hemoglobina e plaquetas (Tabelas 8 e 9).

Os pacientes com leucocitose e desvio à esquerda apresentaram sobrevida global estatisticamente menor ($p=0,002$ e $p=0,001$, respectivamente) (Tabela 9).

Quando analisamos a sobrevida, a partir do diagnóstico da mielopatia infiltrativa (MI), temos resultados discordantes em relação à análise de sobrevida global na avaliação de sobrevida segundo a faixa etária, com sobrevida estatisticamente maior para as crianças (mediana de 10,31 meses (Gráfico 7), quando comparada aos adultos (mediana de 1,75 meses) ($p=0,001$), e na avaliação por sexo, que deixou de ser estatisticamente significativa, com sobrevidas semelhantes para homens e mulheres ($p=0,068$) (Tabela 10).

A análise de sobrevida a partir do diagnóstico de MI, segundo sítio primário da neoplasia, foi estatisticamente significativa, com sobrevidas maiores para pacientes portadores de neuroblastoma, adenocarcinoma de mama e próstata ($p=0,000$) (Tabela 10 e Gráfico 8). Quando foi analisada a influência do diagnóstico anatomo-patológico e do estágio inicial na sobrevida a partir do diagnóstico da MI, não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,079$ e $p=0,447$, respectivamente).

Na análise dos parâmetros hematológicos, os pacientes com leucocitose, desvio à esquerda e plaquetopenia apresentaram sobrevida significativamente menor quando comparada à dos pacientes com leucócitos normais, sem desvio à esquerda e com níveis de plaquetas normais ($p=0,000$) (Tabela 11 e Gráficos 9, 10 e 11).

Não houve diferença estatística para as análises de sobrevida, a partir do diagnóstico de MI, em relação à: presença de fibrose/necrose na MO, alteração no nível de hemoglobina ($p=0,963$), presença de eritroblastos circulantes ($p=0,178$), linfopenia ($p=0,242$), policromasia ($p=0,568$), anisocitose ($p=0,548$) e à presença de células imaturas circulantes ($p=0,595$) (Tabela 11).

Tabela 9 – Mediana de sobrevida global dos pacientes incluídos segundo característica histológica e alterações hematológicas

Variáveis	Características	Mediana (meses)	p*
Fibrose/ Necrose	Fibrose	16,46	0,849
	Necrose	7,60	
	Fibrose +	28,43	
	Necrose NO	11,73	
Nível de Hemoglobina (g/dl)	Normal	1,98	0,864
	G1: > 10	2,14	
	G2: > 8,0 – 10	2,31	
	G3: 6,5 – 8,0	1,55	
	G4: < 6,5	3,96	
Nível de Leucócitos	Normal	18,64	0,002
	Leucopenia	31,70	
	Leucocitose	4,13	
Nível de Plaquetas (mm ³)	Normal	9,71	0,663
	Plaquetose	7,90	
	75.000 – 150.000	19,37	
	50.000 – 75.000	10,08	
	25.000 – 50.000	16,46	
	< 25.000	20,36	
Eritroblastos	Sim	12,86	0,781
	Não	12,56	
Desvio à Esquerda	Sim	5,42	0,001
	não	20,36	
Linfopenia	Sim	19,37	0,398
	não	11,80	
Policromasia	Sim	30,54	0,209
	não	12,56	
Anisocitose	Sim	11,24	0,309
	não	13,42	
Células imaturas circulantes	Sim	11,80	0,854
	não	12,86	

NO = não observado fibrose e/ou necrose; SP = sangue periférico, * $p \leq 0,05$ = significativo

Tabela 10 – Mediana de sobrevida a partir do diagnóstico de MI dos pacientes incluídos segundo características demográficas, clínicas e laboratoriais

Variáveis	Características	Mediana (meses)	p*
Sexo	Masculino	1,45	0,068
	Feminino	3,04	
Faixa Etária	Crianças	10,31	0,001
	Adultos	1,75	
Sítio Primário da neoplasia ^e	Mama	4,92	0,000
	Próstata	3,60	
	Supra-renal	23,76	
	Sítio Indeterm	0,52	
	Pulmão	1,98	
	Pele	0,13	
	Esôfago-gástrico	0,82	
	TGU	1,75	
	Colon-retal	0,43	
	Outros	0,26	
Diagnóstico AP ^e	Adenocarcinoma	2,14	0,079
	Neuroblastoma	16,00	
	Carcinoma	0,52	
	PNET	1,35	
	Outros	0,52	
Estadio Inicial ^e	I	9,95	0,447
	II	3,04	
	III	2,57	
	IV	2,14	
Sítios de Metástase ^e	MO/ossos	2,71	0,912
	2 sítios	1,98	
	3 sítios ou mais	1,02	
Marcadores Tumorais ^e	Aumentado	2,71	0,641
	Normal	1,98	
Tratamento ^e	Sim	3,76	0,000
	não	0,33	

MI = mielopatia infiltrativa; TGU = trato genito-urinário; AP = anatomo-patológico;

MO = medula óssea; PNET = tumor neuroectodérmico primitivo

^e excluídos pacientes com dados não disponíveis

* $p \leq 0,05$ = significativo

Tabela 11 – Mediana de sobrevida a partir do diagnóstico de MI dos pacientes incluídos segundo característica histológica e alterações hematológicas

Variáveis	Características	Mediana (meses)	p*
Fibrose/ Necrose	Fibrose	2,38	0,766
	Necrose	2,57	
	Fibrose + Necrose	2,14	
	NO	1,81	
Nível de Hemoglobina (g/dl)	Normal	3,96	0,963
	G1: > 10	1,98	
	G2: > 8,0 – 10	2,14	
	G3: 6,5 – 8,0	2,31	
	G4: < 6,5	1,55	
Nível de Leucócitos	Normal	3,76	0,006
	Leucopenia	2,71	
	Leucocitose	1,05	
Nível de Plaquetas (mm ³)	150.000 – 450.000	5,78	0,021
	> 450.000	0,92	
	75.000 – 150.000	1,81	
	50.000 – 75.000	1,45	
	25.000 – 50.000	0,82	
Eritroblastos	< 25.000	0,72	0,178
	Sim	1,48	
Desvio à Esquerda	não	2,71	0,001
	Sim	0,92	
Linfopenia	não	3,60	0,242
	Sim	1,45	
Policromasia	não	2,31	0,568
	Sim	3,76	
Anisocitose	não	2,14	0,548
	Sim	2,71	
Células circulantes	não	1,52	0,595
	Sim	1,95	
		2,14	

MI = mielopatia infiltrativa ; NO = não observado fibrose e/ou necrose; SP = sangue periférico

* p ≤ 0,05 = significativo

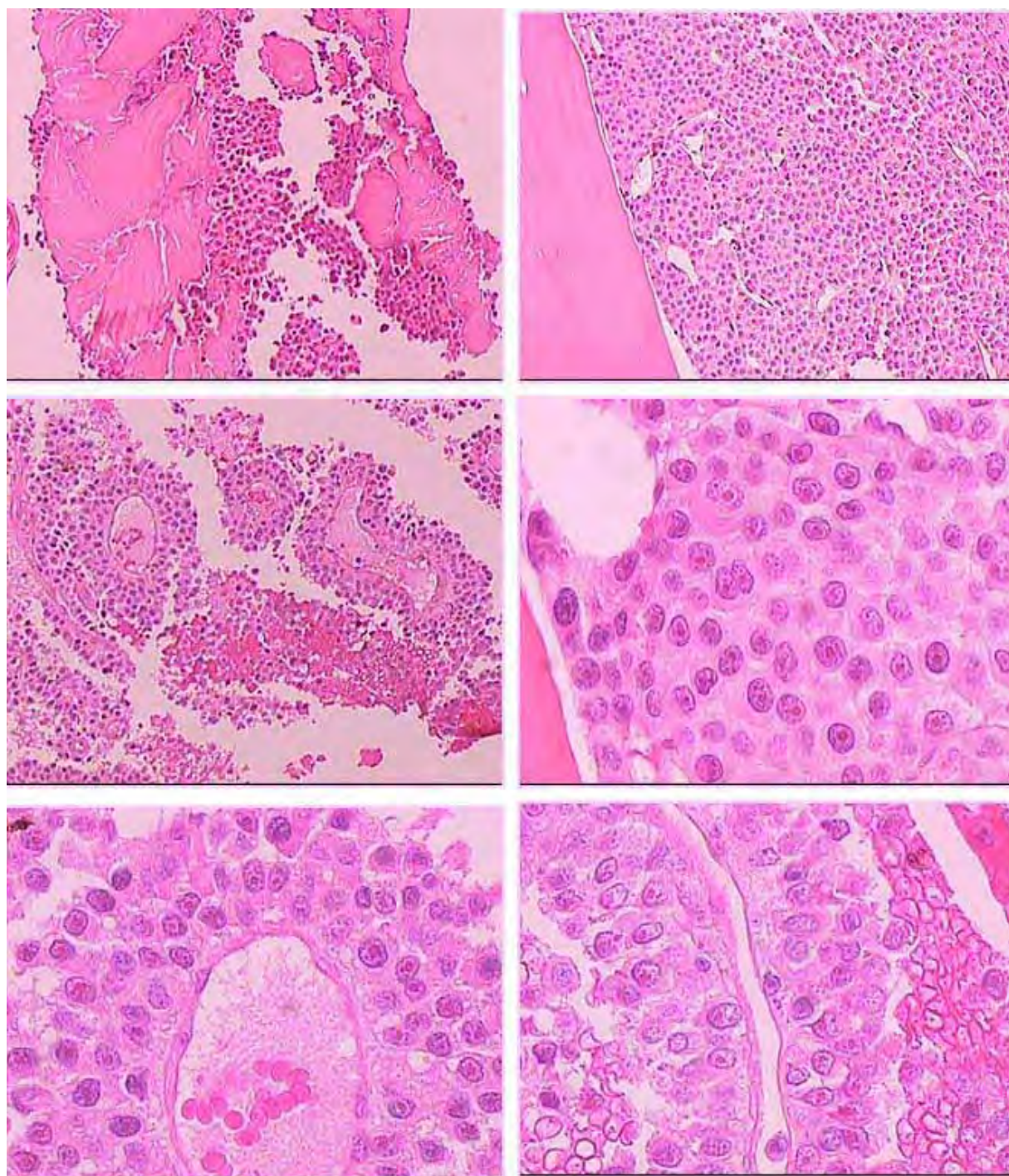


Figura 6 - MJDA, 46a, fem.. Histologia de medula óssea com carcinoma de mama com infiltração tipo “lençol”, difusa e compacta, assumindo todo o espaço hematopoiético; HE 100x, 400x.

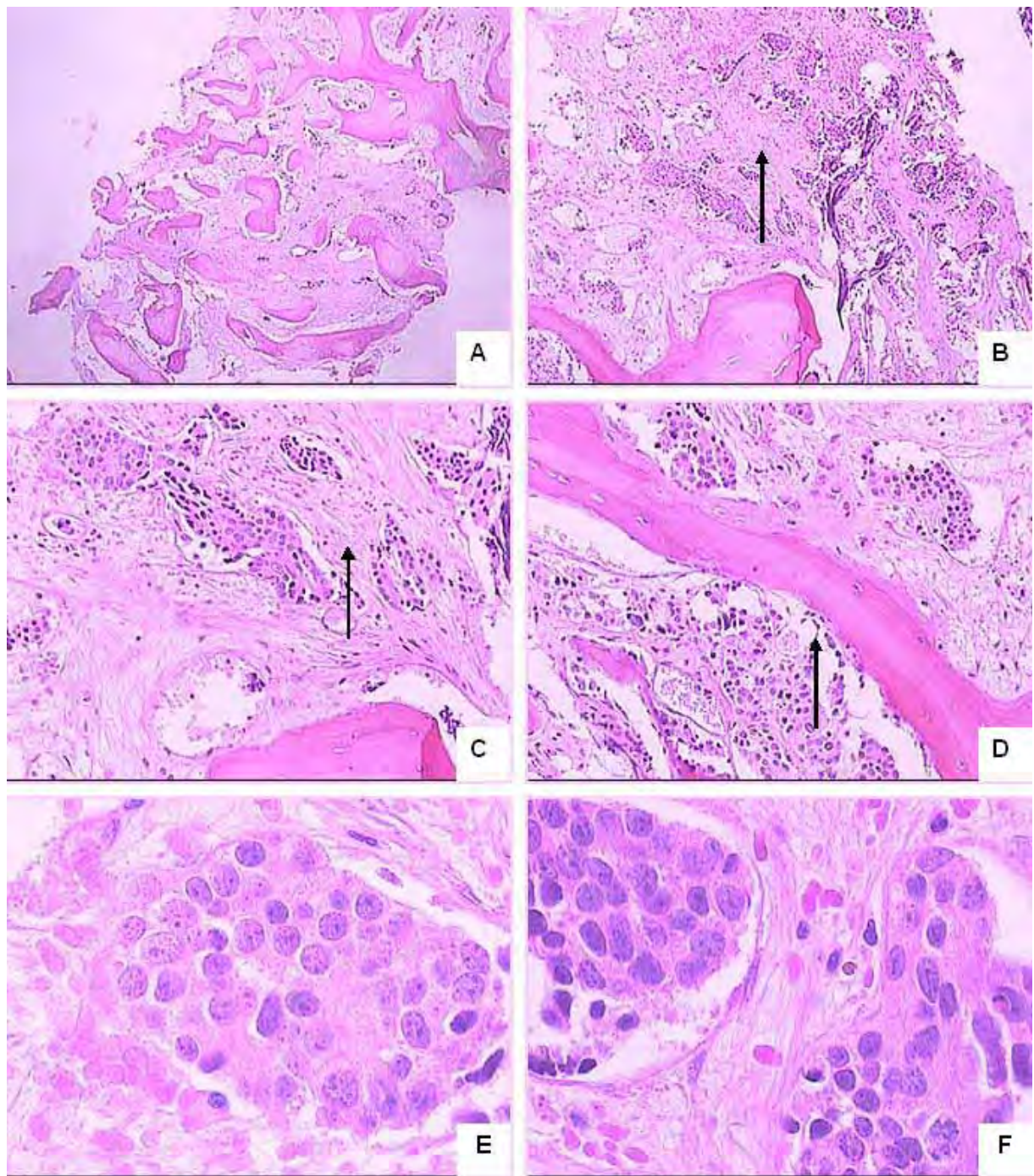


Figura 7 - RGO, 63a, masc., carcinoma de próstata. A) Cortes histológicos de medula óssea revelando reação osteoblástica e numerosas trabéculas-filhas. B,C,D) Microácinos rodeados por fibrose colágena (seta) e alinhamento de osteoblastos em endósteo (seta). E, F) Detalhe das metástases microacinares. HE 100x, 400x.

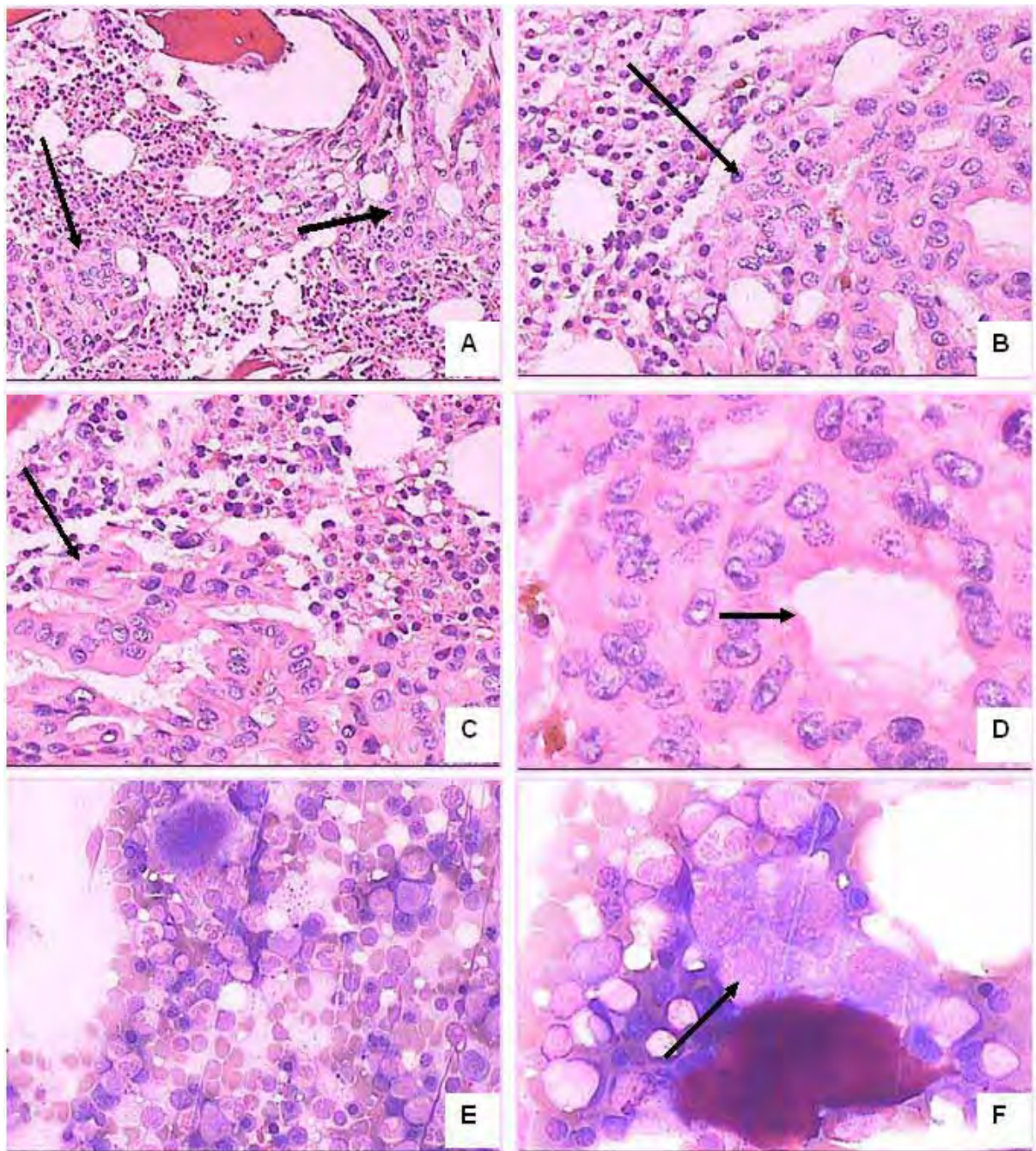


Figura 8 - JBC, 64 a, masc., carcinoma de sitio primário indeterminado. A, B, C, D) Histologia de medula óssea com área de transição entre tecido hematopoético residual e infiltração submucosa por carcinoma, com formações acinares (setas) e luz acinar (seta), HE 100x, 400x. E, F) Citologia de medula óssea com área de hematopoese residual (esquerda) e bloco acinar neoplásico, isolado, permeado por tecido medular normal (seta); Leishman, 100x, 400x.

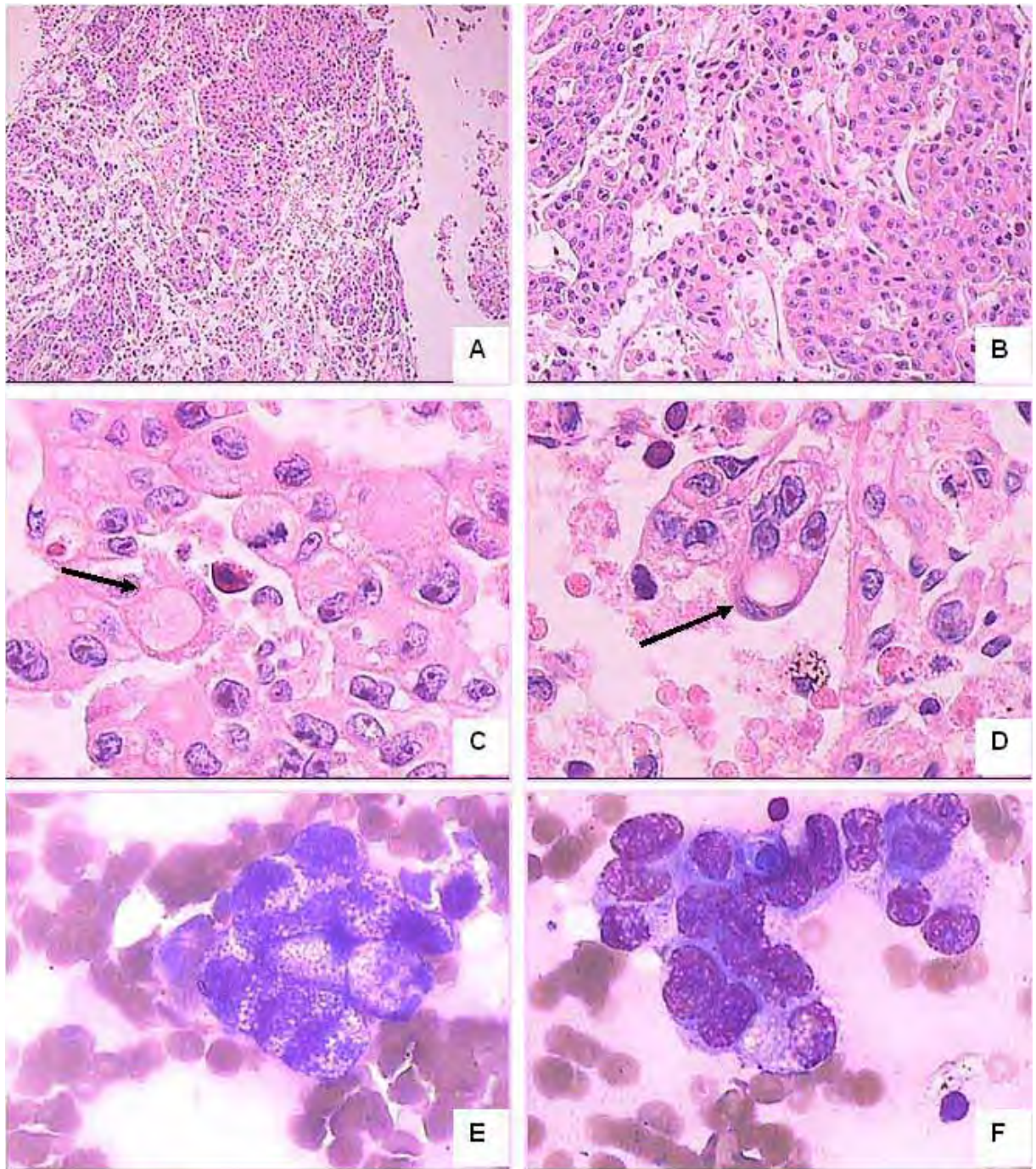


Figura 9 - LSS, 55a, fem., carcinoma gástrico. A, B, C, D) Histologia de medula óssea com infiltração maciça por adenocarcinoma em “anel de sinete” (setas), HE, 100x e 400x. E, F) Citologia de medula óssea com blocos de células secretoras atípicas, Leishman, 400x

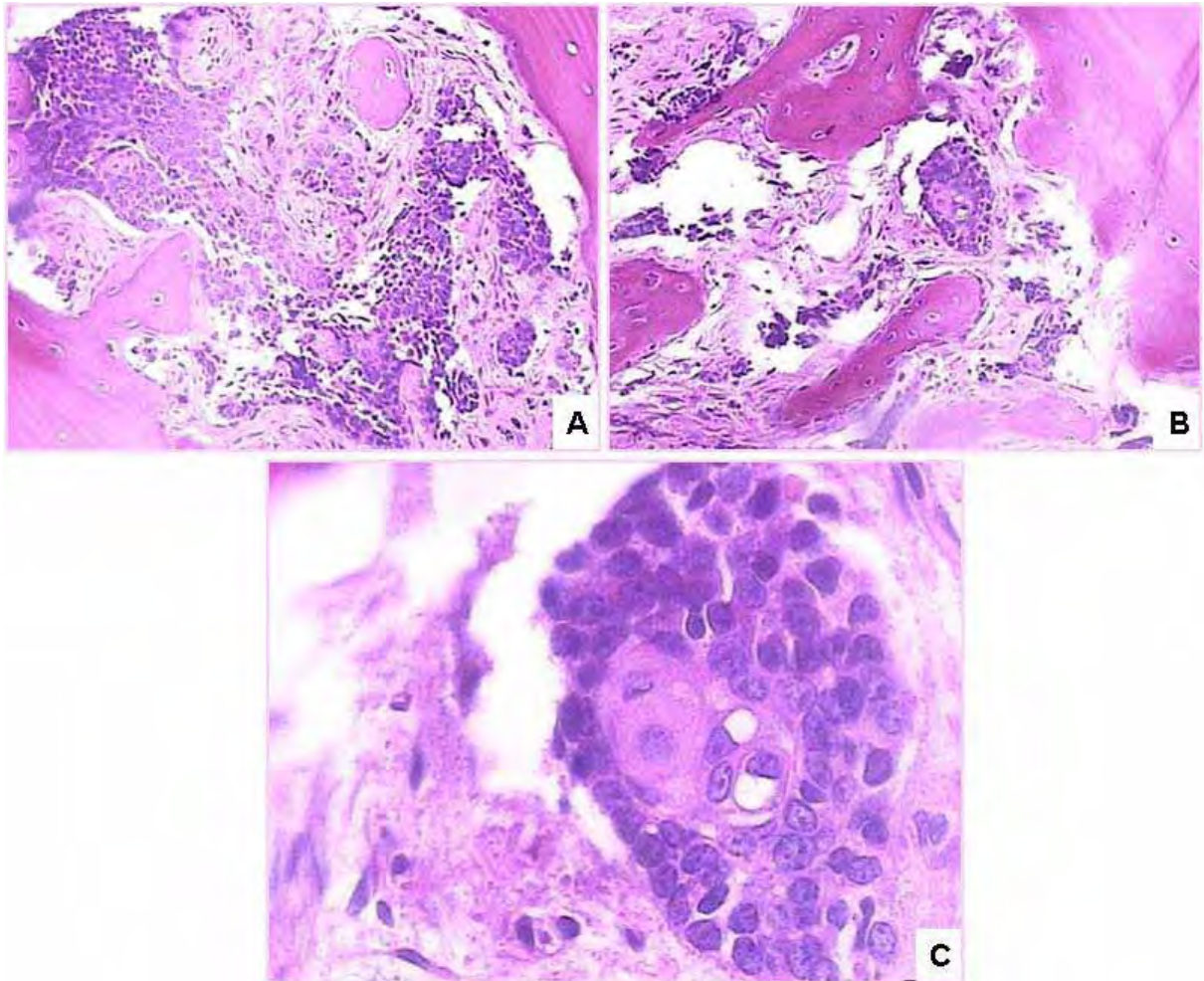


Figura 10 – MJDA, 46a, masc., carcinoma espinocelular (CEC) de pulmão. A e B) Desarranjo na arquitetura medular, com neoformação óssea (reação osteoblástica) e intenso pleomorfismo celular, HE 100x. C) Irregularidade no padrão nuclear e cromatina em aspecto de “sal e pimenta”, HE 400x.

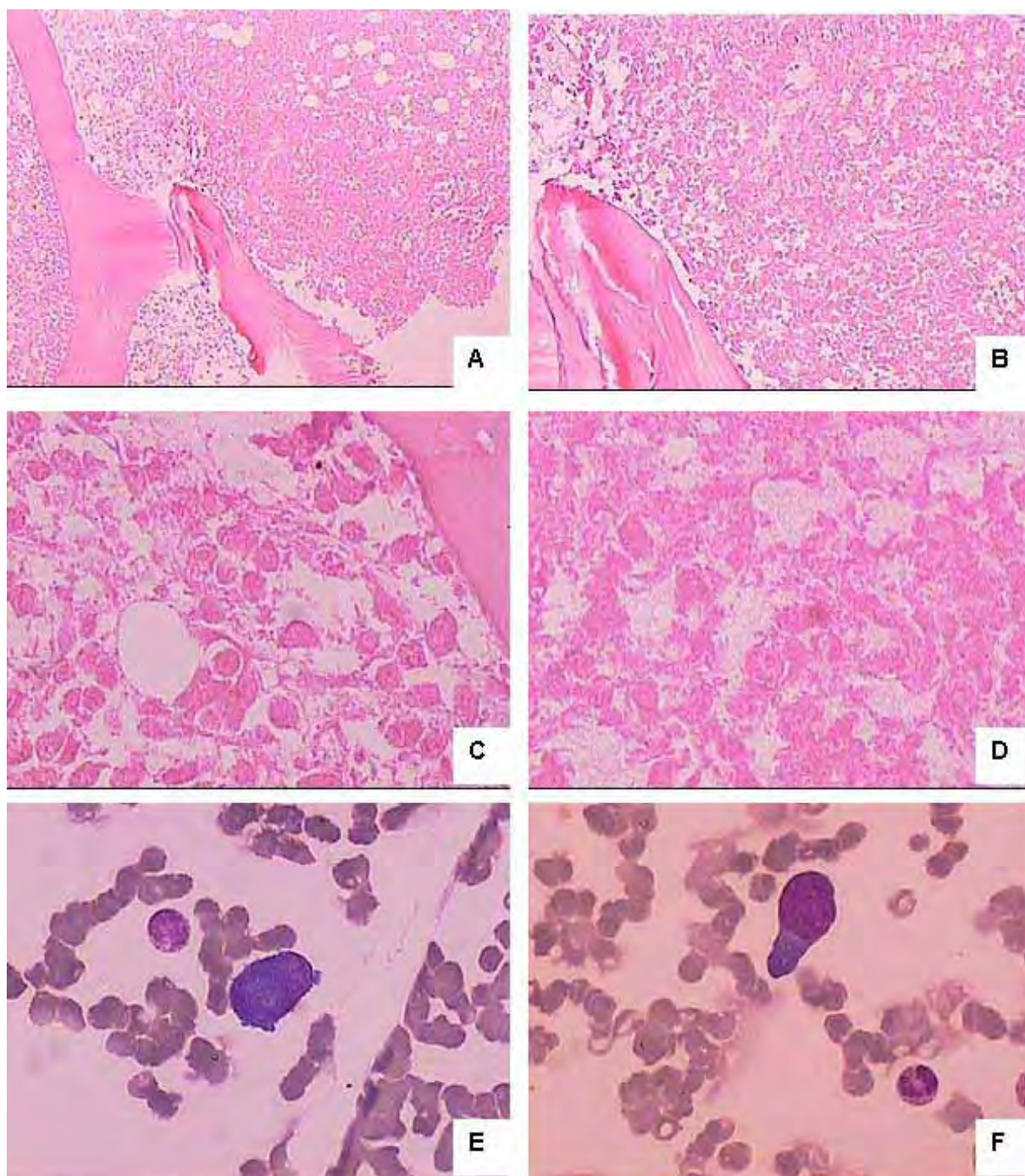


Figura 11 – DAB, 25a, masc., angiossarcoma de pulmão. A, B, C, D) Histologia de medula óssea revelando infiltração maciça e extensa área de necrose de coagulação, HE, 100x, 400x. E, F) Citologia revelando células tumorais atípicas e bizarras, isoladas, Leishman, 400x.

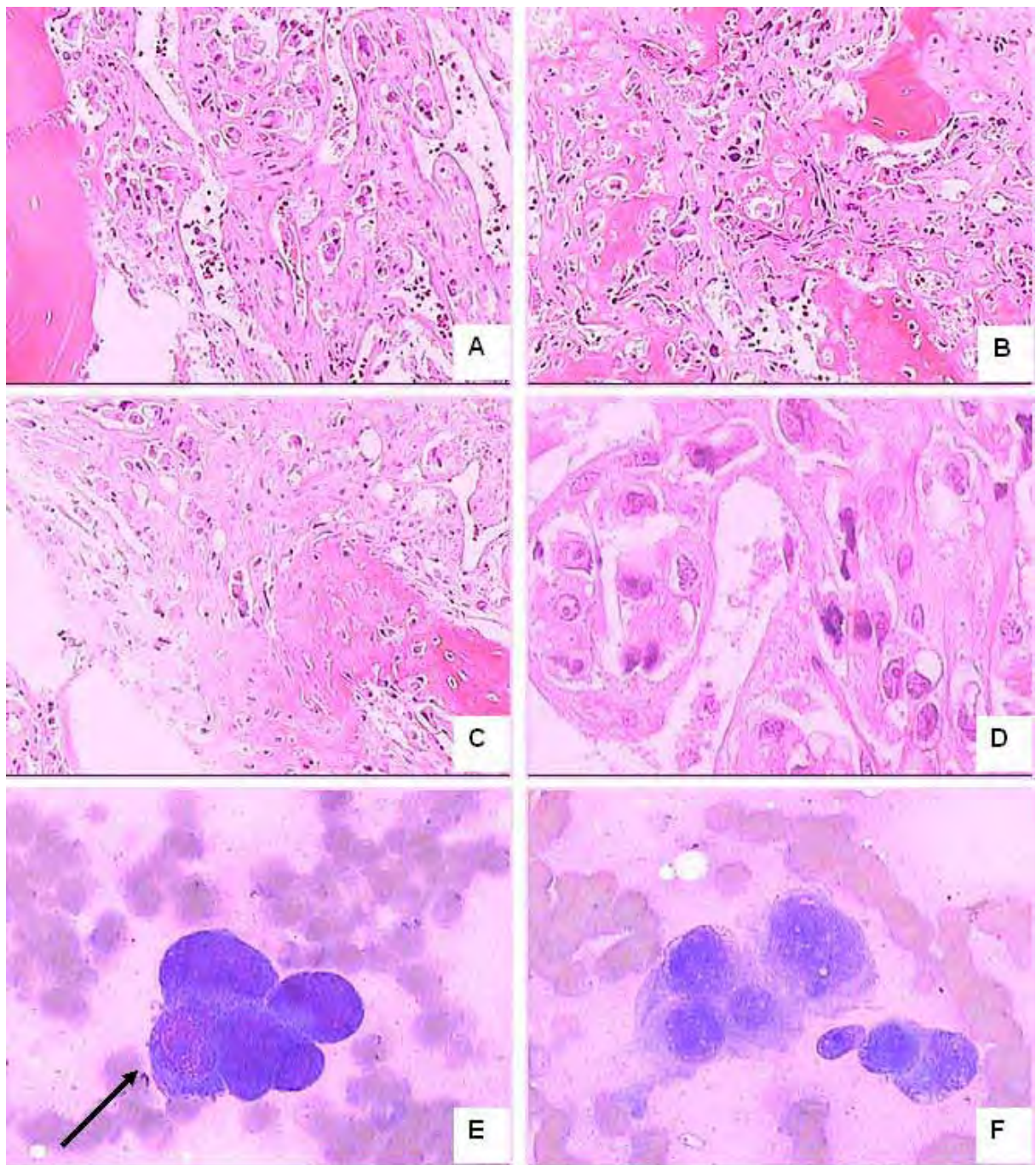


Figura 12 - AJAC, 50a, masc., adenocarcinoma de cólon. A, B, C,D) Histologia de medula óssea com formação de ácinos e reação osteoblástica, HE, 100x, 400x. E, F) Citologia de medula óssea com blocos de células grandes, atípicas e citoplasma tipo secretor. Observar os nucléolos grandes e atípicos (seta), Leishman, 400x.

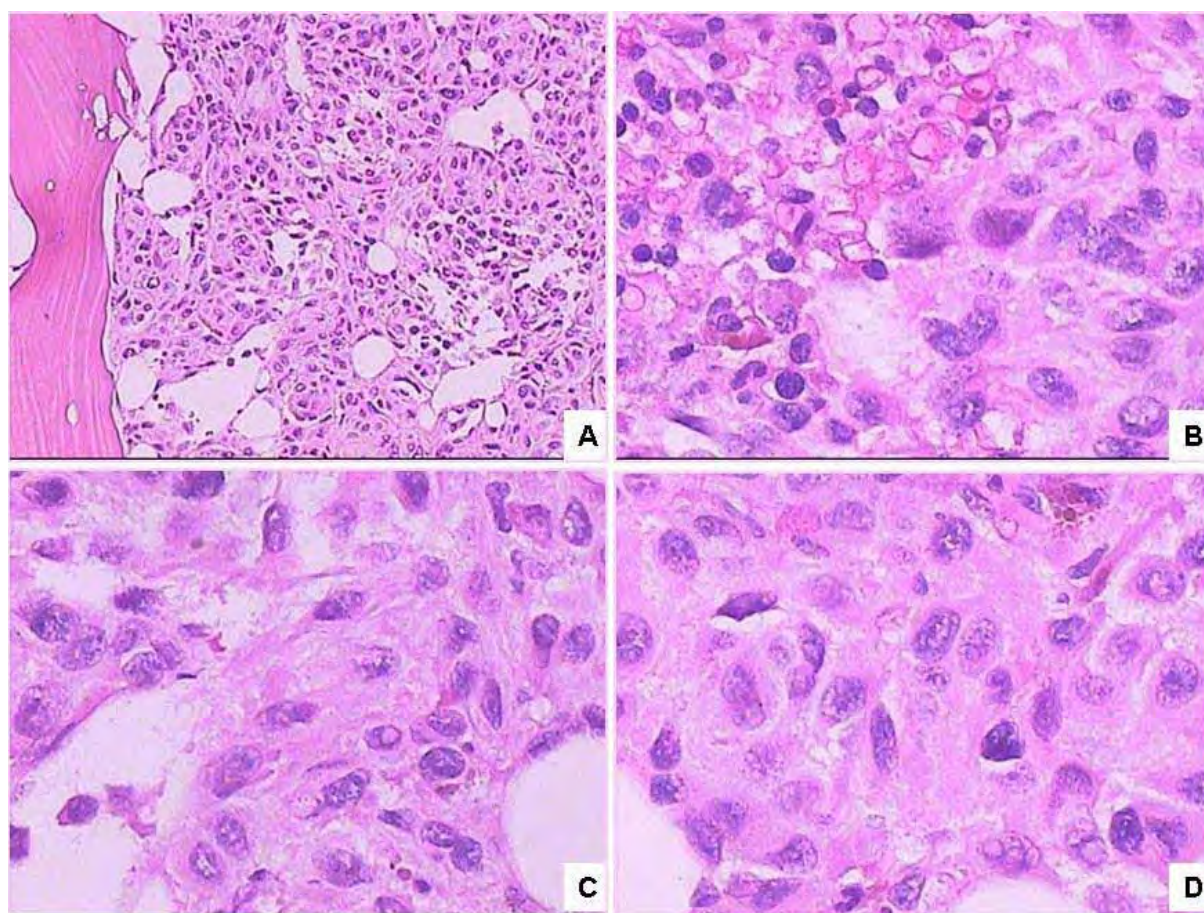


Figura 13 - CN, 61a, masc., melanoma maligno. A) Infiltração medular maciça, HE, 100x. B,C,D) Lençóis de células tumorais com núcleo hipercrômico e citoplasma abundante. Na seta, observar pseudoinclusão nuclear, HE, 400

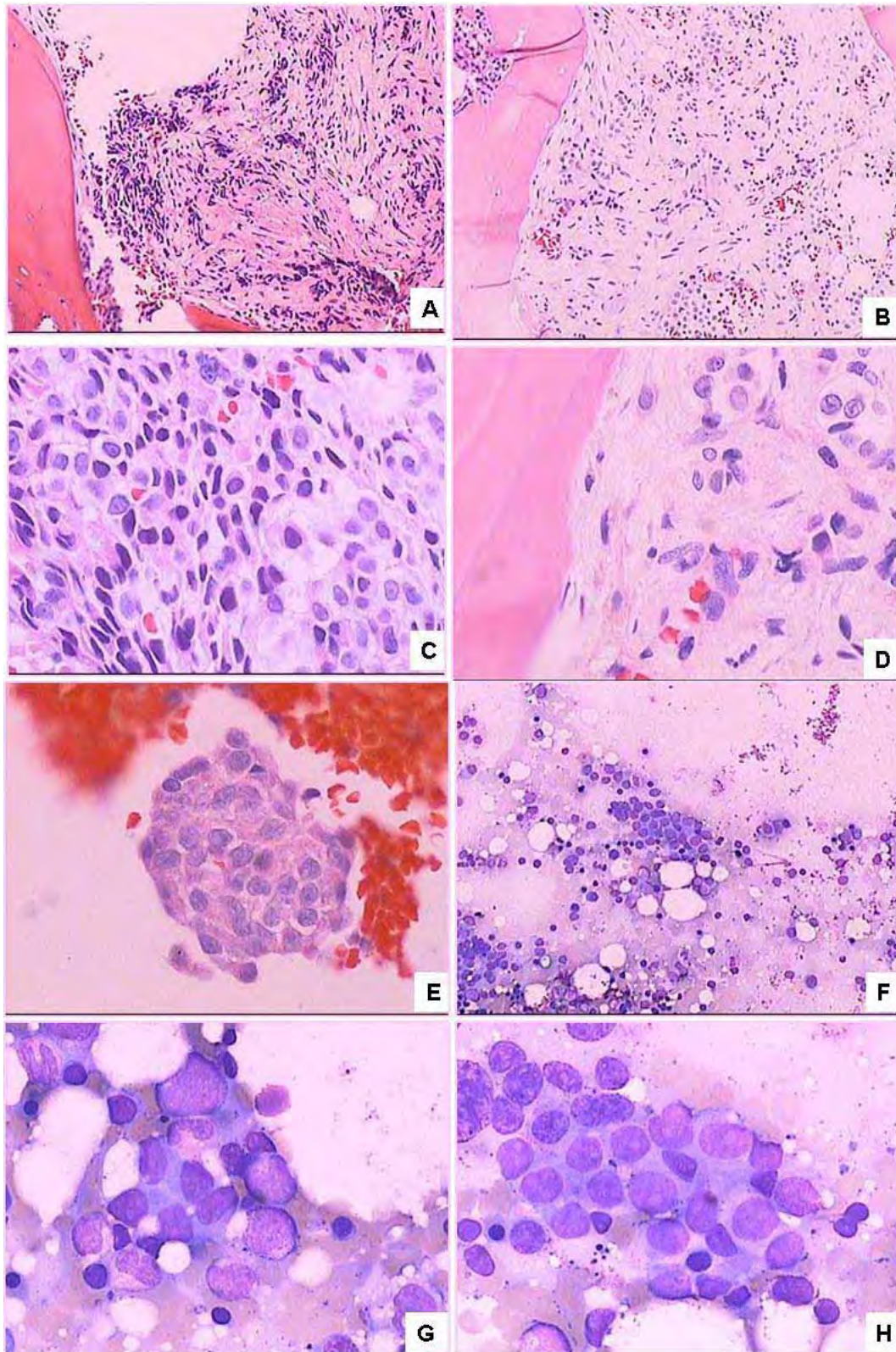


Figura 14 - JBJ, 40a, masc., carcinoma medular de tireóide . A a E) Cortes histológicos de medula óssea; HE, 100x, 400x. A) tecido colapsado, com aspecto de fibrose associada. B, C, D) Observar nichos de tecido tireoideo formando agregados. E) Células tumorais na citoinclusão do coágulo. F,G,H) Blocos de células atípicas na citologia, Leishmann 100x, 400x.

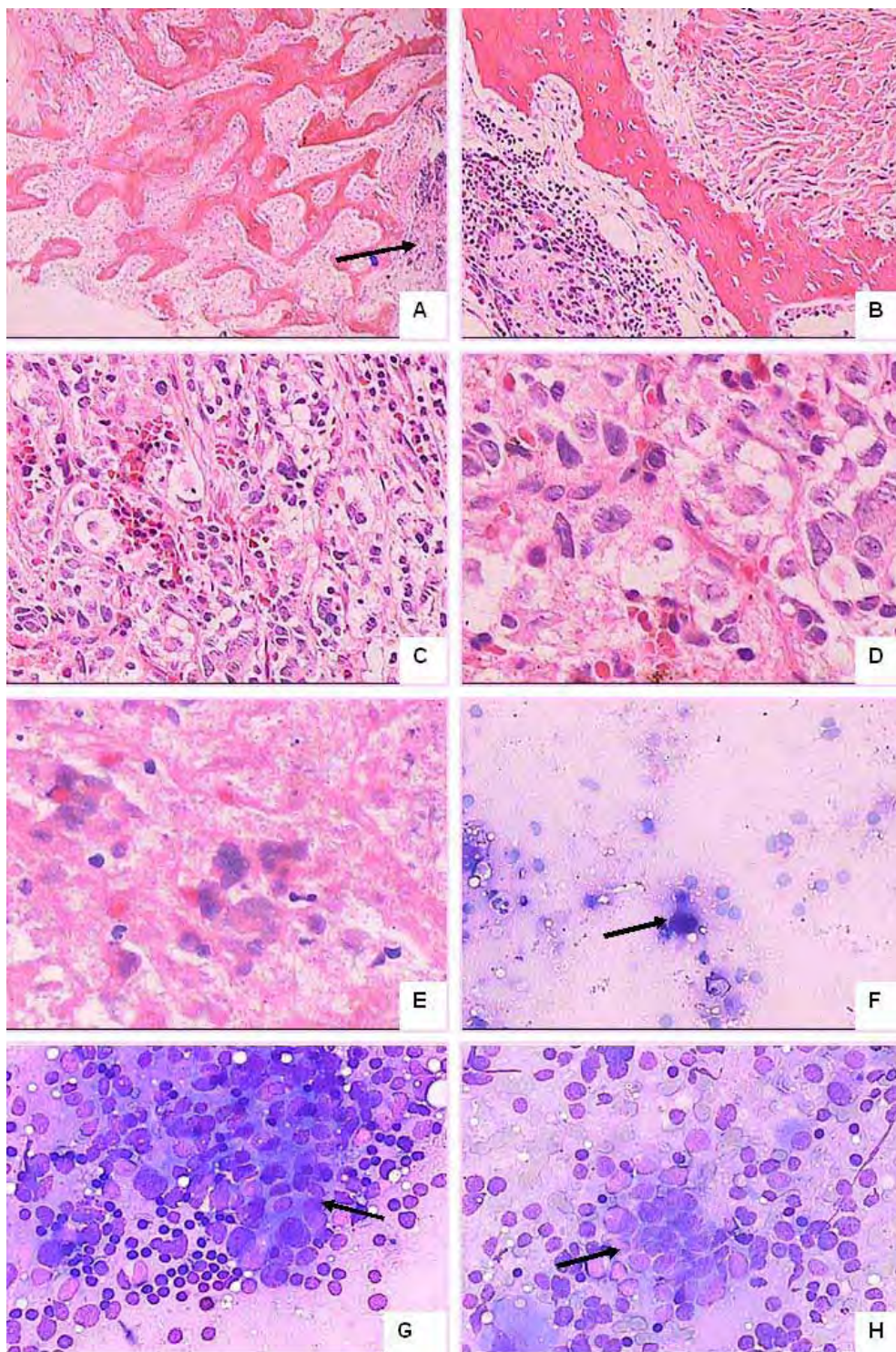


Figura 15 - KGGO, 3a, masc., neuroblastoma. A) Histologia de medula óssea (HE, 100x, 400x): intensa reação osteoblástica com neoformação de trabéculas ósseas, fibrose mutilante e foco de infiltração tumoral (seta). B) Áreas de tumor e fibrose colágena separadas por neotrabécula óssea. C, D) Histologia de medula óssea com inúmeras formações tipo “pseudo-roseta”, típicas de neuroblastoma. E) Histologia e citologia (F) de medula óssea com intensa necrose tecidual, esta com “smudged cells” (seta). G, H) Citologia de medula óssea com blocos de células tumorais em organização tipo “pseudo-roseta” (setas), Leishman, 100x.

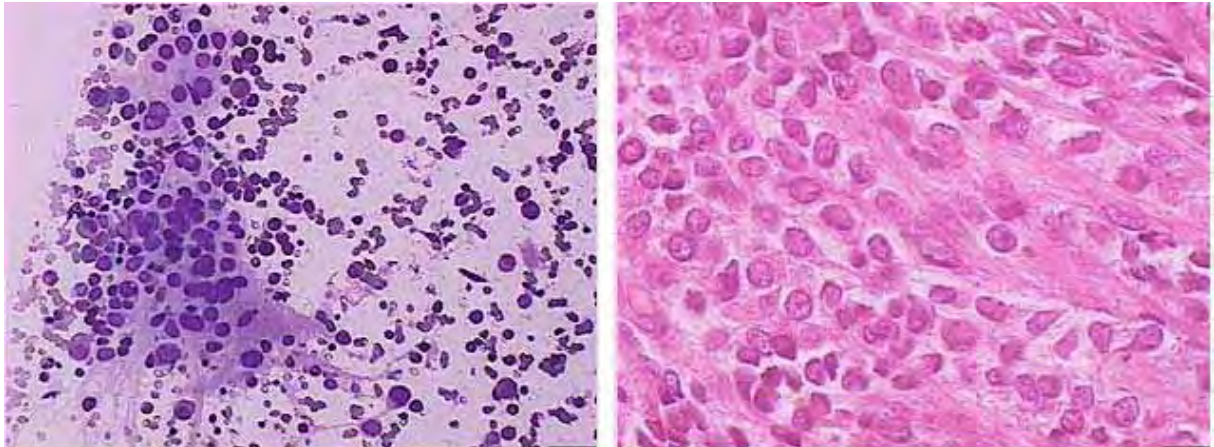


Figura 16 – MFEGV, 2a, fem., neuroblastoma. Citologia e Histologia de medula óssea com blocos de células tumorais, com formação de neurofibrilas, Leishman 100x, HE, 400x, respectivamente.

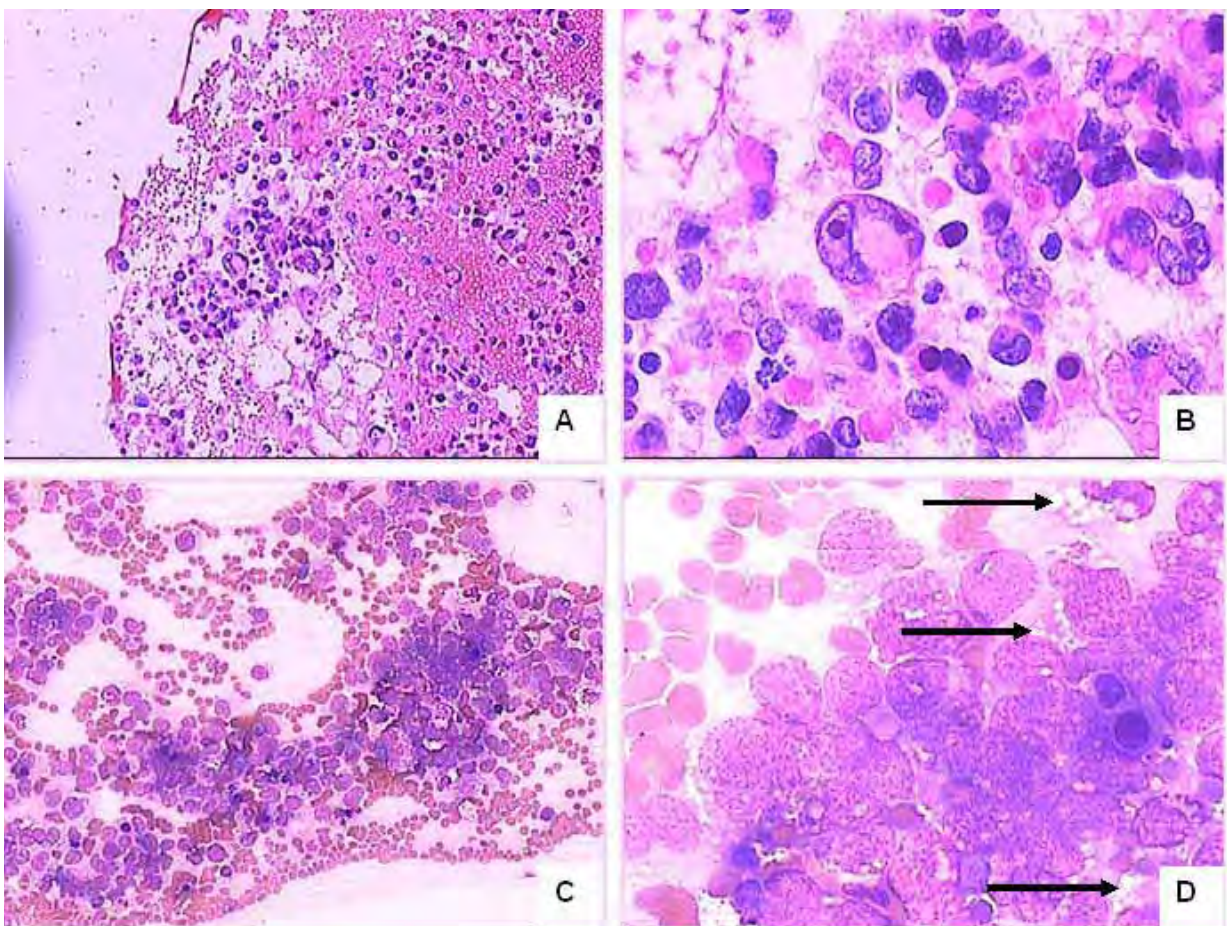


Figura 17 – RGA, 11a, masc., rhabdomyosarcoma. A, B) Avaliação histológica de medula óssea por citoinclusão, com infiltração focal, HE, 100x, 400x. C, D) Citologia de medula óssea com blocos de células grandes, atípicas e vacuolizadas (setas), Leishman, 100x, 400x.

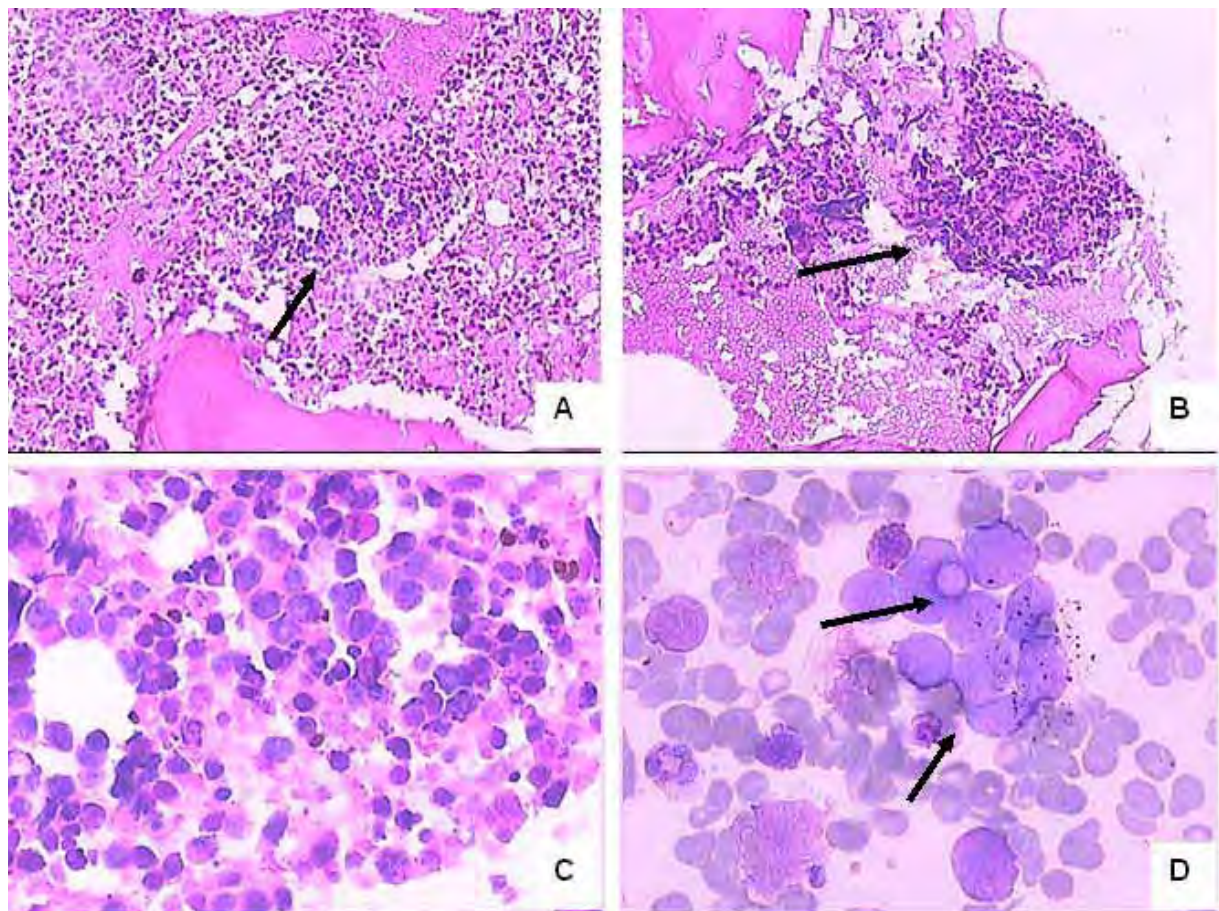


Figura 18 – LPS, 2a, fem., retinoblastoma. A,B,C) Histologia de medula óssea com bloco metastático (setas) infiltrando tecido hematopoético normal; em B há área de necrose subjacente à metástase, HE, 100x, 400x. D) Citologia de medula óssea com bloco metastático permeado por tecido hematopoético normal; notar pseudo-inclusão nuclear e amoldamento celular (setas), Leishman, 400x.

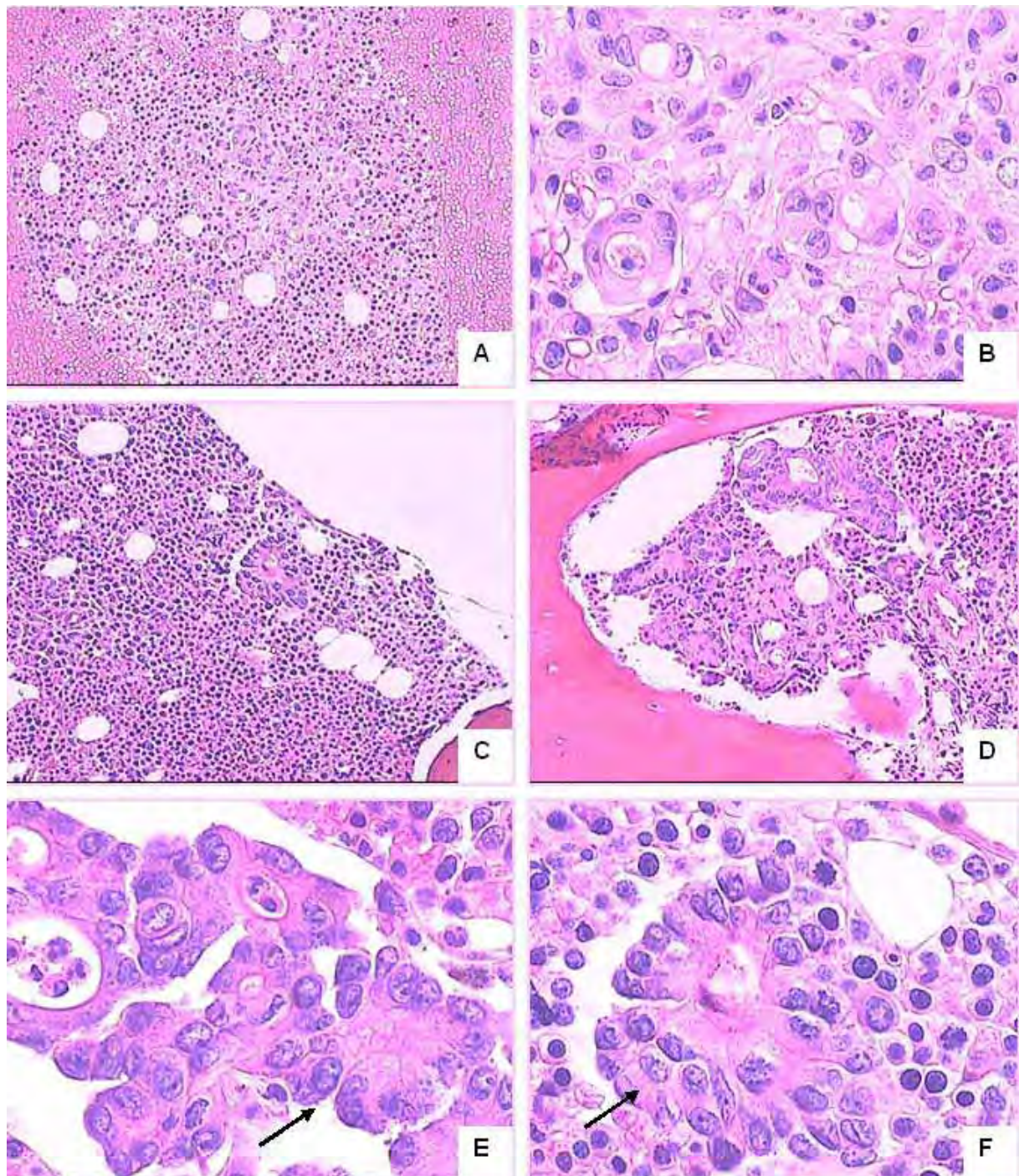


Figura 19 - AMG, 53a, masc., adenocarcinoma gástrico. A,B,C,D) Cortes histológicos de medula óssea com infiltração maciça por adenocarcinoma, HE 100x, 400x (B). E,F) Detalhe da formação de estruturas acinares (seta), HE, 400x.

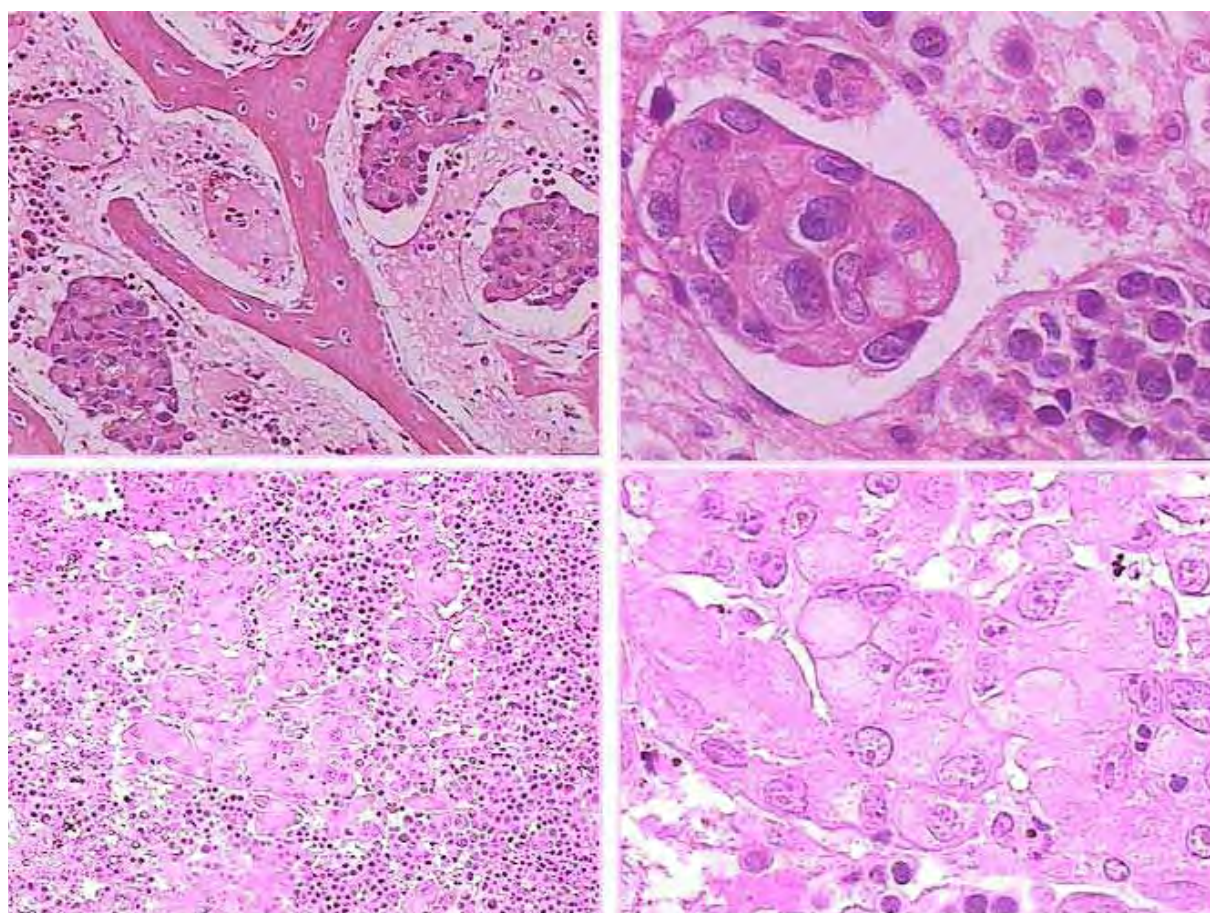


Figura 20 – MDGSP, 33a, fem., adenocarcinoma gástrico. Histologia de medula óssea com infiltração maciça por adenocarcinoma, com formação de estruturas acinares, HE, 100x e 400x.

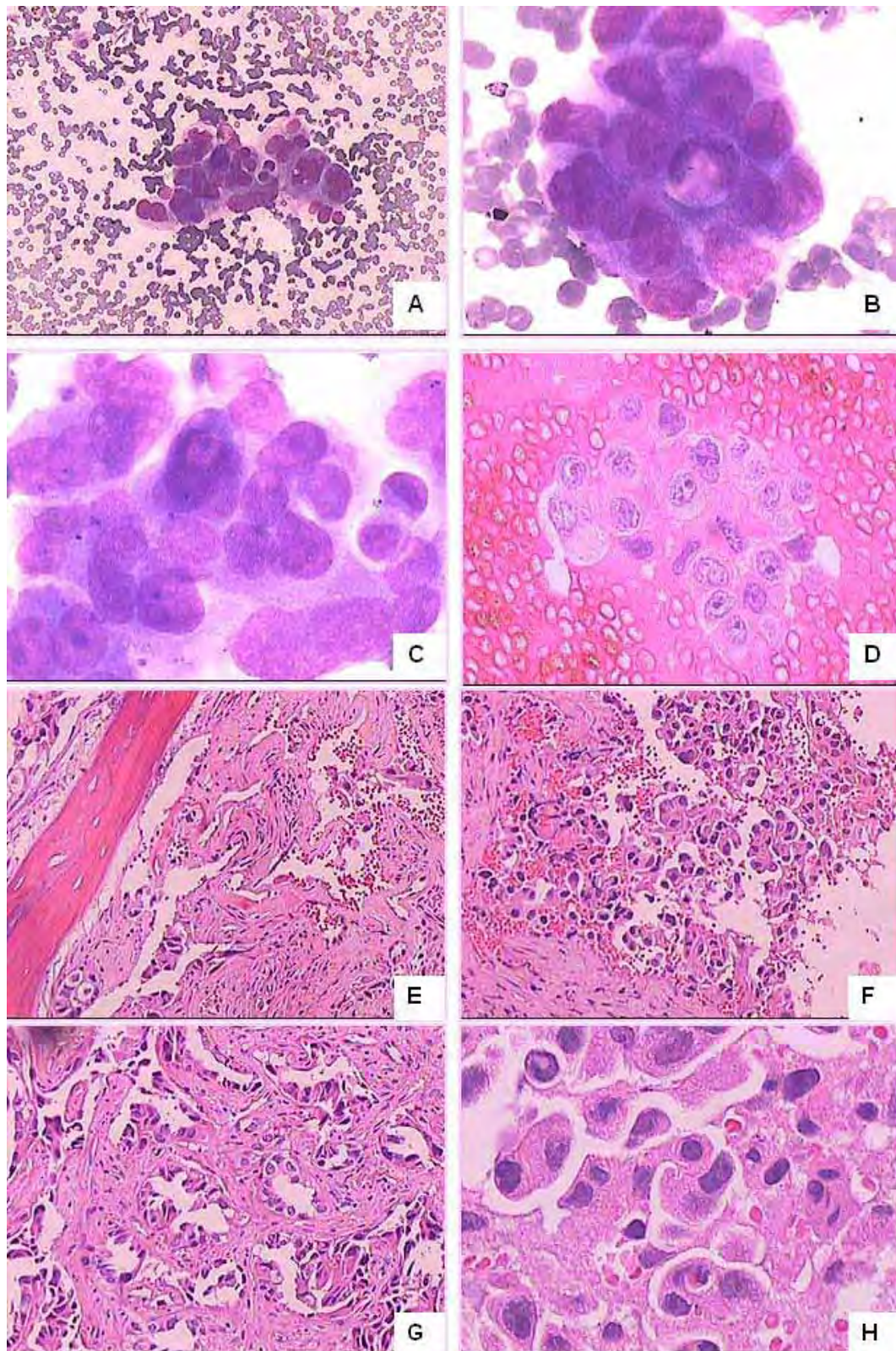


Figura 21 - JSN, 57a, masc., adenocarcinoma de sítio primário indeterminado. A,B,C) Citologia de medula óssea com blocos de células tumorais atípicas, amoldadas entre si, Leishman, 100x e 400x. D) Citoinclusão do coágulo com de células tumorais atípicas, HE, 400x. E, F, G, H) Histologia de medula óssea com infiltração maciça por adenocarcinoma, HE, 100x e 400x.

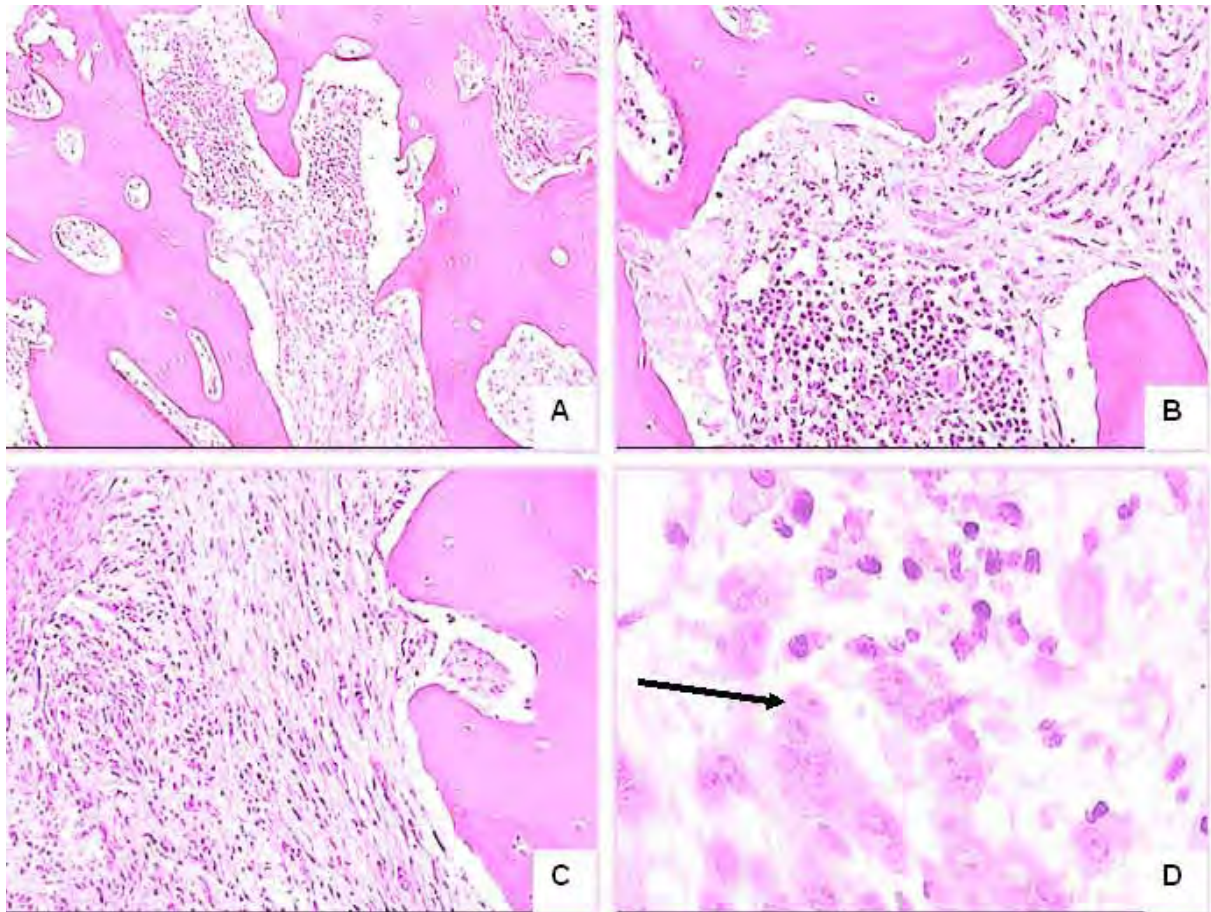


Figura 22 – EIMF, 47a, fem., carcinoma de mama. A, B, C) Histologia de medula óssea com fibrose mutilante e intensa neoformação óssea (reação osteoblástica), HE 100x, 400x. D) Histologia de medula óssea com células tumorais em formação acinar (seta), permeadas por raras células hematopoéticas residuais, HE, 400x.

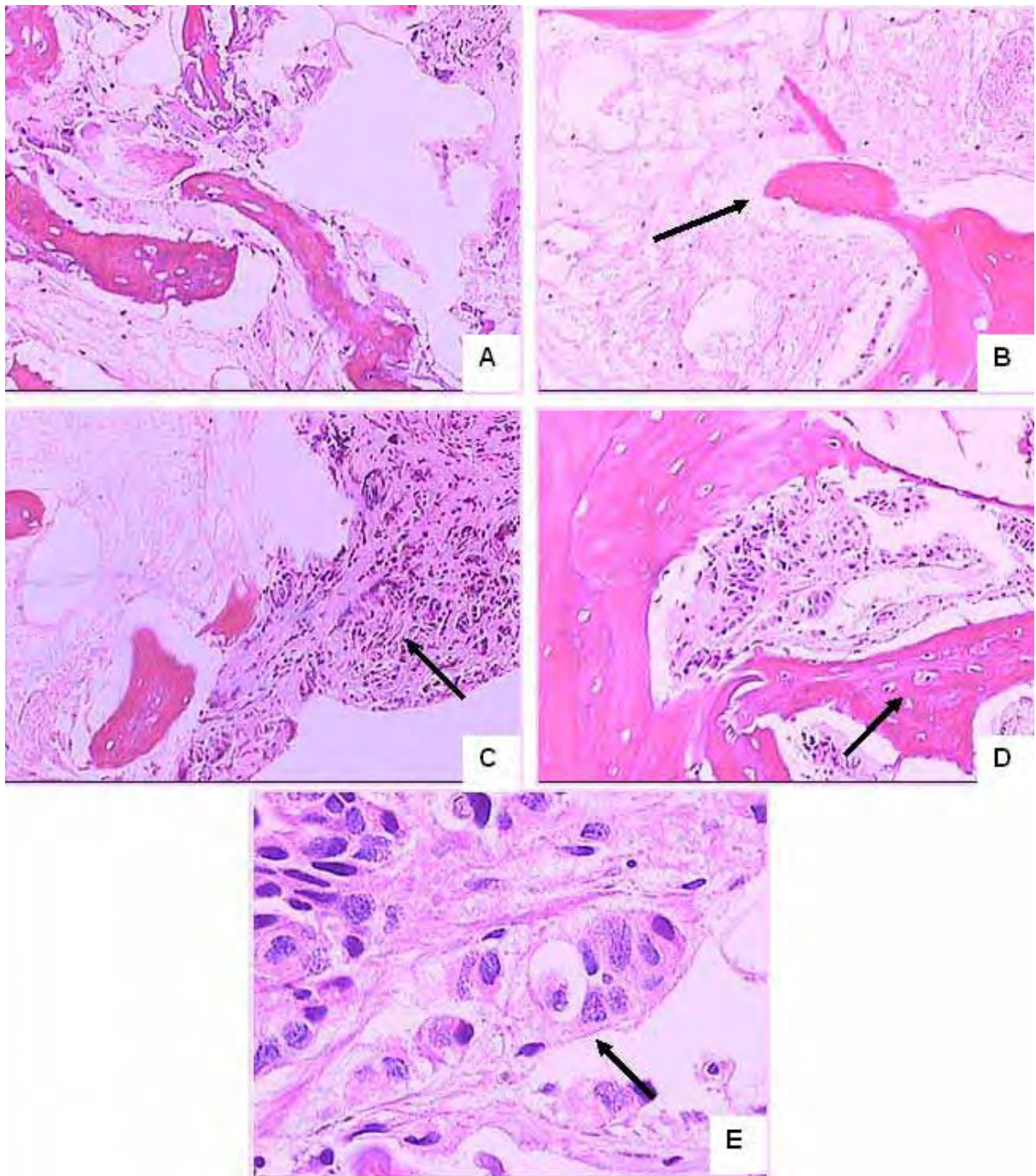


Figura 23 – JG, 27a, fem., carcinoma de mama, histologia de MO, HE, 100x, 400x. A) Reação osteoblástica, neoformação óssea (seta). B) Extensa área de necrose de coagulação e trabécula-filha. C) Bloco de infiltração (seta) ao lado de área hipoplásica. D) Osteócitos em trabécula neoformada (seta), com carcinoma em área paratrabecular. E) Ácinos de carcinoma de mama, com formação de luz acinar (seta).

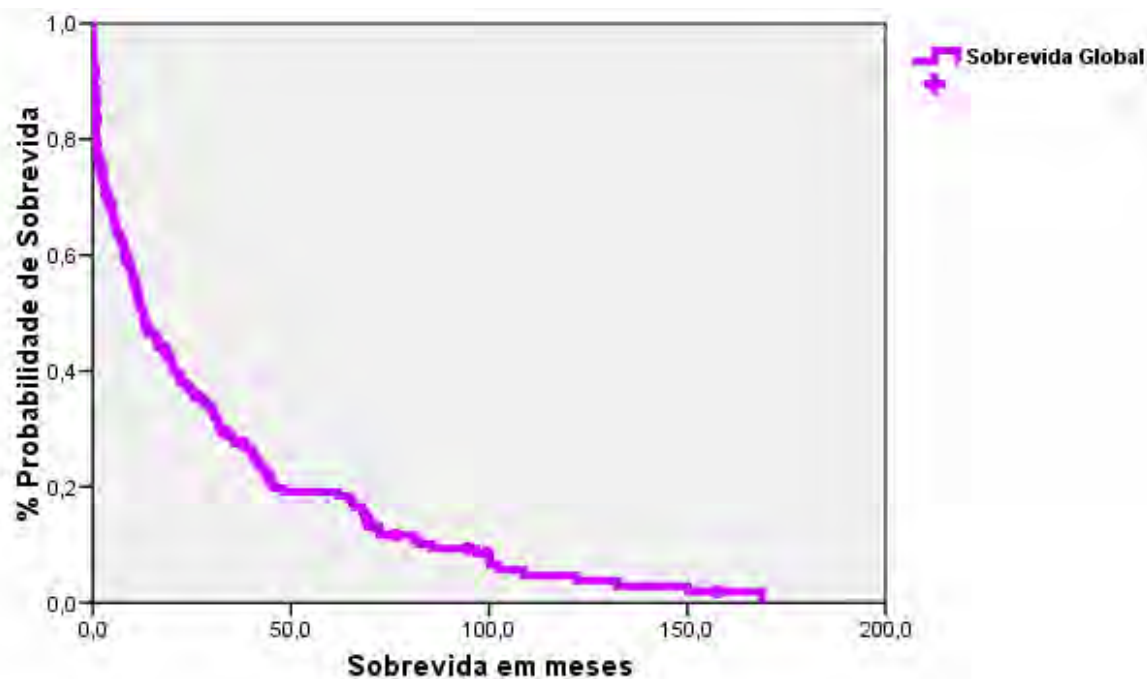


Gráfico 1 – Representação gráfica da curva de sobrevida global para os pacientes com diagnóstico de MI (Kaplan-Meier)

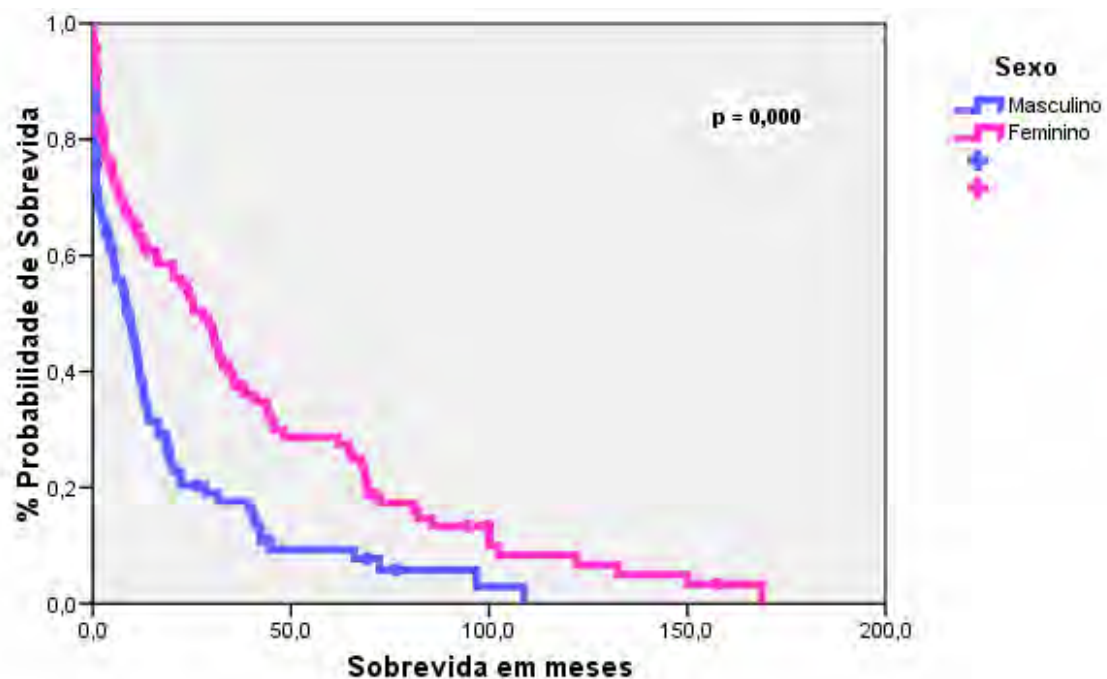


Gráfico 2 – Representação gráfica das curvas de sobrevida global para os pacientes com diagnóstico de MI, segundo o sexo (Kaplan-Meier)

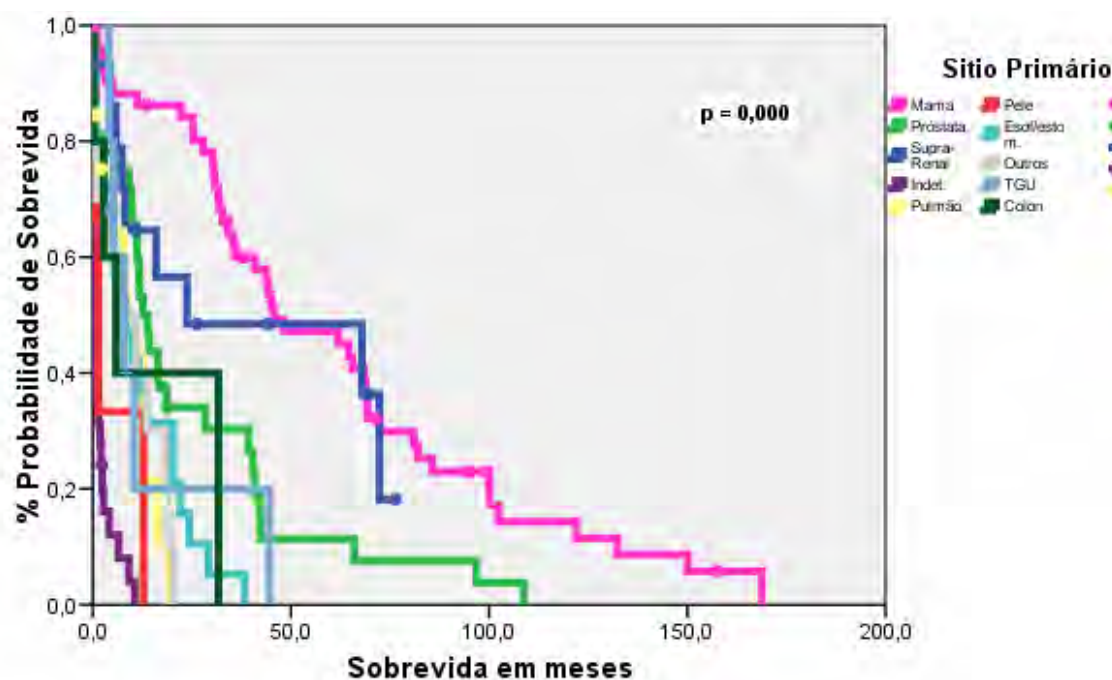


Gráfico 3 – Representação gráfica das curvas de sobrevida global para os pacientes com diagnóstico de MI, segundo o sítio primário da neoplasia (Kaplan-Meier)

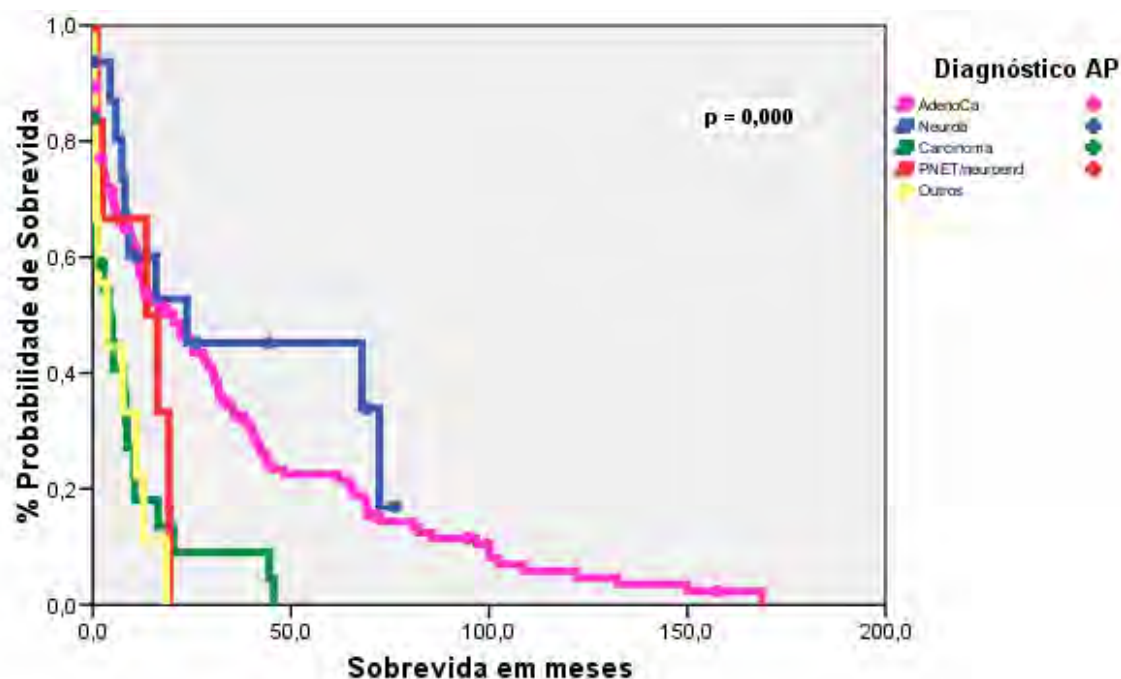


Gráfico 4 – Representação gráfica das curvas de sobrevida global para os pacientes com diagnóstico de MI, segundo o tipo histológico da neoplasia (Kaplan-Meier)

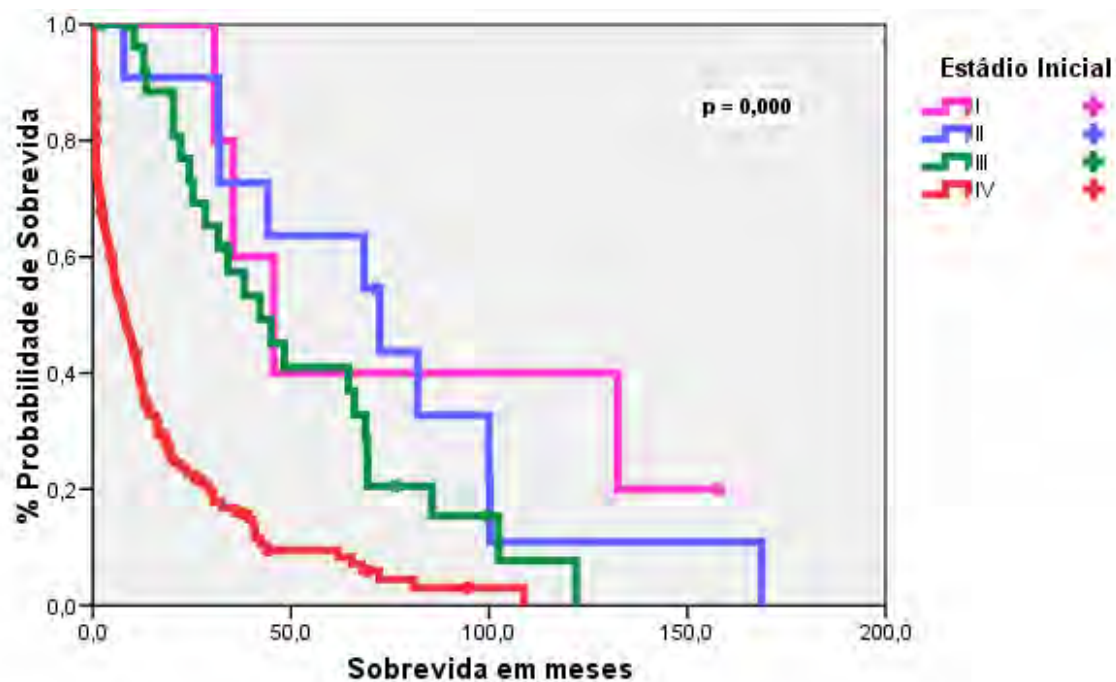


Gráfico 5 – Representação gráfica das curvas de sobrevida global para os pacientes com diagnóstico de MI, segundo o estágio da neoplasia (Kaplan-Meier)

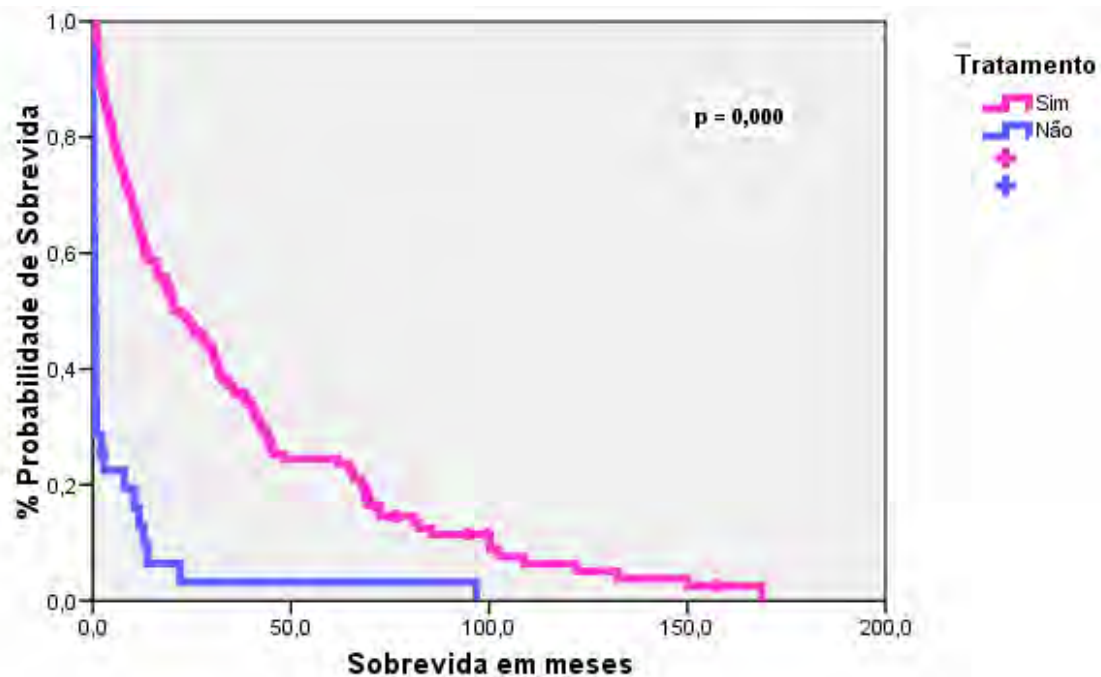


Gráfico 6 - Representação gráfica das curvas de sobrevida global para os pacientes com diagnóstico de MI, segundo realização de tratamento (Kaplan-Meier)

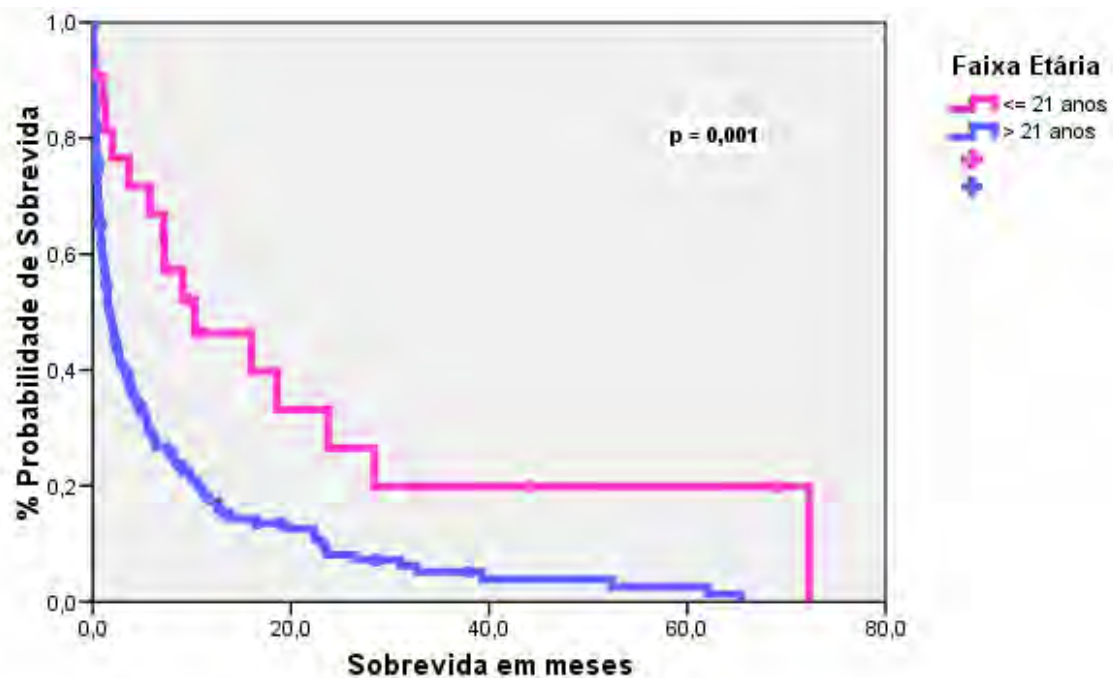


Gráfico 7 - Representação gráfica das curvas de sobrevida dos pacientes a partir do diagnóstico da MI, segundo faixa etária (Kaplan-Meier)

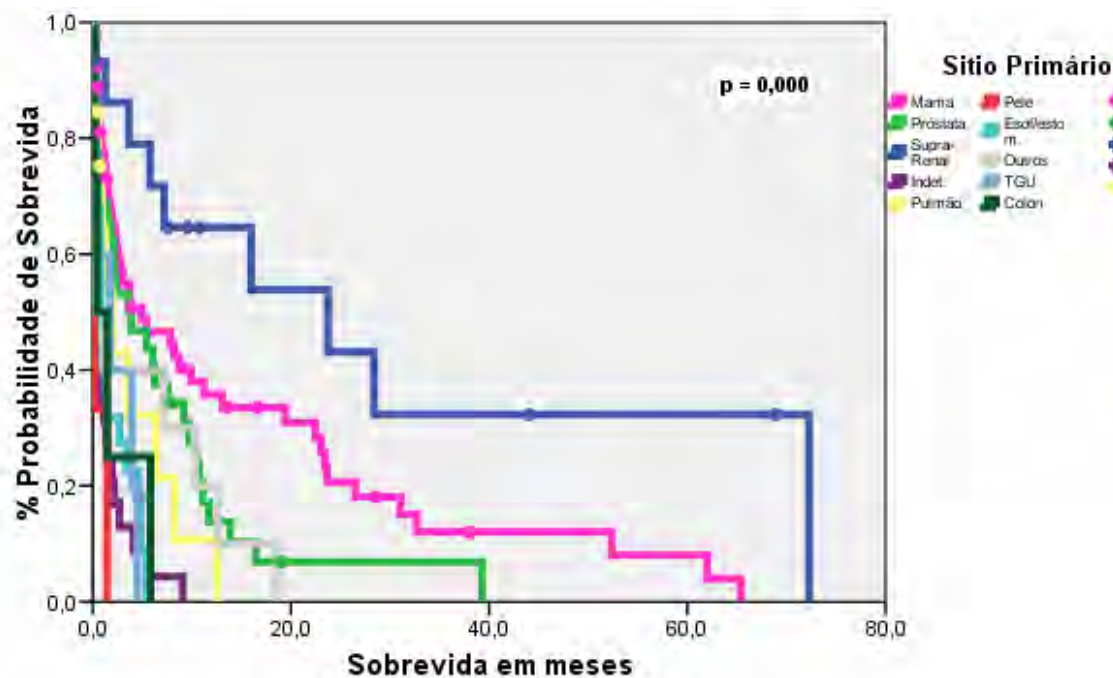


Gráfico 8 - Representação gráfica das curvas de sobrevida dos pacientes a partir do diagnóstico da MI, segundo sítio primário da neoplasia (Kaplan-Meier)

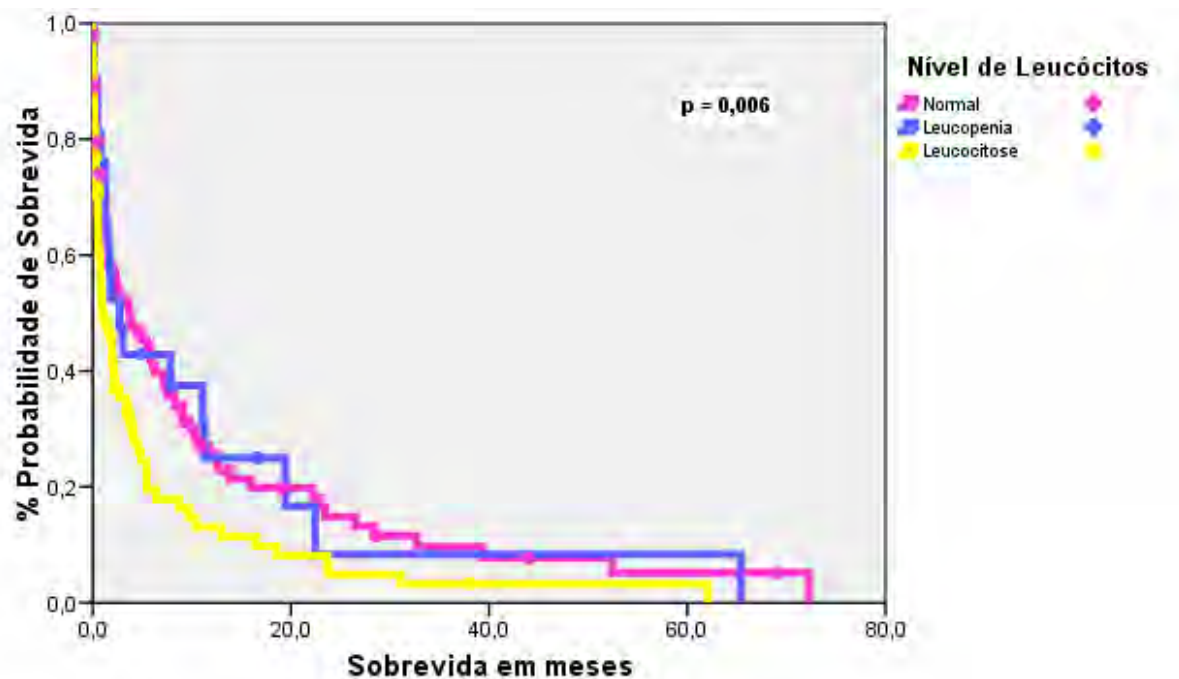


Gráfico 9 - Representação gráfica das curvas de sobrevida dos pacientes a partir do diagnóstico da MI, segundo nível de leucócitos (Kaplan-Meier)

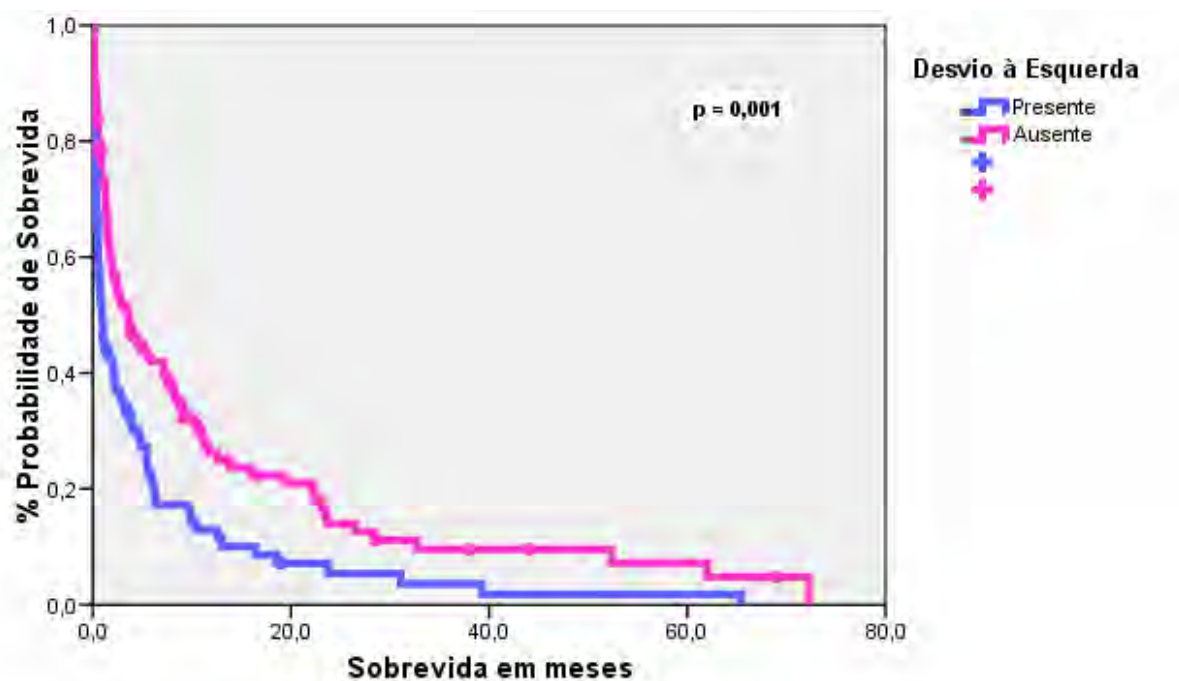


Gráfico 10 - Representação gráfica das curvas de sobrevida dos pacientes a partir do diagnóstico da MI, segundo desvio à esquerda ao hemograma (Kaplan-Meier)

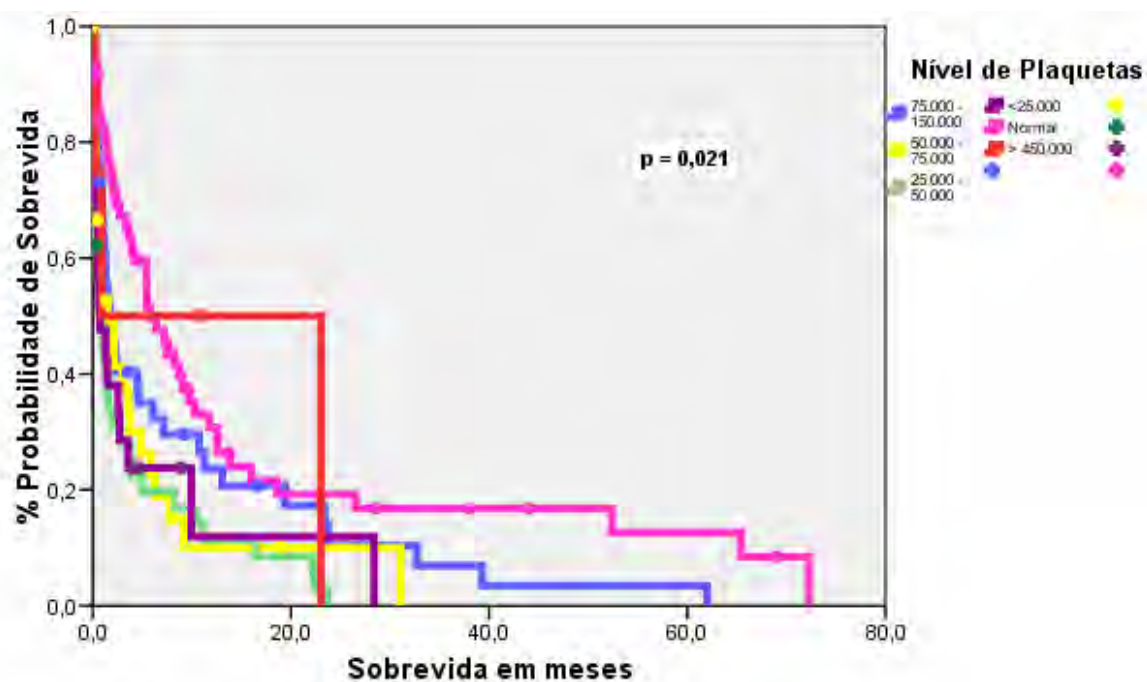
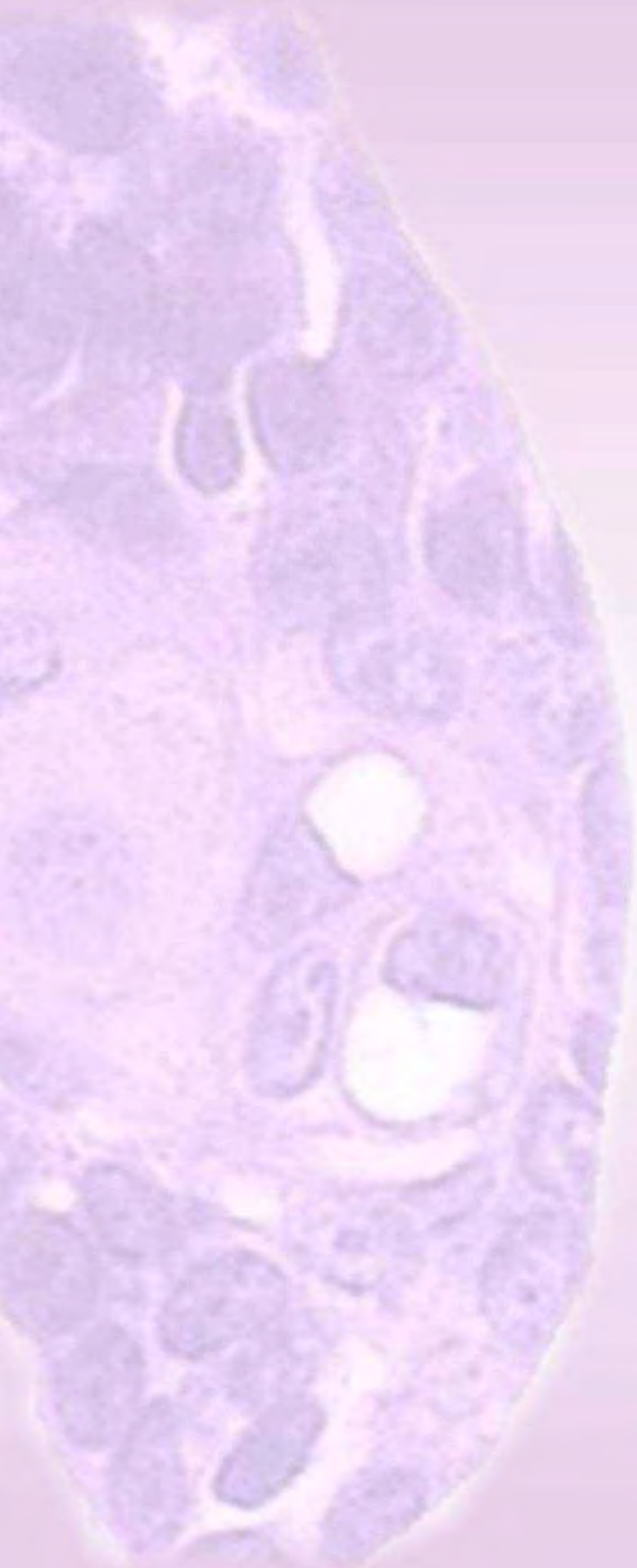


Gráfico 11 - Representação gráfica das curvas de sobrevida dos pacientes a partir do diagnóstico da MI, segundo nível de plaquetas (Kaplan-Meier)



5. *Discussão*

O envolvimento da MO nos tumores sólidos tem sido foco de um número crescente de estudos na última década. Assim, o papel do microambiente medular na tumorigênese, carcinogênese, angiogênese e no processo de metastatização desses tumores tem despertado o interesse da comunidade científica, e os primeiros estudos sobre seu impacto na prática clínica começam a surgir. Dessa forma, torna-se importante a avaliação do padrão de infiltração de MO, nos tumores sólidos, em pacientes brasileiros.

A caracterização dos pacientes deste estudo abrange uma região do Estado de São Paulo, em que há, especificamente, duas instituições responsáveis pelo atendimento oncológico de cerca de oito milhões de pessoas. Ambas dedicam-se, quase que exclusivamente, à assistência a pacientes do Sistema Único de Saúde (SUS), destacando-se como serviço de referência em tratamento oncológico no interior de São Paulo.

A casuística alcançada neste trabalho (193 pacientes) pode ser considerada representativa da população desta região, viabilizada devido à cooperação científica que se vem desenvolvendo entre as duas instituições há mais de dez anos. Após revisão da literatura, acreditamos que nossa casuística com população adulta e pediátrica seja a maior descrita, já que a publicação com maior número de casos é de Krishnan et al com 111 casos, levantados em 18 (dezoito) anos, publicada em 2007 (5).

A amostragem deste trabalho (193 pacientes), numa avaliação de dez anos nas duas instituições, revelou uma prevalência de 0,78 % de casos positivos (sendo 0,9% para pacientes da FMB e 0,73 para HAC) para mielopatia infiltrativa, por tumores não-hematológicos, dado inferior ao observado na literatura que descreve positividade em 2 a 26% dos casos, a depender do tipo de neoplasia (47).

É importante salientar, também que, em nossa casuística, os pacientes colheram MO apenas no estadiamento classicamente previsto para os tumores malignos pediátricos e raros tumores de adultos (que em nossas instituições resume-se à neoplasia de pulmão de pequenas células em estádios iniciais e sarcoma de Ewing).

A quase totalidade das coletas, nos pacientes adultos, foi realizada apenas quando havia alterações clínicas e/ou laboratoriais que orientassem para a possibilidade de MI por tumores não-hematológicos e, raramente, como parte dos exames de estadiamento. Provavelmente, se fosse realizada avaliação da MO nos tumores sólidos mais incidentes, como parte do estadiamento inicial, essa positividade seria maior, como já tem sido descrito em mama, próstata, pulmão e tumores gástricos (10;27). Acreditamos que o grande número de casos levantados em nossa casuística, quando comparada aos resultados das casuísticas na revisão da literatura, pode estar relacionada ao rigor clínico da equipe de oncologia e hematologia das instituições envolvidas neste trabalho.

A idade mediana ao diagnóstico dos pacientes envolvidos foi de 55 anos, uma vez que a maioria dos pacientes, na casuística, é composta por adultos. Wong et al (1993) descreveram uma mediana de 61 anos entre seus pacientes e atribuíram esse achado ao acometimento da MO por carcinomas, mais comuns em indivíduos de meia-idade ou mais idosos (48). Não houve predomínio em relação a sexo (proporção de 1:1), provavelmente relacionado à alta frequência de neoplasias de mama e próstata.

Os tumores que, mais frequentemente, infiltraram a MO em pacientes adultos foram: mama, próstata, tumor de sítio primário indeterminado, tumor gástrico, pulmão, trato genitourinário e colon. Houve, ainda, 3 (três) casos de

melanoma, e raros casos de tumor de tireóide, CEC de língua e sarcoma. A literatura descreve resultados semelhantes, destacando as neoplasias de mama e próstata como as mais frequentes em muitas casuísticas (4;5;10;13;49;50).

Quando avaliamos os quatro tumores mais freqüentes, nossa casuística mostra algumas diferenças, apontando o tumor de sítio primário indeterminado (28 casos), seguido de tumor gástrico mais frequentes que os tumores de pulmão. Ringenberg et al publicaram um levantamento de tumores de sítio primário desconhecido com infiltração de MO, com 25 casos positivos, numa análise de 11.820 BMO, em mais de 15 anos, número de casos inferior ao encontrado em nossa casuística (51). Krishnan et al, em seu levantamento de 111 casos encontraram mama, próstata e pulmão como tumores mais freqüentes, assim como outros autores (5;27;48;49;52). Essa variabilidade na freqüência pode estar relacionada a diferenças na seleção dos pacientes e nos métodos de diagnóstico da infiltração de MO. Além disso, é importante considerar que as populações de países diversos podem apresentar perfis diferentes na incidência das neoplasias. Como não dispomos de literatura que avalie a população brasileira deste ponto de vista, não pudemos comparar nossos dados com uma população similar, o que reforça a importância deles.

Dentre a casuística dos 171 casos em adultos, encontramos um caso de MI por angiossarcoma de pulmão, tumor raro e bastante agressivo, com raras descrições de metástase para MO na literatura (apenas três casos e todos com angiossarcomas esplênicos)(53). A casuística com grande número de casos do presente estudo permitiu que estudássemos outros casos raros, como Tu de Askin, CEC de língua e melanoma (5;54)

Já em crianças, o tumor que mais frequentemente infiltrou a MO foi neuroblastoma, o que está em concordância com, praticamente, todos os trabalhos na literatura por nós revisada. Sabe-se que 50 a 60% das crianças portadoras de neuroblastoma apresentam infiltração de MO ao diagnóstico inicial, podendo aumentar para até 70% durante a evolução clínica da neoplasia (4;5;10;27;49;50)

A classificação histológica revelou prevalência de adenocarcinoma (68,4%), relacionada à maior frequência de infiltração de MO por tumores de mama e próstata, além de muitos tumores de sítio primário indeterminado apresentarem característica histológicas de adenocarcinoma na MO (55). Como já era esperado, a maioria dos pacientes avaliados apresentou estágio avançado da neoplasia (80,8%), com metástases múltiplas.

Este achado está relacionado à maneira como foi realizado o trabalho, uma vez que a coleta de MO não foi efetuada (na maioria dos pacientes adultos), no momento do diagnóstico inicial, e sim durante a evolução clínica dos pacientes. Também é importante ressaltar que, apesar dos avanços no diagnóstico precoce do câncer e das campanhas de prevenção, as neoplasias ainda são diagnosticadas, tardiamente, e em estádios avançados, principalmente na população de baixo nível sócio-econômico, com pouco acesso à assistência médica de qualidade.

Estudo recente, realizado pelo Grupo Brasileiro de Estudos do Câncer de Mama (Gbecam), num levantamento de 4.912 mulheres com câncer de mama, tratadas em 28 hospitais públicos e privados de 14 cidades brasileiras, revela que 30% dos tumores ainda são diagnosticados em fase avançada. Nesta mesma análise, quando se avalia o diagnóstico em relação ao tipo de serviço de saúde, observa-se que as pacientes do Sistema Único de Saúde (SUS) apresentam desvantagem, quando comparadas ao sistema de saúde privado, onde temos

apenas 16% de diagnóstico em estágio avançado, versus 36% das pacientes assistidas pelo SUS (apresentação oral em 08/03/09, ainda não publicado)

A mediana de tempo decorrido entre o diagnóstico do tumor primário e o diagnóstico da infiltração de MO foi de apenas 10 dias nas crianças, o que é esperado, pois a coleta de BMO é realizada no estadiamento da maioria dos tumores malignos pediátricos. Na população adulta, esse tempo também foi bem pequeno (mediana de 0,79 meses) e, provavelmente, esteja relacionado não só ao fato de que muitos pacientes, incluídos no estudo, terem tido o diagnóstico de neoplasia a partir do diagnóstico da infiltração de MO, como também pelo fato de a equipe médica apresentar treinamento para levantar a possibilidade de MI por tumores não-hematológicos, nas mínimas alterações hematológicas, mesmo com pacientes submetidos à quimio e/ou radioterapia. Esse dado também reforça a discussão anterior sobre a demora no diagnóstico das neoplasias em boa parte da população brasileira.

Nesse sentido, a análise da MO revelou positividade na infiltração de aproximadamente 80%, tanto para o mielograma quanto para a BMO, e positividade menor para a citoinclusão do coágulo da MO (53,4%); porém, temos que considerar que em 15% dos casos o material para citoinclusão foi insuficiente, provavelmente relacionado à punção seca (*dry tap*), e, em 22,8% não foi realizada essa parte do exame, posto que não seja rotina estabelecida em todos os serviços de hematologia, inclusive no HAC. Sob essa ótica, os resultados são concordantes com a literatura que revela paridade na positividade dos materiais citológicos e histológicos (48;56;57).

Na avaliação histológica da MO, foram observados graus variáveis de fibrose em 32,1% dos casos (43% quando associados a áreas de necrose), e

necrose em, aproximadamente, 21% (isolada e em associação com fibrose), com realização de coloração de reticulina em apenas 17 casos (maioria dos casos da FMB- Botucatu).

Ainda, a mielofibrose secundária tem sido descrita na infiltração de MO por tumores sólidos, associada a carcinomas, tumores de pulmão, angiossarcoma e, em geral, associada à reação leucoeritroblástica (27;58-63). Da mesma maneira, necrose de MO é um achado raro, associado a tumores não hematológicos metastáticos e a prognóstico reservado (64-67).

A complementação do diagnóstico com exame imunohistoquímico foi realizada em 30% dos tumores primários que, na maioria dos casos, eram adenocarcinomas de mama, nos quais a imunohistoquímica é fundamental na avaliação do prognóstico e na definição terapêutica. Em 15,5% dos casos, foi realizada na MO, principalmente, nos casos de tumores de sítio primário indeterminado, onde o papel deste exame é extremamente importante na definição do tipo de neoplasia.

No grupo analisado de pacientes, as alterações hematológicas, mais frequentemente encontradas, foram: anemia (92,2%), leucocitose com desvio à esquerda (aproximadamente 40%), plaquetopenia (67%), eritroblastos circulantes em 31,6% e policromasia na metade dos pacientes. O achado de anemia, leucocitose com desvio à esquerda e eritroblastos circulantes caracterizam a reação leucoeritroblástica, comumente descrita na maioria dos trabalhos sobre MI por tumores não-hematológicos. Essa reação encontra-se relacionada à liberação desordenada de células para a corrente sanguínea e é decorrente da lesão arquitetural da MO, que perde sua barreira medular funcional. Esses achados, em

muitos casos, estão relacionados com graus variáveis de mielofibrose, e são concordantes com os descritos na literatura (3;18;19;48;51;55;65-69).

Além disso, os marcadores tumorais séricos estavam aumentados em 55,4% dos pacientes, em que os marcadores mais realizados foram: antígeno carcinoembrionário (CEA), Ca15.3, antígeno prostático-específico (PSA) e desidrogenase láctica (DHL). A desidrogenase láctica se achava aumentada em 22,8% dos pacientes, o que também é descrito na literatura (18;19;48;51;55;65-69).

Observamos que a maioria dos pacientes recebeu algum tipo de tratamento (72%) e que poucos realizaram BMO de reavaliação após tratamento, indicada, principalmente, nas crianças com neuroblastoma e, raramente, nos pacientes adultos, em decorrência da pequena sobrevida e do discutível benefício clínico na realização desse exame nesta situação.

Em geral, avaliamos a resposta ao tratamento e a melhora na infiltração de MO, de maneira indireta, por meio da melhora nos sinais e sintomas clínicos e, principalmente, na melhora dos parâmetros hematológicos. Além disso, esses pacientes apresentam outros sítios de metástases que podem ser avaliados durante o curso clínico da neoplasia.

Dos pacientes incluídos no estudo, 85% evoluíram a óbito com sobrevida mediana de 13,45 meses. São raros os estudos clínicos que avaliaram a sobrevida global dos pacientes com MI por tumores não-hematológicos e, nestes, a variação foi de dias a poucas semanas (51;55).

Quando analisamos a sobrevida global separada por sexo, o grupo feminino apresentou sobrevida, estatisticamente maior, quando comparada aos homens, o que deve estar relacionado à incidência maior de adenocarcinoma de mama, que é uma neoplasia de progressão mais lenta, mesmo nas situações metastáticas. É

importante ressaltar que os pacientes do sexo masculino, diferentemente das mulheres, apresentam grande resistência na busca por avaliação médica no início dos sintomas de doenças e na realização dos exames de prevenção do câncer (principalmente do câncer de próstata), o que pode influenciar no diagnóstico mais tardio, com doença em estádios avançado.

A mediana de sobrevida global também foi estatisticamente significativa, com sobrevida maior para os pacientes com adenocarcinomas de mama, próstata e neuroblastoma, e para pacientes em estádios iniciais. Esta evolução está relacionada ao comportamento biológico desses tumores, com evoluções clínicas mais insidiosas e maiores possibilidades de tratamentos efetivos. Tal resultado é corroborado pelo fato de que pacientes que receberam tratamento apresentaram sobrevida maior com significância estatística.

Na análise de sobrevida, a partir do diagnóstico de MI, a diferença de faixa etária foi estatisticamente significativa, com as crianças apresentando maior sobrevida que os adultos. Relacionamos esse achado ao fato de que, na faixa etária pediátrica (onde neuroblastoma é o tumor mais comum), a realização de BMO é parte do estadiamento dos tumores malignos, o que favorece o diagnóstico preciso da extensão da doença e sua estratificação na definição terapêutica, com melhores resultados no tratamento e na sobrevida.

A partir do diagnóstico de MI, homens e mulheres apresentam sobrevida semelhante, com mediana de 1 a 3 meses. Na análise, segundo os sítios primários da neoplasia os pacientes portadores de neuroblastoma, adenocarcinoma de mama e próstata também apresentaram sobrevida maior, com diferença estatística significativa, o que está, provavelmente, relacionado ao comportamento biológico dessas neoplasias e as possibilidades terapêuticas, mesmo nas condições metastáticas.

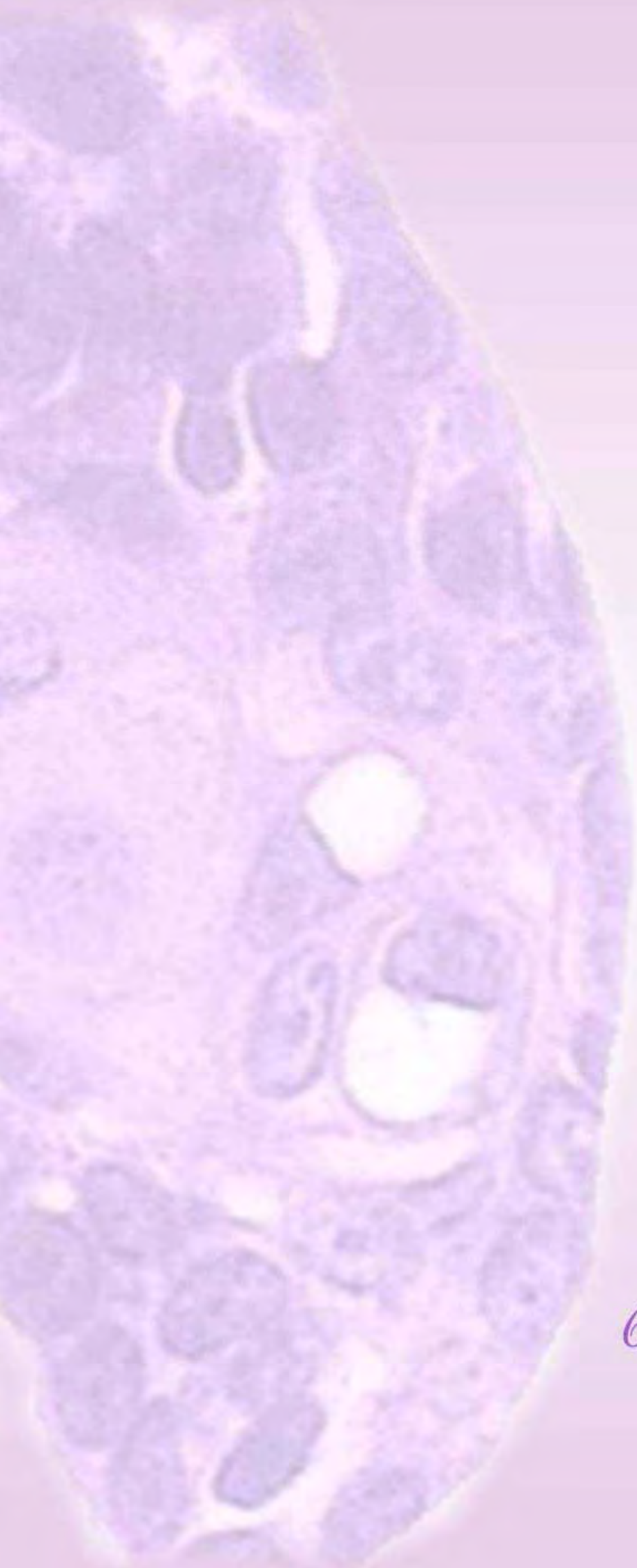
A presença de plaquetopenia e leucocitose com desvio à esquerda foi relacionada à sobrevida menor, sugerindo que a insuficiência limitante de MO, e maior risco de complicações relacionadas têm impacto no prognóstico desses pacientes.

Os parâmetros como: sítios metastáticos, marcadores tumorais, presença de fibrose e/ou necrose, alteração nos leucócitos, eritroblastos circulantes, linfopenia, policromasia, anisocitose e células imaturas circulantes não apresentaram diferença estatística na análise de sobrevida a partir do diagnóstico de MI.

Ressaltamos que, apesar de nossa casuística apresentar um grande número de pacientes portadores de MI, por tumores não-hematológicos (193), levantados num tempo relativamente pequeno (10 anos), acreditamos que estes dados estejam subestimados e que esta frequência seja maior, uma vez que não há rotina de avaliação de MO como parte do estadiamento dos tumores sólidos em nossas Instituições.

Acreditamos que o diagnóstico precoce da mielopatia infiltrativa por tumores não-hematológicos possa beneficiar os pacientes oncológicos, com melhora na qualidade da assistência e, possivelmente, no prognóstico, evitando que esses pacientes sejam subtratados, com atrasos na terapia, em virtude da interpretação das alterações hematológicas como simplesmente secundárias aos efeitos tóxicos da radioterapia e/ou quimioterapia.

Mudanças simples na rotina de interpretação dessas alterações, como têm acontecido em nossas Instituições, podem proporcionar importante melhora na qualidade do tratamento e, principalmente, na qualidade de vida dos pacientes com câncer.



6. Considerações Finais

A infiltração de MO por tumores não-hematológicos tem sido descrita, desde o início do século XX, e são inúmeros os estudos sobre os mecanismos envolvidos neste processo, principalmente, em nível molecular; mas poucos os estudos clínicos sobre o assunto.

Neste estudo, buscamos delinear as características demográficas, clínicas, anatomopatológicas e laboratoriais dos pacientes portadores de mielopatia infiltrativa, por tumores não-hematológicos da população oncológica, assistida por duas Instituições de referência em Oncohematologia do Centro-Oeste Paulista, analisar a frequência dos achados, assim como a relação destes à sobrevida dos pacientes.

Acreditamos que pelo grande número de pacientes da casuística, nossos objetivos iniciais foram alcançados e as variáveis mais frequentes foram bem caracterizadas.

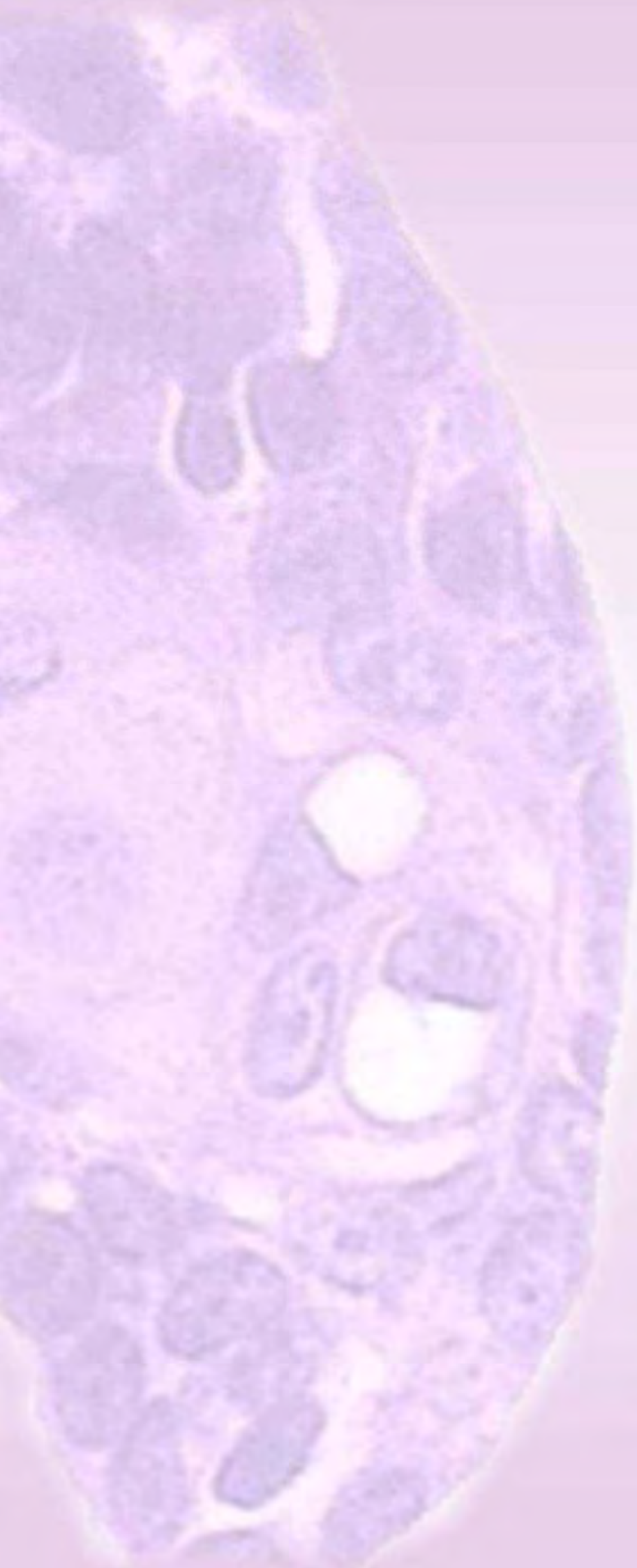
Nessa perspectiva, defende-se que a presença de anemia (analisar a possibilidade de outras causas), plaquetopenia, reação leucoeritoblástica, em pacientes portadores de tumores sólidos em estádios avançados, deve levantar a possibilidade de infiltração de MO e orientar a coleta de BMO, mesmo em pacientes submetidos à quimio, radio e/ou hormonioterapia.

Consideramos a coleta de BMO um procedimento acessível, de baixíssimo custo, quando comparado aos exames de imagem mais sofisticados, utilizados no estadiamento dos tumores sólidos, e bastante sensível e específica na detecção de metástases na MO. Sua avaliação deve contemplar análises morfológica, histológica, imunológica, citogenética e molecular da MO, e pode ser de muita importância na detecção de micrometástases. Em inúmeros trabalhos, a detecção

de micrometástases na MO e de células tumorais circulantes tem mostrado relação com pior prognóstico e sobrevida menor em pacientes com câncer.

Sob essa ótica, recomendamos discussão aprofundada acerca de mudanças na rotina dos serviços oncológicos, com a proposição de coleta de BMO como parte do estadiamento dos pacientes com neoplasias não-hematológicas, com o intuito de se evitar o diagnóstico tardio da mielopatia infiltrativa e suas conseqüências na evolução clínica dos pacientes.

É possível que, num futuro próximo, informações mais precisas sobre a infiltração de MO e seu real papel na carcinogênese e no processo de metastatização, resultem em métodos terapêuticos eficazes no tratamento dos pacientes com câncer.



7. Referências Bibliográficas

1. Hoffman R, Benz E, Shattil S, Furie B, Cohen H. Hematology: basic principles and practice. 2^a ed. Churchill Livingstone: Elsevier; 1995.
2. Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. Hematologia: fundamentos e prática. 1^a ed. São Paulo: Atheneu; 2001.
3. Melo LN. Mielopatias infiltrativas: aspectos fisiopatológicos. J. Bras. Med. 1993;64 (3):107-8, 110-1.
4. Anner RM, Drewinko B. Frequency and significance of bone marrow involvement by metastatic solid tumors. Cancer. 1977;39:1337-44.
5. Krishnan C, George TI, Arber DA. Bone marrow metastases: a survey of nonhematologic metastases with immunohistochemical study of metastatic carcinomas. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2007;15(1):1-7.
6. Reich C. A study of the diagnostic value of sternal puncture in clinical hematology. Am J Med. 1935;189:515-20.
7. Jonsson U, Rundles RW. Tumor metastases in bone marrow. Blood. 1951;6:16-25.
8. Singh G, Krause JR, Breitfield V. Bone marrow examination for metastatic tumor: aspirate and biopsy. Cancer. 1977;40:2317-21.
9. Contreras E, Lee LD, Ellis RD. Value of the bone marrow biopsy in the diagnosis of metastatic carcinoma. Cancer. 1972;29:778-82.
10. Brunning R. Atlas of tumor pathology: tumors of the bone marrow. 3^a ed. Washington: Afip; 1993.
11. Ghazi AI, Chowdhary ND, Laharwal MA. Metastatic carcinoma of bone marrow in Kashmir. JK Pract. 2001;8(2):88-9.
12. Motulsky AG, Rohn RJ. The bone marrow in metastatic malignant melanoma. J Lab Clin Med. 1953;41(4):526-33.
13. Cohen Y, Baruch RG, Lichtic C. Bone marrow biopsy in patients with malignant neoplasms other than lymphomas or leukemia. Acta Haematol. 1982;68(1):181-4.

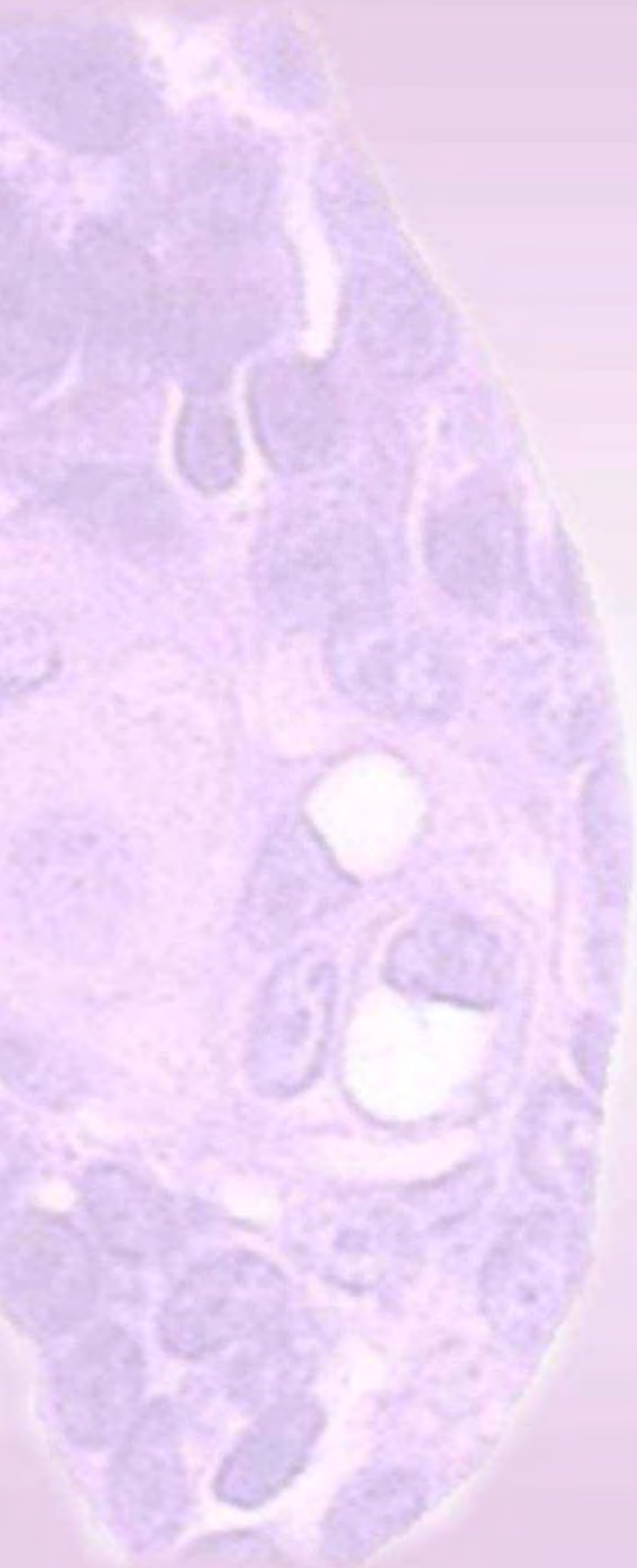
-
14. Cohen Y, Zidan J, Mcshan D. Bone marrow biopsy in solid cancer. *Acta Haematol.* 1982;68(1):14-9.
 15. Sari R, Aydogdu I, Ozen S, Sevinc A, Buyukberber S. Metastatic bone marrow tumors: a report of six cases and review of the literature. *Haematologia.* 2001;31(3):215-23.
 16. Delta BG, Pinkel D. Bone marrow aspiration in children with malignant tumors. *J Pediatr.* 1964;64:542-6.
 17. Papac RJ. Bone marrow metastases: a review. *Cancer.* 1994;74(9):2403-13.
 18. Chernow B, Wallner SF. Variables predictive of bone marrow metastasis. *Cancer.* 1978;42(5):2373-8.
 19. Tasleem RA, Chowdhary ND, Kadri SM, Chowdhary QA. Metastasis of solid tumours in bone marrow: a study from Kashmir, India. *J Clin Pathol.* 2003;56(10):803.
 20. Chantreau CF, Feron O, Marbaix E, Declerck YA. Bone marrow microenvironment and tumor progression. *Cancer Microenvironment.* 2008;1:23-35.
 21. Chiang AC, Massague J. Molecular basis of metastasis. *N Engl J Med.* 2008 Dec 25;359(26):2814-23.
 22. Chute JP. Stem cell homing. *Curr Opin Hematol.* 2006;13(6):399-406.
 23. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature.* 2002 Dec 19;420(6917):860-7.
 24. Van Kempen LC, Ruiter DJ, Van Muijen GN, Coussens LM. The tumor microenvironment: a critical determinant of neoplastic evolution. *Eur J Cell Biol.* 2003;82(11):539-48.
 25. Kucia M, Jankowski K, Reza R, Wysoczynski M, Badura L, Allendorf DJ, et al. CXCR4-SDF-1 signalling, locomotion, chemotaxis and adhesion. *J Mol Histol.* 2004;35(3):233-45.
 26. Kucia M, Ratajczak J, Ratajczak MZ. Bone marrow as a source of circulating CXCR4+ tissue-committed stem cells. *Biol Cell.* 2005;97(2):133-46.
-

-
27. Cotta CV, Konoplev S, Medeiros LJ, Bueso-Ramos CE. Metastatic tumors in bone marrow: histopathology and advances in the biology of the tumor cells and bone marrow environment. *Ann Diagn Pathol*. 2006;10(3):169-92.
 28. Libura J, Drukala J, Majka M, Tomescu O, Navenot JM, Kucia M, et al. CXCR4-SDF-1 signaling is active in rhabdomyosarcoma cells and regulates locomotion, chemotaxis, and adhesion. *Blood*. 2002 Oct 1;100(7):2597-606.
 29. Braun S, Pantel K. Micrometastatic bone marrow involvement: detection and prognostic significance. *Med Oncol*. 1999;16(3):154-65.
 30. Braun S, Vogl FD, Naume B, Janni W, Osborne MP, Coombes RC, et al. A pooled analysis of bone marrow micrometastasis in breast cancer. *N Engl J Med*. 2005 Aug 25;353(8):793-802.
 31. Fehm T, Muller V, Alix-Panabieres C, Pantel K. Micrometastatic spread in breast cancer: detection, molecular characterization and clinical relevance. *Breast Cancer Res*. 2008;10 Suppl 1:S1.
 32. Cabioglu N, Sahin A, Doucet M, Yavuz E, Igci A, Yildirim O, et al. Chemokine receptor CXCR4 expression in breast cancer as a potential predictive marker of isolated tumor cells in bone marrow. *Clin Exp Metastasis*. 2005;22(1):39-46.
 33. Strahm B, Durbin AD, Sexsmith E, Malkin D. The CXCR4-SDF1alpha axis is a critical mediator of rhabdomyosarcoma metastatic signaling induced by bone marrow stroma. *Clin Exp Metastasis*. 2008;25(1):1-10.
 34. Jauch KW, Heiss MM, Gruetzner U, Funke I, Pantel K, Babic R, et al. Prognostic significance of bone marrow micrometastases in patients with gastric cancer. *J Clin Oncol*. 1996;14(6):1810-7.
 35. Kaifi JT, Yekebas EF, Schurr P, Obonyo D, Wachowiak R, Busch P, et al. Tumor-cell homing to lymph nodes and bone marrow and CXCR4 expression in esophageal cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2005 Dec 21;97(24):1840-7.
 36. Roder JD, Thorban S, Pantel K, Siewert JR. Micrometastases in bone marrow: prognostic indicators for pancreatic cancer. *World J Surg*. 1999;97(24):888-91.
 37. Passlick B, Kubuschok B, Izbicki JR, Thetter O, Pantel K. Isolated tumor cells in bone marrow predicts reduced survival in lymph node-negative non-small-cell lung cancer. *Pneumologie*. 2000;54(8):355-60.
-

-
38. Thorban S, Roder JD, Nekarda H, Funk A, Pantel K, Siewert JR. Disseminated epithelial tumor cells in bone marrow of patients with esophageal cancer: detection and prognostic significance. *World J Surg.* 1996;20(5):567-72.
 39. Vlems FA, Wobbes T, Punt CJ, Van Muijen GN. Detection and clinical relevance of tumor cells in blood and bone marrow of patients with colorectal cancer. *Anticancer Res.* 2003;23(1B):523-30.
 40. Weckermann D, Muller P, Wawroschek F, Krawczak G, Riethmuller G, Schlimok G. Micrometastases of bone marrow in localized prostate cancer: correlation with established risk factors. *J Clin Oncol.* 1999;17(11):3438-43.
 41. Alison MR, Lim S, Houghton JM. Bone marrow-derived cells and epithelial tumours: more than just an inflammatory relationship. *Curr Opin Oncol.* 2009;21(1):77-82.
 42. Visser KE, Korets LV, Coussens LM. De novo carcinogenesis promoted by chronic inflammation is B lymphocyte dependent. *Cancer Cell.* 2005;7(5):411-23.
 43. Van Kempen LC, Visser KE, Coussens LM. Inflammation, proteases and cancer. *Eur J Cancer.* 2006;42(6):728-34.
 44. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow?. *Lancet.* 2001 Feb 17;357(9255):539-45.
 45. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature.* 2008 Jul 24;454(7203):436-44.
 46. Kaplan RN, Riba RD, Zacharoulis S, Bramley AH, Vincent L, Costa C, et al. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature.* 2005 Dec 8;438(7069):820-7.
 47. Casciato DA. Metastatic cancer. In: Haskell CM. *Cancer treatment.* Boston:Elsevier; 1995. p.1128.
 48. Wong KF, Chan JK, Ma SK. Solid tumour with initial presentation in the bone marrow—a clinicopathologic study of 25 adult cases. *Hematol Oncol.* 1993;11(1):35-42.
 49. Mohanty SK, Dash S. Bone marrow metastasis in solid tumors. *Indian J Pathol Microbiol.* 2003;46(3):613-6.
-

-
50. Sharma S, Murari M. Bone marrow involvement by metastatic solid tumors. *Indian J Pathol Microbiol.* 2003;46(3):382-4.
 51. Ringenbergs QS, Doll DC, Yarbrow JW, Perry MC. Tumors of unknown origin in the bone marrow. *Arch Intern Med.* 1986;146(10):2027-8.
 52. Ihde DC, Simms EB, Matthews MJ, Cohen MH, Bunn PA, Minna JD. Bone marrow metastases in small cell carcinoma of the lung: frequency, description, and influence on chemotherapeutic toxicity and prognosis. *Blood.* 1979;53(4):677-86.
 53. Wang C, Rabah R, Blackstein M, Riddell RH. Bone marrow metastasis of angiosarcoma. *Pathol Res Pract.* 2004;200(7-8):551-5.
 54. Franklin JW, Zavala DC, Radcliffe CE. The detection of malignant melanoma by bone marrow aspiration: a report of two cases. *Blood.* 1952;7(9):934-41.
 55. Ozkalemkas F, Ali R, Ozkocaman V, Ozelik T, Ozan U, Ozturk H, et al. The bone marrow aspirate and biopsy in the diagnosis of unsuspected nonhematologic malignancy: a clinical study of 19 cases. *BMC Cancer.* 2005;5:144.
 56. Kjurkchiev G, Valkov I. Role of touch imprint and core biopsy for detection of tumor metastases in bone marrow. *Diagn Cytopathol.* 1998;18(5):323-4.
 57. Moid F, DePalma L. Comparison of relative value of bone marrow aspirates and bone marrow trephine biopsies in the diagnosis of solid tumor metastasis and Hodgkin lymphoma: institutional experience and literature review. *Arch Pathol Lab Med.* 2005;129(4):497-501.
 58. Delsol G, Guiu-Godfrin B, Guiu M, Pris J, Corberand J, Fabre J. Leukoerythroblastosis and cancer frequency, prognosis, and physiopathologic significance. *Cancer.* 1979;44(3):1009-13.
 59. Duhamel G, Stachowiak J. Bone marrow fibrosis in malignant hemopathies and cancers. Histological study of 2786 biopsies. *Sem Hop.* 1981 Jan 18;57(3-4):111-6.
 60. McIlmurray MB, Ryrie DR, Fletcher J. Carcinoma of the lung presenting with a myeloproliferative disorder. A report of two patients. *Postgrad Med J.* 1977;53(625):702-4.
-

-
61. Navone R, Colombano MT. Histopathological trephine biopsy findings in cases of 'dry tap' bone marrow aspirations. *Appl Pathol.* 1984;2(5):264-71.
 62. Vaiphei K, Singh V, Varma S. Splenic angiosarcoma presenting with jaundice, ascites and bone marrow fibrosis. *Sarcoma.* 2003;7(3-4):183-4.
 63. Varma N, Vaiphei K, Varma S. Angiosarcoma presenting with leucoerythroblastic anaemia bone marrow fibrosis and massive splenomegaly. *Br J Haematol.* 2000;110(3):503.
 64. Conrad ME. Bone marrow necrosis. *J Intensive Care Med.* 1995;10(4):171-8.
 65. Dunn P, Shih LY, Liaw SJ, Sun CF. Bone marrow necrosis in 38 adult cancer patients. *J Formos Med Assoc.* 1993;92(12):1107-10.
 66. Feliu J, Gonzalez-Peramato P, Vicente J, Garcia-Giron C, Gonzales BM, Montero JM. Necrosis of the bone marrow and cancer. *Ver Clin Esp.* 1989;185(8):405-8
 67. Paydas S, Ergin M, Baslamisli F, Yavuz S, Zorludemir S, Sahin B, et al. Bone marrow necrosis: clinicopathologic analysis of 20 cases and review of the literature. *Am J Hematol.* 2002;70(4):300-5.
 68. Ota T, Kitano T, Miyay K, Ogishima D, Yoshida M, Miyake K, et al. Small cell carcinoma of the uterine cervix metastasizing to the bone marrow: a case report. *J Obstet Gynaecol Res.* 2008;34(4 Pt 2):692-5.
 69. Yun HK, Shin MG, Bo D, Kin DW, Cho D, Shin JH, et al. Laboratory evaluation of bone marrow metastasis: single institute study. *Korean J Lab Med.* 2007;27(2):96-101.
-



Anexas

ANEXO A – Protocolo para coleta de dadosMielopatia Infiltrativa por TU não-hematológicos**1. Identificação**

Nome: _____ RGP: _____
RG: _____ Data CN onco: ____/____/____
IDADE : ____ anos DN: ____/____/____ Sexo: ☐ M ☐ F

2. Diagnóstico

Tu primário: _____ Data AP: ____/____/____
☐ Bx HAC nº _____ ☐ Bx Fora nº _____ Revisão aqui: ☐ sim ☐ não
Estadiamento: T _____ N _____ M _____ Estádio inicial: _____
Sítio de Metástase: ☐ ossos ☐ pulmão ☐ fígado ☐ SNC
____/____/____
☐ Outros : _____

3. Análise da MO: ____/____/____

Mielograma: _____

Qualidade do material: ☐ boa ☐ ruim: _____

Coágulo AMO: _____ Nº Bx _____

Qualidade do material: ☐ boa ☐ ruim: _____

Infiltração: ☐ parcial ☐ maciça

Biópsia MO: _____ Nº Bx _____

Qualidade do material: ☐ NR ☐ boa ☐ ruim: _____

Infiltração: ☐ parcial ☐ maciça ☐ fibrose ☐ necrose

Imunohistoquímica: ☐ Não realizado

☐ Sim — ☐ Tu primário
☐ BMO

Marcadores ImunoH. Tu primário:

Marcadores ImunoH. BMO :

4. Hemograma pré BMO: ____/____/____Ht: ____ %, Hb: ____ g%, VCM: ____ Plaquetas: _____.000 /m³

Leucócitos: _____

Mielócitos: _____

☐ eritroblastos circulantes

Metamiel.: _____

Bastão: _____

☐ policromasia

Neutrófilos: _____

Eosinófilos: _____

☐ anisocitose

Basófilos: _____

Linfócitos: _____

☐ outros: _____

Monócitos: _____

Células indiferenciadas: _____

5. Marcadores Tumorais Séricos:☐ CEA _____☐ Ca 19.9 _____☐ PSA _____☐ Ca 15.3 _____☐ DHL _____☐ Ca 125 _____☐ Outros _____☐ Não realizado**6. Tratamentos realizados:**

QT - _____

RXT : ☐ sim ☐ não☐ Hormonioterapia: _____☐ Nenhum**7. BMO pós tratamento:**☐ Sim: ☐ livre☐ infiltrada☐ Não**8. Status:** ☐ Vivo: ____/____/____☐ Óbito: ____/____/____**9. Observações:**_____

ANEXO B – Parecer do comitê de ética em pesquisa – Hospital Amaral Carvalho –
Jaú





Fundação Hospital Amaral Carvalho
Departamento de Hematologia e Oncologia
Clínica

Rua Dona Silvéria, 150, Vila Assis – CEP 17.210-120 – Jauá / SP – ☎ (014) 3602-1200 – Ramal 1270

JUSTIFICATIVA DE ALTERAÇÃO NO TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA

Declaramos que o Projeto de Pesquisa “Infiltração de Medula Óssea por Tumores Sólidos” aprovado pelo CEP em 16/05/08 (CEPFHAC 43/08), teve seu título alterado para “Mielopatia Infiltrativa por Tumores Não-Hematológicos”, sem nenhuma alteração no seu conteúdo metodológico da época de apresentação para análise do CEP.

A presente alteração foi efetuada somente para adequação do título da Dissertação de Mestrado.

Jaú, 09/02/09

Nome/Assinatura da aluna: **Claudia Teresa de Oliveira**

Nome/Assinatura da orientadora: **Prof. Dra. Lígia Niero Melo**

Programa de Pós Graduação em Pesquisa e Desenvolvimento – Biotecnologia Médica
(Unesp – Botucatu)



ANEXO C – Parecer do comitê de ética em pesquisa – Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP



**Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Medicina de Botucatu**



Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P.
CEP: 18.618-970
Fone/Fax: (0xx14) 3811-6143
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br
e-mail coordenação: tsarden@fmb.unesp.br



Registrado no Ministério da Saúde em 30 de abril de 1997

Botucatu, 06 de outubro de 2008

Of. 421/08-CEP

Ilustríssima Senhora
Prof^a Dr^a Lígia Niero de Mello
Departamento de Clínica Médica da
Faculdade de Medicina de Botucatu.

Prezada Dr^a Lígia,

De ordem do Senhor Coordenador deste CEP, informo que o Projeto de Pesquisa **"Infiltração de medula óssea por tumores sólidos"**, a ser conduzido pela Dr^a Claudia Teresa de Oliveira, orientada por Vossa Senhoria, Co-orientada pelo Dr. Vergílio Antonio Rensi Colturato, recebeu do relator **parecer favorável** aprovado em reunião de 06 de outubro de 2.008.

Situação do Projeto: **APROVADO. Apresentar Relatório Final de Atividades ao final da execução deste projeto.**

Atenciosamente,

Alberto Santos Capelluppi
Secretário do CEP.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE BOTUCATU
FACULDADE DE MEDICINA
Seção de Pós-Graduação

Fls.
Proc.
Rub.

BOTUCATU, SP - RUBIÃO JÚNIOR - CEP 18618-970 - PABX (0xx14) 3811-6022

JUSTIFICATIVA DE ALTERAÇÃO NO TÍTULO DO PROJETO DE PESQUISA

Declaramos que o Projeto de Pesquisa "Infiltração de Medula Óssea por Tumores Sólidos" aprovado pelo CEP em 06/10/08 (Of.421/08- CEP), teve seu título alterado para "Mielopatia Infiltrativa por Tumores Não-Hematológicos", sem nenhuma alteração no seu conteúdo metodológico da época de apresentação para análise do CEP.

A presente alteração foi efetuada somente para adequação do título da Dissertação de Mestrado.

Botucatu, 09/02/09

Nome/Assinatura da aluna: **Claudia Teresa de Oliveira**

Nome/Assinatura da orientadora: **Prof. Dra. Lígia Niero Melo**

Programa de Pós Graduação em Pesquisa e Desenvolvimento – Biotecnologia Médica

