

SINDROMES MIELODISPLÁSTICAS

Exames Necessários para Confirmação

SUMÁRIO

Método de coleta de evidências:	4
Dúvida Clínica:	5
Grau de recomendação e força de evidência:	5
Objetivo:	6
Conflito de interesse:	6
INTRODUÇÃO	7
REFERÊNCIAS	33
ANEXO I	41

SINDROMES MIELODISPLÁSTICAS - Exames Necessários para Confirmação

Autoria: Associação Brasileira de Hematologia e Hemoterapia (ABHH)

Participantes: Magalhaes S, Niero-Melo L, Chauffaille ML, Velloso E, Lorand-
Metze I, Buzzini R, Bernardo WM

.

Elaboração final: 23 de agosto de 2017.

Método de coleta de evidências:

Esta diretriz seguiu padrão de uma revisão sistemática com recuperação de evidências baseada no movimento da Medicina Baseada em Evidências (*Evidence-Based Medicine*), em que a experiência clínica é integrada com a capacidade de analisar criticamente e aplicar, de forma racional, a informação científica, melhorando assim a qualidade da assistência médica.

Utilizamos a forma estruturada de formular a pergunta sintetizada pelo acrônimo P.I.C.O., onde o **P** corresponde aos pacientes com **Síndrome Mielodisplásica**, **I** de indicador com **exames** e **O** de desfecho sobre o **diagnóstico**.

A partir da pergunta estruturada, identificamos os descritores que constituíram a base da busca da evidência nas bases de dados: Medline-Pubmed. Assim, 38 estudos foram achados e selecionados para responder à dúvida clínica (**Anexo I**).

Dúvida Clínica:

Quais exames são necessários para confirmação da Síndrome Mielodisplásica?

Grau de recomendação e força de evidência:

A: Estudos experimentais ou observacionais de melhor consistência.

B: Estudos experimentais ou observacionais de menor consistência.

C: Relatos de casos / estudos não controlados.

D: Opinião desprovida de avaliação crítica, baseada em consensos, estudos fisiológicos ou modelos animais.

Objetivo:

O objetivo desta avaliação é discutir as recentes contribuições encontradas na literatura para o campo do diagnóstico das SMD.

Conflito de interesse:

Não há conflito de interesse relacionado a esta revisão a ser declarado autores.

INTRODUÇÃO

Síndromes Mielodisplásicas (SMD) são um grupo heterogêneo de doenças clonais das células-tronco hematopoéticas (CTH), resultado de uma sequência de alterações genéticas adquiridas e geração de um clone anômalo e geneticamente instável, com potencial para evolução para leucemia mielóide aguda.

Não há, até o momento, um único marcador biológico ou genético confiável para diagnóstico. As alterações displásicas do sangue periférico e da medula óssea ainda são fundamentais para diagnóstico e classificação desse grupo de doenças.

A detecção do aumento de blastos facilita o diagnóstico nas formas mais avançadas; sendo nas mais iniciais, com anormalidades morfológicas leves, o diagnóstico é baseado, sobretudo, na exclusão de outras doenças não clonais.

Estes distúrbios clonais podem ocorrer em qualquer idade, mas têm maior frequência em adultos, com crescimento exponencial após a 5ª década, com

média de idade, ao diagnóstico, de 70 anos. A maioria dos pacientes adquire a anomalia clonal da CTH *de novo*, mas uma parte desses pacientes a adquire algum tempo após exposição a genotóxicos, tais como quimioterapia e/ou radioterapia para outras neoplasias, por mutações somáticas impostas por estes tratamentos.

O hemograma com a contagem de reticulócitos e a análise citomorfológica são os primeiros passos de fundamental importância para o diagnóstico de SMD. São comuns as citopenias isoladas ou combinadas, persistentes e inexplicadas. A anemia, a citopenia mais comum, é geralmente macrocítica, associada a uma significativa redução da contagem de reticulócitos. Todas outras causas de citopenias/displasias devem ser excluídas, assim como outras doenças clonais e anormalidades congênitas. Na sequência, vem a análise citomorfológica através do mielograma e a pesquisa de sideroblastos em anel por meio da coloração de Perls. A biópsia de medula óssea (MO) complementa a investigação, pois permite a análise histológica das células da medula pela coloração por hematoxilina–eosina, assim como do grau de fibrose pela impregnação (pela impregnação pela prata que cora em negro as fibras de

reticulina). Seguem-se a análise citogenética, clássica e molecular e a imunofenotipagem¹(**D**).

EXTRAÇÃO DOS RESULTADOS

DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO

Os critérios morfológicos têm, como principal achado, a observação de dispoese ou atipias celulares, encontrados num percentual igual ou superior a 10% das células da linhagem considerada²(**D**)³(**B**). Em citologia: perda da uniformidade das células, individualmente, em relação à sua contrapartida normal. Em histologia: perda da orientação arquitetural do setor hematopoético em relação à sua contrapartida normal. Nenhum achado morfológico único é diagnóstico de SMD.

Citologia de medula óssea

A despeito da citopenia em sangue periférico (SP), a MO é ricamente celular. Na **linhagem eritróide** observam-se: retardo maturativo, falhas de hemoglobinizacão, assincronismo maturativo entre núcleo-citoplasma, formas megaloblastóides, mitoses anômalas, multinuclearidade, pontes internucleares, fragmentos nucleares e sideroblastos em anel. Na **linhagem granulocítica** observam-se: retardo maturativo, traduzido pelo acúmulo nas fases de mieloblastos (MB) e mielócitos (MC), ou mesmo metamielócitos (MMC) nucleolados, assincronismo maturativo núcleo-citoplasma, alterações megaloblastóides (alteração de Tempka-Braün), disgranulações (hipogranularidade e/ou distribuicão heterogênea dentro do citoplasma), formas pelgeróides (hiposegmentaçã, hipogranulaçã), “*donut cells*” (células em rosca) e formas imaturas bizarras, atípicas, aberrantes. Pode haver presença de bastonete ou corpo de Auer. A contagem de blastos na MO é importante não

apenas como critério para diagnóstico e classificação, mas também tem forte impacto no prognóstico. Mieloblastos tipos I, II e III, podem coexistir no mesmo paciente e na mesma amostra. Em caso de contagem de eritroblastos superior a 50%, a classificação revisada da Organização Mundial de Saúde preconiza a contagem de blastos entre todas as células nucleadas da MO. A **linhagem megacariocítica** é a que se apresenta como fiel marcador de dispoese, quando presente. Podem ser observados núcleos hipersegmentados, bilobados, monoformas grandes ou pequenas e microformas⁴(**D**).

Histologia de medula óssea

A celularidade deve ser conferida pela histologia, sendo estabelecida pela porcentagem entre parênquima e adipócitos e permite classificar a medula em

hipoplásica, normoplásica e hiperplásica. A interpretação deve considerar a variação normal para a idade. Eventualmente pode ocorrer uma distribuição anormal dos espaços. Ectopias de nichos significam atipia do setor envolvido: megacariócitos e eritroblastos em localização paratrabecular, mieloblastos e/ou promielócitos, em número acima ou igual a 5, agrupados ao redor de capilar central (ALIPs- *Abnormal Localization of Immature Precursors*). A avaliação da rede de reticulina é importante e tem impacto prognóstico. Agregados linfoides estão presentes em cerca de 20% dos casos⁵⁻⁷(**D**).

O subtipo **SMD hiperfibrótica** apresenta graus significativos de fibrose medular, graus II e III do Consenso Europeu, ocorre em 10% dos casos e tem curso clínico mais agressivo, frequentemente associado com excesso de blastos⁸(**D**),^{9,10}(**B**). O diagnóstico é firmado sempre pela histologia. Como a ocorrência de fibrose de MO não é prerrogativa apenas de SMD, mas ocorre

também em outras doenças mielóides, sugere-se avaliação clínica acurada, bem como busca da evidência de dispoese em SP e *imprint* de biópsia que possam auxiliar neste critério, uma vez que a citologia não permite material para avaliação, pela própria fibrose¹¹(**D**). Em casuística expressiva observou-se fibrose focal em 17% de casos, sendo apenas 5% com distribuição difusa e compacta¹²(**B**).

A **SMD hipoplásica** é caracterizada por celularidade $\leq 30\%$ em pacientes com idade superior de 60 anos, sendo mais comum pós-quimioterapia e/ou radioterapia. Este subtipo corresponde a 10-15% dos casos e comumente demanda atenção especial no diagnóstico diferencial com anemia aplástica severa (AAS) o que pode ser decisivo para correto condicionamento pré-transplante de MO¹³(**D**)¹⁴⁻¹⁶(**B**). A distinção entre SMD hipoplásica e anemia aplástica é desafiadora em termos de diagnóstico morfológico.

Recomendação:

Embora inegáveis desenvolvimentos tenham mudado o papel e a significância da morfologia no diagnóstico hematológico, haja vista as classificações WHO-2008 e WHO-2016, a morfologia ainda é a fronteira inicial para encaminhamento diagnóstico mais refinado; ou seja, há que se reconhecer clínica e morfológicamente os indicativos de SMD, para seguir a investigação com a citogenética e a citometria de fluxo.

CITOGENÉTICA CONVENCIONAL E MOLECULAR

A análise citogenética tem papel importante na determinação de clonalidade em pacientes com suspeita de SMD. Anormalidades citogenéticas são observadas em 50% a 60% dos pacientes, sendo as mais frequentes a del(5q), monossomia ou deleção (7q), trissomia 8 e del(20q). O diagnóstico de SMD pode ser feito na ausência de displasia morfológica, quando existem citopenias e anormalidades citogenéticas recorrentes conforme descritas pela OMS 2008¹⁷(D) (**tabela I**). Entretanto, a nulissomia do cromossomo Y, a trissomia do cromossomo 8 e a deleção 20q são anormalidades citogenéticas que, na ausência de displasia, não são consideradas evidências definitivas de SMD^{4,17}(D).

No caso de falha repetida do estudo citogenético convencional (cariótipo por banda G), por ausência ou má qualidade das metáfases, a

Hibridação *in situ* por Fluorescência (FISH) pode complementar a análise citogenética.

Amostras de medula óssea de 48 pacientes com SMD (43 baixo risco) foram avaliadas por cariótipo e FISH com sondas para regiões gênicas dos cromossomos 5, 7, 8, 11, 13 e 20. Dezoito das 48 amostras (37,5%) tiveram clone anormal identificado pela análise cromossômica metafásica, enquanto que 17 dos 48 (35,5%) apresentaram clone anormal detectado pela análise por FISH. Cariótipo normal foi detectado em 30 dos 48 pacientes (62,5%). Vinte e nove destes 30 apresentaram resultado por FISH normal. A sensibilidade das duas metodologias (FISH e cariótipo) foi muito próxima, portanto o FISH pode ser uma boa ferramenta para estudar o aspirado de medula óssea quando a análise citogenética não está disponível¹⁸(**B**).

Tabela I: Anormalidades citogenéticas recorrentes e sua frequência nas SMD ao diagnóstico¹⁷(D).

Anormalidade	Frequência (%)
-5/5q-	10 40 (SMD-T)
-7/7q-	10 50 (SMD-T)
<u>+8</u> *	10
del(9q)	
i(17q) / t(17p)	3-5
-13/13q-	3
del(11q)	3
del(12p) t(12p)	3

<u>del(20q)*</u>	5-8
Idic(X)(q13)	1-2
<u>-Y*</u>	5%
t(11;16)(q23;p13,3)	3 (SMD-T)
t(3;21)(q26.2;q22.1)	2 (SMD-T)
t(6;9)(p23;q34)	<1
t(2;11)(p21;q23)	<1
inv(3)(q21q26.2)	<1
t(1;3)(p35.3;q21.2)	<1

Legenda: SMD –T - SMD secundária a terapia

Em outro estudo, 433 amostras de medula óssea de pacientes com suspeita de SMD ou LMA foram submetidas a cariótipo e FISH para -5/5q-, -7/7q-, +8 e 20q-. Cariótipo anormal foi identificado em 114 casos (26,3%) e resultado anormal do FISH de ao menos um *locus* foi obtido em 94 casos (21,7%). Resultado anormal pelo FISH ou cariótipo foi detectado em 136/433 amostras (31,4%). Dos 136 casos com qualquer achado anormal, 22 (16,2%) foram identificados apenas pelo FISH. Os dois métodos tiveram concordância em 96,5%, 96,5%, 93,9% e 93% dos casos de anormalidades nos cromossomos 5, 7, 8 e 20, respectivamente¹⁹(**B**).

GENÉTICA MOLECULAR

A cariotipagem baseada em arranjos é uma nova técnica que tem permitido a detecção de anormalidades cromossômicas não observadas pela citogenética convencional, particularmente com o uso de arranjos de polimorfismo de nucleotídeos únicos (SNP-arrays)^{20(D)}·^{21(B)}. Observam-se mutações somáticas em 80 a 90% dos pacientes com SMD, sendo os genes mais comumente afetados: SF3B1, TET2, SRSF2, ASXL1, DNMT3A, RUNX1, U2AF1, TP53 e EZH2. Entretanto, estas mutações, além de serem observadas em outras neoplasias, particularmente mieloides, também podem ocorrer em pacientes idosos aparentemente saudáveis na denominada “Hematopoese clonal de potencial indeterminado (*clonal hematopoiesis of indeterminate potential*”, CHIP)^{22(D)}. Apesar de alguns pacientes poderem evoluir para SMD, a evolução natural destes casos ainda não está elucidada e a presença destas

mutações somáticas associadas à SMD não está incluída ainda como critério diagnóstico na classificação da OMS 2016⁴(**D**). À semelhança das anormalidades citogenéticas, o tipo e número de mutações estão associados à evolução/progressão da SMD. A mutação do TP53 está associada à doença mais agressiva, sendo indicada a sua avaliação particularmente nos portadores de deleção (5q), nos quais a detecção identifica prognóstico menos favorável e parece predizer resposta desfavorável à lenalidomida²³(**B**).

A mutação do SF3B1 foi descrita em 30% dos casos de SMD, porém em 80% das SMD com sideroblastos em anel, ou seja, trata-se mutação preditiva da presença de sideroblastos em anel (Papaemmanuil et al, 2011). De acordo com a classificação da OMS 2016, casos de SMD com percentagem de sideroblastos em anel entre 5 e 15% devem ser investigados para essa mutação e se presente, permite a conclusão diagnóstica.

Geralmente, os pacientes com SMD com sideroblastos em anel e SF3B1 mutado (em geral, no exon 15, K700E) são idosos, com IPSS de baixo risco, apresentam melhor sobrevida global, maior sobrevida livre de eventos e cariótipo favorável (Lavallée et al, 2012), Pacientes com SMD com sideroblastos em anel e SF3B1 não mutado em geral apresentam mutação no TP53 e pior desenlace.

Recomendações:

A análise citogenética convencional (cariótipo por banda G) é parte integral da avaliação de pacientes com suspeita de SMD. Pode, eventualmente, não ser informativa quando um número insuficiente de metáfases celulares (<20 metáfases) é obtido por avaliação de amostra hipocelular ou na ausência de crescimento celular.

Estudo com FISH, particularmente para cromossomos 5, 7, 8 e 20, pode ser útil em pacientes com falha repetida na obtenção de metáfases. Pode auxiliar ainda no esclarecimento de anormalidades cromossômicas complexas. A análise por FISH não deve substituir o cariótipo convencional, pois a análise de todo o conjunto de cromossomos é essencial.

Estudo de cariótipo baseado em arranjos é complementar à cariotipagem metafásica, e pode ser adicionado aos testes de diagnóstico, entretanto é de alto custo e pouco disponível em nosso meio. Além do que, a detecção de mutações somáticas, apesar de observadas em 80-90% dos casos de SMD, ainda não tem seu papel claro na avaliação diagnóstica das citopenias inexplicadas. A pesquisa de mutação de TP53 está indicada particularmente nos portadores de del(5q) e de mutação SF3B1 para portadores de sideroblastos em anel na MO em percentual entre 5-14%.

CITOMETRIA DE FLUXO MULTIPARAMÉTRICO PARA DIAGNÓSTICO DE SMD E PESQUISA DE FATORES PROGNÓSTICOS

A imunofenotipagem por citometria de fluxo multiparamétrica (FCM) permite analisar a expressão antigênica de células hemopoiéticas relacionadas à linhagem e grau de maturação em hematopoiese normal e anormal²⁴(**B**).

Fisiologicamente, esta expressão antigênica é fortemente controlada por mecanismos genéticos e epigenéticos, levando a um padrão normal previsível de expressão de antígenos em diferentes estádios de maturação²⁵(**B**).

Na SMD, existe uma diferenciação anormal nas séries granulocítica, monocítica e eritróide, resultando em desvios do padrão de expressão do antígeno normal. Pode haver diminuição ou aumento da expressão de um antígeno, assincronia das expressões ou expressão aberrante de antígenos de linhagem diferente. Isso pode ser detectado pelo FCM. Portanto, esta técnica é uma importante ferramenta auxiliar para o diagnóstico de SMD nos casos em que apenas

algumas anormalidades morfológicas são encontradas na citologia e histologia da medula óssea (MO) e o cariótipo é normal^{25,26,27,28}(**B**),²⁹(**D**).

Vários trabalhos foram publicados sobre esse assunto nos últimos 15 anos e grupos de estudo internacionais como *European LeukemiaNet* (ELN) padronizaram esse tipo de análise com painéis de 4 cores e 8 cores²⁹(**D**)³⁰(**B**). Em contraste com a morfologia, que inclui a avaliação subjetiva do observador, a análise FCM é um método mais objetivo, se bem padronizado. Além disso, na análise citológica recomenda-se contar 500 células, enquanto na FCM para o diagnóstico de SMD, recomenda-se analisar mais de 100.000 células (e > 250 células CD34+). A imunofenotipagem de células MO é capaz de detectar várias anormalidades de maturação nas linhagens mielomonocítica e eritroblástica, bem como dos progenitores mieloides e linfoides ³¹(**B**).

O aumento dos progenitores mielóides CD34+, que muitas vezes representam expressões antigénicas aberrantes e crosslink, podendo ser encontradas especialmente em Anemia Refratária com Excesso de Blastos (AREB)^{26,27,28,31-35}(**B**). Além disso, os progenitores de células B (hematogônias tipo I) estão diminuídos em comparação com os valores normais para a idade do paciente^{30,36}(**B**).

Não são recomendados painéis ou combinações de anticorpos fixos ²⁹(**D**),³¹(**B**). A análise realizada deve ser sempre comparada com os achados de MO normal (doadores de MO, pacientes de cirurgia ortopédica, etc.) e controles na faixa etária do paciente²⁹(**D**)^{26,28,30-32,36}(**B**). Os dados FCM devem ser sempre interpretados no contexto dos achados clínicos e outros resultados laboratoriais, como a citologia e o cariótipo MO.

Não há nenhum parâmetro citométrico patognomônico para SMD. Assim, todas as aberrações devem ser relatadas e o diagnóstico de MDs é suspeitado se forem encontradas pelo menos duas anormalidades. Vários esforços foram feitos para estabelecer scores (conjuntos de parâmetros) diagnósticos. No entanto, há muita controvérsia na literatura sobre esta questão e nenhuma das pontuações descritas é universalmente recomendada²⁰(**D**) ³⁰(**B**).

Os mais utilizados na prática clínica são o sistema de escore por citometria de fluxo (FCSS)³⁷(**B**) e uma pontuação de 4 parâmetros (escore Ogata) que foi validado pelo European LeukemiaNet (ELN). O primeiro é baseado em uma pontuação que valoriza mais a porcentagem de progenitores mieloides que as alterações de maturação mielomonocítica. O segundo é baseado em: (1) tamanho de cluster de células CD34+ mieloides, (2) tamanho do cluster de hematogônias (progenitores B), (3 e 4) expressão de CD45 e dispersão lateral

(side scatter) das células CD34+ comparados com os valores normais. Esses parâmetros apresentaram sensibilidade de 70% e uma especificidade de 93% para o diagnóstico de SMD ³⁸(**B**).

Nos primeiros estudos publicados sobre FCM em SMD, havia muita preocupação em correlacionar esses achados com o grau de atipia celular encontrada em citologia e com anormalidades citogenéticas^{25,27,33}(**B**).

No entanto, em artigos mais recentes, como o FCM foi bem padronizado, o foco da interpretação dos dados foi a comparação com os achados na MO normal e quanto os valores dos pacientes diferem dos controles (exemplo: um ou dois desvios padrões para a intensidade de expressão de um antígeno ou o uso de um limiar fixo para a porcentagem normal de células CD34+)²⁸(**B**),²⁹(**D**).

Os painéis e recomendações são trabalhosos e exigem bom treinamento e experiência para serem executados na rotina diária. Foram feitos numerosos esforços para procurar as anormalidades mais importantes que são capazes de discriminar entre MO normal e citopenias reacionais (não clonais) ou SMD de baixo grau^{26,30,37,38}(**B**).

A análise dos precursores hemopoiéticos pela citometria de fluxo multiparamétrica nas SMDs também mostrou fornecer parâmetros prognósticos (associados à sobrevida, resposta ao tratamento e transplante de MO)^{33,37,39}(**B**)²⁹(**D**).

Em uma coorte de 101 pacientes brasileiros, o número de células CD34+ mieloides foi um parâmetro prognóstico independente quando comparado com os escores clínicos WPSS e IPSS-R e teve um valor prognóstico mais forte do que IPSS³⁹(**B**).

A citometria de fluxo multiparamétrica é considerada uma técnica auxiliar para o diagnóstico de SMD e deve ser sempre interpretada juntamente com os valores de sangue periférico, morfologia MO e citogenética. No entanto, estas últimas características continuam a ser o padrão-ouro para o diagnóstico, de acordo com as recomendações da OMS²⁶(**B**). A FCM é uma técnica valiosa para confirmar o diagnóstico quando o cariótipo é normal e a morfologia do BM não é conclusiva⁴(**D**).

Recomendações:

A imunofenotipagem de precursores hemopoiéticos deve ser realizada em pacientes em que um diagnóstico claro de SMD não pode ser estabelecido com base em dados clínicos, morfologia de MO e citogenética. É uma ferramenta valiosa para confirmação de diagnóstico. Também é útil para avaliar prognóstico e seguir a resposta do tratamento.

REFERÊNCIAS

1. Niero-Melo, Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2006; 28(3):167-174.
2. Bennett JM, Komrokji RS. The Myelodysplastic syndromes: diagnosis, molecular biology and risk assessment. Hematology 2005;10(supl 1):258-69.
3. Ramos F, Fernández-Ferrero S, Suárez D, Barbón M, Rodriguez JA, Gil S, et al. Myelodysplastic syndrome: a search for minimal diagnostic criteria. Leuk Res 1999; 23: 283-90.
4. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, Bloomfield CD, Cazzola M, Vardiman JW. The 2016 revision to the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. 2016; 127: 2391-2405.
5. Bartl R; Frisch B, Baumgart R. Morphologic classification of the myelodysplastic syndromes (MDS): combined utilization of the bone marrow aspirates and trephine biopsies. Leuk Res 1992; 16: 15-33.
6. Yuhua S, Shuling Q, Laiquan L, Chongli Y. Studies on micromegakaryocytes in myelodysplastic syndromes (MDS). Proc CAMS and PUMC 3 1988;(1):33-9.

7. Tuzuner N, Cox C, Rowe JM, Bennett JM. Bone marrow cellularity in myeloid stem-cell disorders: impact of age correction. *Leuk Res* 1994;18: 559-64).
8. Thiele J, Kvasnicka HM, Facchetti F, Franco V, van der Walt J, Orazi A, European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica* 2005, 90: 1128-32.
9. Lambertenghi-Delilieri G, Orazi A, Luksch R, Annaloro C, Soligo D. Myelodysplastic syndrome with increased marrow fibrosis: a distinct clinico-pathological entity. *Br J Haematol.* 1991; 78:161-6.
10. Della Porta MG, Malcovati L, Boveri E, Travaglino E, Pietra D, Pascutto C, Passamonti F, Invernizzi R, Castello A, Magrini U, Lazzarino M, Cazzola M: Clinical relevance of bone marrow fibrosis and CD34-positive cell clusters in primary myelodysplastic syndromes. *JCO* February 10, 2009; 27: 754-762
11. Rosati, S., Anastasi, J., and Vardiman, J. 1996. Recurring diagnostic problems in the pathology of the myelodysplastic syndromes. *Semin. Hematol*, 33, 111–26.
12. Maschek H, Georgii A, Kaloutsi V, et al. Myelofibrosis in primary myelodysplastic syndromes: a retrospective study of 352 patients. *Eur J Haematol* 1992; 48: 208-14.

13. Greenberg PL, Young NS, Gattermann N. Myelodysplastic syndromes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2002:136-61.
14. Orazi A, Albitar M, Heerema NA, Haskins S, Neiman RS. Hypoplastic myelodysplastic syndromes can be distinguished from acquired aplastic anemia by CD34 and PCNA immunostaining of bone marrow biopsy specimens. *Am J Clin Pathol*. 1997 Mar;107(3):268-74.
15. Baumann I, Fu M, Behrendt S, Campr V, Csomor J, Furlan I, de Haas V, Kerndrup G, Leguit RJ, De Paepe P, Noellke P, Niemeyer C, Schwarz S. Morphological Differentiation of Severe Aplastic Anaemia from Hypocellular Refractory Cytopenia of Childhood: Reproducibility of Histopathological Diagnostic Criteria. *Histopathology* 2012, 61, 10–17
16. Fohlmeister I, Fischer R, Mödder B, Rister M, Schaefer HE. Aplastic anaemia and the hypocellular myelodysplastic syndrome: histomorphological, diagnostic, and prognostic features. *J Clin Pathol*. 1985; 38: 1218–1224.
17. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC; 2008.0 PMID: 21300984

18. Cherry AM, Brockman SR, Paternoster SF, et al. Comparison of interphase FISH and metaphase cytogenetics to study myelodysplastic syndrome: an Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) study. *Leuk Res.* 2003; 27: 1085–1090.
19. Coleman JF, Theil KS, Tubbs RR, Cook JR. Diagnostic yield of bone marrow and peripheral blood FISH panel testing in clinically suspected myelodysplastic syndromes and/or acute myeloid leukemia: a prospective analysis of 433 cases. *Am J Clin Pathol.* 2011; 135: 915-20.
20. Malcovati L, Hellström-Lindberg E, Bowen D, Adès L, Cermak J, Del Cañizo C, et al. Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults recommendations from the European LeukemiaNet. *Blood.* 2013 Oct 24;122(17):2943-64.
21. Tiu RV, Gondek LP, O’Keefe CL, et al. Prognostic impact of SNP array karyotyping in myelodysplastic syndromes and related myeloid malignancies. *Blood* 2011; 117: 4552-4560.
22. Steensma DP, Bejar R, Jaiswal S, et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood.* 2015; 126: 9-16.

23. Jadersten M, Saft L, Smith A, et al. TP53 mutations in low-risk myelodysplastic syndromes with del(5q) predict disease progression. *J Clin Oncol.* 2011; 29: 1971-1979.
24. van Lochem EG, van der Velden VHJ, Wind HK, te Marvelde JG, Westerdal NAC, van Dongen JJM. Immunophenotypic differentiation patterns of normal hematopoiesis in human bone marrow: reference patterns for age-related changes and disease-induced shifts. *Cytometry B* 2004; 60B:1-13.
25. Stetler-Stevenson M, Arthur DC, Jabbour N, Xie XY, Molldrem J, Barrett AJ, et al. Diagnostic utility of flow cytometric immunophenotyping in myelodysplastic syndrome. *Blood.* 2001; 98: 979-87.
26. Truong F, Smith BR, Stachurski D, Cerny J, Medeiros LJ, Woda BA, et al. The utility of flow cytometric immunophenotyping in cytopenic patients with a non-diagnostic bone marrow: a prospective study. *Leuk Res.* 2009;33: 1039-46.
27. Stachurski D, Smith BR, Pozdnyakova O, Andersen M, Xiao Z, Raza A, et al. Flow cytometric analysis of myelomonocytic cells by a pattern recognition approach is sensitive and specific in diagnosing myelodysplastic syndrome and related marrow diseases: emphasis on

a global evaluation and recognition of diagnostic pitfalls. *Leuk Res.* 2008; 32: 215-24.

28. Lorand-Metze I, Ribeiro E, Lima CSP, Batista LS, Metze K. Detection of hematopoietic maturation abnormalities by flow cytometry in myelodysplastic syndromes and its utility for the differential diagnosis with non-clonal disorders. *Leuk Res* 2007; 31:147-155.
29. Van de Loosdrecht AA, Alhan C, Bene MC, Della Porta MG, Drager AM, Feuillard J. (2009) – Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: report from the first European LeukemiaNet working conference on flow cytometry in myelodysplastic syndromes. *Haematologica*, 94, 1124-1134.
30. Ogata K, Della Porta MG, Malcovati L, et al. Diagnostic utility of flow cytometry in low-grade myelodysplastic syndromes: a prospective validation study. *Haematologica*. 2009; 94: 1066–1074.
31. Westers T, Ireland R, Kern W et al. Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: a report from an international consortium and the European LeukemiaNet Working Group. *Leukemia* 2012; 26: 1730-1741.
32. Malcovati L, Della Porta MG, Lunghi M, Pascutto C, Vanelli L, Travaglino E, et al. Flow cytometry evaluation of erythroid and myeloid

dysplasia in patients with myelodysplastic syndrome. *Leukemia*. 2005; 19: 776-83.

33. Kern W, Haferlach C, Schnittger S, Haferlach T. Clinical utility of multiparameter flow cytometry in the diagnosis of 1013 patients with suspected myelodysplastic syndrome: correlation to cytomorphology, cytogenetics, and clinical data. *Cancer*. 2010;116: 4549-63.
34. De Smet D, Trullemans F, Jochmans K, Renmans W, Smet L, Heylen O. Diagnostic potential of CD34+ cell antigen expression in myelodysplastic syndromes. *Am J Clin Pathol*. 2012; 138: 732-43.
35. Goardon N, Nikolousis E, Sternberg A, Chu WK, Craddock C, Richardson P, et al. Reduced CD38 expression on CD34+ cells as a diagnostic test in myelodysplastic syndromes. *Haematologica*. 2009 94: 1160-3.
36. Reis-Alves SC, Traina F, Metze K, Lorand-Metze I. Improving the differential diagnosis between myelodysplastic syndromes and reactive peripheral cytopenias by multiparametric flow cytometry: the role of B-cell precursors. *Diagn Pathol* 2015; 10: 44
37. Chu SC, Wang TF, Li CC, Kao RH, Li DK, Su YC, et al. Flow cytometric scoring system as a diagnostic and prognostic tool in myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2011; 35: 868– 873.

38. Della Porta MG, Picone C, Pascutto C, Malcovati L, Tamura H, Handa H, et al. Multicenter validation of a reproducible flow cytometric score for the diagnosis of low-grade myelodysplastic syndromes: results of a European LeukemiaNET study. *Haematologica*. 2012; 97: 1209-17.
39. Reis-Alves SC, Traina F, Harada G, Campos PM, Saad ST, Metze K, et al. Immunophenotyping in myelodysplastic syndromes can add prognostic information to well-established and new clinical scores. *PLoS One*. 2013; 8: e81048.
40. Goldet G, Howick J. Understanding GRADE: an introduction. *J Evid Based Med* 2013; 6:50-4.
41. Levels of Evidence and Grades of Recommendations - Oxford Centre for Evidence Based Medicine. Disponível em URL: http://cebm.jr2.ox.ac.uk/docs/old_levels.htm.

ANEXO I

1. Questão Clínica

Quais exames são necessários para confirmação da Síndrome Mielodisplástica?

2. Pergunta estruturada (PICO)

Paciente – Pacientes com SMD

Intervenção – Hemograma com reticulócitos e citomorfologia

Mielograma com coloração para ferro (Perls)

Biópsia de medula óssea (hematoxilina – eosina e reticulina)

Cariótipo de medula óssea

Painel de FISH (hibridização in situ por fluorescência para pesquisa de monossomia /deleção dos cromossomos 5 e 7 e trissomia 8)

Imunofenotipagem de medula óssea por citometria de fluxo para pesquisa de alterações quantitativas e alterações de expressão de antígenos nos precursores hemopoiéticos na medula óssea.

Comparação – 0

Outcome – diagnóstico, confirmação

3. Critérios iniciais de elegibilidade dos estudos

- Componentes do PICO
- Sem limite de período consultado

- Sem limite de idiomas considerados
- Texto completo disponível obrigatório

4. Fontes de informação científica consultadas

Medline (via PubMed), EMBASE, Central (Cochrane), Lilacs (via BVS), busca manual.

4.1. Estratégias de buscas utilizadas

#1: (Myelodysplastic Syndrome OR Myelodysplastic Syndromes OR Dysmyelopoietic Syndromes OR Dysmyelopoietic Syndrome OR Hematopoetic Myelodysplasia OR Hematopoetic Myelodysplasias) = 22.751

#2: (Myeloid Neoplasms OR Pancytopenia OR Anemia, Refractory OR Lymphoid Neoplasms OR Primary Myelofibrosis OR Bone Marrow = 362.675

5. Seleção dos estudos

Inicialmente selecionados pelo título, sequencialmente pelo resumo, e por fim através de seu texto completo, sendo este último submetido à avaliação crítica e extração dos resultados relativos aos desfechos.

6. Avaliação crítica e força da evidência

A força da evidência dos estudos foi definida levando em consideração o desenho do estudo e os correspondentes riscos de vieses, os resultados da análise (magnitude e precisão), a relevância e a aplicabilidade (Oxford/GRADE)^{40,41}.