

U. PORTO



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO



**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS DE ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO**

HOSPITAL DE SANTO ANTÓNIO – CENTRO HOSPITALAR DO PORTO

Neoplasias mieloproliferativas: perfil genotípico e fenotípico das trombocitemias essenciais

Gil de Paiva Brás¹

Orientador: Dra. Cristina Gonçalves²

Co-orientador: Dra. Luciana Pinho²

¹Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar - Universidade do Porto

²Serviço de Hematologia Clínica do Hospital de Santo António – Centro Hospitalar do Porto

Artigo de Investigação Médica realizado no âmbito do Mestrado Integrado
em Medicina

Endereço de e-mail:
gpaivabras@gmail.com

Porto 2011

*“An expert is a man who has made all the mistakes,
which can be made, in a narrow field.”*

Niels Bohr

Agradecimentos

À Dra. Cristina Gonçalves e à Dra. Luciana Pinho pela orientação deste estudo e pela simpatia, disponibilidade e entusiasmo apresentados desde o primeiro contacto. O seu apoio e motivação foram a garantia da realização deste trabalho.

Na aprendizagem somos estimulados pelo conteúdo do conhecimento a adquirir mas também somos inspirados por quem o transmite.

Ao Dr. Jorge Coutinho, um agradecimento por ter sido uma inspiração nesta área, tornando-se para a minha formação, um sinónimo da palavra Hematologia.

Ao Dr. João Rodrigues, técnico superior de saúde do Laboratório de Hematologia Clínica do Hospital Santo António – Centro Hospitalar do Porto, pela disponibilização da base de dados referente ao estado mutacional para JAK2 V617F dos indivíduos com Neoplasias Mieloproliferativas em estudo no Serviço de Hematologia Clínica do Hospital Santo António – Centro Hospitalar do Porto.

À Dona Cecília Mendes, secretária da Consulta Externa do Serviço de Hematologia Clínica do Hospital Santo António – Centro Hospitalar do Porto, por ter sido um anjo da guarda e um grande impulso para a concretização da fase de colheita de dados.

Ao Flávio Ribeiro, meu colega e amigo de curso, pelas discussões e luzes dadas para o processamento estatístico dos dados.

Finalmente, à minha família, eles são o início, o meio e o fim de cada momento da minha vida, ou seja, eles são tudo.

Índice Geral

Agradecimentos	iii
Índice Geral.....	v
Índice de Figuras.....	vii
Índice de Tabelas	ix e x
Resumo	xii
Abstract.....	xiv
Abreviaturas.....	xvi e xvii
Introdução	1 e 2
Material e Métodos	3 a 5
Resultados.....	6 a 14
Discussão	15 a 22
Conclusões	23 a 24
Conflitos de Interesse.....	25
Referências.....	26 a 28
Anexos	

Índice de Figuras

- Figura 1:** Gráfico de caixa com a apresentação da dispersão etária para a idade de diagnóstico Pág. 7
- Figura 2:** Ilustração da distribuição e dispersão dos valores no diagnóstico de hemoglobina, hematócrito, leucócitos, plaquetas e eritropoietina para os genótipos estudados Pág. 9 a 11

Índice de Tabelas

Tabela I: Definição dos eventos clínicos pesquisados no diagnóstico e seguimentos da doença.....	Pág. 4
Tabela II: Definição de Factores de Risco Trombótico não específicos para TE	Pág. 4
Tabela III: Características da amostra em estudo no início do seu seguimento da consulta de Hematologia Clínica.....	Pág. 6
Tabela IV: Diferentes tipos de factores de risco trombóticos não específicos para TE apresentados no início do seguimento na consulta de Hematologia Clínica	Pág. 6
Tabela V: Apresentação dos 5 extremos etários mínimos e máximos da idade de diagnóstico para cada sexo	Pág. 7
Tabela VI: Dados Clínicos no momento do diagnóstico, discriminados de acordo com o estado mutacional.....	Pág. 8
Tabela VII: Discriminação dos eventos trombóticos, hemorrágicos e da microcirculação registados no momento do diagnóstico.....	Pág. 12
Tabela VIII: Ocorrência de trombose mediante a presença de factores de risco trombóticos	Pág. 13
Tabela IX: Influência da antiagregação plaquetária na ocorrência de trombose na admissão, em indivíduos com história de trombose prévia no diagnóstico de TE	Pág. 13
Tabela X: Comparação entre estudos das características ao diagnóstico de indivíduos com TE.....	Pág. 15
Tabela XI: Comparação dos valores do Hemograma ao diagnóstico e da tipologia dos fenómenos trombóticos nos indivíduos com TE entre o presente estudo e outros estudos de referência.....	Pág. 18
Tabela XII: Dados referentes a trombose no diagnóstico e discriminação em eventos arteriais e venosos consoante o genótipo.....	Pág. 19
Tabela XIII: Dados referentes à ocorrência de trombose no diagnóstico e no seguimento da doença	Pág. 20

Tabela XIV: Eventos hemorrágicos no diagnóstico e comparação com outros estudos Pág. 21

Tabela XV: Eventos da microcirculação no diagnóstico
e comparação com outros estudos Pág. 22

Resumo

A Trombocitemia Essencial é uma Neoplasia Mieloproliferativa BCR-Abl negativa que em 50% dos casos apresenta um marcador clonal, a mutação JAK2 V617F. A maioria dos doentes são assintomáticos mas também podem apresentar eventos trombóticos e hemorrágicos, fenómenos da microcirculação, progressão para outros tipos de Neoplasias Mieloproliferativas, como Policitemia Vera ou Mielofibrose, e ainda transformação leucémica.

Os objectivos deste trabalho são: através da casuística da Trombocitemia Essencial num Centro Hospitalar, estudar as diferenças fenotípicas associadas a cada genótipo, estabelecer a comparação dos resultados com outros estudos internacionais e acrescentar dados à casuística nacional desta doença. Com esse fim, procedeu-se à consulta retrospectiva de processos clínicos.

Dos 72 indivíduos estudados, verificou-se que a mutação JAK2 V617F esteve presente em 46 (63,9%). Os JAK2 V617F-positivos apresentaram fenótipo com tendência para valores superiores de hemoglobina (14,1g/dL vs 13,6g/dL), hematócrito (43,1% vs 41,5%) e leucócitos ($10,8 \times 10^9/L$ vs $7,8 \times 10^9/L$) e valores inferiores de plaquetas ($889 \times 10^9/L$ vs $1041 \times 10^9/L$) e eritropoietina (5,8 u/mL vs 8,2 u/mL). Quanto à clínica de apresentação, a maioria era assintomática. Dos sintomáticos, os JAK2 V617F-positivos apresentaram maior tendência para trombose (30,4% vs 23,1%) e fenómenos da microcirculação (19,6% vs 7,7%), e menor tendência para hemorragia (8,7% vs 11,5%). Os únicos casos de evolução para Policitemia Vera ocorreram em JAK2 V617F-positivos, num total de 6 indivíduos. Não houve nenhum caso de transformação leucémica.

Com estes resultados conclui-se que indivíduos com Trombocitemia Essencial JAK2 V617F-positivos têm maior tendência a apresentar fenótipos mais próximos da Policitemia Vera, com valores superiores de hemoglobina, hematócrito e leucócitos e contagens inferiores de plaquetas em comparação com JAK2 V617F-negativos que tendencialmente apresentam elevação isolada e de maior magnitude da contagem de plaquetas. Quanto a clínica, há maior tendência para trombose e fenómenos da microcirculação nos JAK2 V617F-positivos e maior tendência à hemorragia nos JAK2 V617F-negativos.

PALAVRAS-CHAVE:

Trombocitemia Essencial, JAK2 V617F, trombose, hemorragia, microcirculação.

Abstract

The Essential Thrombocythemia is a Myeloproliferative Neoplasia, negative for the BCR-Abl mutation, with a clonal marker, the JAK2 V617F mutation, present in 50% of the cases.

The majority of patients are asymptomatic, but they can also present with thrombotic and hemorrhagic events, microcirculation phenomena, progression to other types of Myeloproliferative Neoplasias, such as Polycythemia Vera or Myelofibrosis, and also leukemic transformation.

Through the retrospective consultation of clinical files and analysis of the casuistic of the Essential Thrombocythemia in a Hospital Centre, this work aims to study the phenotypical differences between positive and negative individuals for the JAK2 V617F mutation and establish a comparison of the results with other international works.

In 72 individuals, 46 (63,9%) were positive for the JAK2 V617F mutation. This group shown a tendency to phenotypes with higher medium levels of hemoglobin (14,1 g/dL vs 13,6 g/dL), hematocrit (43,1% vs 41,5%) and leucocytes ($10,8 \times 10^9/L$ vs $7,8 \times 10^9/L$) and lower levels of platelets ($889 \times 10^9/L$ vs $1041 \times 10^9/L$) and erythropoietin (5,8 u/mL vs 8,2 u/mL), than the negative ones for the mutation.

At the clinical presentation, the majority was asymptomatic. In the symptomatic group, the positive ones to the JAK2 V617F mutation had a major tendency to thrombosis (30,4% vs 23,1%) and microcirculation phenomena (19,6% vs 7,7%) and less tendency to hemorrhage (8,7% vs 11,5%) than the JAK2 V617F-negative patients. The evolution to Polycythemia Vera occurred only in JAK2 V617F-positive patients (6 individuals). There was any case of leukemic transformation.

For conclusion, the patients with JAK2 V617F-positive essential thrombocythemia has a tendency to phenotypes similar to Polycythemia Vera, with higher values of hemoglobin, hematocrit and leucocytes and lower levels of platelets in comparison with the JAK2 V617F-negative patients whom have an isolated raise and in a higher magnitude of the platelets' levels.

At the clinical presentation, there's a tendency for thrombosis and microcirculatory phenomena in the JAK2 V617F-positive ones and hemorrhage in the negative ones.

KEY WORDS:

Essential Thrombocythemia, JAK2 V617F mutation, thrombosis, hemorrhage, microcirculation.

Abreviaturas

ACO: Anticoncepcionais Orais

Adm: Admissão

AVC/AIT: Acidente Vascular Cerebral/Acidente Isquémico Transitório

DM: Diabetes Mellitus

EAM: Enfarte Agudo do Miocárdio

EPO: Eritropoietina

FA: Fibrilhação Auricular

GIMENA: *Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto*

Hb: Hemoglobina

HSA-CHP: Hospital de Santo António – Centro Hospitalar do Porto

HTA: Hipertensão Arterial

Htc: Hematócrito

IRC: Insuficiência Renal Crónica

LMA: Leucemia Mielóide Aguda

LMC: Leucemia Mielóide Crónica

MFP: Mielofibrose Primária

NMP: Neoplasias Mieloproliferativas

OMS: Organização Mundial de Saúde

OR: Odds Ratio

PV: Policitemia Vera

SCA: Síndrome Coronário Agudo

TAE: Trombose Arterial Esplâncnica

TAP: Trombose Arterial Periférica

TE: Trombocitemia Essencial

TVE: Trombose Venosa Esplâncnica

TVP: Trombose Venosa Profunda

Introdução:

A Trombocitemia Essencial (TE), doença rara com uma prevalência estimada de 24-30/100000, é uma das Neoplasias Mieloproliferativas (NMP) mais comuns [1,2].

As NMP são um grupo heterogéneo de doenças que se caracterizam por proliferação clonal das linhagens eritróide, megacariocítica ou mielóide. Segundo a mais recente Classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2008 [3], as NMP dividem-se em dois grupos: as BCR-ABL1-positivas, que inclui a Leucemia Mielóide Crónica (LMC), e as BCR-ABL1-negativas, das quais as mais frequentes: Policitemia Vera (PV), Trombocitemia Essencial (TE) e a Mielofibrose Primária (MFP). Desde 1951, com a primeira descrição dos Síndromes Mieloproliferativos por W. Dameshek [4], tem-se discutido se estas 3 entidades (PV, TE e MFP) são entidades distintas ou um espectro da mesma doença.

O ano de 2005 foi crucial para o reconhecimento das NMP BCR-ABL1-negativas como sendo, tal como a LMC, neoplasias resultantes da proliferação hematopoiética clonal. Na sua origem encontram-se mutações de genes que codificam para proteínas com domínios enzimáticos de tirosina cinases, as JAK, conferindo-lhes ganho de função autónoma [5-8]. Actualmente, a mutação mais estudada é a JAK2 V617F, encontrando-se presente em 90% dos indivíduos com PV, e perto de metade dos indivíduos com MFP e TE [9]. No que respeita à TE JAK2 V617F-negativa, uma pequena percentagem de indivíduos pode apresentar mutações esporádicas no receptor da trombopoietina, MPL (MPL W515K, MPL W515L). Nesse grupo, a prevalência de mutações MPL pode ir até 8,5%, cerca de 4% da totalidade das TE [10]. Existe também, embora em pequeno número, síndromes familiares de TE, associados a mutações herdadas no receptor de trombopoietina, MPL S505N, bem como mutações da própria trombopoietina, THPO [11].

A descoberta das mutações JAK2 V617F e MPL, para além de novas perspectivas de diagnóstico, levantou questões quanto à possível relação entre o perfil genotípico e os diferentes fenótipos que a TE apresenta: trombose, hemorragia, fenómenos da microcirculação e transformação leucémica.

Estudos recentes demonstram que o risco de trombose na TE é maior nos indivíduos com idade >60 anos, história prévia de trombose, JAK2 V617F-positivos [12,13], leucocitose (mais frequente nos casos JAK2 V617F-positivos) [14,15], maior carga alélica da mutação JAK2 V617F (homozigóticos) [16,17].

Relativamente ao risco de hemorragia, parece não haver relação entre o status mutacional para JAK2 V617F e eventos hemorrágicos [12,13]. No entanto, estudos demonstram que os eventos hemorrágicos na TE estão associados a contagens elevadas de plaquetas, acima de $1000-1500 \times 10^9/L$, mais frequentes em indivíduos JAK2 V617F negativos ou com mutações MPL [10,18]. As contagens de plaquetas muito elevadas causam fenómenos hemorrágicos devido a depleção de factor de Von Willebrand por aderência à superfície das plaquetas em elevado número [10,18].

Relativamente à transformação leucémica, os estudos são contraditórios na determinação da sua origem. Uns apontam para o aparecimento de um clone de novo relacionado com a medicação citotóxica usada no tratamento da TE [19], outros apontam para transformações em clones pré-JAK2 ou mutações adicionais em clones JAK2 positivos [20]. O único dado consensual parece ser o aumento de risco em idades mais avançadas (> 60 anos) e doença de longa duração [21].

Os objectivos deste trabalho são:

- 1) Estudar a casuística da TE no Serviço de Hematologia Clínica do Hospital Santo António – Centro Hospitalar do Porto (HSA-CHP);
- 2) Estudar as diferenças fenotípicas associadas a cada genótipo no que respeita a dados analíticos, fenómenos trombóticos, hemorrágicos ou da microcirculação e progressão da doença;
- 3) Estabelecer a comparação dos resultados com outros estudos internacionais;
- 4) Acrescentar dados à casuística nacional desta doença, onde estudos nesta área são escassos.

Material e Métodos:

Material:

Para a realização deste trabalho, foi estudada a população de doentes do Serviço de Hematologia Clínica do HSA-CHP registados com o diagnóstico de TE. Para isso, foi consultada a base de dados de NMP desse serviço e seleccionados os casos em estudo para trombocitoses, num total de 153 indivíduos. Desse grupo, foram seleccionados aqueles com diagnóstico confirmado de TE, um total de 72 indivíduos. Para inclusão neste grupo de estudo da TE, os 72 indivíduos seleccionados apresentavam os critérios de diagnóstico preconizados pela OMS em 2008 para a TE [3], em fase pré-terapêutica. Como se pretende obter uma casuística com distribuição etária e por sexos, não houve a necessidade de criação de grupos com igual número para as referidas variáveis. Para a recolha dos dados clínicos de cada indivíduo procedeu-se à consulta do respectivo processo clínico. A consulta teve lugar desde início de Janeiro até final de Março, não estando incluídos quaisquer indivíduos cujo diagnóstico tenha sido confirmado para além de Janeiro. A confidencialidade dos dados referentes a cada indivíduo foi garantida e o projecto do estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Centro Hospitalar onde o mesmo foi realizado.

Métodos:

Apesar da consulta de processos clínicos ser retrospectiva, o desenho do estudo apresenta-se como uma coorte histórica: a colheita dos dados clínicos e analíticos iniciou-se desde a primeira consulta no serviço de Hematologia Clínica para investigação de trombocitose e avaliou-se a evolução clínica de cada indivíduo durante o seu período de follow-up.

Relativamente à definição de eventos clínicos, os mesmos basearam-se nas definições encontradas no trabalho de um grupo italiano, o GIMENA [22], que serviu como estudo referência ao apresentado (Tabela I).

Tabela I: Definição dos eventos clínicos pesquisados no diagnóstico e seguimentos da doença.

Trombóticos*	Hemorragicos	Microcirculação
AVC/AIT	Epistáxis	Enxaqueca
AIT	Gengivorragias	F. Raynaud
EAM	Petéquias	Eritromelalgia
TAP	Equimoses	Parestesias distais
TVP	Intracraniana	Acrocianose
Tromboflebite	Ocular	
TAE	Articular	
TVE	Retroperitoneal	
Oclusão Retiniana		

*AVC/AIT: Acidente Vascular Cerebral/Acidente Isquémico Transitório; EAM: Enfarte Agudo do Miocárdio; TAP: Trombose Arterial Periférica; TVP: Trombose Venosa Profunda; TAE: Trombose Arterial Esplâncnica; TVE: Trombose Venosa Esplâncnica.

Para estes 3 grupos de eventos clínicos, pesquisou-se a sua ocorrência no momento do diagnóstico e durante o período de seguimento da doença. Para trombose, pesquisou-se também a sua ocorrência antes do diagnóstico. Na avaliação da transformação leucêmica, foram usados os critérios de diagnóstico da OMS para a Leucemia Mielóide Aguda (LMA) de 2008 [3].

Os factores de risco trombóticos não específicos para TE no momento do diagnóstico, considerados para pesquisa, estão discriminados na tabela II.

Tabela II: Definição de Factores de Risco Trombótico não específicos para TE.

Factor de Risco Trombótico não específicos para TE:
Tabagismo
Dislipidemia
Hipertensão Arterial (HTA)
Diabetes Mellitus (DM)
Fibrilhação Auricular (FA)
Cirurgia Major*
Coagulopatia
Def. de Antitrombina III
Def. Proteína C e S
Mutaçao do Factor V de Leiden
Protrombina G20210A
Hiperhomocisteinemia
Lúpus Anticoagulante
Anticorpos Antifosfolípídeo
Lesão Vascular
Insuficiência Venosa Crónica
Manipulação Vascular
Insuficiência Renal Crónica**
Neoplasia***
Anticoncepcionais Orais
Terapia Hormonal de Substituição

*Mês que antecedeu o diagnóstico

**Proteinúria nefrótica; a partir do estadio IV: Taxa de Filtração Glomerular <30 ml/min.

***No momento do diagnóstico.

Como valores de cutoff para elementos do hemograma e valores de eritropoietina, foram considerados os usados pelo Serviço de Hematologia Clínica do CHP-HSA na sua prática clínica. Esplenomegalia foi definida como baço >15cm no seu eixo maior, medido por ecografia abdominal, seguindo as recomendações dos novos critérios de diagnóstico preconizados pela OMS em 2008 para a TE, em fase pré-terapêutica [3].

No que respeita ao tratamento estatístico dos dados, para o estabelecimento da relação entre variáveis categóricas (cada variável com 2 categorias apenas) usou-se o teste de qui-quadrado para independência e o teste de Fischer quando as premissas para realização de qui-quadrado não estavam cumpridas. Para o estabelecimento da relação entre uma variável contínua (eg. idade) e outra categórica com 2 grupos (eg. fenómenos trombóticos) usou-se o teste de Mann-Whitney para amostras independentes. A significância estatística foi definida por $p < 0,05$. O programa informático de processamento estatístico usado foi o SPSS versão 18.0.

Resultados:

As características que os 72 indivíduos participantes apresentavam no início do seu seguimento na consulta de Hematologia estão evidenciadas na tabela III.

Tabela III: Características da amostra em estudo no início do seu seguimento da consulta de Hematologia Clínica.

Característica	Valores
Sexo: Masculino/Feminino - n° (%)	29 (40,3%)/43 (59,7%)
Razão Masculino : Feminino	1 : 1,5
Idade ao diagnóstico:	
Global – mediana (extremos)	59 (20-90)
Masculino/Feminino – mediana (extremos)	57 (35-85)/60 (20-90)
Factor de Risco Trombótico inespecífico para TE (pelo menos 1): n° (%)	53 (73,6%)
Mutação JAK2 V617F: n° (%)	46 (63,9%)

Tabela IV: Diferentes tipos de factores de risco trombóticos não específicos para TE apresentados no início do seguimento na consulta de Hematologia Clínica.

Factor de Risco Trombótico	Nº casos
Tabagismo	12 (16,7%)
Dislipidemia	16 (22,2%)
Hipertensão Arterial	34 (47,2%)
Diabetes Mellitus	3 (4,2%)
Fibrilhação Auricular	4 (5,6%)
Cirurgia Major	1 (1,4%)
Coagulopatia	2 (2,8%)
Lesão Vascular	10 (13,9%)
IRC	2 (2,8%)
Neoplasia	0
Anticoncepcionais Orais*	5 (11,6%)*
Terapia Substituição Hormonal	0

*Percentagem parcial para o sexo feminino.

Quanto à distribuição etária dos indivíduos, houve uma grande dispersão dos valores de idade ao diagnóstico para ambos os sexos (figura 1). Das idades registadas, 50% situaram-se num intervalo entre os 47-69 anos para sexo masculino e entre os 44-75 anos para o sexo feminino. Os extremos etários aparecem evidenciados na tabela V.

Figura 1: Gráfico de caixa com a apresentação da dispersão etária para a idade de diagnóstico.

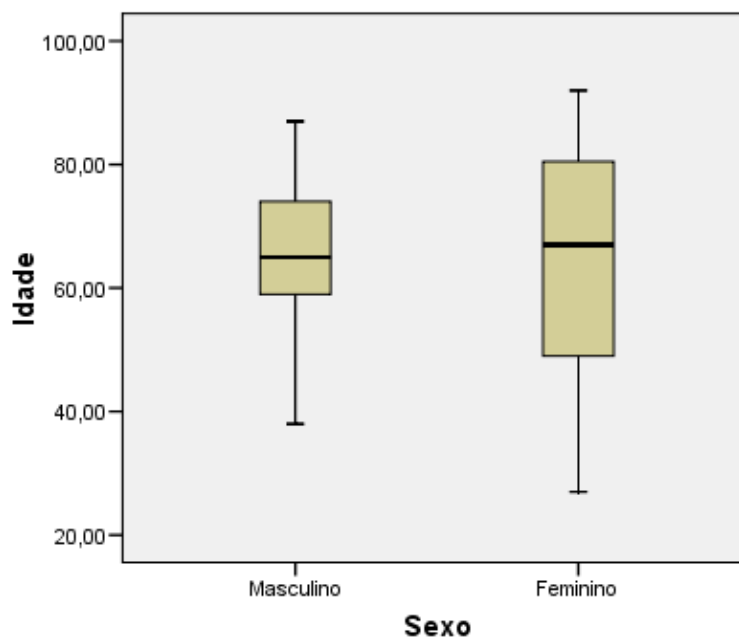


Tabela V: Apresentação dos 5 extremos etários mínimos e máximos da idade de diagnóstico para cada sexo.

Sexo	Extremos Etários Máximos	Extremos Etários Mínimos
Masculino	<i>Máximos</i>	<i>Mínimos</i>
	85	41
	82	37
	79	37
	70	37
	70	35
Feminino	<i>Máximos</i>	<i>Mínimos</i>
	90	29
	85	29
	83	27
	82	21
	81	20

No momento do diagnóstico, os diferentes fenótipos apresentados pelos indivíduos JAK2 V617F-positivos e JAK2 V617F-negativos encontram-se evidenciados na tabela VI.

Tabela VI: Dados Clínicos no momento do diagnóstico, discriminados de acordo com o estado mutacional.

Fenótipo ao Diagnóstico	JAK2 V617F-positivos	JAK2 V617F-negativos	Qui-Quadrado (valor p)	Mann-Whitney (valor p)
Hemograma				
Hemoglobina (g/dL)				
Global	14,1	13,6		0,573
Masculino	15,8	14,1		0,016
Feminino	13,4	13,0		0,587
Poliglobulia – n°(%)	9 (19,6%)	0 (0%)	0,022	
Hematócrito (%)				
Global	43,1	41,5		0,275
Masculino	47,5	42,7		0,004
Feminino	41,2	39,9		0,504
Hematócrito aumentado – n°(%)	9 (19,6%)	1 (3,8%)	0,083	
Leucócitos (n/L)	10,8x10 ⁹	7,8x10 ⁹		0,002
Leucocitose - n°(%)	16 (34,8%)	2 (7,7%)	0,012	
Plaquetas (n/L)	889x10 ⁹	1 041x10 ⁹		0,024
Eritropoietina (u/ml):				
Global	5,8	8,2		0,497
Masculino	3,3	6,8		0,946
Feminino	6,9	9,7		0,497
Esplenomegalia – n°(%)	6 (13,6%)	3 (14,3%)	0,784	
Fenómenos no Diagnóstico*				
Trombóticos – n°(%)	14 (30,4%)	6 (23,1%)	0,591 (OR=1,458)	
Hemorrágicos – n°(%)	4 (8,7%)	3 (11,5%)	0,698 (OR=0,730)	
Microcirculação – n°(%)	9 (19,6%)	2 (7,7%)	0,307 (OR=2,919)	

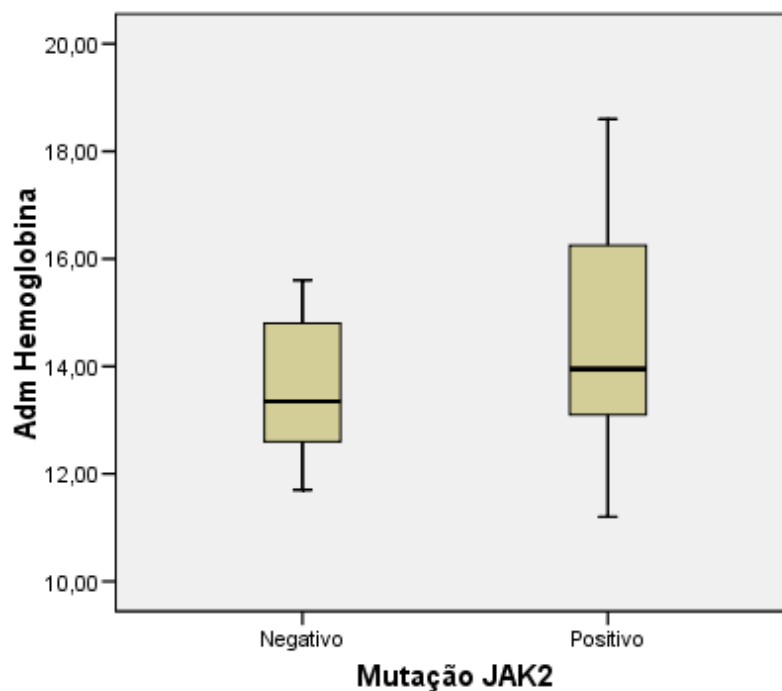
*4 indivíduos apresentaram simultaneamente fenómenos trombóticos e da microcirculação e 2 indivíduos apresentaram simultaneamente fenómenos hemorrágicos e da microcirculação.

Comparando os indivíduos JAK2 V617F-positivos com os JAK2 V617F-negativos para os valores de hemograma, verifica-se que os valores médios de Hb e Htc foram tendencialmente superiores nos indivíduos com mutação (Hb: p=0,573; Htc: p=0,275). No entanto, apenas existe relação estatisticamente significativa quando comparados individualmente os indivíduos do sexo masculino (Hb: p=0,016; Htc: p=0,004). Houve a necessidade de comparar as médias de Hb e Htc separadamente para os dois sexos, uma vez que tendencialmente os valores destas variáveis são diferentes

para ambos, ou seja, na ausência de doença, os indivíduos do sexo masculino apresentam valores de Hb e Htc superiores aos do sexo feminino. No que respeita à presença de poliglobulia, ficou demonstrada uma relação significativa entre esta variável e a presença de mutação JAK2 V617F ($p=0,022$). O mesmo não se verificou para o Htc aumentado ($p=0,083$), no entanto foi evidente a tendência dos indivíduos JAK2 V617F-positivos para um maior número de casos com valores de Htc acima do limite máximo do normal. Na comparação da média da contagem de leucócitos, os indivíduos JAK2 V617F-positivos apresentaram um valor superior ($p=0,002$). Esta tendência viu-se reforçada pelo achado de maior número de indivíduos com leucocitose no grupo JAK2 V617F-positivos ($p=0,011$). Para a média da contagem de plaquetas, os indivíduos JAK2 V617F-negativos apresentaram um valor superior ($p=0,04$). Quanto aos valores médios de EPO, inferiores para os indivíduos JAK2 V617F-positivos, não ficou demonstrada a significância estatística desse resultado ($p=0,497$).

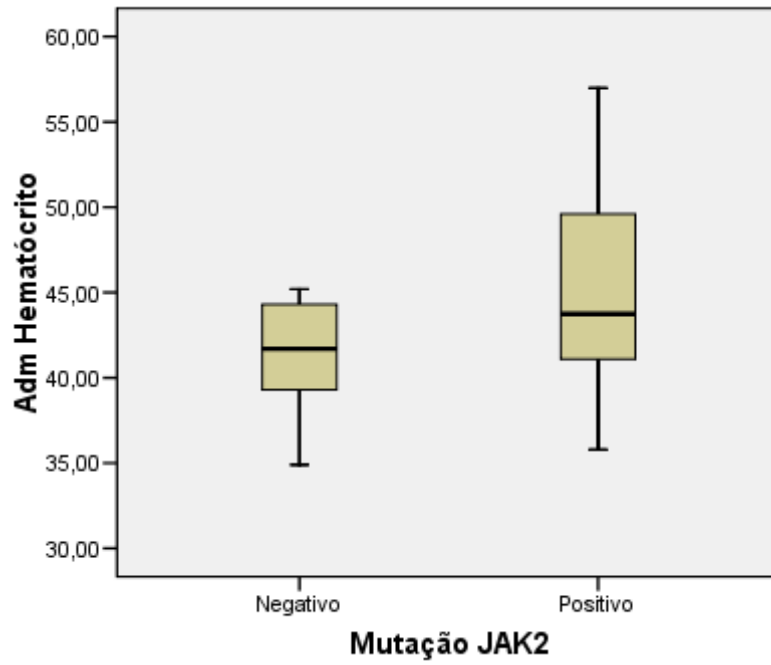
Figura 2: Ilustração da distribuição e dispersão dos valores no diagnóstico de a) hemoglobina, b) hematócrito, c) leucócitos, d) plaquetas, e) eritropoietina para os genótipos estudados.

a)

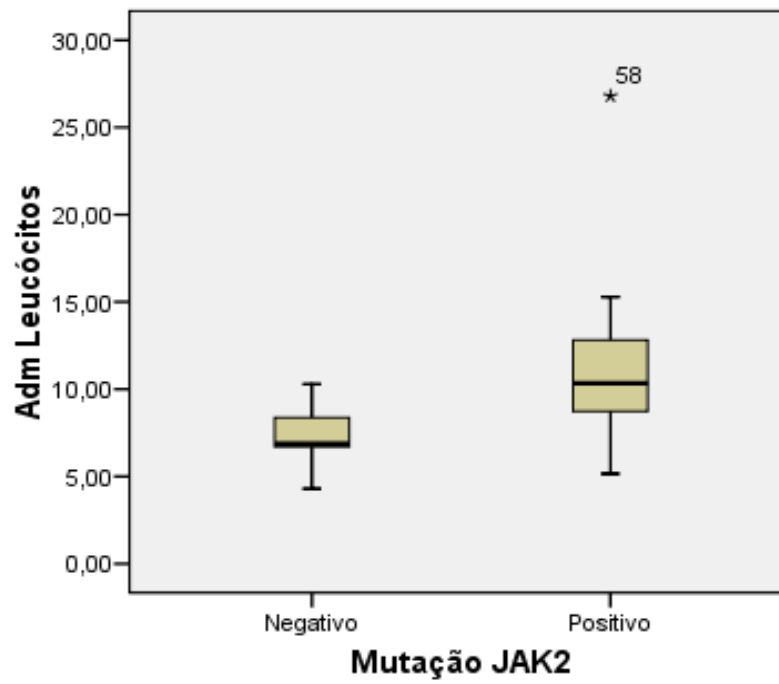


(Continuação da Fig. 2)

b)

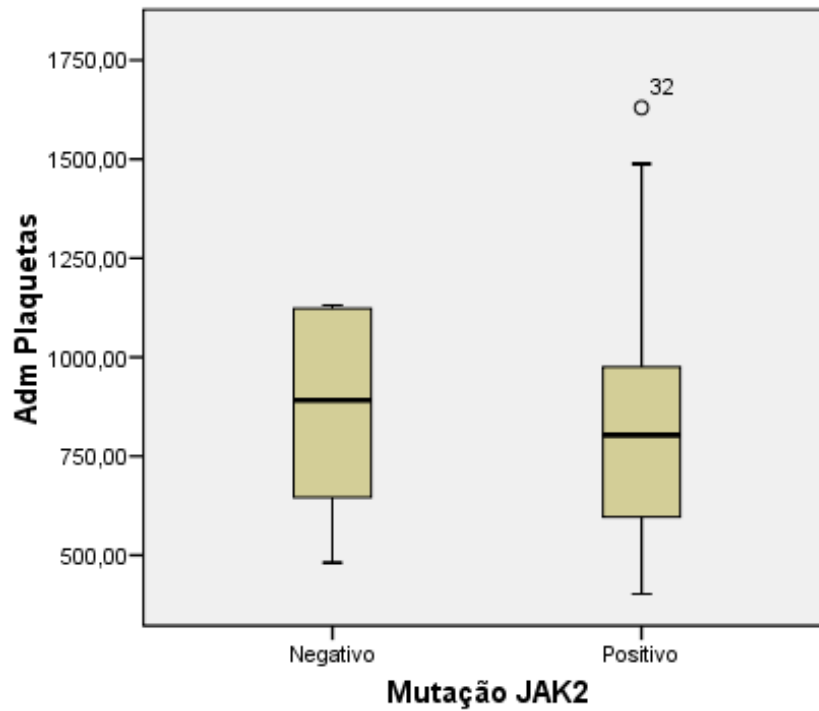


c)

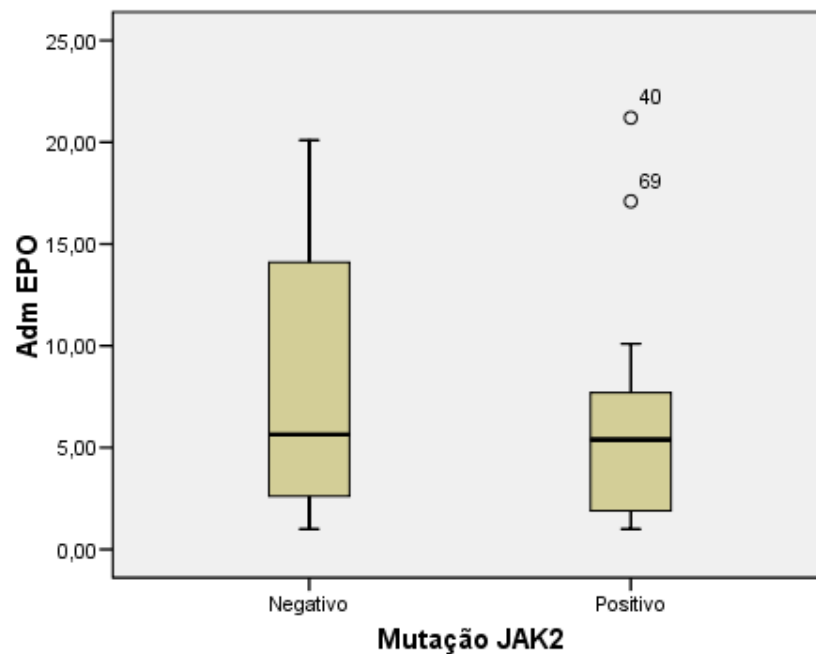


(Continuação da Fig. 2)

d)



e)



Os gráficos de caixas da figura 2, demonstram a tendência, acima descrita, dos indivíduos JAK2 V617F-positivos para a apresentação de valores mais elevados de Hb, Htc e leucócitos e valores mais reduzidos de plaquetas e EPO.

Relativamente à clínica no diagnóstico, houve uma tendência para que os fenómenos trombóticos ($p=0,591$; $OR=1,458$) e da microcirculação ($p=0,307$; $OR=2,919$) ocorressem mais frequentemente no grupo JAK2 V617F-positivo enquanto os fenómenos hemorrágicos foram mais frequentes no grupo JAK2 V617F-negativo ($p=0,698$; $OR=0,730$). Os tipos de fenómenos trombóticos, hemorrágicos e da microcirculação mais frequentes no diagnóstico estão discriminados na tabela VII.

Tabela VII: Discriminação dos eventos trombóticos, hemorrágicos e da microcirculação registados no momento do diagnóstico.

Trombóticos*		Hemorrágicos		Microcirculação	
Tipo	Nº (%)	Tipo	Nº (%)	Tipo	Nº (%)
AVC	7 (35%)	Epistáxis	4 (57,1%)	Enxaqueca	9 (81,8%)
AIT	2 (10%)	Gengivorragias	3 (42,9%)	F. Raynaud	2 (18,2%)
EAM	2 (10%)	Equimoses	1 (14,3%)	Eritromelalgia	0
TAP	2 (10%)	Intracraniana	0	Parestesias distais	0
TVP	2 (10%)	Ocular	0	Acrocianose	0
Tromboflebite	2 (10%)	Articular	0		
TAE	1 (5%)	Retroperitoneal	0		
TVE	1 (5%)				
Oclusão Retiniana	1 (5%)				
Total	20(27,8%)	Total	8 (11%)	Total	11(15,7%)
Arterial	14 (70%)				
Venoso	6 (30%)				
Total	20 (100%)				

*AVC/AIT: Acidente Vascular Cerebral/Acidente Isquémico Transitório; EAM: Enfarte Agudo do Miocárdio; TAP: Trombose Arterial Periférica; TVP: Trombose Venosa Profunda; TAE: Trombose Arterial Esplâncnica; TVE: Trombose Venosa Esplâncnica.

Relativamente à ocorrência de trombose na admissão, para além da influência de factores de risco trombóticos já determinados para TE (idade>60 anos, trombose prévia, plaquetas>1500x10⁹/L, leucocitose, mutação JAK2 V617F) [23], estudou-se também a possível influência de outros factores de risco trombóticos inespecíficos (Tabela IV). Como evidenciado na Tabela VIII, apesar de valores $p>0,05$ para idade>60 anos, plaquetas>1500x10⁹/L, presença da mutação JAK2 V617F e factor de risco trombótico inespecífico, estes factores apresentaram valores de $OR>1$, o que indicia uma tendência para a ocorrência de trombose.

Tabela VIII: Ocorrência de trombose mediante a presença de factores de risco trombóticos.

Factores que poderão influenciar o risco de trombose na admissão		Trombose no Diagnóstico			
		Sim	Não	Total	OR Valor P
Idade*	<60 anos	9 (24,3%)	28 (75,7%)	37 (100%)	1,426 0,501
	>60 anos	11 (31,4%)	24 (68,6%)	35 (100%)	
Leucocitose*	Sim	5 (27,8%)	13 (72,2%)	18 (100%)	1 1
	Não	15 (27,8%)	39 (72,2%)	54 (100%)	
Plaquetas*	<1500x10 ⁹	17 (25,8%)	49 (74,2%)	66 (100%)	2,882 0,204
	>1500x10 ⁹	3 (50%)	3 (50%)	6 (100%)	
JAK2 V617F*	Sim	14 (30,4%)	32 (69,6%)	46 (100%)	1,458 0,503
	Não	6 (23,1%)	20 (76,9%)	26 (100%)	
Trombose Prévia*	Sim	2 (25%)	6 (75%)	8 (100%)	0,852 0,023
	Não	18 (28,1%)	46 (71,9%)	64 (100%)	
Factor de Risco Trombótico Inespecífico	Sim	15 (28,3%)	38 (71,7%)	53 (100%)	1,105 0,868
	Não	5 (26,3%)	14 (73,7%)	19 (100%)	

*Factores de Risco Trombóticos específicos para a TE.

Apesar da presença de relação estatística ($p=0,023$), o valor de $OR=0,852 < 1$ indica uma menor probabilidade de trombose na admissão nos indivíduos com trombose prévia. O mesmo não se verificou para a relação entre trombose na admissão e trombose no seguimento da doença, uma vez que para além de $p=0,023$, o valor de $OR=4,029$ indica uma maior probabilidade de ocorrência de trombose no seguimento nos indivíduos com trombose na admissão.

Tabela IX: Influência da antiagregação plaquetária na ocorrência de trombose na admissão, em indivíduos com história de trombose prévia no diagnóstico de TE.

Trombose Prévia	Antiagregação Plaquetária	Trombose na Admissão		
		Não	Sim	OR Valor P
	Não	2	2	1,267 0,626
	Sim	4	0	0,333 0,375

A tabela IX, apesar de valores de $p > 0,05$, evidencia uma tendência ($OR=0,333 < 1$) para que, no grupo de indivíduos com história de trombose prévia, a antiagregação plaquetária tenha contribuído para a diminuição da ocorrência de trombose na admissão.

Da avaliação da evolução fenotípica dos indivíduos com TE para outros fenótipos das NMP, nomeadamente PV ou MFP, verificou-se a evolução para PV de 6 indivíduos JAK2 V617F-positivos ($p=0,054$, $OR=1,150$). Não se verificou evolução fenotípica em qualquer um dos indivíduos JAK2 V617F-negativos.

Não se verificou transformação leucémica em qualquer um dos indivíduos estudados.

Discussão:

Analisando os resultados obtidos para a caracterização da amostra no início do seu seguimento na consulta de Hematologia Clínica, verificou-se que a mediana e extremos etários desta amostra são próximos dos valores obtidos noutros estudos de características semelhantes (Tabela X). Embora neste estudo se tenha investigado a mediana da idade ao diagnóstico para diferentes sexos, não há uma diferença significativa entre ambos, o que sugere que o sexo não interfere na idade de apresentação. O ligeiro predomínio do sexo feminino numa razão M/F de 1:1,5 também está em concordância com os resultados obtidos em outros estudos de referência (Tabela X). A presença de um número superior de indivíduos com pelo menos 1 factor de risco trombótico ao diagnóstico em relação a estudos comparativos (Tabela X) poderá explicada pelo facto de se ter entrado em conta com um maior número de factores de risco pró-trombóticos que não tinham sido considerados no trabalho de Stefano et al (2008) [22], que serviu de referência, nomeadamente: cirurgia major até 1 mês antes do diagnóstico, coagulopatia, lesão vascular, IRC, doença oncológica, ACO, terapia hormonal de substituição.

Tabela X: Comparação entre estudos das características ao diagnóstico de indivíduos com TE.

Característica	Brás G.	Campbell et al [24]	Steffano et al [22]	Passamonti et al [21]	Patriarca et al [25]
Sexo: Masculino/Feminino - nº (%)	29/43 (40,3%/59,7%)	312/464 (40,2%/59,8%)	239/255 (48,3%/51,6%)	224/381 (37%/63%)	45/65 (42,5%/57,5%)
Razão Masculino : Feminino	1 : 1,5	1:1,5	1 : 1,1	1 : 1,7	1 :1,4
Idade ao diagnóstico: Global – mediana (extremos)	59 (20-90)	***	62 (18-88)	50 (16-90)	**
Factor de Risco Trombótico não específico para TE (pelo menos 1):nº (%)	53 (73,6%)	***	289 (58,5%)	*	*
Mutação JAK2 V617F: nº (%)	46 (63,9%)	414 (53,4%)	*	*	60 (56,6%)

*Ausência de dados para essa variável.

**Mediana da idade ao diagnóstico individualizada para indivíduos positivos e negativos para JAK2 V617F.

***Ausência de dados.

A elevada percentagem de indivíduos com factores de risco trombóticos na admissão poderá relacionar-se com o facto de a idade de instalação da doença na maioria dos casos ser coincidente com a idade em que se começa a instalar patologia e factores de risco cardiovasculares.

Quanto às características do hemograma, verificou-se que para os valores de Hb e Htc, a tendência de os indivíduos JAK2 V617F-positivos apresentarem valores superiores está de acordo com outros estudos realizados (Tabela XI). Ainda a favor desta concepção, demonstrou-se que os indivíduos JAK2 V617F-positivos apresentam um maior número de casos de Htc aumentado e é também o único genótipo a apresentar casos de poliglobulia (Tabela VI). Relativamente à contagem de leucócitos e plaquetas, à semelhança de outras publicações, demonstrou-se que os indivíduos JAK2 V617F-positivos têm uma tendência a apresentar maior contagem do nº de leucócitos e menor contagem do nº de plaquetas (Tabela XI). O facto de os indivíduos JAK2 V617F-positivos terem demonstrados valores médios de EPO inferiores, é explicado pela tendência a fenótipos com valores de Hb e Htc superiores, o que inibe a produção de EPO por feedback negativo [24]. De acordo com os estudos anteriores [17,27], seria de esperar uma maior percentagem de casos de esplenomegalia nos indivíduos JAK2 V617F-positivos, uma vez que fenótipos com maior tendência a eritrocitose obrigam a um maior sequestro esplénico de eritrócitos, sem esquecer também a hematopoiese extramedular que os indivíduos que evoluem a PV acabam por desenvolver. No entanto, é importante referir: uma importante quantidade de indivíduos não realizou ecografia no momento do diagnóstico da doença uma vez que, antes da revisão de 2008 dos critérios de diagnóstico de TE [3], esplenomegalia era definida por baço palpável ao exame físico, não sendo necessária a realização de exame imagiológico perante exame físico normal; por outro lado, a ecografia é um exame com grande variação inter-observador na obtenção de uma medida do baço.

A tendência para os indivíduos JAK2 V617F-positivos apresentarem fenótipos com maior proliferação eritróide e mielóide tem vindo a ser sugerido tanto por estudos em modelos animais [16] como em estudos observacionais humanos [24]. Assente nesta ideia de que as NMP JAK2 V617F-positivas poderão constituir um espectro de uma só doença, pesquisou-se a presença de evolução fenotípica para outro fenótipo que não TE (PV, MFP). Os 6 casos de evolução a um fenótipo de PV ocorreram apenas nos indivíduos JAK2 V617-positivos. Apesar da ausência de relação ($p=0,054$) entre a

presença da mutação e evolução fenotípica para PV, ficou demonstrada a tendência para que a evolução fenotípica ocorra predominantemente em indivíduos JAK2 V617F-positivos (OR=1,150), resultado partilhado com outros estudos [24] (Tabela XI). Não foi observado nenhum caso de transformação em MFP ou LMA. A escassez do nº de casos com evolução fenotípica pode dever-se a dimensões amostrais reduzidas bem como ao facto de se ter uma grande parcela de indivíduos jovens com pouco tempo de seguimento, já que entre os principais factores de risco sugeridos para progressão a MFP ou LMA são idade>60 anos e doença de longa duração [21], para além de citorredução com agentes alquilantes [26].

Tabela XI: Comparação dos valores do Hemograma ao diagnóstico e da tipologia dos fenômenos trombóticos nos indivíduos com TE entre o presente estudo e outros estudos de referência.

Característica	Brás G.**			Campbell et al [24]***			Rudzki et al [28]**			Patriarca et al [25]**			Finazzi et al [29]**		
	JAK2 V617F +	JAK2 V617F -	valor-p	JAK2 V617F +	JAK2 V617F -	valor-p	JAK2 V617F +	JAK2 V617F -	valor-p	JAK2 V617F +	JAK2 V617F -	valor-p	JAK2 V617F +	JAK2 V617F -	valor-p
Hb (g/dL)	14,1	13,6	0,573	14,5	13,5	<0,0001	14,4	13,3	0,021	*	*	*	14,4	13,5	<0,0001
Htc (%)	43,1	41,5	0,275	*	*	*	*	*	*	45,2	42,1	<0,0002	43	41	<0,0001
Leucócitos(n/L)	10,8	7,8	0,02	10,6	9,3	<0,0001	10,2	8,6	0,005	9,2	8,1	<0,03	9,9	8,1	<0,0001
Plaquetas (n/L)	889	1041	0,024	902	1030	<0,0001	930	1148	0,039	650	766	<0,0006	767	858	<0,0001
EPO	5,8	8,2	0,497	9,8	23,6	<0,0001	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Esplenomegalia	6 (13,6%)	3 (14,3%)	0,784	11/329 (3%)	11/286 (4%)	0,9	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Evolução Fenotípica	6/46 (13%)	0/26 (0%)	0,06	6/414	0/362	0,031	*	*	*	*	*	*	*	*	*

*Ausência de dados.

** Valores de Hb, Htc, Leucócitos, Plaquetas e EPO: médias.

*** Valores de Hb, Htc, Leucócitos, Plaquetas e EPO: medianas.

Quanto aos fenómenos de apresentação, houve grande predomínio da ocorrência de trombose (Tabela VI) comparando com eventos hemorrágicos e da microcirculação. No entanto, a grande maioria dos indivíduos é totalmente assintomática na apresentação da doença, sendo o estudo diagnóstico iniciado em virtude de alterações dos hemogramas realizados por rotina. Na globalidade dos eventos e sem realizar qualquer divisão entre genótipos, a percentagem de eventos trombóticos no momento do diagnóstico (27%) encontra-se dentro do intervalo de valores obtidos em outros estudos (12-64,3%) (Tabela XII). Relativamente à separação dos eventos trombóticos na sua origem, arterial ou venosa, neste estudo foi evidente o predomínio de eventos arteriais (Tabela XII). Esse predomínio é justificado pela ocorrência de AVC que dominou a contagem dos eventos arteriais (tabela VII). Este fenómeno é coincidente com a tipologia dos eventos trombóticos registados noutros estudos: a trombose arterial predomina sobre a venosa à custa essencialmente de AVC, AIT e SCA [25,28,29]. Neste estudo não foi encontrada uma relação estatisticamente significativa entre a presença de factores de risco trombóticos inespecíficos para TE (tabela VIII) e a maior ocorrência de eventos trombóticos na admissão. Aliás, a existência desses factores de risco não é contemplada no conjunto de factores actualmente aceites para a definição de indivíduo de alto risco de trombose na TE [23].

Tabela XII: Dados referentes a trombose no diagnóstico e discriminação em eventos arteriais e venosos consoante o genótipo.

Característica	Brás G.			Campbell et al [24]			Finazzi et al [28]		
	JAK2 V617F +	JAK2 V617F -	OR valor-p	JAK2 V617F +	JAK2 V617F -	OR valor-p	JAK2 V617F +	JAK2 V617F -	OR valor-p
Trombose ao diagnóstico	14/46 (30,4%)	6/26 (23,1%)	1,5 0,503	*	*	*	34/103 (33%)	13/76 (13%)	2,39 0,02
Trombose arterial ao diagnóstico	9/14 (64,3%)	6/6 (100%)	**	38/414 (9,1%)	24/362 (6,6%)	1,4 0,2	22/34 (64,7%)	8/13 (61,5%)	*
Trombose venosa ao diagnóstico	5/14 (35,7%)	0/6 (0%)	**	11/414 (2,7%)	4/362 (1,1%)	4,9 0,04	12/34 (35,3%)	5/13 (38,5%)	*

*Ausência de dados.

**Não se aplica esse cálculo por serem contagens parciais da trombose ao diagnóstico.

Também não foi encontrada uma relação entre trombose na admissão e a presença de factores de risco que definem um indivíduo de alto risco para trombose. De todos estes factores, só não foi testada a relação entre trombose e homozigotia para JAK2 V617F. Apesar de ter havido relação entre as variáveis trombose na admissão e trombose prévia ($p=0,023$), os valores de $OR<1$ indicam que a probabilidade de trombose na admissão seria superior nos indivíduos sem trombose prévia, ideia contrária à concepção de que trombose prévia aumenta o risco de trombose no diagnóstico. Este resultado pode ser explicado pelo facto de metade dos indivíduos com história de trombose prévia ter sido submetida a antiagregação, o que pode ter diminuído o risco global deste grupo para a ocorrência de eventos trombóticos no momento do diagnóstico, uma vez que a totalidade dos indivíduos antiagregados não apresentou trombose nesse momento (tabela IX). No entanto, para a relação entre trombose na admissão e risco de nova trombose durante o seguimento, apesar de valor $p=0,064$, os valores de $OR=4,029$ apontam para uma tendência para recorrência de trombose no seguimento da doença para os indivíduos que apresentaram esse tipo de eventos no diagnóstico (Tabela XIII).

Tabela XIII: Dados referentes à ocorrência de trombose no diagnóstico e no seguimento da doença.

Característica	Brás G.		Wolansky et al [30]	Antonoli et al [31]	Stefano et al [29]
Trombose no diagnóstico	20/72 (27%)		85/322 (26,3%)	31/260 (12%)	92/143 (64,3%)
Recorrência no seguimento	6/20 (30%)		*	*	166/494 (33%)
Trombose no diagnóstico/ Trombose seguimento	Razão	OR/valor p	*	*	*
	6/11 (54%)	4,029 0,064			

*Ausência de dados.

Os valores percentuais muito próximos obtidos na comparação da ocorrência de trombose em indivíduos com $>$ ou <60 anos, com ou sem leucocitose e presença ou ausência da mutação JAK2 V617F, poderá ser explicada pela reduzida dimensão amostral que retira força estatística ao estabelecimento de relações entre variáveis. Apesar de valor $p=0,204$ no estabelecimento de relação entre contagens de plaquetas $>1500 \times 10^9/L$ e ocorrência de trombose, ficou evidente a maior tendência para

indivíduos com plaquetas $>1500 \times 10^9/L$ desenvolverem trombose (OR=2,882) (Tabela VIII). O reduzido nº de indivíduos com plaquetas $>1500 \times 10^9/L$ (apenas 6) impede a atribuição de força estatística a esse resultado. No entanto, contrariando esta concepção, surgiram estudos que sugerem que a presença da mutação JAK2 V617F associada a fenótipo com maior contagem eritróide e mielóide e menor contagem de plaquetas, tem maior risco trombótico do que isoladamente contagem de plaquetas $>1500 \times 10^9/L$ [32].

Quanto a hemorragia ou fenómenos da microcirculação, os mesmos não tiveram tanta expressão. O tipo de manifestações hemorrágicas, principalmente epistáxis e gengivorragias, são sintomas típicos de disfunção plaquetária. Os estudos sugerem que os indivíduos com TE que apresentam contagens de plaquetas $>1500 \times 10^9/L$ têm maior risco de desenvolvimento de eventos hemorrágicos por doença de Von Willebrand adquirida [10,18]. No entanto, neste estudo não foi encontrada uma relação entre a ocorrência de fenómenos hemorrágicos e contagens de plaquetas $>1500 \times 10^9/L$. Aliás, os eventos hemorrágicos ocorreram todos em indivíduos com contagens $<1500 \times 10^9/L$. Este resultado pode estar enviesado pelo facto de apenas se ter registado 6 casos de indivíduos com contagens $>1500 \times 10^9/L$. Apesar de os indivíduos JAK2 V617F-negativos apresentarem uma maior percentagem relativa de fenómenos hemorrágicos, o que está em consonância com outros estudos (Tabela XIV), esse resultado não teve significância estatística.

Tabela XIV: Eventos hemorrágicos no diagnóstico e comparação com outros estudos.

Hemorragia ao diagnóstico	Global	JAK2 V617F +	JAK2 V617F -	Valor p OR
Brás G.	7/72 (9,7%)	4/46 (8,7%)	3/26 (11,5%)	0,698 0,730
Elliot et al [18]*	3-37%	**	**	**
Wolansky et al [30]	34/322 (10,6%)	**	**	**
Patriarca et al [25]	7/106 (6,6%)	1/60 (1,7%)	6/46 (13,0%)	0,02 0,12

*Revisão bibliográfica.

**Ausência de dados.

A literatura descreve vários tipos de fenómenos da microcirculação associados à TE [22] no entanto, neste estudo apenas foram registados enxaqueca e fenómeno de

Raynaud e na globalidade, numa percentagem total inferior a outros estudos (Tabela XV). A ausência de um maior registo de fenómenos da microcirculação pode dever-se a vários factores: maior atenção dos clínicos para os eventos trombóticos e hemorrágicos, subjectividade da avaliação de alguns sintomas (e.g. enxaqueca) e pequena dimensão amostral. Os indivíduos JAK2 V617F-positivos apresentaram uma maior percentagem relativa de fenómenos da microcirculação ($p=0,307$; $OR=2,919$), em consonância com estudos anteriores (tabela XV).

Tabela XV: Eventos da microcirculação no diagnóstico e comparação com outros estudos.

Eventos da Microcirculação	Global	JAK2 V617F +	JAK2 V617F -	Valor p OR
Brás G.	11/72 (15,3%)	9/46 (19,6%)	2/26 (7,7%)	0,307 2,919
Wolansky et al [30]	122/322 (37,9%)	*	*	*
Antonioli et al [31]	73/260 (28%)	55/165 (33,3%)	18/95 (18,9%)	0,01 *

*Ausência de dados.

As principais limitações deste estudo são: tamanho reduzido da amostra; estudo unicêntrico que lhe confere um grande viés de selecção, dificultando a possibilidade de generalização destes dados para a restante população portuguesa; o facto de se basear na consulta retrospectiva de processos clínicos ficando a pesquisa enviesada pela informação disponibilizada por outros médicos, escassa para algumas variáveis. Para colmatar esta última limitação, sugere-se a implementação de tabelas a serem preenchidas no momento do diagnóstico de NMP com informação que permitirá ter uma visão holística do doente bem como acesso rápido a informação demográfica e clínica para a realização de estudos futuros, para além de conter informação fundamental à avaliação de risco e prognóstico dos doentes. Este método apresenta-se como uma sugestão para diminuir a subjectividade da avaliação feita por cada médico, uniformização dos elementos registados e diminuição da perda de informação clínica importante, quer por falta de investigação quer por ausência de registo. Uma sugestão para esse tipo de tabela dirigida a TE apresenta-se na secção de Anexos.

Conclusão:

Da análise e discussão dos resultados deste estudo é possível concluir que, no Serviço de Hematologia Clínica do HSA-CHP, a TE é uma doença que atinge principalmente indivíduos em idades avançadas e com um ligeiro predomínio do sexo feminino. Relativamente ao status mutacional há um predomínio dos que são JAK2 V617F-positivos o que reafirma a importância deste marcador clonal no diagnóstico da doença. Apesar de as pequenas dimensões amostrais terem impedido o estabelecimento de algumas relações significativas entre genótipos e diferentes formas de apresentação fenotípica, ficou demonstrado que os indivíduos com TE JAK2 V617F-positivos têm uma tendência a apresentar hemogramas com valores superiores de Hb e Htc, contagens superiores de leucócitos e contagens inferiores de plaquetas, comparativamente com os indivíduos negativos para a mutação. Estes dados, juntamente com o facto de apresentarem valores médios de EPO inferiores bem como uma tendência à transformação para PV, são a favor da ideia actualmente aceite de que os indivíduos com TE JAK2 V617F-positivos têm fenótipos que se aproximam do padrão da PV enquanto os indivíduos JAK2 V617F-negativos têm tendencialmente fenótipos que cursam com elevação isolada de plaquetas, elevação essa com maior magnitude do que a verificada nos indivíduos positivos para a mutação.

Relativamente à forma de apresentação da doença, conclui-se que a maioria dos indivíduos é assintomática ao diagnóstico, sendo a investigação da doença iniciada pela apresentação de valores anormais em hemograma realizado ocasionalmente. Dos indivíduos sintomáticos no diagnóstico, a maioria surge com eventos trombóticos, sendo as patologias cerebrovascular e cardiovascular as principais responsáveis por esse facto. A trombose e fenómenos da microcirculação ocorrem mais frequentemente em indivíduos JAK2 V617F-positivos, enquanto a hemorragia é mais frequente em indivíduos negativos para a mutação. Também ficou demonstrada uma maior tendência para a ocorrência de trombose nos indivíduos com características de alto risco.

Como notas finais deste trabalho, é importante referir que:

- 1) O diagnóstico de TE tem sido feito em idades cada vez mais jovens devido à realização de hemogramas em contexto de vigilância médica nas várias faixas

etárias da população, quer em indivíduos saudáveis quer em indivíduos estudados para outras patologias.

- 2) O aparecimento dos contadores automáticos de células veio permitir a fácil e rápida obtenção de hemogramas com grande fiabilidade de contagens, contribuindo para o fenómeno descrito no ponto anterior.
- 3) A TE não deve ser o primeiro diagnóstico diferencial a considerar em indivíduos com trombocitose. Em primeiro lugar, é fundamental excluir trombocitose reactiva antes de pensar numa neoplasia mieloproliferativa.
- 4) A presença de um marcador clonal, neste caso a mutação JAK2 V617F, veio facilitar a afirmação do diagnóstico de TE, pelo menos em cerca de metade dos casos com TE, nos quais a mutação está presente. Por outro lado, a presença da mutação assume-se como um possível marcador clínico de risco para progressão a outros tipos de NMP, nomeadamente a PV e MFP.
- 5) Mesmo se assintomáticos para eventos trombóticos, deve ser ponderada a introdução de terapia antiagregante e/ou citorredutora como prevenção primária para a ocorrência de trombose, mediante ponderação do risco/benefício clínico. Actualmente, é consensual de que a citorredução deve ser instituída na presença de pelo menos um dos seguintes factores: idade >60 anos, história de eventos trombóticos e/ou hemorrágicos, plaquetas >1500x10⁹/L, leucocitose, factores de risco cardiovasculares ou trombofilia [33].

Quanto à antiagregação, há correntes que defendem a prescrição a todos os indivíduos diagnosticados com TE, desde que não haja contra-indicação para tal, enquanto outras defendem que não há benefício na prescrição de antiagregação a indivíduos de baixo risco (idade <40 anos, sem factores de risco cardiovascular ou história de trombose prévia) [33].

Conflitos de Interesse:

A realização deste estudo não teve qualquer custo para o investigador nem para o centro hospitalar envolvido.

Referências:

- 1) Ma X, Selinger HA, et al (2008). Prevalence of polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Am J Hematol.* 83(5):359-62.
- 2) Johansson P (2006). Epidemiology of the myeloproliferative disorders polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Semin Thromb Hemost.* 32(3):171-3.
- 3) The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes (2009). *Blood.*
- 4) Dameshek W (1951). Some Speculations on the Myeloproliferative Syndromes. *Blood.* 6:372-375.
- 5) Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, et al (2005). Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet.* 365:1054-1061.
- 6) James C, Ugo V, Le Couedic JP, et al (2005). A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature.* 434:1144-1148.
- 7) Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, et al (2005). A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med.* 352:1779-1790.
- 8) Levine RL, Wadleigh M, Cools J, et al (2005). Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell.* 7:387-397.
- 9) Jones AV, Kreil S, Zoi K, et al (2005). Widespread occurrence of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. *Blood.* 106:2162-2168.
- 10) Beer PA, Campbell PJ, Green AR, et al (2008). MPL mutations in myeloproliferative disorders: analysis of the PT-1 cohort. *Blood.* 112: 141-149.
- 11) Skoda R (2007). The Genetic Basis of Myeloproliferative Disorders. Hematology. Ham-Wasserman Lecture.
- 12) Dahabreh IJ, Zoi K, Voulgarelis M, et al (2009). Is JAK2 V617F mutation more than a diagnostic index? A meta-analysis of clinical outcomes in essential thrombocythemia. *Leuk Res.* 33:67-73.

- 13) Lussana F, Caberlon S, Cattaneo E, et al (2009). Association of V617F Jak2 mutation with the risk of thrombosis among patients with essential thrombocythaemia or idiopathic myelofibrosis: A systematic review. *Thromb Res.* 124: 409-417.
- 14) Carobbio A, Finazzi G, Barbui T, et al (2007). Leukocytosis is a risk factor for thrombosis in essential thrombocythemia: interaction with treatment, standard risk factors, and Jak2 mutation status. *Blood.* 106:2310-2313.
- 15) Carobbio A, Finazzi G, Barbui T, et al (2008). Trombocytosis and leukocytosis interaction in vascular complications of essential thrombocythemia. *Blood.* 112:3135-3137.
- 16) Tiedt R, Hao-Shen H, Skoda R, et al (2008). Ratio of mutant JAK2-V617F to wild-type Jak2 determines the MPD phenotypes in transgenic mice. *Blood.* 111:3931-3940.
- 17) Vannucchi A, Antonioli E, Barbui T, et al (2007). Clinical profile of homozygous JAK2 617V>F mutation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia. *Blood.* 110: 840-846.
- 18) Elliott MA, Tefferi A (2004). Thrombosis and haemorrhage in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia. *Br J Haematol.* 128: 275-290.
- 19) Chor-Sang C, Yok-Lam K, Liang R, et al (2005). Long-term outcome of 231 patients with essential thrombocythemia. *Arch Intern Med.* 165:2651-2658.
- 20) Campbell PJ, Baxter EJ, Green AR, et al (2006). Mutation of JAK2 in the myeloproliferative disorders: timing, clonality studies, cytogenetic associations, and role in leukemic transformation. *Blood.* 108:3548-3555.
- 21) Passamonti F, Rumi E, Lazzarino M, et al (2008). Prognostic factors for thrombosis, myelofibrosis and leukemia in essential thrombocythemia: a study of 605 patients. *Haematologica.* 93(11).
- 22) Stefano V, Tommaso Z, Barbui T, et al (2008). Recurrent thrombosis in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia: incidence, risk factors and effect of treatments. *Haematologica.* 93(3): 372-380.
- 23) Vannucchi A, Barbui T, et al (2007). Thrombocytosis and thrombosis. *Hematology.* 363-370.

- 24) Campbell PJ, Scott LM, Buck G, et al (2005). Definition of subtypes of essential thrombocythemia and relation to polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study. *Lancet*. 366: 1945-1953.
- 25) Patriarca A, Pompetti F, Dragani A, et al (2010). Is the absence of JAK2 V617F mutation a risk factor for bleeding in essential thrombocythemia? An analysis of 106 patients. *Blood Transfus*. 8:21-27.
- 26) Radaelli F, Onida F, Zanella A, et al (2008). Second malignancies in essential thrombocythemia (ET): a retrospective analysis of 331 patients with long-term follow-up from a single institution. *Hematology*. 13(4): 195-202.
- 27) Rudzki Z, Sacha T, Stachura J, et al (2007). The Gain-of-Function JAK2 V617F Mutation Shifts the Phenotype of Essential Thrombocythemia and Chronic Idiopathic Myelofibrosis to More “Erythremic” and Less “Thrombocytic”: A Molecular, Histologic, and Clinical Study. *Int J Hematol*. 86: 130-136.
- 28) Finazzi G, Rambaldi A, Barbui T, et al (2007). Risk of thrombosis in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera according to JAK2 V617F mutation status. *Haematologica*. 92: 135-136.
- 29) Stefano V, Za T, Barbui T, et al (2010). Increased risk of recurrent thrombosis in patients with essential thrombocythemia carrying the homozygous JAK2 V617F mutation. *Ann Hematology*. 89: 141-146.
- 30) Wolanskyj AP, Schwager SM, Tefferi A, et al (2006). Essential Thrombocythemia Beyond the First Decade: Life Expectancy, Long-term Complication Rates, and Prognostic Factors. *Mayo Clin Proc*. 81(2): 159-166.
- 31) Antonioli E, Guglielmelli P, Vannucchi AM, et al (2008). Influence of JAK2 V617F allele burden on phenotype in essential thrombocythemia. *Haematologica*. 93(1): 41-48.
- 32) Carobbio A, Finazzi G, Barbui T, et al (2008). Thrombocytosis and leukocytosis interaction in vascular complications of essential thrombocythemia. *Blood*. 112: 3135-3137.
- 33) Beer P, Campbell J, Green A, et al (2011). How I treat essential thrombocythemia. *Blood*. 117: 1472-1482.

Anexos

SERVIÇO DE HEMATOLOGIA CLÍNICA
NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS
BCR-Abl NEGATIVAS

TROMBOCITEMIA ESSENCIAL

Informação Clínica:



Nº Processo: _____

Nome: _____ Sexo: F / M

1) Elementos presentes no momento do diagnóstico

Idade no diagnóstico: _____

Mutação JAK2 V617F: Presente

Carga Alélica: _____

Ausente

Dados do Hemograma:

Hemoglobina _____

Hematócrito _____

Leucócitos _____

Plaquetas _____

Dados Bioquímicos:

EPO _____

Esplenomegalia: Presente

Medição ecográfica _____

Ausente

Descrição do resultado da Biópsia de Medula Óssea:

Factores de Risco Trombóticos na admissão: Presente

Ausente

	Presentes	Descrição:
Tabagismo		
Dislipidemia		
Hipertensão Arterial		
Diabetes Mellitus		
Fibrilhação Auricular		
Cirurgia Major*		
Coagulopatia+		
Lesão Vascular++		
Insuficiência Renal Crónica**		
Neoplasia***		
Anticoncepcionais Orais		
Terapia de Substituição Hormonal		

*Mês que antecedeu o diagnóstico

**Proteinúria nefrótica; a partir do estadio IV: Taxa de Filtração Glomerular <30 ml/min.

***No momento do diagnóstico.

+ Incluir: Def. de Antitrombina III, Def. Proteína C e S, Mutação do Factor V de Leiden, Protrombina G20210A, Hiperhomocisteinemia, Lúpus Anticoagulante, Anticorpos Antifosfolípídeo.

++ Incluir: insuficiência venosa crónica, manipulação vascular.

Fenómenos na admissão:Trombose prévia: Presente Ausente

	Ano:	Descrição:
AVC/AIT		
AIT		
EAM		
TAP		
TVP		
Tromboflebite		
TAE		
TVE		
Oclusão Retiniana		

AVC/AIT: Acidente Vascular Cerebral/Acidente Isquémico Transitório; EAM: Enfarte Agudo do Miocárdio; TAP: Trombose Arterial Periférica; TVP: Trombose Venosa Profunda; TAE: Trombose Arterial Esplâncnica; TVE: Trombose Venosa Esplâncnica.

Trombose na admissão: Presente Ausente

	Presentes	Descrição:
AVC/AIT		
AIT		
EAM		
TAP		
TVP		
Tromboflebite		
TAE		
TVE		
Oclusão Retiniana		

AVC/AIT: Acidente Vascular Cerebral/Acidente Isquémico Transitório; EAM: Enfarte Agudo do Miocárdio; TAP: Trombose Arterial Periférica; TVP: Trombose Venosa Profunda; TAE: Trombose Arterial Esplâncnica; TVE: Trombose Venosa Esplâncnica.

Hemorragia na admissão: Presente

Ausente

	Presentes	Descrição:
Epistaxis		
Gengivorragias		
Petéquias		
Equimoses		
Intracraniana		
Ocular		
Articular		
Retroperitoneal		

Microcirculação na admissão: Presente

Ausente

	Presentes	Descrição:
Enxaqueca		
F. Raynaud		
Eritromelalgia		
Parestesias distais		
Acrocianose		

Terapia efectuada a partir do diagnóstico:

Descrição:

--

2) Elementos do seguimento da doença:

Trombose no seguimento: Presente
Ausente

	Presentes	Descrição:
AVC/AIT		
AIT		
EAM		
TAP		
TVP		
Tromboflebite		
TAE		
TVE		
Oclusão Retiniana		

AVC/AIT: Acidente Vascular Cerebral/Acidente Isquémico Transitório; EAM: Enfarte Agudo do Miocárdio; TAP: Trombose Arterial Periférica; TVP: Trombose Venosa Profunda; TAE: Trombose Arterial Esplâncnica; TVE: Trombose Venosa Esplâncnica.

Hemorragia na admissão: Presente
Ausente

	Presentes	Descrição:
Epistaxis		
Gengivorragias		
Petéquias		
Equimoses		
Intracraniana		
Ocular		
Articular		
Retroperitoneal		

Microcirculação na admissão: Presente
Ausente

	Presentes	Descrição:
Enxaqueca		
F. Raynaud		
Eritromelalgia		
Parestesias distais		
Acrocianose		

Evolução Fenotípica:

- | | | |
|-------------------------|--------------------------|----------------------|
| Policitemia Vera | <input type="checkbox"/> | Idade em que ocorreu |
| Trombocitemia Essencial | <input type="checkbox"/> | a evolução:_____ |
| Mielofibrose Primária | <input type="checkbox"/> | |

- | | | |
|-----------------------------------|--------------------------|----------------------|
| Transformação Leucémica: Presente | <input type="checkbox"/> | Idade em que ocorreu |
| Ausente | <input type="checkbox"/> | a evolução:_____ |

