

Maria de Lourdes Rios Barjas de Castro

**CARACTERIZAÇÃO IMUNOLÓGICA ERITROCITÁRIA DE
PACIENTES PORTADORES DE LINFOMAS NÃO-HODGKIN**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas para obtenção do Título de
Mestre em Clínica Médica

Orientador: Prof. Dr. Cármino Antonio de Souza
Disciplina de Hematologia e Hemoterapia
Depto. de Clínica Médica - FCM - Unicamp

Unicamp
Campinas
- 1995 -



Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

Orientador:

Prof. Dr. Cármino Antonio de Souza

Membros:

1. Prof. Dr. Cármino Antonio de Souza

2. Prof. Dra. Irene Lorand-Metze

3. Prof. Dra. Elenice Deffune

Curso de pós-graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 28 de junho 1995

Ao papai Clóvis Barjas (in memoriam)
e à mamãe Zilna Rios Barjas

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Cármino Antonio de Souza, que, além da orientação para execução deste trabalho, me proporcionou apoio e incentivo.

Aos professores da Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Profa. Dra. Irene Lorand-Metze, Profa. Dra. Joyce Maria A. Bizzacchi e Prof. Dr. Fernando F. Costa, pelas facilidades oferecidas durante a realização desta tese.

À Profa. Dra. Sara T. O. Saad, que, sem o seu apoio, seria inviável a conclusão desta dissertação.

Ao Jordão e à Lillian, por terem incentivado e apoiado esta tese.

À Maria de Fátima (Fafá), pela imensa dedicação e todo o carinho que permitiram a realização deste trabalho.

Aos meus colegas, mais que colegas, amigos, Ângela, Carmen, Marcelo, Simone e Afonso, que sempre me ajudaram, direta ou indiretamente, na viabilização desta dissertação. Ao Aranha, parceiro dos plantões das segundas feiras, pela grande disponibilidade em me ensinar os primeiros passos da redação de um trabalho científico. Ao Valder, pela boa vontade e pela grande colaboração na finalização desta tese.

À ajuda inestimável, em todos os sentidos, da Cármen Lúcia (Malu), que realizou a arte final desta dissertação.

À Sandrinha, que dedicou horas me ensinando os caminhos do editor de texto.

À Ana Paula e à Maria Tereza, pela realização da análise estatística.

Aos médicos e demais funcionários do Hemocamp e aos residentes da Disciplina de Hematologia, que tiveram grande paciência, oferecendo apoio nos momentos difíceis.

Ao Laboratório de Imunologia Eritrocitária do Hemocamp, pela grande ajuda e carinho durante toda a fase experimental.

Ao Hemocamp, pelas facilidades oferecidas durante a realização desta dissertação.

À FAEP, pelo apoio financeiro.

Agradecimento especial ao Vagner e ao "bebê" Rodrigo.

SUMÁRIO

	página
Resumo.....	1
Introdução.....	2
Objetivos.....	10
Casuística e Métodos.....	11
Resultados.....	27
Discussão.....	52
Conclusões.....	60
Anexos.....	61
Summary.....	80
Referências Bibliográficas.....	81

LISTA DE ILUSTRAÇÕES, GRÁFICOS E QUADROS

Figura 1	22
Figura 2	25
Grafico I	28
Quadro I	20
Quadro II	29
Quadro III	30
Quadro IV	32
Quadro V	33
Quadro VI	35
Quadro VII	36
Quadro VIII	38
Quadro IX	39
Quadro X	41
Quadro XI	43
Quadro XII	44
Quadro XIII	45
Quadro XIV	46
Quadro XV	48
Quadro XVI	49
Quadro XVII	50
Quadro XVIII	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Sigla	Descrição	Sigla	Descrição
aa-f	autoanticorpo a frio	K	kell
aC3	anti-C3	k	celano
aC3d	anti-C3d	Kpb	Rautemberg
aC4	anti-C4	LAN	Langeris
agm	alto grau de malignidade	Le	Lewis
AHAI	anemia homolítica autoimune	LED	lupus eritematoso discóide
aIgG	anti-IgG	LES	lupus eritematoso sistêmico
aIgM	anti-IgM	LISS	meio de baixa força
auto sal	autocontrole salino	LLC	leucemia linfocítica crônica
auto-aI	auto anti I	LNH	linfoma não Hodgkin
auto-IgG	autoanticorpo do tipo IgG	Lu	Lutheran
av imb	avaliação imunohematológica	µl	microlitro
BD	bilirrubina direta	morf	morfologia eritocitária
bgm	baixo grau de malignidade	n	negativo
BI	bilirrubina indireta	p	positivo
BT	bilirrubina total	P-V	P valor
CD AGGH	Coombs direto - soro antigamaglobulina humana	PAI	pesquisa de anticorpos séricos
CD AGH	Coombs direto antiglobulina humana	PAP	papaina
CD LISS GEL	Cobombs direto Liss - gel centrifugação	PEG	polietilenoglicol
Crh	controle Rh	PTIm	púrpura trombocitopênica imune
dçI	doença do sistema imunológico associada	PV	soro antiglobulina humana poliespecífico
DHL	desidrogenase láctica	Ret	reticulócitos
E	enzima	RN	recém-nascido
est	estadiamento	rpm	rotação por minuto
Fy	Duffy	SC	Sciana
Ge	Gerrbich	SIDA	síndrome da imunodeficiência adquirida
Gel	técnica de gel centrifugação	TA	temperatura ambiente
Hb	hemoglobina	URO	urobilinogênio
HCM	hemoglobina corpuscular média	VCM	volume corpuscular médio
Ht	hematócrito	Wrb	Fritz
ind	indeterminado	X ²	chi quadrado
Jk	Kidd	Xga	Vos
Jsb	Matheus		

RESUMO

Estudou-se 77 pacientes adultos portadores de linfoma não Hodgkin (LNH) ao diagnóstico, atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas.

Classificou-se os LNH histologicamente segundo Kiel.

Clinicamente avaliou-se os pacientes através da história e do exame físico e laboratorialmente pela análise do sangue periférico (hemograma e contagem de reticulócitos), dosagem de bilirrubinas, urobilinogênio urinário e demais exames necessários ao estadiamento clínico.

Estadiou-se os linfomas de acordo com os critérios propostos em Ann Arbor e as leucemias linfocíticas crônicas segundo Rai.

Estudou-se os perfis imunohematológicos dos pacientes através dos seguintes testes: determinação de grupo sanguíneo ABO/Rh, teste direto da antiglobulina com soros poliespecífico (anti-IgG, anti-C3b e anti-C3d) e monoespecíficos (anti-IgG, anti-IgM, anti-C3, anti-C3d e anti-C4), pesquisa e identificação de anticorpos séricos pelas técnicas em tubo com polietilenoglicol, meio de baixa força iônica (LISS) e hemácias pré tratadas com enzimas e pela técnica de gel-centrifugação.

Os resultados da avaliação imunohematológica dos pacientes portadores de LNH foram:

1. A frequência de autoanticorpos anti-eritrocitários foi de 29,9% (provável auto anti-I e auto-IgG sem especificidade definida);
2. O quadro de hemólise clínica e laboratorial ocorreu em 1,3% dos pacientes;
3. Houve uma tendência dos linfomas de baixo grau de malignidade serem associados à presença de autoanticorpos anti-eritrocitários;
4. Não houve associação entre o tipo imunológico dos LNH (B e T) e do estadiamento clínico dos linfomas com a presença dos autoanticorpos.

Conclui-se que a alta incidência de autoanticorpos anti-eritrocitários encontrada em nossa casuística provavelmente esteja relacionada com as alterações imunes próprias dos LNH.

INTRODUÇÃO

Os linfomas não-Hodgkin (LNH) são neoplasias do sistema imunológico ou linfóide.

Nos Estados Unidos da América (EUA), em 1993, foram diagnosticados 43.000 casos novos de linfomas de Hodgkin e não Hodgkin, com 20.500 óbitos (CANCER FACTS & FIGURES, 1993). Estes dados representam 4% da incidência de câncer e 4% dos óbitos por neoplasias nos EUA (BANKS, 1995). No Brasil, o coeficiente de incidência dos linfomas varia de 1,8 a 7,3 no sexo masculino e de 0,7 a 4,3 no sexo feminino (BRUMINI, 1982; MINISTÉRIO DA SAÚDE - INCa, 1991). No município de Campinas, em 1993, o coeficiente geral de incidência dos LNH foi de 6,1 (BRITTO et al., 1994).

Os LNH apresentam variações de incidência, nos tipos histológicos e nos subtipos imunológicos (B e T), nas diferentes regiões do mundo. No Japão e na China encontrou-se menor frequência de casos de linfomas foliculares, ao passo que no Japão é maior o número de portadores de linfomas do tipo T em relação aos outros países (BLATTNER et al., 1983; KADIN et al., 1983; WATANABE, 1986). Na pré adolescência e na sexta década de vida é verificada maior incidência dos LNH (CUTLER & YOUNG, 1975; BANKS, 1995).

Os profissionais da indústria química, fazendeiros e trabalhadores envolvidos na produção da borracha apresentam maior risco de desenvolverem LNH que a população em geral. Este fato tem sido atribuído ao contato com o benzeno e herbicidas (OLIN, 1978; CANTOR, 1982). Significante número de casos de LNH também tem sido associado com a exposição à irradiação ionizante (BEEBE et al., 1978).

Com relação à etiologia dos LNH, podemos afirmar que o vírus Epstein-Barr e o retrovírus linfotrópico de células T humanas são responsáveis por alguns tipos de linfomas, tanto de células B quanto de células T (FUNDEMBERG, 1968; ANDERSON et al., 1976; ROBINSON et al., 1980; POTTER & MUSHINSK, 1984; EVANS & MULLER, 1990).

Considerando que os LNH constituem doenças do sistema imune, os pacientes com deficiências imunológicas, tanto congênitas quanto adquiridas, possuem um maior risco de desenvolver a patologia. Esta associação pode ser observada na síndrome de Wiskott Aldrich (HALLER, 1984), na síndrome da imunodeficiência adquirida - SIDA (LEVINE et al., 1984), nas doenças do tecido conectivo tais como a síndrome de Sjögren e artrite reumatóide (HENCH et al., 1962; KASSAN, THOMAS & MOUTSOPOULOS, 1978) e em consequência de terapias imunossupressoras (LEWIS et al., 1966; KINLEN et al., 1979; DÜHRSEN et al., 1987).

Um dos critérios importantes na definição do prognóstico dos LNH é o estadiamento, ou seja, a determinação da extensão da doença nos diferentes órgãos ou tecidos (CHABNER et al., 1980). O estadiamento de Ann Arbor foi inicialmente proposto para a doença de Hodgkin, mas também é utilizado com frequência para os LNH (CARBONE et al., 1971). Estas duas entidades apresentam evoluções distintas, tendo em vista que a doença de Hodgkin tem como característica a progressão neoplásica, predominantemente por contiguidade; e a disseminação dos LNH ocorre, preferencialmente, por via hematogênica. Estas diferenças geram algumas limitações no estadiamento dos LNH pelo sistema de Ann Arbor, pois 80% dos pacientes com linfomas de baixo grau e 50% dos pacientes com linfomas de alto grau de malignidade apresentam a doença em seu estágio III ou IV. Este estágio avançado da neoplasia, nos casos de linfomas de baixo grau de malignidade, não tem relação obrigatória com o prognóstico (CHABNER et al., 1980; LEONARD, 1983; FOON & FISCHER, 1995).

Nas leucemias linfocíticas crônicas (LLC) o estadiamento, além de determinar o prognóstico, tem também como objetivo definir o início da terapia. Rai e colaboradores (1975) propuseram um protocolo de estadiamento para as LLC que define cinco estágios clínicos da doença, separando aqueles que apresentam apenas linfocitose no sangue periférico e na medula óssea daqueles com

hepatoesplenomegalia e/ou linfonodomegalias e/ou plaquetopenia (RAI et al., 1975; HALLER, 1984; FOON & FISCHER, 1995).

A forma de classificação dos tumores linfóides é motivo de preocupação, tanto dos clínicos como dos patologistas. Os obstáculos para a uniformização da nomenclatura dos LNH reside em divergências localizadas, principalmente em quatro áreas apontadas por Willis (1948): na histogênese, no grau de diferenciação, na dificuldade em reconhecer a origem linfóide ou epitelial de uma neoplasia indiferenciada e, por fim, nas dificuldades de diagnóstico diferencial entre processos neoplásicos ou benignos (LAUDER, 1988).

Em 1956, Rappaport apresentou a primeira proposta de classificação baseada na morfologia (tamanho e forma celular) e no tipo de crescimento histológico. Alguns autores modificaram e ampliaram esta classificação, incluindo conceitos imunológicos e considerando a evolução clínica (LUKES & COLLINS, 1975; BANKS, 1990; LESTER & ULTMANN, 1990).

Na década de 70, sob a luz de novos conceitos imunológicos, foram propostas novas classificações para os LNH, separando-os em linfomas de origem celular B e T. Destas formas de classificação, as duas mais importantes são a de Lukes e Collins e a de Kiel (LUKES & COLLINS, 1975; LENNERT & FELLER, 1992).

A classificação de Lukes e Collins tem como base os conceitos funcionais do sistema imunológico associados às características morfológicas dos LNH (LUKES & COLLINS, 1975).

Lennert (1974) publicou a classificação de Kiel, que considera basicamente três aspectos dos linfomas: a morfologia, a imunologia e o prognóstico. Esta classificação divide os LNH, de acordo com a biologia tumoral e com a dinâmica celular, em linfomas de baixo grau e de alto grau de malignidade e, com relação aos atuais conceitos imunológicos, em linfomas de células B e T. Esta

classificação tem como vantagens ser prática e acessível aos patologistas e possuir valor teórico e prático para os clínicos (LENNERT et al., 1975; LENNERT, 1978; GRIMELIUS, HAGBERG & SUNASTRÖM, 1983; LIEBERMAN et al., 1986; BANKS, 1990; LENNERT & FELLER, 1992).

Em 1982, o Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos da América realizou um estudo multicêntrico, com o objetivo de uniformizar as nomenclaturas dos LNH, culminando com a publicação do "Working Formulation of Non Hodgkin's Lymphoma for Clinical Usage" que separa os LNH em três grupos: alto, intermediário e baixo grau de malignidade, de acordo com a curva de sobrevida. Alguns autores consideram que a "Working Formulation" não define adequadamente os LNH menos frequentes (LENNERT, 1978; ROSEMBERG et al., 1982; BANKS, 1995).

As Bases Imunológicas dos LNH

Uma célula precursora hematopoética pluripotencial dá origem a linfócitos não comprometidos com qualquer linhagem, que são posteriormente diferenciados possivelmente no timo e na medula óssea, originando os linfócitos T e B, respectivamente (GENETET, 1993).

No timo, possivelmente ocorre a transição de células precursoras imaturas para linfócitos T maduros, que se caracterizam pela expressão de moléculas CD4 e CD8 em sua superfície, ou seja, pela capacidade de reconhecerem antígenos estranhos ao organismo e responderem especificamente a estes antígenos (HALUSKA et al., 1990; GENETET, 1993).

Os linfócitos pré B caracterizam-se pela presença de cadeias pesadas μ em seu citoplasma. As células imaturas B adquirem a capacidade de sintetizar cadeias leves, iniciando a produção de imunoglobulinas IgM e IgD, que são a princípio detectadas no citoplasma e posteriormente na membrana dos linfócitos B. Estas células representam 50% dos linfócitos da medula óssea. As

células B maduras são capazes de produzir imunoglobulinas IgG, IgE e IgA e possuem receptores de superfície para ativação linfocitária e para os fatores de crescimento (GENETET, 1993).

Os mecanismos responsáveis pela transformação maligna dos linfócitos, assim como a participação das linfocinas na gênese dos linfomas e leucemias linfocíticas, ainda são obscuros (UCKUN, 1990; HALUSKA et al., 1990).

A associação de doenças linfoproliferativas com complicações autoimunes é descrita tanto em modelos animais como no homem, podendo variar de 1,86 a 8,4%, (HENCH et al., 1962; LEA, 1964; MILLER, 1967; JONES, 1973; SACKS, 1974; HABLIN et al., 1986; DÜHRSEN et al., 1987 e MICHAELLI et al., 1987).

Os portadores de LNH desenvolvem preferencialmente autoanticorpos contra antígenos de células hematopoéticas, tais como hemácias e plaquetas. Estes anticorpos, quando presentes, são os responsáveis pela anemia hemolítica autoimune (AHAI) e pela púrpura trombocitopênica imune (PTIm) (HABLIN et al., 1986; KIPPIS & CARSON, 1993). Entretanto, também são descritos pacientes com autoanticorpos naturais, não patológicos contra antígenos teciduais, como a actina, a miosina, a queratina, a troponina, a tireoglobulina e outros (ANDERSEN et al., 1976; VAINIO et al., 1983; BORCHET et al., 1990; KOURTIS et al., 1994).

Os autoanticorpos naturais detectados em pacientes portadores de LNH podem ser da classe IgA, IgG ou IgM. Provavelmente sua origem seja decorrente da formação de anticorpos contra a neoplasia, que causam destruição das células tumorais, com liberação de antígenos e consequente produção dos autoanticorpos (KOURTIS et al., 1994). Outras hipóteses para o mecanismo de formação destes autoanticorpos naturais são: alterações no sistema de regulação das células T, causada pela expansão do tumor ou por agentes externos; respostas imunológicas a estímulos desconhecidos que poderiam ser também responsáveis pela origem do LNH e, finalmente,

produção dos autoanticorpos pelas células CD5+, nas LLC de células B (BORCHET et al., 1990; KOURTIS et al., 1994).

A AHAI ocorre aproximadamente em 10 a 20% dos pacientes com diagnóstico de LLC B (EBBE et al., 1962; SACKS, 1981; HABLIM et al., 1986; STHOEGER et al., 1993) e em torno de 1,7% dos pacientes portadores de LNH (JONES, 1973).

A PTIm é diagnosticada em 2% dos pacientes com LLC (EBBE et al., 1962; SACKS, 1981; STHOEGER et al., 1993) e em cerca de 0.4% dos pacientes com LNH (JONES, 1973). A neutropenia imune (RUSLAGI et al., 1983) e a aplasia pura da série vermelha (OBELLOFF & WALLERBURRY, 1971) são complicações autoimunes raras das doenças linfoproliferativas.

A patogênese da AHAI e PTIm nas doenças linfoproliferativas é desconhecida. Nas LLC-B os autoanticorpos são aparentemente produzidos por células B policlonais normais, como consequência de uma alteração imune causada pelas células B neoplásicas (SILBERTEIN et al., 1989; KIPPS & CARSON, 1993; STHOEGER et al., 1993). Alterações funcionais nas células T também foram descritas, por vários autores, como consequência de uma redução do número de linfócitos T auxiliares e do aumento no número dos linfócitos T supressores. Este é provavelmente o mecanismo responsável pela hipogamaglobulinemia e pela imunodeficiência encontrada nas LLC de células B (CATOVSKY et al., 1981; KAY, 1981; HABLIM et al., 1986).

Os fenômenos autoimunes geralmente estão associados aos linfomas de células B, mas casos de AHAI são descritos em pacientes portadores de linfomas T. Provavelmente as células T auxiliares, que participam do mecanismo de regulação da produção de imunoglobulinas, induzam à proliferação de vários clones de plasmócitos, sendo um dos quais o responsável pela produção do anticorpo dirigido contra antígenos eritrocitários (WHITE et al., 1983; LAWRENCE et al., 1986; MISA & MEGIDO, 1993).

As AHAI secundárias às doenças linfoproliferativas podem ser: AHAI por anticorpo "quente" (imunoglobulina da classe IgG e raramente IgA); doença de aglutinina a frio (imunoglobulina da classe IgM) e AHAI tipo mista (imunoglobulina da classe IgG associada a IgM) (DACIE, 1975; PRUZANSKI & SHUMAK, 1977; FRANK et al., 1979; CRISP & PRUZANSKI, 1982; SOKAL et al., 1983; KAJI et al., 1991; WALKER et al., 1993).

Os anticorpos da classe IgG representam de 48 a 70% dos casos de AHAI (SOKOL et al., 1981; BRANCH et al., 1984). Estes anticorpos geralmente são dirigidos contra antígenos complexos do sistema Rh e sua especificidade é definida apenas se hemácias de fenótipos raros do sistema Rh são disponíveis para investigação (BRANCH et al., 1984). Outros anticorpos da classe IgG também são descritos, tais como: anti-Ena, Gerbich (Ge), It, Kidd a (Jka), Kpb (K4), Kel 5 (K5), Kel 13 (K13), Langeris (Lan), Lw, N, U, Sc1 (SCIANA), Wrb (Fritz) e Xga (VOS et al., 1973; ISSIT, 1976; GARRATY, 1991).

As doenças de aglutinina a frio representam de 16 a 32% dos casos de AHAI (PETZ, 1980; SOKOL et al., 1981). Geralmente são causadas por anticorpos anti-I, ocasionalmente anti-i e raramente anti-Pr (MARSH & JENKINS, 1960; ROELCKE, 1974; CRISP & PRUZANSKI, 1982; VON DEM BORNE et al., 1982; CHAPLIN et al., 1986; GARRATY, 1991; KIRSCHFINK et al., 1992).

A anemia hemolítica do tipo mista, causada pela associação de anticorpos de classes diferentes, representa de 7 a 8% dos casos de AHAI (SOKOL et al., 1981; SHULMAN et al., 1985). Frequentemente a especificidade não é definida, mas anticorpos como anti-I e anti-i podem estar associados à IgG sem especificidade definida (SOKOL et al., 1983; KAJI et al., 1991).

A investigação da presença de autoanticorpos antieritrocitários é realizada rotineiramente pelo teste direto da antiglobulina ou Coombs direto, com soros poliespecíficos e monoespecíficos

(anti-IgG, anti-IgA, anti-IgM e anti-complemento). Nos casos em que o teste é positivo, realiza-se a eluição do anticorpo e tenta-se definir sua especificidade através de painéis de hemácias. No soro é sempre investigada a presença de anticorpos. Quando presentes, são também testados contra painéis de hemácias com o objetivo de se definir sua especificidade (SALMON et al., 1991; WALKER et al., 1993).

Tendo em vista que os LNH podem cursar com alterações autoimunes associadas e que constituem um grupo de neoplasias pouco estudadas no continente Sul Americano e, particularmente, em nosso meio, foi realizada uma investigação imunológica eritrocitária, ao diagnóstico, em um grupo de pacientes adultos portadores de LNH.

OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram:

1. Determinar a frequência de autoanticorpos antieritrocitários em pacientes adultos portadores de LNH, na população brasileira.
2. Analisar a associação entre o tipo imunológico do LNH (B e T), o grau de malignidade e o estadiamento com a presença de autoanticorpos antieritrocitários.
3. Determinar a frequência de hemólise extra-vascular clínica e laboratorial e o tipo de anticorpo envolvido, nos pacientes portadores de LNH.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

CASUÍSTICA

Foram estudados 77 pacientes adultos portadores de linfoma não Hodgkin, ao diagnóstico, não transfundidos nos últimos quatro meses, atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas no período de março de 1992 a novembro de 1993.

O diagnóstico foi realizado pelo estudo histológico do linfonodo ou de outro tecido ou órgão acometido, incluindo o estudo histológico da medula óssea.

Os dados relativos à identificação, à história, ao exame físico e aos exames complementares foram obtidos de informações contidas nos prontuários dos pacientes e por interrogatório clínico específico, com o objetivo de investigar uso de medicamentos, história gestacional e transfusional detalhada (Anexo 1).

A classificação histológica dos LNH foi realizada segundo Kiel (LENNERT & FELLER, 1992) e o estadiamento clínico conforme os critérios propostos em Ann Arbor (CARBONE et al., 1971).

Os casos de LLC foram estadiados de acordo com Rai (RAI et al., 1975).

Ao exame físico foram avaliados: massas tumorais, linfonomegalia, visceromegalia abdominal, bem como outros dados clínicos da presença do linfoma. O tórax foi avaliado por estudo radiológico simples ou planigráfico e o abdome através de ultrassonografia e/ou tomografia computadorizada. Não foi realizado estadiamento cirúrgico através de laparotomia exploradora.

Foram realizados os seguintes exames complementares ao diagnóstico:

1. Hemograma com contagem de plaquetas e reticulócitos

As contagens globais foram realizadas pelo contador eletrônico Cell Dyn 1600® e a contagem diferencial foi feita em esfregaço com corante tipo "Romanovsky". A contagem de

reticulócitos foi realizada diferencialmente entre as hemácias, após coloração supravital pelo azul de cresil brilhante (DACIE & LEWIS, 1975).

2. Exames bioquímicos que fazem parte do estadiamento, como dosagens séricas de fosfatase alcalina, desidrogenase láctica (DHL), uréia, creatinina, eletroforese de proteínas, transaminases hepáticas, e os exames necessários para avaliação de hemólise extra-vascular como bilirrubinas direta e indireta e urobilinogênio urinário. Estes exames foram realizados pelas técnicas descritas por TIETZ , FINLEY & PRUDEN (1990).

Grupo Controle

Foram selecionados 41 indivíduos adultos, clinicamente saudáveis — 15 pessoas do sexo feminino e 26 do sexo masculino — com média de idade de 42,4 anos e sem história de ingestão de medicamentos. A média de idade do grupo controle foi menor que a da casuística estudada, pelas dificuldades encontradas em selecionar um grupo de indivíduos saudáveis, que não utilizavam nenhum medicamento, com média de idade de 57 anos. Este grupo foi submetido à mesma avaliação imunológica eritrocitária realizada nos pacientes portadores de linfoma não Hodgkin.

MÉTODOS

Realizado perfil imunohematológico dos 77 pacientes portadores de LNH e do grupo controle. Os testes são descritos a seguir e demonstrados de forma resumida no Quadro 1.

1. Determinação de grupo sanguíneo ABO

Foi realizada prova eritrocitária e sérica pela técnica de aglutinação em placa de opalina (ROUGER & SALMON, 1981). Os antisoros utilizados nas provas eritrocitárias foram anti-A, anti-B e anti-AB policlonais, com titulação de 1:128 e, nas provas séricas, hemácias A₁, B e O.

Em todos os pacientes do grupo A os subgrupos foram investigados através de provas eritrocitárias com soros anti-A₁ e anti-H com titulação de 1:8.

2. Determinação do fenótipo Rho (D)

A determinação do fenótipo Rh foi realizada pela técnica de aglutinação em placa de opalina, utilizando o soro anti-D policlonal (IgG e IgM), com titulação de 1:128. Em todos os casos foi feito controle do teste em meio albuminoso (ROUGER & SALMON, 1981).

Nos pacientes Rho (D) negativos, foi realizada a pesquisa do antígeno D fraco e incompleto pelo teste direto da antiglobulina, e em paralelo foi realizado o controle da técnica. Nos casos em que o controle do teste foi positivo, a determinação do fenótipo foi feita com soro anti-D da classe IgM reagente em solução salina, com titulação de 1:1024 (WALKER et al., 1993).

As hemácias dos pacientes Rho (D) negativos também foram testadas com o soro anti-CDE policlonal, com titulação de 1:16. O método aplicado foi o descrito no protocolo do fabricante do soro.

3. Teste direto da antiglobulina - Coombs direto

a) Teste direto da antiglobulina em tubo (WALKER et al., 1993).

Para a realização do teste de Coombs direto foi utilizado soro antiglobulina humana poliespecífica (anti-IgG, anti-C₃b e anti-C₃d), com titulação de 1:256.

As amostras não reagentes macroscopicamente foram mantidas à temperatura ambiente durante 15 minutos, e posteriormente centrifugadas. Em seguida as leituras foram repetidas. Como controle da técnica, foram adicionadas, posteriormente, hemácias sensibilizadas com anticorpos da classe IgG (anti-D) nos tubos com resultados negativos, e uma nova leitura foi realizada.

b) Teste direto da anti-gamaglobulina em tubo (WALKER et al., 1993).

O mesmo método descrito acima foi realizado com o soro anti-gamaglobulina (anti-IgG) com titulação de 1:256.

c) Teste direto da antiglobulina, pela técnica de gel-centrifugação, com solução de baixa força iônica - LISS (LAPIERRE et al., 1990).

O teste direto da antiglobulina em gel foi realizado com equipamentos e reativos da Diamed[®]. A técnica empregada foi a preconizada pelo fabricante.

d) Classificação dos autoanticorpos e do complemento pelo teste direto da antiglobulina com a técnica de gel-centrifugação (LAPIERRE et al., 1990).

O teste direto da antiglobulina, monoespecífico, foi feito com o "DC Screening Coombs Monoespecífico" Diamed[®] com os soros: anti-IgG, anti-IgM, anti-C₃, anti-C₃d e anti-C₄.

4. Eluição pelo clorofórmio

Com o intuito de se determinar a especificidade do anticorpo, detectado pelo teste direto da antiglobulina, foi realizada a eluição do anticorpo pela técnica do clorofórmio (BRANCH, SY - SIOK - HIAN & PETZ, 1982).

5. Pesquisa de anticorpos séricos

A pesquisa dos anticorpos séricos foi realizada em duas etapas distintas: inicialmente foram feitos os testes de triagem e posteriormente a identificação dos anticorpos. Para a triagem dos anticorpos séricos foram utilizados os reagentes eritrocitários Biotest[®], com os seguintes fenótipos para o sistema Rh: R_1R_1 ou R_1r e R_2R_2 ou R_2r e com os antígenos eritrocitários, descritos a seguir, presentes: Kell (K), Celano (k), Rautemberg (Kpb), Mathews (JSb), Duffy a (Fya), Duffy b (Fyb), Kidd a (Jka), Kidd b (Jkb), Lewis a (Lea), Lewis b (Leb), M, N, S, s, P₁ e Lutheran b (Lub).

Foi realizado o autocontrole em meio salino, com leitura após incubação à temperatura ambiente (26 a 28°C), além do autocontrole que acompanhou todas as técnicas de pesquisa de anticorpos séricos descritas a seguir (WALKER et al., 1990).

Técnicas utilizadas:

- a) Teste indireto da antiglobulina em tubo com Liss (LOW & MESSETER, 1974; MOORE & MOLLISON, 1976; ROUGER et al., 1980)

Para realização do referido teste foi utilizada antiglobulina humana poliespecífica (anti-IgG, anti-C3b e anti-C3d), com titulação de 1:256.

- b) Teste indireto da antiglobulina com polietilenoglicol-PEG (NANCE & GARRATY, 1987; WENZ & APUZZO, 1989; WENZ, APUZZO & SHAH, 1990)

O polietilenoglicol foi obtido da Sigma[®], com peso molecular 3.650 e preparado com tampão PBS (pH - 7,2). O soro utilizado foi anti-gamaglobulina humana (anti-IgG) com titulação de 1:256.

- c) Teste indireto da antiglobulina em tubo com hemácias pré tratadas com papaína

Os eritrócitos foram previamente tratados com uma solução de papaína (ROUGER et al., 1985).

Preparo da solução:

Solução 1: A papaína Sigma[®] foi diluída em solução de NaCl a 0,9% (10 mg/ml); deixada a 4°C durante 18 horas e centrifugada, antes de sua utilização.

Solução 2: Dissolvido cloridrato de L-cisteína da Sigma[®] em solução de NaCl 0,9% na concentração de 2 mg/ml.

Solução 3: Dissolvido Na₂HPO₄ Sigma[®] em solução de NaCl 0,9% na concentração de 36 mg/ml.

A preparação da papaína foi produzida através da mistura das soluções 1, 2 e 3, na proporção de 1:2:1, respectivamente.

As hemácias a serem pré tratadas foram submetidas a subseqüentes lavagens com NaCl 0,9% e posteriormente incubadas em banho maria a 37°C durante 30 minutos, com a solução final de papaína. Após a incubação, os eritrócitos foram lavados três vezes com a mesma solução de NaCl 0,9%, para eliminar a enzima proteolítica.

Em um tubo de ensaio foi colocada uma gota (50 µl) de suspensão a 3% de hemácias pré-tratadas com papaína e uma gota de soro do paciente. A reação foi incubada durante 10 minutos a 37°C em banho-maria, realizando-se em seguida a leitura. Posteriormente foi centrifugada durante 15 segundos a 3.000 rpm e repetida a leitura. Em seguida, os glóbulos vermelhos foram lavados três vezes, acrescentado-se duas gotas do soro antiglobulina humana. Foi então realizada a centrifugação e repetida a leitura.

- d) Teste indireto da antiglobulina pela técnica de gel centrifugação, com hemácias tratadas com enzimas (LAPIERRE et al., 1990; ROSIERS & NASR, 1993)

Foram utilizados reativos (cartões de gel neutro) e equipamentos Diamed®.

As hemácias de triagem foram pré tratadas com papaína, de acordo com a técnica descrita anteriormente, sendo que para a reação em gel a concentração da suspensão de hemácias utilizada foi de 1.0%.

6. Identificação dos anticorpos irregulares

Para a identificação da especificidade do anticorpo, foram utilizados painéis de hemácias fenotipadas da Biotest® e Diamed®. Estes painéis eram constituídos por hemácias com os seguintes fenótipos do sistema Rh: R₁ R₁, R₂ R₂, r r, r"r, rr e com os antígenos eritrocitários descritos a seguir: K, k, Kpb, Jsa, Fya, Fyb, Jka, Jkb, Lea, Leb, S, s, M, N, P₁ e Lub. No painel Biotest® esteve sempre presente uma amostra de hemácias com o antígeno "I" ausente.

Os anticorpos foram identificados pelas técnicas em tubo (LISS, PEG e com hemácias pré tratadas com papaína) e/ou pela técnica de gel centrifugação (LISS e hemácias tratadas com enzimas). Os

reativos utilizados e os métodos empregados foram os mesmos descritos para os testes de triagem de pesquisa de anticorpos séricos, respeitando-se sempre todas as fases previamente descritas.

Nos casos em que se obteve resultado positivo na pesquisa de anticorpos séricos em uma determinada técnica, foi realizada a identificação deste anticorpo com a mesma técnica.

Além do "pool" de glóbulos vermelhos com a ausência de antígeno "I" obtido comercialmente, foi desenvolvido um painel com hemácias procedentes de cordões umbilicais de quatro recém-nascidos (RN), considerando-se que estes eritócitos são ricos em antígeno i.. Os glóbulos vermelhos dos RN foram lavados oito vezes com solução salina fisiológica e submetidos aos seguintes testes: determinação de grupo sanguíneo ABO/Rh com controle Rh, teste direto da antiglobulina em tubo com soro antiglobulina humana e com soro anti-gamaglobulina humana e teste direto da antiglobulina realizado pela técnica de gel - centrifugação com soro poliespecífico e com soros monoespecíficos (anti-IgG, anti-IgM, anti-C3, anti-C3d e anti-C4).

Nos casos em que houve a suspeita da presença do anticorpo anti-I, o soro do paciente foi testado contra um painel de hemácias produzido a partir de amostras de sangue procedentes dos cordões umbilicais, visando definir a especificidade do mesmo. Foram preparadas quatro suspensões de hemácias de cordão a 3% com solução de NaCl a 0,9%. Em um tubo de ensaio foi colocada uma gota (50 µl) desta suspensão e duas gotas do soro do paciente. A mistura foi incubada a 4°C durante 60 minutos, centrifugada por 15 segundos a 3000 rpm e em seguida foi realizada a primeira leitura. Posteriormente, foi incubada à temperatura ambiente por 60 minutos e foram repetidas a centrifugação e a leitura. Finalmente, a mistura foi incubada a 37 °C em banho-maria, durante o mesmo intervalo de tempo, e, após a centrifugação, foi realizada a última leitura.

Os critérios utilizados para considerar o anticorpo como provável anti-I ou especificidade sugestiva de anti-I foram:

- resultados positivos das reações do soro do paciente com as hemácias procedentes de indivíduos adultos;
- resultados negativos das reações com as quatro amostras de eritrócitos do painel de hemácias, produzidas a partir de sangue de cordões umbilicais;
- resultado negativo da reação com o reagente eritrocitário, obtido comercialmente, com ausência do antígeno I.

Quadro I. Roteiro da avaliação imunológica eritrocitária dos pacientes portadores de linfoma não Hodgkin e do grupo controle

1. Determinação de grupo sanguíneo ABO/Rh
2. Teste direto da antiglobulina - Coombs direto:
 - técnica em tubo com o soro antiglobulina humana poliespecífica
 - técnica em tubo com o soro anti-gamaglobulina
 - técnica de gel centrifugação:
 - teste direto da antiglobulina com o soro poliespecífico
 - teste direto da antiglobulina com o soro monoespecífico
3. Eluição do anticorpo pela técnica do clorofórmio e identificação do anticorpo
4. Pesquisa e identificação de anticorpos séricos pelo teste indireto da antiglobulina:
 - técnica em tubo com LISS
 - técnica em tubo com PEG
 - técnica em tubo com hemácias tratadas com enzimas
 - técnica de gel-centrifugação com hemácias tratadas com enzimas
5. Autocontrole

Controle de Qualidade dos Reagentes

Todos os antisoros obtidos comercialmente e utilizados na avaliação imunohematológica foram testados previamente com relação à especificidade, à sensibilidade, à avidéz e ainda titulados. Os reagentes eritrocitários foram avaliados quanto à especificidade.

Crítérios para Leitura das Reações

Leitura do gel teste (LAPIERRE et al., 1986)

Os aglutinados são separados das hemácias não aglutinadas pelo gel:

- em uma reação positiva as hemácias são retidas na parte superior do gel ou na superfície (Figura 1- quinto e sexto tubos)
- em uma reação fracamente positiva, os aglutinados são distribuídos na suspensão do gel (Figura 1- segundo, terceiro e quarto tubos)
- um aglomerado de hemácias no fundo do microtubo com gel traduz uma reação negativa (Figura 1- primeiro tubo)

A leitura foi quantificada segundo a Figura 1.

Leitura da Aglutinação em Tubo (MARSH, 1972).

A aglutinação em tubo de ensaio (12 x 75 mm) necessita de uma discreta centrifugação e de uma suave ressuspensão do "botão" de hemácias.

A reação foi avaliada em aglutinoscópio com aumento de cinco vezes, Alphalab® e ainda microscopicamente com o aumento de 100 vezes.

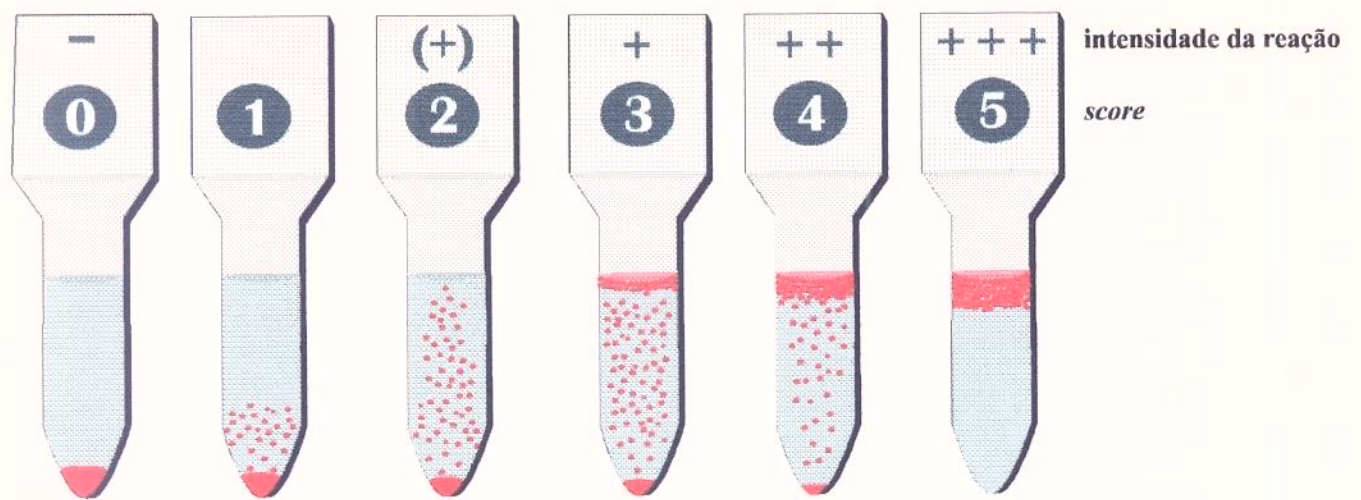


Figura 1. Leitura do gel teste (*Lapierre et al., 1986*)

A intensidade de aglutinação seguiu os critérios descritos abaixo:

um único aglutinado nenhuma hemácia livre	4 + score 12
grandes aglutinados	3 + score 10
várias aglutinações grandes ausência de hemácias livres	2 + score 8
pequenas aglutinações, que são perfeitamente detectáveis macroscopicamente presença de hemácias livres	1 + score 5
poucos aglutinados macroscópicos numerosos aglutinados microscópicos com aproximadamente 6 hemácias presença de hemácias livres no fundo	+ score 3
macroscopicamente negativo aglutinações microscópicas de 2 a 3 hemácias	(+) score 2
ausência de aglutinação microscópica	0 score zero

Leitura de Aglutinação em Placa de Opalina (ROUGER & SALMON, 1981) (Figura 2)

Na mistura da hemácia com o soro sobre a placa de opalina, foi feito um círculo de aproximadamente 2 cm de diâmetro.

A intensidade da aglutinação foi avaliada segundo os critérios semi quantitativos abaixo definidos:

aglutinação total sem glóbulos livres	+++
até 10 aglutinados	++
mais de 10 aglutinados	+
micro-aglutinados	(+)
ausência de aglutinação - (negativo)	(-)



+++

Aglutinação total sem glóbulos livres



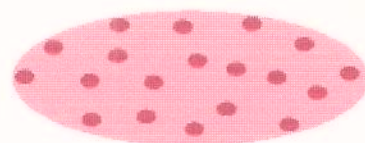
++

Vários grumos grandes com fundo claro



+

Grupos menores, hemácias livres



(+)

Poucos grumos pequenos, hemácias livres



(-)

Ausência de Aglutinação

Figura 2. Leitura de aglutinação em placa de opalina (*Rouger & Salmon, 1981*)

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi realizada a análise estatística dos resultados. Os 77 pacientes portadores de LNH foram analisados em tabelas de distribuição de frequências e percentagens.

Com o objetivo de analisar se existem associações entre os tipos imunológicos de LNH, graus de malignidade e estadiamento com as alterações imunológicas eritrocitárias, foram formadas as tabelas de contingências e realizados os testes exato de Fisher e do Chi Quadrado (X^2) (BEIGUELMAN, 1988).

RESULTADOS

DADOS CLÍNICOS

1. Idade e Sexo

A média de idade, considerando ambos os sexos, foi de 57,4 anos. A distribuição por sexo mostra que 54,5% dos pacientes eram do sexo masculino e 45,4% do sexo feminino (M / F = 1,2). O Gráfico I refere a incidência do linfoma por faixas etárias e mostra uma maior frequência da doença na 6ª e 7ª décadas. O Quadro II apresenta a análise estatística das idades, do total de casos estudados, dos sexos masculino e feminino.

2. Diagnóstico

O diagnóstico da doença foi feito pelo estudo do linfonodo ou tecido extra-nodal acometido. Além dos casos próprios de nosso serviço, alguns pacientes foram encaminhados de outras instituições já com diagnósticos. Neste casos, as lâminas e/ou blocos em parafina com fragmentos anátomo-patológicos foram reanalisados. Todo o material histológico foi revisto e reclassificado segundo a classificação de Kiel (LENNERT & FELLER, 1992).

Dos 77 casos estudados, 41 (53,2%) foram diagnosticados como linfomas de baixo grau e 36 (46,7%) como linfomas de alto grau de malignidade.

O tipo imunológico do linfoma (B ou T) foi definido pela avaliação morfológica em 57 casos (74%) e pela imunohistoquímica em 10 casos (12,9%). Em 10 pacientes não foi possível a definição do tipo imunológico do LNH.

Dos 67 casos que foram classificados com relação ao tipo imunológico, 60 eram linfomas B e sete linfomas T. O Quadro III mostra a distribuição destes casos de LNH, em alto e baixo grau de malignidade, e em seus vários subtipos.

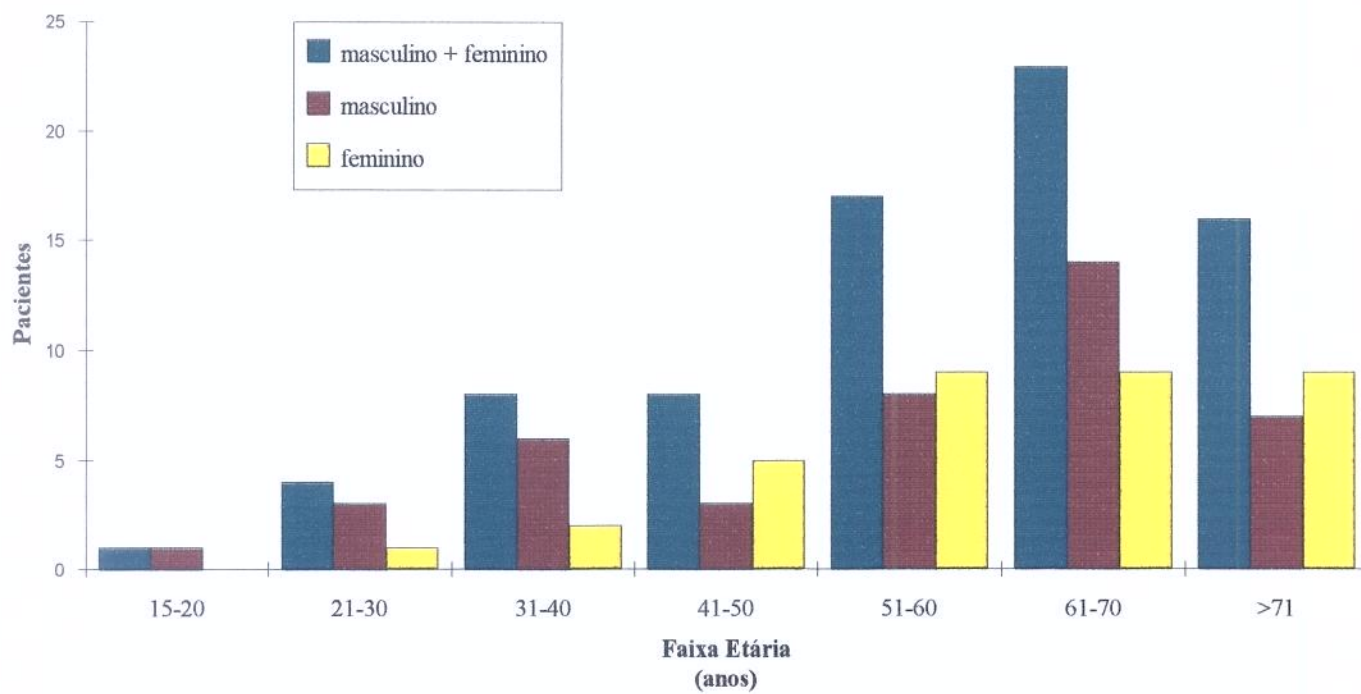


Gráfico I. Distribuição do total de casos estudados em ambos os sexos por faixas etárias

Quadro II. Análise estatística das idades do total de casos estudados, nos sexos masculino e feminino

sexo	idades				
	mínima	máxima	média	desvio padrão	erro padrão
feminino	28	83	60,3	13,2	2,2
masculino	19	83	55,1	17	2,6
total	19	83	57,4	15,5	1,8

Análise dos dados: Dentre os pacientes portadores de LNH, tanto para o sexo feminino quanto masculino, não foram observadas diferenças estatísticas significantes.

Teste de Wilcoxon: $X_1^2 = 1,3380$, $p-v = 0,2474$

Quadro III. Distribuição dos linfomas não Hodgkin entre os tipos B e T e subtipos

LNH ALTO GRAU DE MALIGNIDADE	
TIPO B	
Centrobástico	17
Imunobástico	02
Burkitt	02
Linfobástico	01
Não definido subtipo	02
TIPO T	
Pleomórfico de grandes células	01
Linfobástico	01
Não definido subtipo	03
Não classificado imunologicamente	06
LNH DE BAIXO GRAU DE MALIGNIDADE	
TIPO B	
Linfocítico	
Leucemia linfocítica crônica	04
Leucemia de células cabeludas	03
Linfoplasmocítico-linfoplasmocitóide (imunoicitoma)	13
Centrobástico-centrocítico	09
Centrocítico	01
não definido o subtipo	06
TIPO T	
Angioimunobástico	02
Não classificado imunologicamente	02
Total	77

Dos 60 casos de LNH classificados como do tipo B, em 52 deles classificou-se o subtipo, conforme demonstrado no Quadro III, sendo 36 casos de linfomas de baixo grau e 24 casos de alto grau de malignidade. Dos sete casos de linfomas T, em apenas quatro foi possível a classificação, sendo dois casos de linfomas de baixo grau de malignidade, subtipo linfadenopatia angioimunoblástico e dois casos de linfomas de alto grau de malignidade, um caso do subtipo pleomórfico de médias e grandes células e um caso linfoblástico.

Em 11 casos não foi possível a conclusão do subtipo histológico pelo exame anátomo-patológico.

3. Estadiamento

Do ponto de vista clínico, 69 casos de LNH não leucemizados foram estadiados segundo a convenção de Ann Arbor (CARBONE et al., 1971). Foram observados oito casos no estadio I, 13 casos no estadio II, 14 casos no estadio III e 34 casos no estadio IV, conforme representado na Quadro IV.

Os quatro casos de leucemia linfocítica crônica foram estadiados de acordo com os critérios de Rai (RAI et al., 1975) sendo um caso no estadio III e três casos no estadio IV, conforme representado no Quadro V. Os três casos de leucemias de células cabeludas não foram estadiados pelas características clínicas próprias da doença.

Em um caso os requisitos propostos para o estadiamento não foram cumpridos, sendo portanto excluídos desta análise estatística.

Quadro IV. Estadiamento dos linfomas não Hodgkin segundo a convenção de Ann Arbor
(CARBONE et al., 1971)

Estadiamento	Nº. de casos	%
I A	4	5,8
I B	4	5,8
II A	8	11,6
II B	5	7,2
III A	3	4,3
III B	11	16,0
IV A	9	13,0
IV B	25	36,3
total	69	100,00

Sintomas: A-34,78% (24 casos)

B-65,22% (45 casos)

Quadro V. Estadiamento das leucemias linfocíticas crônicas, conforme os critérios de Rai (RAI et al., 1975)

Estadiamento	Nº	%
I	0	0
II	0	0
III	1	25%
IV	3	75%
total	4	100%

4. Linfomas não Hodgkin, associados com fenômenos autoimunes e/ou com doenças que comprometem o sistema imune

Dos 77 casos de linfoma não Hodgkin, em 8 casos (10,4%) foram encontradas doenças do sistema imune associado, sendo um caso de lupus eritematoso sistêmico (LES), um caso de lupus eritematoso discóide (LED), dois casos de síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), e dois casos de púrpura trombocitopênica idiopática (PTI). Um paciente tinha antecedentes de anemia hemolítica autoimune (AHAI) e outro apresentava quadro clínico e laboratorial de hemólise extra vascular na época da avaliação.

5. Avaliação Clínica e Laboratorial da Hemólise

Na análise clínica e laboratorial dos resultados, constatou-se apenas um caso de hemólise extra-vascular: um paciente de 32 anos, do sexo masculino e portador de linfoma não Hodgkin tipo B de baixo grau de malignidade. O subtipo histológico não foi definido. Os dados laboratoriais deste caso estão demonstrados no Quadro VI.

6. Eletroforese de Proteínas

A eletroforese de proteínas foi realizada em 69 casos, dos 77 pacientes estudados. Em 52 (75,3%) pacientes foram detectados níveis normais de albumina sérica e em 17 (24,6%), hipoalbuminemia.

Quanto aos níveis de gamaglobulina, 12 casos (17,4%) apresentaram hipogamaglobulinemia, 40 casos (57,9%), níveis normais de gamaglobulina e 17 casos (24,6%), hipergamaglobulinemia.

Em quatro casos (5,8%), encontramos gamopatia monoclonal. Todos os pacientes eram portadores de linfomas B de baixo grau de malignidade; três casos de imunocitoma e um caso cujo subtipo histológico não foi definido. Estes dados estão expostos no Quadro VII.

Quadro VI. Resultados laboratoriais do paciente DF (46) com quadro clínico e laboratorial de hemólise extra-vascular

Paciente	Hb	Ht	VCM	HCM	Ret	BT	BD	BI	URO
46-DF	7,4	21	95	22,9	2,5	2,3	0,4	1,9	2,0

Hb - hemoglobina (g/dl)

Ht - hematócrito (%)

VCM - volume corpuscular médio (fl)

HCM - hemoglobina corpuscular média (pg)

Ret - reticulócitos (%)

URO - urobilinogênio urinário (UE/dl)

BD - bilirrubina direta (mg%)

BI - bilirrubina indireta (mg%)

BT - bilirrubina total (mg%)

Quadro VII. Frações albumina e globulinas em g/dl obtidas pela eletroforese de proteínas - destaque nos casos de gamopatia monoclonal

valores	albumina		gamaglobulina			gamopatia monoclonal
	até 3,5	> 3,5	<0,8	0,8-1,6	>1,6	
N. casos	17	52	12	40	17	04
%	24,63	75,36	17,39	57,97	24,63	5,79%

7. Avaliação Imunológica Eritrocitária

Dos 77 pacientes avaliados, encontramos 25 do grupo sanguíneo A, Rh positivo; dois do grupo A, Rh negativo; cinco do subgrupo A2, Rh positivo; 13 do grupo B, Rh positivo; dois do grupo B, Rh negativo; dois do grupo AB, Rh positivo; 25 do grupo O, Rh positivo e três do grupo O, Rh negativo. Os resultados da determinação do grupo sanguíneo ABO e fator Rh (D) encontram-se representados no Quadro VIII.

Dos 77 casos, 49 (63,6%) apresentaram resultados negativos nos testes de avaliação imunológica eritrocitária e 28 (36,3%) apresentaram algum teste positivo na avaliação imunohematológica. Estes dados estão representados nos Quadros IX e X.

Em nove pacientes, o teste direto da antiglobulina foi positivo. Com o objetivo de identificar a especificidade do anticorpo, foram realizadas eluições dos anticorpos pela técnica do clorofórmio e o soro foi testado contra um painel de hemácias. Em quatro casos o eluato foi negativo e em cinco casos o eluato foi positivo, mas não foi possível definir o anticorpo.

Em 26 pacientes foram obtidos resultados positivos em pelo menos um teste de triagem para a pesquisa de anticorpos séricos e/ou autocontrole. No intuito de identificar a especificidade deste anticorpo, o soro do paciente foi testado contra um painel de hemácias utilizando sempre a mesma técnica em que o teste de triagem foi positivo.

Os resultados dos testes de identificação dos anticorpos séricos foram: 17 pacientes (22,0%) com autoanticorpos da classe IgM com especificidade provável de anti-I; três pacientes (3,9%) com autoanticorpos da classe IgG sem especificidade definida; um paciente (1,3%) com autoanticorpo da classe IgM sem especificidade definida e dois pacientes (2,6%) com auto-IgG sem

Quadro VIII. Resultados da determinação do grupo sanguíneo ABO e fator Rh (D) nos pacientes portadores de LNH

ABO	Rh (D)	Nº	%
A	positivo	25	32,5
A2	positivo	05	6,5
A	negativo	02	2,6
B	positivo	13	16,9
B	negativo	02	2,6
AB	positivo	02	2,6
O	positivo	25	33,5
O	negativo	03	3,9
Total		77	100

Quadro IX. Resultado dos exames imunohematológicos dos pacientes com auto e/ou aloanticorpos antierytrocitários

Paciente	CD		C-Rh	Coombs Direto						auto SAL	PAI Liss	PAI PEG	PAI PAP	PAI GelE
	AGH	AGG		CD Liss g.	a-IgG	a-IgM	a-C3	AC3d	A-C4					
7 - BS	n	n	n	-	-	-	-	-	-	p	n	n	p	n
8 - CEA	n	n	n	-	-	-	-	-	-	n	n	p	p	n
10 - ISP	p	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
13 - JCS	n	n	n	-	-	-	-	-	-	p	n	n	p	n
14 - JRS	n	n	n	-	-	-	-	-	-	p	n	n	p	p
16 - JT	n	n	n	-	-	-	-	-	-	p	n	n	p	n
18 - LSF	n	n	n	-	-	-	-	-	-	p	n	n	p	n
20 - MD	n	n	n	n	n	n	n	n	n	p	n	n	p	n
27 - VDP	n	n	n	n	n	n	n	n	n	p	n	n	p	p
28 - WT	n	n	n	n	n	n	n	n	n	p	n	n	p	n
29 - ZAV	n	n	n	n	n	n	n	n	n	p	n	n	p	n
32 - ASA	n	n	n	p	n	n	n	n	n	p	n	n	p	n
35 - ARS	n	n	n	n	n	n	n	n	n	p	n	n	p	n
38 - AAB	p	n	n	n	n	n	n	n	n	p	n	n	p	n
41 - BFC	p	p	-	p	n	n	n	n	n	p	p	p	p	p
42 - BS	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	p	p	n
46 - DF	n	p	p	p	n	p	p	p	p	p	n	n	p	p
47 - DRD	n	n	p	p	n	n	n	n	n	p	n	n	p	p

cont.

cont. Quadro IX

Paciente	CD AGH	CD AGG	CD Liss g	C-Rh	Coombs Direto							auto		PAI Liss	PAI PEG	PAI PAP	PAI Gel e
					a-IgG	a-IgM	a-C3	AC3d	A-C4	PV	sal	PAI					
48 - EPJ	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
51 - JT	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
53 - GS	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
54 - GPF	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
62 - JCR	p	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
64 - JS	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
65 - LF	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
76 - OAD	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
78 - PAS	p	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
81 - RLB	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p	p

CD AGGH: Coombs direto com soro anti-gamaglobulina

CD AGH: Coombs direto com soro anti globulina humano poliespecífico

CD LISS g: Coombs direto LISS gel

C-Rh: controle Rh

a IgM: Coombs direto monoespecífico com soro anti IgM

aC3dg: Coombs direto monoespecífico com soro anti C4

a IgG: Coombs direto monoespecífico com soro anti-IgG

a C3: Coombs direto monoespecífico com soro anti-C3

PV: Coombs direto com soro poliespecífico - técnica em gel

auto sal: autocontrole em meio salino

PAI PAP: pesquisa de anticorpos séricos em tubo com hemácias tratadas com papaina

PAI Gel E: pesquisa de anticorpos séricos em gel com hemácias tratadas com papaina

PAI LISS: pesquisa de anticorpos séricos em tubo com meio de baixa força iônica

PAI PEG: pesquisa de anticorpos séricos em tubo com PEG

p - resultado do teste positivo

n - resultado do teste negativo

Quadro X. Conclusões das avaliações imunohematológicas dos pacientes portadores de LNH

paciente	Identificação do anticorpo
7 - BS	provável auto anti - I
8 - CEA	aloanticorpo anti -E
10 - ISP	Coombs direto positivo / eluato negativo
13 - JCS	provável auto anti - I
14 - JRS	provável auto anti - I
16 - JT	provável auto anti - I
18 - LSF	anticorpo à frio sem especificidade definida
20 - MD	provável auto anti I
27 - VDP	provável auto anti I
28 - WT	provável auto anti I
29 - ZAV	aloanticorpo anti-K
32 - ASA	autoanticorpo do tipo IgG provável auto anti - I
35 - ARS	provável auto anti - I
38 - AAB	provável auto anti - I / aloanticorpo anti-E
41 - BFC	autoanticorpo do tipo IgG.
42 - BS	aloanticorpo anti-Lea
46 - DF	autoanticorpo do tipo IgG provável auto anti - I
47 - DRD	autoanticorpo do tipo IgG
48 - EPJ	provável auto anti - I
51 - JT	provável auto anti - I
53 - GS	provável auto anti - I
54 - GPF	aloanticorpo anti - E provável auto anti - I
62 - JCR	provável auto anti - I
64 - JS	provável auto anti - I
65 - LF	provável auto anti - I
76 - OAD	provável auto anti - I
78 - PAS	Coombs direto positivo / eluato negativo
81 - RBL	autoanticorpo do tipo IgG

especificidade definida, associado a um provável auto anti-I. Estes resultados estão demonstrados no Quadro X.

Em cinco pacientes (6,5%) foram identificados aloanticorpos: três anti-E, um anti-K e um anti Lea. Estes dados estão demonstrados no Quadro XI.

Não foram detectadas alterações nos resultados dos testes imunohematológicos em cinco pacientes que faziam uso regular de medicamentos. A relação dos pacientes e drogas está apresentada no Quadro XII.

Na análise da associação de autoanticorpos anti-eritrocitários com o tipo imunológico do linfoma, verificou-se que, dos 60 casos do tipo B, 12 pacientes (20%) apresentaram prováveis auto anti-I; três outros pacientes (5%), auto IgG sem especificidade definida; dois pacientes (3,3%), auto IgG sem especificidade definida associada a auto anti-I e, em um paciente (1,6%), foi verificada a presença de um anticorpo a frio sem especificidade definida. Nos sete casos de linfomas classificados como do tipo T, em três foram detectados prováveis auto anti-I. Os 10 pacientes em que o tipo imunológico do linfoma não foi definido não foram incluídos nesta análise estatística (Quadro XIII).

Na análise da associação do grau de malignidade dos LNH com a presença de autoanticorpos, verificamos que em 16 casos (38,9%) dos linfomas de baixo grau de malignidade e em sete casos (19,5%) dos linfomas de alto grau de malignidade foram identificados autoanticorpos (provável auto anti-I e/ou auto IgG sem especificidade definida ou autoanticorpo a frio sem especificidade definida). Estes dados estão descritos no Quadro XIV.

Quadro XI. Provável etiologia da aloimunização em pacientes com aloanticorpos anti-eritrocitários

pacientes	aloanticorpos	provável etiologia da aloimunização
8 - CEA	anti-E	-
29 - ZAV	anti-K	múltipara-aloimunização feto-materna
38 - AAB	anti-E	-
42 - BS	anti-Lea	-
53 - GS	anti-E	antecedente transfusional

Quadro XII. Relação dos pacientes que tomavam regularmente medicamentos e nomes das drogas

pacientes	drogas
31 - ALA	paracetamol-codeína-nifedipina
39 - AMP	nifedipina-hidroclortiazida-cetoconazol
50 - EG	prednisona (10mg/dia)
74 - MCD	furosemida-hidroclortiazida-cloridrato de amiloridina
79 - RLM	hidroclortiazida

Quadro XIII. Correspondência entre o tipo imunológico do LNH (B ou T) e a presença de autoanticorpos

tipo do LNH	autoanticorpos									
	ausentes		auto-aI		auto IgG		aa-f		auto aI + auto IgG	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
B	42	70	12	20	3	5	1	1,7	2	3,3
T	4	57,1	3	42,9	-	-	-	-	-	-
indeterminado	8	80	2	20	-	-	-	-	-	-
total	54	70,1	17	22,1	3	3,9	1	1,3	2	2,6

auto-aI: provável auto anti-I

aa-f: auto anticorpo a frio sem especificidade definida

Análise dos dados:

Não há evidência de associação estatisticamente significativa entre o tipo do LNH (B ou T) e a presença de autoanticorpo (teste Chi quadrado $\chi^2 = 3,513$, p-v = 0,898, teste exato de Fisher, p-v = 0,871).

Quadro XIV. Correspondência entre o grau de malignidade dos LNH e a presença de autoanticorpos

tipo LNH	autoanticorpos									
	ausentes		auto-aI		auto-IgG		aa-f		auto aI + IgG	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
agm	29	80,6	6	16,7	-	-	-	-	1	2,8
bgm	25	61	11	26,8	3	7,3	1	2,4	1	2,4
total	54	70,1	17	22,1	3	3,9	1	1,3	2	2,6

agm: linfoma de auto grau malignidade

bgm: linfoma de baixo grau de malignidade

Análise dos dados:

Não houve evidência de associação estatisticamente significativa entre o grau de malignidade e o tipo de autoanticorpos, embora haja uma clara tendência dos linfomas de baixo grau de malignidade se associarem à presença de autoanticorpos antieritrocitários (teste Chi quadrado $\chi^2 = 3,508$, p-v = 0,061; teste exato de Fisher; p-v = 0,082).

Na análise da associação dos LNH de baixo grau de malignidade B e T, com a presença de autoanticorpos anti-eritrocitários, o resultado obtido não foi estatisticamente significativo (teste exato de Fischer; $p-v = 0,149$).

Na avaliação estatística da associação do estadiamento dos LNH com a presença de autoanticorpos anti-eritrocitários verificou-se que, dos 73 casos que foram estadiados, em cinco pacientes (23,8%) com linfoma no estadio inicial (I ou II) e em 17 (37,7%) pacientes com linfoma em estadio avançado (III ou IV), foram identificados autoanticorpos. Os três casos de leucemia de células cabeludas e um caso de LNH não leucemizado não estão incluídos nesta análise estatística, por não apresentarem estadiamento. Estes dados estão demonstrados nos Quadros XV e XVI

Dos 8 casos (10,4%) de linfomas não Hodgkin com doenças do sistema imune associadas, identificou-se quatro pacientes portadores de autoanticorpos: em um caso provável auto anti I; em dois outros, auto-IgG inespecífica e em um caso a associação de ambos. Estes dados estão demonstrados nos Quadros XVII e XVIII.

Nos 41 indivíduos do grupo controle que foram submetidos à avaliação imunohematológica todos os testes foram negativos e, portanto, nenhum autoanticorpo ou aloanticorpo foi detectado.

Quadro XV. Correspondência entre o estadiamento dos LNH e a presença de autoanticorpos anti-eritrocitários, distribuídos segundo os tipos

estadiamento	Autoanticorpos									
	ausentes		auto-aI		auto-IgG		aa-f		auto aI + IgG	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
I	6	75	2	25	-	-	-	-	-	-
II	10	76,9	2	15,4	-	-	1	7,7	-	-
III	10	66,7	5	33,3	-	-	-	-	-	-
IV	25	67,6	7	18,9	3	8,1	-	-	2	5,4
total	51	69,9	16	21,9	3	4,1	1	1,4	2	2,7

Análise dos dados:

Não há evidências de associação entre o estadiamento dos LNH e o tipo de autoanticorpos (teste do Chi quadrado:

$\chi^2_{12} = 10,985$; p-v = 0,53; teste exato de Fisher: p-v = 0,792)

Quadro XVI. Correspondência entre o estadiamento dos LNH e a presença de autoanticorpos

estadiamento	autoanticorpos			
	ausentes		presentes	
	n	%	n	%
inicial	16	76,2	5	23,8
avanzado	35	67,3	17	32,7
total	51	69,9	22	30,1

Análise dos dados:

Considerando os estadiamentos I e II, como estágios iniciais da doença e os estadiamentos III e IV como estágios avançados, verificamos que também não há evidências de associação entre o estadiamento e a presença de autoanticorpos (teste Chi quadrado $\chi^2_1 = 0,561$, p-v = 0,454; teste exato de Fisher: p-v = 0,577).

Quadro XVII. Relação dos pacientes que apresentavam doenças de comprometimento do sistema imunológico e presença de auto anticorpo.

paciente	diagnóstico	avaliação imunohematológica
28 - WT	SIDA	provável auto anti -I
46 - DF	AHAI	auto IgG inespecífica e provável auto anti- I
47 - DRD	PTI	auto IgG inespecífica
81 - RBL	AHAI	auto IgG inespecífica*

* antecedentes de anemia hemolítica autoimune

Quadro XVIII. Correspondência entre doenças do sistema imune associadas ao LNH e a presença de autoanticorpos.

doenças imunes	autoanticorpos	
	ausente	presente
	n	n
ausente	50	19
AHAI	-	2
SIDA	1	1
LED	1	-
LES	1	-
PTI	1	1
total	54	23

Análise dos dados:

Não existe evidência de associação entre doenças imunes e LNH com a presença de autoanticorpos (teste Chi quadrado $\chi^2_5 = 6,501$; p-v = 0,261; teste exato de Fisher: p-v = 0,178)

DISCUSSÃO

A incidência dos LNH cresce de forma significativa no mundo. Nos EUA foram diagnosticados cerca de 40.000 casos em 1993 e estima-se atingir de 70.000 a 80.000 casos por ano no início do próximo século. O crescimento da incidência dos linfomas é explicado pelo aumento da expectativa de vida, nos países desenvolvidos e em desenvolvimento, e pelo crescente número de pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) (ARMITAGE & DURIE, 1992).

Em nosso meio não há dados conclusivos sobre os LNH, tanto do ponto de vista epidemiológico como clínico. Vários aspectos fisiopatológicos dos linfomas não estão ainda totalmente esclarecidos. Pouco se sabe sobre as alterações imunológicas e menos ainda a respeito das imunohematológicas.

O perfil imunohematológico geral, realizado nos pacientes portadores de LNH, teve como objetivo investigar a presença de auto e/ou aloanticorpos anti-eritrocitários ou seja, anticorpos dirigidos contra antígenos eritrocitários próprios e anticorpos resultantes de respostas imunes a aloantígenos.

Os autoanticorpos, aderidos à membrana eritrocitária, foram detectados pelo teste direto da antiglobulina, com soros poliespecíficos e monoespecíficos.

Os anticorpos séricos foram pesquisados em diferentes técnicas, com meios potencializadores das reações de aglutinação, como a solução de baixa força iônica e o polietilenoglicol (PEG). A investigação destes anticorpos também foi feita com hemácias pré tratadas com enzimas. Esta técnica aumenta a sensibilidade do teste para a detecção de alguns anticorpos, como os dirigidos contra antígenos dos sistemas Rh e Kidd (WALKER et al., 1993).

A associação de doenças linfoproliferativas com fenômenos autoimunes é amplamente discutida na literatura (HENCH et al., 1962; MILLER, 1967; PIROFSKY & PORTLAND, 1968; JONES, 1973; DÜHRSEN et al., 1987; ROSSI et al., 1988; KELLER, 1992; KIPPS & CARSON, 1993; KOURTIS et al., 1994). Entre as patologias neoplásicas, os linfomas são os que mais frequentemente se associam a doenças do sistema imunológico, tais como a AHAI, PTIm, artrite reumatóide, LES, síndrome de Sjögren, dermatomiosite, tireoidite, vasculite, glomerulonefrite, dentre outras doenças imunes (BANKS et al., 1979; BERLINER et al., 1983; SYMMONS, 1985; KELLER, 1992). As doenças autoimunes podem manifestar-se simultaneamente ou preceder ao diagnóstico da doença linfoproliferativa e, em algumas situações, aparecem durante a evolução do linfoma (MILLER, 1973; PIROFSKY & PORTLAND, 1968; JONES, 1973; DÜHRSEN et al., 1987).

A etiologia dos distúrbios autoimunes nas doenças linfoproliferativas não está ainda totalmente definida. Atualmente investigam-se alterações a nível molecular, no sentido de explicar esta associação. Provavelmente os oncogenes sejam o denominador comum da associação entre doenças neoplásicas e patologias autoimunes (BOUPAS et al., 1986; KELLER, 1992).

Nos 77 pacientes portadores de LNH estudados, foi encontrada associação com PTIm em dois casos, com LES em um caso, com LED em um caso e com AHAI em dois casos, sendo que um dos pacientes apresentava, ao diagnóstico, quadro clínico e laboratorial de hemólise extra-vascular e, um outro, antecedente hemolítico. A associação de doenças do sistema imune e LNH em nossa casuística foi de 7,7%. Este dado é semelhante aos relatados por alguns autores, que variam de 1,8 a 8,4% (HENCH et al., 1962; LEA, 1962; MILLER, 1967; JONES, 1973; SACKS, 1974; HABLIN et al., 1986; DÜHRSEN et al., 1987).

Os autoanticorpos naturais, inespecíficos, dirigidos contra vários componentes do organismo, como proteínas do citoesqueleto, ácidos nucleicos, colágeno e substâncias exógenas, são descritos em pacientes portadores de LNH (ANDERSEN et al., 1976; MICHAELI et al., 1987; BOUCHE et al., 1990; KOURTIS et al., 1991; KOURTIS et al., 1994). Os autoanticorpos dirigidos contra antígenos eritrocitários responsáveis por quadros hemolíticos são relatados em 10 a 20% dos pacientes portadores de LLC e em 1,7% dos portadores de LNH. A LLC e suas variantes são consideradas entidades particulares dentro do grupo dos LNH, pois possuem determinadas peculiaridades como a hipogamaglobulinemia e a elevada incidência de fenômenos autoimunes associados (EBBE et al., 1962; JONES, 1973; SACKS, 1981; HABLIN et al., 1986; STHOEGER et al., 1993).

Geralmente os autoanticorpos patológicos originam-se nos clones de células B normais, embora algumas vezes possam originar-se do clone de células B neoplásicas (SILBERSTEIN et al., 1989; BOURCHE et al., 1990; STHOEGER et al., 1993; KIPS & CARSON, 1993). A origem dos autoanticorpos a partir de células B normais é demonstrada pelos seguintes fatos:

1. o isotipo da imunoglobulina (Ig) do autoanticorpo difere do isotipo da Ig expressa pelo clone de células malignas;
2. não existe relação entre o nível circulante do autoanticorpo e seu significado clínico com a duração e com a severidade da doença linfoproliferativa;
3. a terapia imunossupressora induz à remissão clínica da patologia autoimune, em alguns casos, sem afetar a evolução do linfoma (KIPS & CARSON, 1993).

Os baixos títulos de aglutininas a frio, clinicamente não significativas, são encontrados no soro de indivíduos normais. Estes títulos podem aumentar na vigência de doenças linfoprolifertivas e após processos infecciosos por *Mycoplasma pneumoniae*, vírus *Epstein Barr*, *Listeria monocytogenes* e Citomegalovirus, podendo desencadear quadros hemolíticos severos. Os anticorpos a frio, associados com processos infecciosos, possuem como característica o fato de serem transitórios e da hemólise evoluir para remissão espontânea em semanas (JENKINS et al., 1960; COSTEA et al., 1972; PRUZANSKI & SHUMAK, 1977; JANNEY et al., 1978; JEFFERIES et al., 1993). Na maioria das vezes, estes anticorpos possuem especificidades anti-I/i e anti-Pr (CHAPLIN et al., 1986; SALMON et al., 1991; KIRSCHFINK et al., 1992).

Os autoanticorpos anti-I podem aparecer em processos benignos e malignos. Talvez este anticorpo seja um co-produto da estimulação imunológica.

Constatou-se, em 84% dos 1181 índios Yanomanis que habitam na Venezuela, numa região entre os rios Orinoco e Ocamo, a presença de anti-I_t (LAYRISSE & LAYRISSE, 1968, 1972). Este anticorpo faz parte do sistema I/i e se caracteriza por reagir fortemente com hemácias de cordão umbilical (i) e fracamente com eritrócitos de indivíduos adultos (I), embora reaja fracamente com hemácias provenientes de indivíduos adultos com fenótipo i e com hemácias procedentes de *Cynomologus monkey*, ricas em antígeno i (BOOTH et al., 1966; GARRATY et al., 1972). Em 364 amostras procedentes da população normal da Melanesia (região da Indonésia) foram identificados 76% de autoanticorpos a frio, sendo a maioria deles dirigidos contra antígenos do sistema I/i.

Provavelmente a elevada incidência destes anticorpos esteja relacionada com fatores ambientais ou com doenças tropicais (CURTAIN et al., 1965, BOOTH et al., 1966; BOOTH, 1972; GARRATTY et al., 1972).

Em 29% dos pacientes estudados neste trabalho, foram identificados autoanticorpos anti-eritrocitários: 17 casos de provável auto anti-I, três casos de auto IgG sem especificidade definida, dois casos de associação de provável auto anti-I e auto IgG sem especificidade definida e um caso de anticorpo a frio sem especificidade definida. Em 22 pacientes a avaliação clínica e laboratorial não demonstrou quadro de hemólise, embora os testes imunohematológicos tenham constatado a presença de autoanticorpos anti-eritrocitários. Durante o desenvolvimento do trabalho, mostrou-se importante a elevada incidência de anticorpos a frio com especificidade sugestiva de anti-I, tanto que, com o intuito de excluir prováveis fatores ambientais, foi selecionado um rigoroso grupo controle, submetido à mesma rotina imunohematológica. Na avaliação deste grupo não foi identificado qualquer anticorpo anti-eritrocitário. Desta forma a incidência de autoanticorpos encontrada em nossa casuística provavelmente esteja relacionada às alterações imunes próprias do LNH.

Os métodos de investigação imunológica eritrocitária, selecionados para a avaliação dos pacientes portadores de LNH, não incluíram uma rotina direcionada para melhor caracterização e identificação dos subtipos de anticorpos a frio anti-I/i, tais como, reação do soro do paciente com hemácias provenientes de adultos com fenótipo i, reação com hemácias procedentes de macacos do gênero macaca, que são ricas em antígenos i, titulação do anticorpo e definição de sua amplitude térmica (GARRATY et al., 1972). Cabe enfatizar que os objetivos deste trabalho foram direcionados a uma avaliação imunohematológica geral dos pacientes portadores de LNH, embora este seja um aspecto relevante e que necessita de uma investigação mais aprofundada.

Em cinco pacientes foram identificados autoanticorpos da classe IgG sem especificidade definida. Apenas em um caso (1,3%) foi constatado quadro clínico e laboratorial de hemólise ao

diagnóstico: o paciente era portador de linfoma B, de baixo grau de malignidade e com subtipo histológico não definido. Estes dados estão de acordo com a literatura, onde AHAI em portadores de LNH ocorre em cerca de 1,7% e os fenômenos autoimunes são mais frequentes em linfomas de baixo grau de malignidade e do tipo B (JONES, 1973; DÜHRSEN et al., 1987).

Em três dos quatro pacientes portadores de LLC, foram identificados autanticorpos anti-eritrocitários: 2 auto IgG e um provável auto anti-I. Nos três casos de leucemia de células cabeludas, em apenas um foi identificado auto anti-I. Entre os pacientes portadores de LLC, um deles tinha antecedentes de AHAI, embora não apresentasse hemólise ao diagnóstico da leucemia e o outro era portador de PTIm. O número de LLC observados no período de março de 1992 a novembro de 1993 é insuficiente para se contribuir às afirmações feitas por alguns autores, que descrevem que a incidência de complicações autoimunes em portadores de LLC e variantes é maior que em outras doenças linfoproliferativas (MILLER, 1967; JONES, 1973; WESTBROOK & GOLD, 1985; HABLIN et al., 1986; KIPPS & CARSON, 1993; STHOEGER et al., 1993).

Rossi e colaboradores (1988) avaliaram imunohematologicamente cem pacientes portadores de LLC e constataram positividade no teste direto da antiglobulina em oito casos, embora seis pacientes não apresentassem quadro clínico nem laboratorial de hemólise. A especificidade do anticorpo não foi definida em nenhum dos pacientes. Segundo Rochant (1980), em pacientes portadores de linfoma, cerca de 10% dos casos podem apresentar o teste de Coombs direto positivo, sem quadro hemolítico. Na presente casuística, oito pacientes apresentaram o teste de Coombs direto positivo. Em quatro destes foi identificada auto IgG sem especificidade definida; em dois, auto anti-I e, em dois, o teste do eluato foi negativo. Provavelmente nestes casos o teste de Coombs direto apresentou resultados falsos positivos.

Na análise dos pacientes portadores de LNH não houve evidências de associação da presença de autoanticorpos anti-eritrocitários com o tipo imunológico do linfoma B ou T, apesar da literatura relacionar maior frequência de alterações autoimunes com linfomas do tipo B (HABLIN et al., 1986; DÜHRSEN et al., 1987). Deve-se considerar, como fator relevante deste resultado, o pequeno número de casos de linfoma T na casuística estudada.

Foram encontrados, nos pacientes estudados, 53% de linfomas de baixo grau de malignidade e 46% de linfomas de alto grau de malignidade. No Brasil não existem dados epidemiológicos sobre a distribuição dos LNH, segundo Kiel, e o grupo de pacientes estudados faz parte de um serviço isolado, portanto este dado não tem valor significativo.

Na avaliação do grau de malignidade, com relação à presença de autoanticorpos, verificou-se uma clara tendência de associação entre os linfomas de baixo grau e autoanticorpos anti-eritrocitários. Estes dados são compatíveis com a literatura, onde a incidência de complicações autoimunes é maior nos linfomas de baixo grau de malignidade (DÜHRSEN et al., 1987).

Em portadores de LLC com estadiamento avançado da doença, é descrita uma maior incidência de autoanticorpos dirigidos contra plaquetas e hemácias (KIPPPS & CARSON, 1993). Kourtis (1994) descreveu que a incidência de autoanticorpos naturais, no soro de pacientes portadores de LNH, não se alterou nos diversos estágios clínicos da doença. Na casuística estudada não houve

evidências da associação do estadiamento do linfoma com a presença de autoanticorpos anti-eritrocitários.

Nos 77 pacientes foi realizada a determinação de grupo sanguíneo ABO/Rh e a distribuição dos diversos grupos foi compatível com a encontrada na literatura internacional e no grupo controle (WALKER et al., 1993).

Em cinco casos (6,49%) foram identificados aloanticorpos anti-eritrocitários: um anti-K em uma paciente multipara, onde a provável etiologia da aloimunização foi feto-materna; um anti Lea e três anti E, sendo que apenas um dos pacientes, com anti-E, tinha história transfusional remota. Possivelmente os demais anticorpos, dois anti-E e um anti-Lea, sejam de ocorrência natural (DYBKJAER, 1967; MOLLISON et al., 1993).

Nos pacientes estudados, foi detectada uma alta incidência de auto anticorpos anti-eritrocitários, possivelmente relacionada ao desequilíbrio da regulação imunológica causada pelos LNH.

Finalmente, destaca-se a importância de se estudar portadores de LNH de maneira padronizada e prospectiva dentro da ótica imunoematológica, com métodos dirigidos para a investigação detalhada de anticorpos a frio.

CONCLUSÕES

Na avaliação do perfil imunohematológico dos pacientes, conclui-se que:

1. A frequência de associação dos LNH com doenças do sistema imunológico foi de 7,7%.
2. A frequência de autoanticorpos anti-eritrocitários na casuística estudada foi de 29,8%.
3. A frequência de hemólise clínica e laboratorial foi de 1,3%. Nos pacientes estudados foi diagnosticado apenas um caso de AHAI e os anticorpos identificados foram: autoanticorpo da classe IgG sem especificidade definida e provável auto anti-I.
4. Não houve associação entre o tipo imunológico do linfoma (B e T) e a presença de autoanticorpos anti-eritrocitários.
5. Houve tendência de associação entre os linfomas de baixo grau de malignidade e a presença de autoanticorpos anti-eritrocitários.
6. Não houve associação entre o estadiamento dos LNH e a presença de autoanticorpos anti-eritrocitários.
7. Não houve evidências de associação entre os LNH acompanhados de doenças do sistema imunológico e a presença de autoanticorpos anti-eritrocitários.

ANEXOS

ANEXO 1. Histórico do paciente - Modelo da ficha utilizada para coletas de dados

Nome do paciente: _____ HC: _____

Idade: _____ Sexo: M () F () Raça: _____

Data do atendimento: ____/____/____

Quadro clínico e exame físico:

Drogas: _____

Anátomo-patológico: _____

Exames laboratoriais: _____

Estadiamento: _____

Outros diagnósticos: _____

Avaliação imunohematológica: _____

Conclusão imunohematológica: _____

Data: ____/____/____

ANEXO 2. Classificação dos LNH segundo Kiel (LENNERT & FELLER, 1992).

LINFOMAS B	
Linfomas de Baixo Grau de Malignidade	
Linfocítico	leucemia linfocítica crônica
	leucemia prolinfocítica
	leucemia de células cabeludas
Linfoplasmocítico (imunocitoma)	
Plasmocítico	
Centroblástico-centrocítico	folicular
	difuso
Centrocítico	
Monocitóide	
Linfomas de Alto Grau de Malignidade	
Centroblástico	
Imunoblástico	
"Burkitt"	
Anaplásico	
Linfoblástico	
Tipos raros	
LINFOMAS T	
Linfomas de Baixo Grau de Malignidade	
Linfocítico	leucemia linfocítica crônica
	leucemia prolinfocítica
Linfoma de pequenas células cerebriiformes	
Micose fungóide, síndrome de Sézary	
Linfoepitelióide (linfoma de Lennert)	
Angioimunoblástico	
Linfoma de zona T	
Pleomórfico	
Linfomas de Alto Grau de Malignidade	
Pleomórfico de pequenas células	
Imunoblástico	
Anaplásico de grandes células	
Linfoblástico	
Tipos raros	

ANEXO 3. Estadiamento segundo os critérios de Ann Arbor (CARBONE *et al.*, 1971)

Estadiamento	Definição
I	comprometimento de apenas uma cadeia ganglionar linfática (I) ou de órgão extra linfático (IE)
II	envolvimento de duas ou mais cadeias ganglionares linfáticas do mesmo lado do diafragma (II) ou comprometimento localizado de um órgão extra linfático com um ou mais gânglios linfáticos do mesmo lado do diafragma (IIE)
III	comprometimento de cadeias ganglionares de ambos os lados do diafragma (III); pode estar acompanhado de envolvimento de baço (IIIs) ou com envolvimento localizado de órgão extra linfático (IIIE), ou ambos (IIIsE).
IV	envolvimento difuso ou localizado de um ou mais órgãos extra linfáticos ou tecidos com ou sem comprometimento de linfonodo.

Presença de febre, sudorese noturna e/ou perda inexplicada de peso corpóreo, em 10% ou mais, nos 6 meses que antecedem o diagnóstico, acrescenta-se o sufixo B. A letra A indica ausência destes sintomas.

E = sitio extra linfático

S = envolvimento esplênico

ANEXO 4. Estadiamento clínico Rai (RAI *et al.*, 1975)

Estadio 0	linfocitose no sangue periférico e medula óssea
Estadio I	linfocitose e adenomegalia
Estadio II	linfocitose e esplenomegalia e /ou hepatomegalia
Estadio III	linfocitose e anemia (Hb menor que 11,0 g/dl)
Estadio IV	linfocitose e plaquetopenia (Contagem de plaquetas menor que 100×10^3)

ANEXO 5. Relação dos pacientes e resultados de exames laboratoriais

Paciente	Hb	Ht	VCM	HCM	RET	MORF	URO	BD	BI	BT
1 - AEC	13,1	40	92	31,7	0,8	-	0,2	0,3	0,5	0,8
3 - AR	13,7	41	87	31,3	0,3	-	0,2	0,2	0,3	0,5
4 - ADF	13,2	40	70	32	1,0	-	0,2	0,3	0,4	0,7
5 - AQD	15,2	54	100	33	0,5	-	0,2	0,3	0,3	0,6
6 - AVS	12,9	37	71	24,8	1,0	-	0,2	0,3	0,4	0,7
7 - BS	13,2	40	85	32	0,2	-	0,2	0,2	0,7	0,9
8 - CEA	13,3	41	91	32,2	0,2	-	0,2	0,2	0,1	0,3
9 - CAP	16,5	47	82	28,3	0,6	-	0,2	0,3	0,2	0,5
10 - ISP	12,7	39	93	29,2	1,0	policr	0,2	0,2	0,1	0,3
11 - IMR	13,4	40	87	30,3	1,0	-	0,2	0,2	0,4	0,6
12 - JE	13,7	41	88	30,0	1,0	-	0,2	0,3	0,4	0,7
13 - JCS	12,0	39	80	33,0	0,8	-	0,2	0,3	0,4	0,7
14 - JRS	7,4	24	79	30	0,8	-	0,2	0,4	0,3	0,7
15 - JNS	15,4	43	87	32	1,0	-	0,2	0,2	0,4	0,6
16 - JT	7,5	22	98	30,6	1,0	-	0,2	0,2	0,3	0,5
18 - LSF	12,7	37	87	30,8	0,8	-	0,2	0,2	0,2	0,4
19 - LFS	14,5	42	88	30	0,8	-	0,2	0,2	0,3	0,5
20 - MD	9,7	29	84	32	1,0	-	0,2	0,4	0,3	0,7
21 - MP	12,0	36	97	33	0,4	-	0,2	0,2	0,3	0,7
23 - MF	13,7	41	91	30,6	0,8	-	0,2	0,3	0,2	0,5
24 - NC	10,8	31	92	30,1	1,0	-	0,2	0,2	0,3	0,5
25 - SRM	10,5	31	73	23	0,4	-	0,2	0,2	0,2	0,4
26 - TAC	7,4	22	90	32	0,8	-	0,2	0,3	0,3	0,6
27 - VDP	11,3	34	90	29,7	0,7	-	0,2	0,2	0,5	0,7
28 - WT	14,2	42	93	32,9	1,0	-	0,2	0,2	0,3	0,5
29 - ZAV	15,5	44	92	33	1,0	-	0,2	0,2	0,6	0,8
30 - AA	10,3	30	84	30	0,7	-	0,2	0,2	0,5	0,7
31 - ALA	13,5	41	94	29	1,0	-	0,2	0,4	0,1	0,5
32 - ASA	14,6	43	100	32,1	1,0	-	0,2	0,4	0,8	1,2
33 - AL	12,1	37	83	27	1,0	-	0,2	0,2	0,2	0,4
34 - AC	10,1	29	81	29	1,2	-	0,2	0,4	0,7	1,1

cont.

Paciente	Hb	Ht	VCM	HCM	RET	MORF	URO	BD	BI	BT
35 - AMS	12,4	37	93	29	0,8	-	0,4	0,3	0,7	1,0
36 - ABS	14,1	42	89	31,6	0,8	-	0,2	0,3	0,8	1,1
37 - ARV	13,8	40	90	32	0,5	-	0,2	0,1	0,2	0,3
38 - AAB	7,2	21	85	28	0,9	-	0,2	0,4	0,4	0,8
39 - AMP	12,9	36	87	28,7	1,0	-	0,2	0,2	0,3	0,5
40 - ACF	11,4	33	78	24,9	0,3	-	0,2	0,1	0,1	0,2
41 - BFC	11,1	32	77	33,3	1,0	-	0,2	0,2	0,8	1,0
42 - BS	10,8	31	79	25	1,1	-	0,2	0,1	0,1	0,2
43 - BLG	11,4	32	83	27,3	1,0	-	0,2	0,2	0,5	0,7
44 - BAS	12,2	36	84	29,9	0,6	-	0,2	0,2	0,3	0,5
45 - CSF	7,8	24	93	33,5	0,5	-	0,2	0,2	0,4	0,6
46 - DF	7,4	21	95	22,9	2,5	policr	2,0	0,4	1,9	2,3
47 - DRD	10,5	30	83	26	0,9	-	0,2	0,3	0,4	0,7
48 - EPJ	12,1	36	87	26,7	0,8	-	0,2	0,2	0,2	0,4
49 - ES	10,9	30	82	27	0,9	-	0,2	0,2	0,3	0,5
50 - EG	11,9	34	96	25,7	0,8	-	0,2	0,2	0,3	0,5
51 - JT	14,0	43	90	31	0,8	-	0,2	0,2	0,2	0,4
52 - FG	12,7	36	80	29,6	0,7	-	0,2	0,2	0,3	0,5
53 - GS	11,9	37	83	31,6	0,4	-	0,2	0,3	0,2	0,5
54 - GPF	13,9	40	92	33	0,4	-	0,2	0,4	0,2	0,6
55 - HTP	10,0	30	91	31	0,7	-	0,2	0,5	0,3	0,8
56 - ITR	13,8	40	92	33	0,6	-	0,2	0,2	0,2	0,4
57 - ICT	13,7	42	91	29	0,9	-	0,2	0,1	0,2	0,3
58 - JBC	13,0	42	88	32	0,4	-	0,2	0,2	0,2	0,4
59 - JD	11,9	34	89	33	0,3	-	0,2	0,7	0,3	1,0
61 - JF	11,8	34	88	33	0,3	-	0,2	0,7	0,3	1,0
62 - JCR	10,3	32	87	27,7	1,0	-	0,2	0,3	0,3	0,6
64 - JS	10,9	30	86	34	0,8	-	0,2	0,4	0,3	0,7
65 - LF	11,2	33	80	27	1,0	-	0,2	0,2	0,8	1,0
66 - LN	13,1	40	79	26	0,9	-	0,2	0,6	0,2	0,8
67 - LHM	11,0	33	86	28	1,0	-	0,2	0,5	0,4	0,7
68 - MXO	10,7	31	91	29	1,2	-	0,2	0,1	0,4	0,5

cont.

Paciente	Hb	Ht	VCM	HCM	RET	MORF	URO	BD	BI	BT
70 - MRC	12,2	33	81	25,7	0,9	-	0,2	0,2	0,2	0,4
71 - MRS	12,8	36	79	24	0,4	-	0,2	0,2	0,8	1,0
72 - NLF	11,0	33	88	33	0,4	-	0,2	0,1	0,3	0,4
73 - MBS	10,9	31	83	28,6	1,2	-	0,2	0,3	0,6	0,9
74 - MCD	12,4	39	86	27	1,0	-	0,2	0,3	0,4	0,7
75 - NM	11,1	33	84	27,9	1,2	-	0,2	0,3	0,4	0,7
76 - OAD	12,2	36	93	33	1,0	-	0,2	0,2	0,1	0,3
77 - OPS	11,8	34	99	29,3	0,9	-	0,2	0,4	0,4	0,8
78 - PAS	10,0	30	76	26	1,0	-	0,2	0,5	0,4	0,9
79 - RLM	11,0	33	87	27,7	1,0	-	0,2	0,2	0,2	0,4
80 - RN	15,0	42	90	33,2	0,9	-	0,2	0,2	0,2	0,4
81 - RBL	8,0	24	109	36	0,6	-	0,2	0,3	0,2	0,5
82 - SGS	12,1	35	87	29	0,8	-	0,2	0,3	0,4	0,7
83 - UBO	9,6	29	92	30,5	1,1	-	0,2	0,3	0,3	0,6

Hb - hemoglobina (g/dl)

Ht - hematócrito (%)

VCM - volume corpuscular médio (Fl)

HCM - hemoglobina corpuscular média (pg)

Morf - alterações morfológicas da série vermelha no sangue periférico, relacionadas com o quadro de hemólise: policromatofilia, hemácias nucleadas e/ou esferócitos

ret - reticulócitos (%)

uro - urobilinôgenio (uc/dl)

BD - bilirrubina direta (mg%)

BI - bilirrubina indireta (mg%)

BT - bilirrubina total (mg%)

ANEXO 6. Resultados dos exames imunohematológicos dos pacientes com auto e/ou aloanticorpos anti-eritrocitários

paciente	testes positivos	fases das reações	intensidade das reações
7 - BS	autocontrole meio salino	T.A.	score-10
	PAI papaína em tubo	37°C	I-score-2 II-negativo
8 - CEA	PAI PEG	AGGH	I-negativo II-score-8
	PAI papaína em tubo	AGH	I-negativo II-score-3
	PAI papaína gel		I-negativo II-5
13 - JCS	autocontrole salino	T.A.	score-12
	PAI papaína em tubo	37°C	I-score-3 II-score-2
		AGH	I-score-3 II-score-3
14 - JRS	autocontrole salino	T.A.	score-5
	PAI papaína em tubo	37°C	I-score-5 II-score-2
		AGH	I-score-2 II-score-2
	PAI papaína gel		I-5 II-5
16 - JT	autocontrole salino	T.A.	score-8
	PAI papaína em tubo	37°C	I-score-2 II-score-2
18 - LSF	autocontrole salino	T.A.	score-8
	PAI papaína em tubo	37°C	I-score-2 II-score-2

cont.

paciente	testes positivos	fases das reações	intensidade das reações
20 - MD	autocontrole salino	T.A.	score-8
	PAI papaina em tubo	37°C	I-score-2 II-score-2
		AGH	I-score-2 II-score-2
	PAI papaina gel		I-5 II-5
27 - VDP	autocontrole salina	T.A.	score-8
	PAI papaina gel		I-4 II-5
28 - WT	autocontrole salino	T.A.	score-12
	PAI papaina em tubo	37°C	I-score-2 II-score-2
29 - ZAV	PAI papaina em tubo	AGH	I-score-2 II-negativo-
	PAI LISS	AGH	I-score-2 II-negativo
	PAI papaina gel		I-1 II-negativo
32 - ASA	TDA monoespecifico gel anti-IgG		2
	TDA poliespecifico gel		3
	autocontrole salina eluato clorofórmio	T.A.	score-12 positivo
35 - ARS	autocontrole salino	T.A.	score-12
	PAI papaina em tubo	37°C	I-score-2 II-score-2
		AGH	I-score-2 II-score-2

cont.

paciente	testes positivos	fases das reações	intensidade das reações
38 - AAB	TDA AGH		score-2
	CD monoespecífico gel anti-C3dg		4
	autocontrole salino	T.A.	score-10
	PAI papaina em tubo	37°C	I-score-10
			II-score-12
	AGH	I-score-8 II-score-8	
PAI papaina gel		I-2 II-2	
41 - BFC	TDA AGH		score-10
	TDA AGGH		score-12
	controle RH		score-2
	TDA monoespecífico gel anti-IgG		5
	TDA poliespecífico gel		5
	eluato cloroformio		positivo
	autocontrole salino	T.A.	score-10
	autocontrole PEG	AGGH	score-2
	autocontrole LISS	AGH	score-2
	PAI LISS	AGH	I-score-5
			II-negativo
	PAI PEG	AGGH	I-score-2
			II-score-2
	PAI papaina em tubo	37°C	I-score-2
II-score-2			
AGH			I-score-2 II-score-2
PAI papaina gel		I-5 II-5	

cont.

paciente	testes positivos	fases das reações	intensidade das reações
42 - BS	PAI PEG	AGGH	I-score-12 II-negativo
	PAI LISS	AGH	I-score-10 II-negativo-
46 - DF	TDA AGGH		score-2
	TDA LISS gel		2
	TDA monoespecífico gel anti-IgG		1
	TDA monoespecífico gel anti-C3		1
	TDA monoespecífico gel anti-Cd3		1
	TDA polivalente gel		2
	autocontrole salina	T.A.	score-8
	autocontrole LISS	37°C	score2
	eluato cloroformio		positivo
	PAI papaina em tubo	AGH	I-score-2 II-score-2
PAI papina gel		I-2 II-2	
47- DRD	TDA LISS gel		2
	TDA monoespecífico gel anti-IgG		2
	TDA polivalente gel		2
	autocontrole salina	T.A.	score-2
	autocontrole PEG	AGGH	score-2
	eluato cloroformio		positivo
	PAI papaina gel		I-5 II-5

cont.

paciente	testes positivos	fases das reações	intensidade das reações
48 - EPJ	autocontrole salina	T.A.	score-12
	PAI papaina em tubo	37°C	I-score-2
		AGH	I-score-2
			II-score-2
51 - JT	autocontrole salino	T.A.	score-8
		AGH	I-score-3
			II-score-3
53 - GS	autocontrole salino	T.A.	score-5
	PAI PEG	AGGH	I-negativo
			II-score-3
	PAI LISS	AGH	I-negativo
			II-score-3
PAI papaina em tubo	AGH	I-negativo	
		II-score-3	
	pac papaina gel		I-negativo
			II-5
54 - GPF	autocontrole salina	T.A.	score-3
	PAI papaina gel		I-1
			II-negativo
62 - JCR	TDA AGH		score-3
	eluato		negativo
	autocontrole PEG	AGGH	score3
	PAI LISS	AGH	I-score-3
			II-score-3
PAI papaina gel		I-5	
		II-5	

cont.

paciente	testes positivos	fases das reações	intensidade das reações
64 - JS	autocontrole salina	T.A.	score-3
	PAI papaína em tubo	AGH	I-score-3 II-score-2
	PAI papaína gel		I-5 II-5
65 - LF	autocontrole salina	T.A.	score-10
	PAI papaína em tubo	AGH	I-negativo II-score-2
76 - OAD	autocontrole salina	T.A.	score-5
	PAI papaína gel		I-5 II-5
81 - RBL	TDA AGH		score-5
	TDA AGGH		score-8
	controle Rh		score-2
	TDA LISS gel		5
	TDA monoespecífico gel anti-IgG		5
	TDA polivalente gel		5
	autocontrole salina	T.A.	score-12
	autocontrole PEG	AGGH	score-10
	autocontrole LISS	37°C	score-5
		AGH	score-5
	eluato cloroformio		positivo
	PAI LISS	AGH	I-score-2 II-score-2
	PAI PEG	AGGH	I-score-8 II-score-2
	PAI papaína em tubo	AGH	I-score-12 II-score-12
	PAI papaína gel		I-1 II-2

PAI: pesquisa de anticorpos séricos

TDA: teste direto da antiglobulina

ANEXO 7. Relação dos pacientes, classificação dos linfomas, estadiamento, doença do sistema imune associada, determinação do grupo sanguíneo ABO/Rh e conclusão da avaliação imunológica eritrocitária

Classificação dos LNH										
paciente	idade	sexo	tipo	grau	sub-tipo	est	dç I	ABO	Rh	av Imh
1 - AEC	71	m	B	bg	centroblástico-centrocítico	IVA	-	A2	+	-
3 - AR	53	m	B	bg	centroblástico centrocítico	IVB	-	O	+	-
4 - ADF	54	m	B	ag	centroblástico	IVB	LES	O	+	-
5 - AQD	77	f	B	bg	imunocitoma	IVA	-	A	+	-
6 - AVS	73	f	B	ag	centroblástico	IA	-	AB	+	-
7 - BS	64	m	B	ag	Burkitt	IIIB	-	O	+	aa-I
8 - CEA	33	m	B	ag	centroblástico	IIA	AIDS	A	+	a-E
9 - CAP	25	m	B	ag	centroblástico	IIA	-	B	+	-
10 - ISP	60	f	B	ag	centroblástico	IIIB	-	B	+	-
11 - IMR	73	f	B	bg	imunocitoma	IVA	-	B	+	-
12 - JE	66	m	B	bg	imunocitoma	IIIB	-	A	+	-
13 - JCS	75	m	B	bg	-	IIA	-	A	+	aa-I
14 - JRS	33	m	B	bg	imunocitoma	IVB	-	B	+	aa-I
15 - JNS	55	m	B	ag	imunoblástico	IVB	-	O	+	-
16 - JT	68	m	B	bg	leucemia de células cabeludas	IV	-	O	(-)	aa-I
18 - LSF	71	f	B	bg	-	IIA	-	A	(-)	aaf
19 - LFS	62	m	B	bg	centroblástico-centrocítico	IVB	-	O	+	-
20 - MD	61	f	B	bg	LLC	III	-	B	+	aa-I
21 - MP	46	f	-	bg	MALT	IeB	-	B	+	-
23 - MF	49	f	-	ag	linfoblástico	IVB	-	A	+	-
24 - NC	61	m	B	bg	centroblástico-centrocítico	IVB	-	O	+	-

cont.

Classificação dos LNH										
paciente	idade	sexo	tipo	grau	sub-tipo	est	dç L	ABO	Rh	av Imh
25 - SRM	39	f	B	ag	centroblástico	IIB	-	O	+	-
26 - TAC	32	f	T	ag	linfoblástico	IVB	-	O	+	-
27 - VDP	63	m	B	bg	centroblástico-centrocítico	IVB	-	B	+	aa-I
28 - WT	31	m	B	ag	Burkitt	IIIB	AIDS	O	(-)	aa-I
29 - ZAV	55	f	B	bg	centroblástico-centrocítico	IIA	-	A	+	a-K
30 - AA	75	m	B	bg	centrocítico	IVB	-	A	+	-
31 - ALA	53	f	B	bg	imunocitoma	IVA	-	O	+	-
32 - ASA	73	f	B	ag	centroblástico	IVA	-	O	+	aa-I aIgG
33 - AL	56	m	B	bg	imunocitoma	IIA	-	A2	+	-
34 - AC	76	m	-	ag	imunoblástico	IVB	-	O	+	-
35 - AAS	67	f	B	ag	centroblástico	IIIB	-	A	+	aa-I
36 - ABS	70	f	B	ag	centroblástico	IIIB	-	B	(-)	-
37 - ARV	19	m	B	ag	centroblástico	IleB	-	A2	+	-
38 - AAB	66	m	B	bg	imunocitoma	IVB	-	A	+	aa-I a-E
39 - AMP	69	f	B	bg	centroblástico-centrocítico	IleB	-	O	+	-
40 - ACF	55	f	B	ag	centroblástico	IVB	-	A	+	-
41 - BFC	65	f	B	bg	imunocitoma	IVA	-	O	+	aIgG
42 - BS	45	m	B	ag	centroblástico	IVB	-	A	+	a-lea
43 - BLG	83	f	T	ag	-	IleB	-	O	+	-
44 - BAS	60	f	B	ag	imunoblástico	IIA	-	AB	+	-
45 - CSF	63	m	B	bg	leucemias de células cabeludas	IV	-	A	+	-
46 - DF	32	m	B	bg	-	IVA	AHAI	A	+	aa-I + aIgG
47 - DRD	60	f	B	bg	LLC	IV	PTI	A	+	aIgG
48 - EPJ	45	f	T	ag	pleomórfico	IB	-	A	+	Aa-I

cont.

paciente	idade	sexo	Classificação							
			tipo	grau	sub-tipo	est	dç I	ABO	Rh	av Imh
49 - ES	66	m	B	ag	centroblástico	IIIB	-	A	(-)	-
50 - EG	76	m	B	bg	-	IV	PTI	A	+	-
51 - JT	78	m	-	bg	MALT	IeB	-	O	+	aa-I
52 - FG	67	m	-	ag	imunoblástico	IIIA	-	O	+	-
53 - GS	83	m	T	bg	L. angioimunoblástica	IVB	-	B	+	aa-I a-E
54 - GPF	54	m	-	ag	-	IleA	-	A	+	aa-I
55 - HTP	80	f	B	bg	LLC	IV	-	A	+	-
56 - ITR	60	f	B	ag	centroblástico	IA	-	O	+	-
57 - ICT	47	f	B	bg	centroblástico-centrocítico	IeA	-	O	+	-
58 - JBC	32	m	-	ag	-	IIIA	-	O	+	-
59 - JT	53	m	T	ag	-	IB	-	B	+	-
61 - JF	70	m	B	bg	imunocitoma	IVB	-	A2	+	-
62 - JCR	57	f	T	bg	L. angioimunoblástica	IIIB	-	A	+	aa-I
64 - JS	34	m	B	bg	imunocitoma	IVB	-	B	+	aa-I
65 - LF	56	m	B	bg	imunocitoma	IVB	-	A2	+	aa-I
66 - LN	73	f	B	bg	-	IVA	-	B	+	-
67 - LHM	42	f	-	bg	-	IIIA	-	O	+	-
68 - MXO	66	f	-	ag	linfoblástico	IIIB	-	O	+	-
70 - MRC	67	f	B	ag	centroblástico	IVB	-	O	+	-
71 - MRS	28	f	B	ag	-	IIIB	-	A	+	-
72 - NLF	61	f	B	bg	-	-	LED	O	+	-
73 - MBS	71	f	B	bg	imunocitoma	IVB	-	B	(-)	-
74 - MCD	64	f	B	ag	centroblástico	IeA	-	A	+	-

cont.

Classificação dos LNH										
paciente	idade	sexo	tipo	grau	sub-tipo	est	dç I.	ABO	Rh	av Imh
75 - NM	67	m	B	ag	linfoblástico	IVB	-	B	+	-
76 - OAD	49	m	B	ag	-	IVA	-	A	+	aa-I
77 - OPS	67	m	B	bg	imunocitoma	IVB	-	O	+	-
78 - PAS	30	m	T	ag	-	IIIB	-	B	+	-
79 - RLM	58	f	B	bg	centroblástico-centrocítico	IVB	-	A	+	-
80 - RN	25	m	-	ag	imunoblástico	IVB	-	O	+	-
81 - RBL	55	m	B	bg	LLC	IV	AHAI	A	+	algG
82 - SGS	61	m	B	ag	centrobástico	IIB	-	O	(-)	-
83 - UBO	44	m	B	bg	leucemias de células cabeludas	IV	-	A	+	-

dç I.: doença imunológica associada

est: estadiamento

av Imh: avaliação imunohematológica

ABO/Rh: determinação de grupo sanguíneo ABO e Rh

f: feminino

ag: alto grau de malignidade

m: masculino

bg: baixo grau de malignidade

ANEXO 8. Relação dos pacientes, classificação dos linfomas e resultado da eletroforese de proteínas

paciente	tipo	grau	sub-tipo	resultado da EFP	av. imh
1 - AEC	B	bg	centroblástico-centrocítico	hipergamaglobulina	-
13 - JCS	B	bg	-	hipergamaglobulina	aa-I
14 - JRS	B	bg	imunocitoma	GM	aa-I
19 - LFS	B	bg	centroblástico-centrocítico	hipogamaglobulina	-
20 - MD	B	bg	LLC	hipergamaglobulina	aa-I
28 - WT	B	ag	Burkitt	hipergaglobulina	aa-I
29 - ZAV	B	bg	centroblástico-centrocítico	hipogaglobulina	alo anti-K
32 - ASA	B	ag	centroblástico	hipergamaglobulina	aa-I/aIgG
36 - ABS	B	ag	centroblástico	hipergamaglobulina	-
37 - ARV	B	ag	centroblástico	hipergamaglobulina	-
38 - AAB	B	bg	imunocitoma	hipergamaglobulina	aa-I/alo anti-E
40 - ACF	B	ag	centroblástico	hipogamaglobulina	-
43 - BLG	T	ag	-	hipogamaglobulina	-
45 - CSF	B	bg	L. céls. cabeludas	hipergamaglobulina	-
53 - GS	T	bg	L. angioimunoblástica	hipergamaglobulina	aa-I/alo anti-E
62 - JCR	T	bg	L. angioimunoblástico	hipergamaglobulina	aa-I-
64 - JS	B	bg	imunocitoma	GM/hipergamag.	aa-I
65 - LF	B	bg	imunocitoma	GM/hipergamag	aa-I
66 - LN	B	bg	-	GM/hipergamag	-

paciente	tipo	grau	sub-tipo	resultado da EFP	av. imh
68 - MX	-	ag	linfoblástico	hipogamaglobulina	-
70 - MRC	B	ag	centroblástico	hipogamaglobulina	-
71 - MRS	B	bg	-	hipogamaglobulina	-
72 - NLF	B	bg	-	hipergamaglobulina	-
75 - NM	B	ag	linfoblástico	hipogamaglobulina	-
76 - OAD	B	ag	-	hipergamaglobulina	aa-I
77 - OPS	B	bg	imunocitoma	hipogamaglobulina	-
78 - PAS	T	ag	-	hipergamaglobulina	-
79 - RLM	B	bg	centroblástico-centrocítico	hipogamaglobulina	-
81 - RBL	B	bg	LLC	hipogamaglobulina	aIgG
82 - SGS	B	ag	centroblástico	hipogamaglobulina	-

EFP - eletroforese de proteínas

av Imh - avaliação imunohematológica

GM - gamopatia monoclonal

SUMMARY

Seventy-seven adult patients with non Hodgkin's lymphoma (NHL) were studied at the time of diagnosis at University Hospital of State University of Campinas from March 1992 to November 1993.

Histological subgrouping of NHL was performed according to the Kiel criteria.

All patients were characterized by clinical and laboratorial examination, which included cytology of peripheral blood, reticulocyte count, bilirubin, urinary urobilinogen, haptoglobin, exams for staging of lymphoma and immunohematologic evaluation.

The patients were staged according to the principles of the Ann Arbor classification and the cases of chronic lymphocytic leukemia according to Ray clinical staging system.

Immunohematology investigation screenings were: determination of blood groups ABO/Rh, direct antiglobulin reaction with polyspecific antiglobulin reagents (anti-IgG, anti-Cb anti-C3d) and monospecific reagents (anti-IgG, anti-IgM, anti-C3, anti-C3d, anti-C4), detection of blood groups antibodies in serum by indirect antiglobulin test (polyethylene glycol, low ionic strength solution and enzyme-treated cells). Whenever an antibody was found on screening, its specificity was determined using a suitable panel of red cells.

1. Our results of the immunohematological evaluation of the patients with NHL showed that: 1- There were 29.87% of the patients with autoantibodies against erythrocytes (IgM with probable specificity of auto anti-I and IgG with specificity serologically indistinguishable), without clinical disorders;
2. The hemolytic anemia occurred in 1.29% of the patients. This value is compatible with the literature;
3. A weak correlation existed between the low grade lymphomas and erythrocyte autoantibodies;
4. No correlation existed between the type immunologic of lymphoma (B e T) and staging of NHL with erythrocyte auto antibodies.

We have concluded that probably the high incidence of autoantibodies against erythrocytes would be related to the autoimmune derangements caused by non Hodgkin's lymphoma.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSEN, P.; MOLGAARD, J.; ANDERSEN, I.; ANDERSEN, H. - Smooth-muscle antibodies and antibodies to cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in leukaemias and lymphomata. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, **84**:86-92, 1976.
- ANDERSON, M.; KLEI, G.; ZUGLER, J.; HENLE, W. - Association of Epstein Barr viral genomes with american Burkitt lymphoma. *Nature*:260-357,1976.
- ARMITAGE, A.O. & DURIE, B.G.M. - Non Hodgkin's lymphoma and myeloma. In: STAMATOYANNOPOULOS, G.-*Hematology*. Amgen, 1993. p.33-44.
- BANKS, P.M.; WITRAK, G.A.& CONN, D.L. - Lymphoid neoplasia following connective tissue disease. *Mayo Clin. Proc.*, **54**:104-108, 1979.
- BANKS, P.M. - Histopathology of malignant lymphoma. In: Williams, J.W.; Beutler, E.; Erslev, A.J.; Lichtman, M.A. - *Hematology*. 4.ed. New York, Mcgraw-Hill, 1990. p. 1031-1039.
- BANKS, P.M. - Pathology of malignant lymphomas. In: BEUTLER, E.; LICHTMAN, M.A.; COLLER, B.S.; KIPPS, T.J. - *Hematology*. 5ed. McGraw-Hill, 1995. p. 1049-1057.
- BAUMGARTEN, A. & CURTAIN, C. - A high frequency of cold agglutinins of anti-IA specificity in a New Guinea highland populations. *Vox Sang.*, **18**:21-26, 1970.
- BEEBE, G.W.; KATO, H.; LAND, C. - Studies of the mortality of a bomb survivors. Mortality and radiation dose, 1950-1974. *Radiat.Res.*, **75**:138-142, 1978.
- BEIGUELMAN, B. - A descrição de amostras. In: _____ - *Curso prático de bioestatística*. 2.ed. Sociedade Brasileira de Genética, 1991a. p.1-29.
- BEILGUEMAN, B. -O teste do qui quadrado. In: _____ - *Curso prático de bioestatística*. 2. ed. Sociedade brasileira de Genética, 1991b. p.59-95.
- BERLINER, S.; SHOENFIELDY, Y.; SIDI, Y.;SANTO, M.; WEINBERG, A. - Systemic lupus erythematosus and lymphoma. *Scand. J. Rheumatol.*, **12**:310-314, 1983.
- BOOTH, P.B.; JENKINS, W.J.; MARSH W.L. - Anti-It: a new antibody of the I blood-group system occurring in certain Melanesian sera. *Brit. J. Haematol.*, **12**:341-344, 1966.

- BOOTH, P.B. - The occurrence of weak It red cell antigen among melanesians. **Vox Sang.**, 22:64-72, 1972.
- BORCHET, L.; Lim, A.; Binet, J.; Dighiero, G. - Evidence that cronic lymphocytic leukemia B lymphocytes are frequently committed to production of natural autoantibodies. **Blood**, 76:562-569, 1990.
- BOUMPAS, D.T.; TSOKOS, G.C.; MANN, D. L.; ELEFThERIADES, E.G.; HARRIS, C.C.; MARK, G.E. - Increased proto-oncogene expression in peripheral blood lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune diseases. **Arthritis Rheum.**, 29:755-759, 1986
- BRANCH, D.R.; SY SIOK HIAN, A.L. & PETZ, L.D. - A new elution procedure using cloroform, a non flammable organic solvent. **Vox Sang.**, 42:46-53, 1982.
- BRANCH, D.R.; SHULMAN, I.A.; SY SIOK HIAN, A.L.,PETZ, L.D. - Two distinct categories of warm autoantibody reactivity with age-fractioned red cells. **Blood**, 63:177-180, 1984.
- BRITTO, A.V. - **Registro de Câncer de Campinas** - Universidade Estadual de Campinas, 1994. (comunicação pessoal).
- BRUMINI, R. - Cancer no Brasil: Dados histológicos (1976-1980). Rio de Janeiro, Cia. Nac. Combate ao Câncer, **Ministério da Saúde**, 1982.
- CANCER FACTS & FIGURES - **American Cancer Society**:1-28, 1993.
- CANTOR, K.P. - Farming and mortality from non Hodgkin's lymphomas: a case - control study. **Int. J. Cancer**, 29:239-245, 1982.
- CARBONE, P.P.; KAPLAN, H.S.; MUSSHOFf, K. - Report of the commitee on Hodgkin's disease staging. **Cancer Res.**, 31:1860-1869, 1971.
- CATOVSSKY, D.; LAURIA, F.; MATUTES, E. - Increase in T lymphocytic in B cell chronic lymphocytic leukaemia. **Br. J. Haemato.**, 47:539-544, 1981.
- CHABNER, B.A.; JOHNSON, R.E.; YOUNG, R.C. - Staging of non Hodgkin's lymphoma. **Semin. Oncol.**, 7:285-291, 1980.

- CHAPLIN, H.; HUNTER, V.L.; MALECK, A.C.; KILZER, P.; ROSHE, M.E. - Clinically significant allo-anti-I in an I-negative patient with massive hemorrhage. **Transfusion**, **26**:57-61, 1986.
- COSTEA, N.; YAKULIS, J.; HELLER, P. - Inhibition of cold agglutinins (anti-I) by *pneumoniae* antigens. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, **139**:476-479, 1972.
- CRISP, D. & PRUZANSKI, W. - B cell neoplasms with homogeneous cold reacting antibodies. **Am. J. Med.**, **72**:915-922. 1982.
- CURTAIN, C.C.; BAUMGARTEN, A.; GORMAN, J.; KIDSON, C.; CHAMPNESS, L.; RODRIGUE, R.; GAJDUSEK, C. - Cold haemagglutinins: unusual incidence in melanesian populations. **Br. J. Haematol.**, **11**:471-479, 1965.
- CUTLER, S.J. & YOUNG, J.L. - Third national cancer survey: Incidence data. **Natl. Cancer**, **40**:1-6, 1975.
- DACIE, J.V. & LEVIS, S.M. - Basic haematological techniques. In _____ - **Practical haematology**. 5.ed. Churchill Livingstone, 1975a. p.79-82.
- DACIE, J.V. - Autoimmune hemolytic anemia. **Arch. Intern. Med.**, **135**:1293-1300, 1975.
- DÜHRSEN, U.; AUGENER, W.; ZWINGERS, T.; BRITTINGER, G. - Spectrum and frequency of autoimmune derangements in lymphoproliferative disorders: analysis of 637 cases and comparason with myeloproliferative disease. **Br. J. Haematol.**, **67**:235-239, 1987.
- DYBKJAER, E. - Anti-E antibodies disclosed in the period 1960-1966. **Vox Sang.**, **13**:446, 1967.
- EBBE, S.; WITTELS, B.; DAMASHEK W. - Autoimmune thrombocytopenic purpura with chronic lymphocytic leukaemia. **Blood**, **19**:23-27, 1962.
- EVANS, A.S. & MULLER, N.E. - Viruses and cancer - causal associations. **Ann. Epidemiol.**, **1**(1):71-92, 1990.
- FOON, K.A. & FISCHER, R.J. - Lymphomas. In: Williams, J.W.; Beutler, E R.; Erslev. A.J.; Lichtman, M.A. - **Hematology**. 5.ed. McGraw-Hill, 1995. p 1076-1096.

FRANK, M.; SCHREIBER A.; ATKINSON J.; JAFFE, C. - Pathophysiology of immune hemolytic anemia. **Ann. Intern. Med.**, 87:210-222, 1979.

FUNDEMBERG, H.H. - Are autoimmune diseases immunologic deficiency states? **Hosp. Proct.**, 3:43-48. 1968.

GARRATY, G.; HAFFLEIGH, B.; DALZIEL, J.; PETZ, L.D. - An IgG anti -It detected in a caucasian american. **Transfusion**, 1:325-329, 1972.

GARRATY, G. - Target antigens for red cell-bound autoantibodies. In: NANCE, S.J.-**Clinical and basic science aspects of immunohematology**. Arlington: AABB, 1991. p.33-72.

GENETET N. - Les Lymphocytes. In: Genetet, B. - **Immunologie**. 1.ed. Médicales Internationales, 1993. p.34-62.

GRIMELIUS, B.; HAGBERG, H.; SUNDSTRÖM C. - Morphological classification of non Hodgkin malignant lymphoma. Comparasion betwen Rappaport's classification and Kiel's classification. **Scand. J. Haematol.**, 30:13-24, 1983.

HABLIN, T.J.; OSCIER, D.G.; YOUNG, B.J. - Autoimmunity in chronic lymphocytic leukaemia. **J. Clin. Pathol.**, 39:713-719, 1986.

HALLER, H.G. - Linfomas não Hodgkin. In: Cassielleth, P.A. - **C'linicas Médicas da América do Norte Interamericana**, 1984. p.783-800.

HALUSKA, F.G.; TSUJIMOTO, Y.; CROCE, C.M. - The molecular genetics non-Hodgkin's lymphoma. In: Magrath, I. - **The Non Hodgkin's Lymphoma**. 1.ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1990. p.96-108.

HENCH, P.K.; MAYENE, J.G.; KIELY, J.M. & DOKERTY, M.B. - Clinical study of the rheumatic manifestation of lymphoma . **Arthritis and Rheumatism**, 5:301-307, 1962.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER - (INCa) Registro Nacional de Patologia Tumoral. Diagnóstico de cancer Brasil-1981/1985. **Ministério da Saúde**, 1991.

- ISSIT, P.D.; PAVONE, B.G.; GOLDFINGER, D. - Anti-Wrb and other auto-antibodies responsible for positive direct antiglobulin test in 150 individuals. **Br. J. Haematol.**, 34:5-18, 1976
- JANNEY, F.A.; LEE, L.T.; HOWE, C. - Cold hemagglutinin cross-reactivity with *Mycoplasma pneumoniae*. **Infection Immunity**, 78:29-33, 1978
- JEFFERIES, L.C.; CARCHIDI, C.; SILBERSTEIN L.E. - Naturally occurring anti-i/I cold agglutinins may be encoded by different VH34.21 gene segment. **J. Clin. Invest.**, 92:2821-2833, 1993.
- JENKINS, W.J.; MARSH, W.L.; NOADES, J.; TIPPETT, P.; SANGER, R.; RACE, R.R. - The I antigen and antibody. **Vox Sang.**, 5:97-101, 1960.
- JONES, S.E. - Autoimmune disorders and malignant lymphomas. **Cancer**, 31:1092-1098, 1973.
- KADIN, M.E. - Lymphoproliferative disease in Japan and western countries: Proceedings of United States. **Japan seminar Hum. Pathol**, 14:745-749, 1983.
- KAJI, E.; MIURA, Y.; IKEMOTO, S. - Characterization of autoantibodies in mixed type autoimmune hemolytic anemia. **Vox Sang.**, 60:45-52, 1991
- KASSAN, J.S.; THOMAS, T.L.; MOUTSOPOULOS, H.M. - Increased risk of lymphoma in sicca syndrome. **Ann. Intern. Med.**, 89:888-892, 1978.
- KAY, N.E. - Abnormal T cell subpopulation function in CLL: excessive suppressor T_H and deficit helper T activity with respect to B cell proliferation. **Blood**, 57:418-420, 1981.
- KELLER, E.T. - Immune-mediated disease as a risk factor for canine lymphoma. **Cancer**, 70:2334-2337, 1992.
- KINLEN, J.S.; SHIEL, A.G.R.; PETO, J. - A collaborative study of cancer in patients who have received immunosuppressive therapy. **Br. Med. J.**, 2:1961-6, 1979.
- KIPPS, T. & CARSON D.A. - Autoantibodies in chronic lymphocytic leukemia and related systemic autoimmune diseases. **Blood**, 81:2475-2487, 1993.

- KIRSCHFINK, M.; FRITZE, H.; ROELCKE D. - Complement activation by cold agglutinins. *Vox Sang.*, **63**:220-226, 1992.
- KOURTIS, A.; PANGALIS, G.A.; BORCHE, L.; BOUSSIOTIS, V.; DIGHIERO, G.; LYMBERI, P. - Monoclonal and oligoclonal immunoglobulins in sera of patients with non-Hodgkin's lymphomas, determined by isoelectric focusing and immunoblotting. *Leukemia Lymphoma*, **5**:255-262, 1991.
- KOURTIS, A.P.; BOUSSIOTIS, V.; LYMBERI, P.; PANGALIS, G. A. - Increased natural antibody activity in sera of patients with malignant non Hodgkin's lymphomas containing paraproteins. *Am. J. Hematol.*, **46**:283-288, 1994.
- LAPIERRE, Y.; RIGAL, D.; ADAM, J.; JOSEF, D.; MEYER, F.; GEIBER, S.; DROT, C. - The gel test: a new way to detect antigen-antibody reactions. *Transfusion*, **30**:109-113 1990.
- LAPIERRE, Y. - Le gel test: Un nouveau procédé en immuno-hématologie. *Spectra Biologie*, **89**:38-42, 1989.
- LAUDER, I.- Classification and histological diagnosis of malignant lymphomas. In: Habeswaw, J.M.; Lauder, I. - *Malignant Lymphomas*. 1.ed. New York, Churchill Livingstone, 1988. p.32-47.
- LAWERENCE, C.M.; MARCKS, J.M.; BURRIDGE, A.; MOSS, C.; IVE, F.A.; MCGIBBON, D.; PAKER, S.; COBURN, P.; SHUSTER, S. - The nature of mycosis fungoides. *Q. J. Med.*, **58**:281-293, 1986.
- LAYRISSE, Z. & LAYRISSE, M. - High incidence cold autoagglutinins of anti-It specificity in Yanomama indians of Venezuela. *Vox Sang.*, **14**:369-382, 1968.
- LAYRISSE, Z. & LAYRISSE, M. - Cold reacting auto-antibodies in Venezuelan populations. *Vox Sang.*, **22**:457-468, 1972
- LEA, A.J. - An association between the rheumatic disease and the reticuloses. *Ann. Rheum. Dis.*, **23**:480-488, 1964.
- LENNERT, K.; STEIN, H.; KAISERLING, E. - Cytological and functional criteria for the classification of malignant lymphoma. *Br. J. Cancer*, **31** (suppl):29-43, 1975.

- LENNERT, K.; MOHRI, N.; STEIN, H. & KAISERLING, E. - The histopathology of malignant lymphoma. **Br. J. Haematol.**, 31 (suppl):193-203, 1975.
- LENNERT, K. & FELLER, A.C. - **Histopathology of non-Hodgkin's lymphomas** (Based on the Updated Kiel Classification) 2.ed. Berlin, Springer, Verlag, 1992. 311p.
- LENNERT, K. - **Malignant Lymphoma other than Hodgkin's Disease**. 1.ed. Berlin, Springer, Verlag, 1978.
- LESTER, J.E. & ULTMANN, J. - Lymphoma. In: Williams, J.W.; Beutler, E.; Erslev, A.J.; Lichtman, M.A. - **Hematology**. 4.ed. New York, McGraw-Hill, 1990. p.1067-1088.
- LEVINE, A.M.; MEYER, P.R.; BEGANDY, M.K. - Development of a B cell lymphoma in a homosexual men: Clinical and immunologic findings. **Ann. Intern. Med.**, 100:7-13, 1984.
- LEWIS, F.B.; SCHWARTZ, R.S.; DAMESHEK, C. - X radiation and alkylating agents as possible 'trigger' mechanisms in the autoimmune complications of malignant lymphoproliferative disease. **Clin. Exp. Immunol.**, 1:3-11, 1966.
- LIEBERMAN, P.H.; FELLIPPA, D.A.; STRAUS, D.J.; THALER, H.T.; CIRINCIONE, C.; CLARKSON, B. - Evaluation of malignant lymphomas using three classifications and the Working Formulation. 482 cases with median follow-up off 11.9 years. **Am.J. Med.**, 81:365-380, 1986.
- LOW, B. & MESSETER, L. - Antiglobulin test in low ionic strength salt solution for rapid antibody screening and cross-matching. **Vox Sang.**, 26:53-61, 1974.
- LUKES, R.J. & COLLINS, R.D. - New approaches to the classification of the lymphomata. **Br. J. Cancer**, 31 (suppl): 1-27, 1975.
- MARSH, W.L. - Scoring of hemagglutination reaction. **Transfusion**, 12:352-353, 1972.
- MARSH, W.L. & JENKINS, W.J. - Anti-i: a new cold antibody. **Nature**, 188:753-754, 1960.

- MICHAELI, J.; LUGASSY, G; RAZ, I.; UZIELI, B.; POLLACK, P. - Chronic lymphocytic leukaemia and malignant lymphoma developing in the patients with autoimmunity or other ill defined immune stigmata. A review of the literature and report of additional 9 cases. **Hematol. Rev.**, 1:291-310, 1987.
- MILLER, D. - The association of immune disease and malignant lymphoma. **An. Int. Med.**, 66:507-517, 1967.
- MISA, R.F. & MEGIDO, M. - Autoimmune hemolytic anemia and cutaneous T cell lymphoma: Review of literature. **Acta Haematol.**, 89:168, 1993.
- MOLLISON, P.L.; ENGELFRIET, C.P.; CONTRERAS, M. - **Blood Transfusion in Clinical Medicine**. 9.ed. Blackwell Scientific Publications. 1993. 1013p.
- MOORE, A.C. & MOLLISON, P.L. - Use of low ionic strength medium in manual tests for antibody detection. **Transfusion**, 16:291-296, 1976.
- NANCE, S., & GARRATY, G. - Polyethylene glycol: A new potentiator of red blood cell antigen reactions. **Am. J. Clin. Pathol.**, 87:633-635, 1987.
- OBELLOFF, M. D. & WATERBURY, MD. - Pure red cell aplasia and chronic lymphocytic leukaemia. **Arch. Intern. Med.**, 134:721-724, 1974.
- OLIN, G.R. - The hazards of chemical laboratory environment: A study of the mortality in two cohorts of Swedish chemists. **Am. Ind. Hyg. Assoc. J.**, 39:557-560, 1978.
- PIROFSKY, B. & PORTLAND, O. - Autoimmune hemolytic anemia and neoplasia of reticuloendothelium. **An. Intern. Med.**, 68:109-119, 1968.
- POTTER, M. & MUSHINSKI, J.F. - Oncogenesis in B neoplasia. **Cancer Invest.**, 1:285-289, 1984.
- PRUZANSKI, W. & SHUMAK, K.H. - Biologic activity of cold-reacting autoantibodies. **The New Engl. J.**, 11:583-589, 1977.
- RAI, K.R.; SAWITSKY, A.; CRONKITE, E.P. - Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. **Blood**, 46:219, 1975.

- ROBINSON, J.E.; BROWN, N.; ANDEMAN, W. - Diffuse polyclonal B lymphoma during primary infection with Epstein Barr virus. **N. Engl. J. Med.**, **302**:1293-1299, 1980.
- ROCHANT, H. - Anémies hémolytiques à test de Coombs négatif et test de Coombs positif sans anémie hémolytique. **Ann. Méd. Interne**, **131**:452-466, 1980.
- ROELCKE, D. - A review: Cold agglutination, antibodies and antigens. **Clin. Immunol. and Immunopathol.**, **2**:266-280, 1974.
- ROSENBERG, S.A.; BERARD, C.W.; BROWN, B.W.; DORFMAN, R.F.; GLATSTEIN, E.; HOPPE, R.T. & SIMON, R. - National Cancer Institut sponsored study of classification of non-Hodgkin's lymphoma: summary and description of working formulation for clinical usage. **Cancer**, **49**:2112-2135, 1982.
- ROSIERS, B. & NASR, O. - Recherche des anticorps irréguliers par la methode du gel test. Analyse de 35882 echantillons. **Rev. Fr. Transfus. Hémobiol.**, **36**:391-399, 1993.
- ROSSI, G.; GRANATI, L.; GIRELLI, G.; GANDOLFO, G.; ARISTA, M.C.; MARTELLI, M.; CONTI, L.; MARINI, R.; TAGLIATA, R.; LEONE, R.; MANDELLI, F. - Incidence and prognostic significance of autoantibodies against erythrocytes and platelets in chronic lymphocytic leukemia (CLL). **Nouv. Rev. Fr. Hematol.**, **30**:403-406, 1988.
- ROUGER, P. & SALMON, C. - Le group sanguin ABO et le groupag ABO. In: _____ - **La pratique des groupes et groupages érythrocytaires**. Masson, 1981. p.37-57.
- RUSTAGI, P.; HAN, T; ZIOLKOWSKI, L.; CURRIER, M.; LOGUE, G. - Antigranulocyte antibodies in chronic lymphocytic leukemia and other chronic lymphoproliferative disorders. **Blood**, **62**(suppl.1):106-110, 1983.
- SACKS, P. - Autoimmune hemolytic complication in malignant lymphoproliferative disorders. **Arch. Intern. Med.**, **134**:781-783, 1974. 1974
- SALMON, C.; CARTRON, J.P.; ROUGER, P. - Les antigènes I et i. In: _____. **Les Groupes Sanguins Chez L'Homme**. 2.ed. Masson, 1991. p. 196-210.

- SHULMAN, I.A.; BRANCH, D.R.; NELSON G.M. - Autoimmune hemolytic anemia with both cold and warm antibodies. **JAMA**, **253**:1746-1749, 1985.
- SILBERSTEIN, L.; LITWIN S.; CARMACK, C. - Relationship of variable region genes expressed by a human B cell lymphoma secreting pathologic anti-Pr erythrocyte autoantibodies. **J. Exp. Med.**, **169**:1631-1643, 1989.
- SOKOL, R.J.; HEWITT, S.; STAMPS, B.K. - Autoimmune haemolysis: An 18 years study of 865 cases referred to a regional transfusion centre. **Br. Med. J.**, **282**:2023-2027, 1981.
- SOKOL, R.J.; HEWITT, S.; STAMPS, B.K. - Autoimmune hemolysis. Mixed warm and cold antibody type. **Acta Haematol.**, **69**:266-274, 1983.
- STHOEGER, M.Z.; STHOEGER, D., SHTALRID, M.; SIGLER, E.; GELTNER,; BERREBI, A. - Mechanism of autoimmune hemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia. **Am. J. of Hematol.**, **43**:259-264, 1993.
- SYMMONS, D.P.M. - Neoplasms of the immune systems in rheumatoide arthrits. **Am. J. Med.**, suppl. 1a:22-28, 1985.
- TIETZ, W.N.; FINLEY, P.R.; PRUDEN, E.L. - **Clinical Guide to Laboratory Tests**. 2. ed. W. B. Saunders, 1990.
- UCKUN, F.M. - Regulation of Humanan B-cell ontogeny. **Blood**, **76**:1908-1923, 1990.
- VAINIO, E.; LENOIR, G.M.; FRANKLIN, M. - Autoantibodies in three populations of Burkitt's lymphoma patients. **Clin. Exp. Immunol.**, **54**:387-396, 1983.
- VON DEN BORNE, A.E. ; MOL, J.J.; JOUSTRA-MAAS, N.; PEGELS, G.; LANGENHUIJSEN, M.A.; ENGELFRIET, P. - Autoimmune haemolytic anaemia with monoclonal IgM anti-P cold autohaemolysins. **Br. J. Haematol.**, **50**:345-350, 1982.
- VOS, G.H.; PETZ, L.,; GARRATY, G.; FUDENBERG, H.H. - Autoantibodies in acquired hemolytic anemia with special refernce to the LW system. **Blood**, **42**:445-453, 1973.
- WALKER, R.H. - **Technical Manual**. 10.ed. Arlington. 1990. p.555-557.

WALKER, R.H. - **Technical Manual**. 11.ed. AABB, 1993 779.p.

WENZ, B.; APUZZO J.; SHAH D.P. - Evaluation of the polyetyleno glycol potentiated indirect antiglobulin test. **Tranfusion**, 30:318-321, 1990.

WENZ, B. & APPUZZO, J. - Polyethylene glycol improves the indirect antiglobulin test. **Transfusion**, 29:218-220, 1989.

WESTBROOK, C.A.; & GOLDE, D.W. - Autoimmune disease in Hairy-cell leukemia: clinical syndromes and treatment. **Br. J. Haematol.**, 61:349-356, 1985.

WHITE, S.I.; MARSDEN, J.R.; MARKS, M.; PROCTOR, S. - Autoimmune haemolytic anaemia occurring in a patient with mycosis fungoides. **Br. J. Dermatol.**, 110:495-497, 1984.