



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA
PROGRAMA DE MESTRADO ACADÊMICO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

SABRINA PINHEIRO SANTIAGO

**ESTUDO DE POLIMORFISMOS DE GENES DE REPARO DO DNA EM LESÃO DE
FITA SIMPLES E SUA ASSOCIAÇÃO COM ASPECTOS CLÍNICOS E
LABORATORIAIS DE PORTADORES DE SÍNDROME MIELODISPLÁSICA.**

FORTALEZA

2015

SABRINA PINHEIRO SANTISGO

ESTUDO DE POLIMORFISMOS DE GENES DE REPARO DO DNA EM LESÃO DE FITA SIMPLES E SUA ASSOCIAÇÃO COM ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS DE PORTADORES DE SÍNDROME MIELODISPLÁSICA.

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Acadêmico em Ciências Médicas, do Departamento de Medicina Clínica, na Faculdade de Medicina, na Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas.

Orientador: Prof. Dr. Ronald Feitosa Pinheiro

FORTALEZA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S226e Santiago, Sabrina Pinheiro.
ESTUDO DE POLIMORFISMOS DE GENES DE REPARO DO DNA EM LESÃO DE FITA SIMPLES E SUA ASSOCIAÇÃO COM ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS DE PORTADORES DE SÍNDROME MIELODISPLÁSICA. / Sabrina Pinheiro Santiago. – 2015.
75 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Fortaleza, 2015.
Orientação: Prof. Dr. Ronald Feitosa Pinheiro.
1. Polimorfismo de nucleotídeo simples. 2. Reparo de DNA. 3. Xeroderma Pigmentoso . I. Título.
CDD 610
-

SABRINA PINHEIRO SANTIAGO

ESTUDO DE POLIMORFISMOS DE GENES DE REPARO DO DNA EM LESÃO DE FITA SIMPLES E SUA ASSOCIAÇÃO COM ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS DE PORTADORES DE SÍNDROME MIELODISPLÁSICA.

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Acadêmico em Ciências Médicas, do Departamento de Medicina Clínica, na Faculdade de Medicina, na Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas.

Defesa em: 16 / 12 / 2015

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ronald Feitosa Pinheiro (Orientador)
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes Filho
Membro da Banca Avaliadora
Universidade Federal do Ceará

Profa. Dra. Cláudia do Ó Pessoa
Membro da Banca Avaliadora
Fundação Oswaldo Cruz – Ceará

Profa. Dra. Juliana Cordeiro de Sousa
Membro da Banca Avaliadora
Faculdade de Tecnologia Intensiva

RESUMO

A Síndrome Mielodisplásica (SMD) é um grupo de doenças clonais das células progenitoras hematopoéticas, caracterizadas por citopenia(s) periférica(s), displasia de uma ou mais linhagens celulares mielóides e aumento do risco de desenvolvimento de leucemia mielóide aguda. A patogênese da SMD envolve danos no DNA nas células-tronco hematopoéticas acometidos provavelmente pelos danos de fita simples no DNA tendo o processo de reparo por excisão de nucleotídeos (*Nucleotide excision repair – NER*) como um dos principais mecanismos para garantir a estabilidade genômica das células-tronco. Este estudo de caso-controle de genes candidatos propôs avaliar a associação dos polimorfismos XPA rs1800975, XPC rs2228000, XPD rs1799793 e XPF rs1800067 com as variáveis clínicas de pacientes com Síndrome Mielodisplásica. Esta análise utilizou PCR quantitativo em tempo real como técnica de genotipagem entre amostras de medula óssea de 95 pacientes com SMD, oriundos do Hospital Universitário Walter Cantídio, e amostras de sangue periférico de 94 idosos voluntários saudáveis. Para o polimorfismo XPC rs2228000 obtivemos, em relação a hemoglobina, na distribuição genotípica, que o genótipo CT é associado a maior razão de chances de apresentar níveis de hemoglobina abaixo de 8,0g/dL ($p= 0,010$, OR 3,385, IC 1,343-8,529); por sua vez, o genótipo CC associa-se a maior razão de chances de Hb ≥ 8 g/dL no modelo de dominância ($p= 0,027$, OR 2,75, IC 1,125-6,722) e no modelo de heterozigose dominante ($p= 0,013$, OR 3,333, IC: 1,293-8,591); em relação a contagem de neutrófilos temos que o genótipo mutante TT tem maior razão de chances de contagem de neutrófilos abaixo de 800/mm³ ($p= 0,017$, OR 8,750, IC 1,470-52,098), que o genótipo CC associa-se a maior razão de chances de neutrófilos ≥ 800 /mm³ no modelo de dominância ($p= 0,032$, OR 2,833, IC 1,096-7,327) e no modelo de homozigose ($p= 0,013$, OR 17,500, IC 1,828-167,558) e que a combinação CC+CT do modelo de recessividade também associou-se com maior razão de chances de neutrófilos ≥ 800 /mm³ ($p= 0,025$, OR 12,500, IC 1,381-113,177). Constatamos ainda que para o polimorfismo XPD rs1799793 o genótipo GG se associa a menor razão de chances de SMD no modelo de dominância ($p= 0,009$, OR 0,445, IC 0,242-0,816) e no modelo de heterozigose dominante ($p= 0,010$, OR 0,440, IC 0,235-0,825), e o mesmo genótipo parece ter menor razão de chances de contagem de sideroblastos em anel em medula óssea $\geq 15\%$ em três modelos distintos: de distribuição genotípica ($p= 0,027$, OR 0,980, IC 0,013-0,768), de dominância ($p= 0,027$, OR 4,643, IC 1,195-18,034) e de heterozigose dominante ($p= 0,022$, OR 5,000, IC 1,265-19,762). Não obtivemos associação significativa entre os polimorfismos XPF rs1800067 e XPA rs1800975 e as variáveis clínicas para os pacientes com SMD. Este estudo sugere que os polimorfismos de genes de reparo do DNA por excisão de nucleotídeos são associados a características clínicas de pacientes com Síndrome Mielodisplásica.

Palavras – chave: Síndrome Mielodisplásica. Reparo de DNA. Polimorfismo de nucleotídeo simples. NER. Xeroderma pigmentoso.

ABSTRACT

The myelodysplastic syndrome (MDS) is a group of clonal hematopoietic stem cell disorders characterized by peripheral cytopenias, dysplasia of one or more myeloid cell lineages and increased risk of acute myeloid leukemia development. The pathogenesis of MDS involves DNA damage in the affected hematopoietic stem cells, probably caused by single strand DNA damage, with the nucleotide excision repair (NER) pathway as one of the main mechanisms ensuring stem cells genomic stability. This case-control study was proposed to evaluate the association of XPA rs1800975, XPC rs2228000, XPD rs1799793 and XPF rs1800067 polymorphisms with clinical variables of MDS patients. This analysis used quantitative real-time PCR as genotyping technique in bone marrow samples from 95 patients with MDS, coming from Walter Cantídio University Hospital and 94 healthy elderly volunteer controls. For the XPC rs2228000 polymorphism we obtained that, considering hemoglobin levels, in the genotypic association model, the CT genotype was associated with increased odds ratio of presenting hemoglobin levels below 8.0 g/ dL ($p = 0.010$, OR 3.385, CI 1.343 - 8.529); in turn, the CC genotype was associated with higher odds ratio of $Hb \geq 8$ g/ dL in the dominant model ($p = 0.027$, OR 2.75, CI 1.125 - 6.722) and in the heterozygous dominant model ($p = 0.013$, OR 3.333, CI: 1.293 to 8.591); considering neutrophil levels, the mutant TT genotype had a higher odds ratio of neutrophils count under 800/ mm³ ($p = 0.017$, OR 8.750, CI 1.470 - 52.098), the CC genotype was associated with an increased odds ratio of ≥ 800 neutrophils/ mm³ in the dominant model ($p = 0.032$, OR 2.833, CI 1.096 to 7.327) and in the homozygous model ($p = 0.013$, OR 17.500, CI 1.828 - 167.558) and that the combination of CC + CT genotypes, in the recessive model, was also associated with higher odds ratio of neutrophils ≥ 800 / mm³ ($p = 0.025$, OR 12.500, CI 1.381 - 113.177). We acknowledged that the XPD rs1799793 polymorphism GG genotype was associated with lower odds ratio of SMD in the dominant model ($p = 0.009$, OR 0.445, CI 0.242 - 0.816) and in the heterozygous dominant model ($p = 0.010$, OR 0.440, CI 0.235 - 0.825), and the same genotype seemed to have lower odds ratio of ring sideroblasts count $\geq 15\%$ in bone marrow in three different models: genotypic distribution ($p = 0.027$, OR 0.980, CI 0.013 - 0.768), dominant model ($p = 0.027$, OR 4.643, 1.195 to 18.034 IC) and dominant heterozygous model ($p = 0.022$, OR 5.000, CI 1.265 - 19.762). We haven't had significant association between XPF rs1800067 and XPA rs1800975 polymorphisms and clinical variables for patients with MDS. This study suggests that polymorphisms of DNA repair genes that take part in the NER pathway are associated with clinical features of patients with MDS.

Key - words: Myelodysplastic Syndromes. DNA damage. Single strand. Repair mechanisms. Polymorphism. NER.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Representação esquemática dos cinco grupos do sistema prognóstico citogenético desenvolvido por Schanz et al., 2012. **19**
- Figura 2.** Mecanismos celulares que ligam exposição a compostos químicos e câncer. **21**
- Figura 3.** Apresentação esquemática dos tipos de mecanismos de reparo em danos de fita simples de DNA. **22**
- Figura 4.** Representação esquemática das vias do reparo por excisão de nucleotídeo (*Nucleotide excision repair pathways – NER*). **25**
- Figura 5.** Presença de SNPs na farmacodinâmica e farmacocinética gerando respostas variáveis a uma determinada droga. **28**
- Figura 6.** Representação esquemática do número de pacientes incluídos no estudo e quantidade final de pacientes genotipados para cada polimorfismo estudado. **32**
- Figura 7.** Os gráficos gerados para a discriminação alélica dos polimorfismos estudados. **34**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Taxa de incidência de Síndrome Mielodisplásica nos EUA por idade ao diagnóstico, no período de 2004-2008.	13
Tabela 2.	Evolução na classificação da Síndrome Mielodisplásica.	15
Tabela 3.	Quadro comparativo IPSS x IPSS-R.	17
Tabela 4.	Impacto prognóstico de mutações recorrentes (> 5%) em SMD.	19
Tabela 5.	Genes de reparo de dano ao DNA envolvidos em doenças humanas.	27
Tabela 6.	Genes e polimorfismos, sua nomenclatura, alelo selvagem, sonda Taqman® e seu alelo.	33
Tabela 7.	Lista de modelos genéticos de associação aplicados para cada polimorfismo.	36
Tabela 8.	Características clínicas dos pacientes com SMD.	39
Tabela 9.	Genótipos, distribuição alélica e equilíbrio de Hardy-Weinberg nos grupos casos e controles para o SNP rs1800975 do gene XPA.	40
Tabela 10.	Valores de p da análise univariada para cada uma das variáveis clínicas nos modelos estatísticos utilizados para estudo do SNP rs1800975 do gene XPA.	41
Tabela 11.	Genótipos, distribuição alélica e equilíbrio de Hardy-Weinberg nos grupos casos e controles para o SNP rs2228000 de XPC.	42
Tabela 12.	Valores de p da análise univariada para cada uma das variáveis clínicas nos modelos estatísticos utilizados para estudo do SNP rs2228000 de XPC.	42
Tabela 13.	Regressão logística multinomial para associar valor de hemoglobina < 8g/dL a genótipos do SNP rs2228000 de XPC, na distribuição genotípica.	43
Tabela 14.	Regressão logística multinomial para associar valor de hemoglobina \geq 8g/dL a genótipos do SNP rs2228000 de XPC, em modelo de dominância.	43
Tabela 15.	Regressão logística multinomial para associar valor de hemoglobina \geq 8g/dL a genótipos do SNP rs2228000 de XPC, em modelo de heterozigose dominante.	43
Tabela 16.	Regressão logística multinomial para associar valor de neutrófilos < 800/mm ³ a genótipos do SNP rs2228000 de XPC, na distribuição genotípica.	44
Tabela 17.	Regressão logística multinomial para associar valor de neutrófilos \geq 800/mm ³ a genótipos do SNP rs2228000 de XPC, em modelo de dominância.	44
Tabela 18.	Regressão logística multinomial para associar valor de neutrófilos \geq 800/mm ³ a genótipos do SNP rs2228000 de XPC, em modelo de homozigose.	44
Tabela 19.	Regressão logística multinomial para associar genótipos e valor de	44

neutrófilos $\geq 800/\text{mm}^3$ a genótipos do SNP rs2228000 de XPC, em modelo de recessividade.

- Tabela 20.** Genótipos, distribuição alélica e equilíbrio de Hardy-Weinberg nos grupos 45
casos e controles para o SNP rs1799793 de XPD.
- Tabela 21.** Valores de p da análise univariada para cada uma das variáveis clínicas nos 46
modelos estatísticos utilizados para estudo do SNP rs1799793 de XPD..
- Tabela 22.** Regressão logística multinominal para associar prevalência de SMD a 46
genótipos do SNP rs1799793 de XPD, em modelo de dominância.
- Tabela 23.** Regressão logística multinominal para associar prevalência de SMD a 47
genótipos do SNP rs1799793 de XPD, em modelo de heterozigose dominante.
- Tabela 24.** Regressão logística multinominal para associar presença de 15% ou mais de 47
sideroblastos em anel a genótipos do SNP rs1799793 de XPD, em modelo de
distribuição genotípica.
- Tabela 25.** Regressão logística multinominal para associar presença de menos de 15% de 47
sideroblastos em anel a genótipos do SNP rs1799793 de XPD, em modelo de
dominância.
- Tabela 26.** Regressão logística multinominal para associar presença de menos de 15% de 47
sideroblastos em anel a genótipos do SNP rs1799793 de XPD, em modelo de
heterozigose dominante.
- Tabela 27.** Genótipos, distribuição alélica e equilíbrio de Hardy-Weinberg nos grupos 48
casos e controles para o SNP rs1800067 de XPF.
- Tabela 28.** Valores de p da análise univariada para cada uma das variáveis clínicas nos 49
modelos estatísticos utilizados para estudo do SNP rs1800067 de XPF.

LISTA DE ABREVIATURAS

A	<i>Adenina</i>
ACE-27	<i>Adult Comorbidity Evaluation</i>
APE-1	<i>AP endonuclease 1</i>
AR	<i>Anemia Refratária</i>
AREB	<i>Anemia Refratária com Excesso de Blastos</i>
ARSA	<i>Anemia Refratária com Sideroblastos em Anel</i>
BER	<i>Base Excision Repair</i>
C	<i>Citosina</i>
CGH	<i>Comparative genomic Hybridization</i>
CRDM	<i>Citopenia refratária com displasia multilinear</i>
CSA	<i>Cockayne Syndrome A</i>
CSB	<i>Cockayne Syndrome B</i>
DNA	<i>Ácido desoxrribonucléico</i>
DSB	<i>Double Strand-Break</i>
ERCC1	<i>Excision Repair Complementig group 1</i>
ERCC2	<i>Excision Repair Complementig group 2</i>
ERCC4	<i>Excision Repair Complementig group 4</i>
FAB	<i>Grupo Francês-Americano-Britânico</i>
FISH	<i>Fluorescence in situ hybridization</i>
G	<i>Guanina</i>
GGR	<i>Global Genome Repair</i>
hHR23B	<i>Proteína homóloga humana da levedura RAD23</i>
HR	<i>Homologous Recombination</i>
HUWC	<i>Hospital Universitário Walter Cantídio</i>
IC	<i>Intervalo de confiança</i>
IPSS	<i>International Prognostic Score Systems</i>
IPSS-R	<i>International Prognostic Score Systems – Revised</i>
LMA	<i>Leucemia Mielóide Aguda</i>
LMC	<i>Leucemia Mielóide Crônica</i>
LMMC	<i>Leucemia Mielomonocítica crônica</i>
LPR	<i>Long-Patch Repair</i>
MMR	<i>Mismatch Repair</i>

MO	<i>Medula Óssea</i>
MPSS	<i>MD Anderson Global Prognostic Scoring System</i>
NER	<i>Non-Homologous End-Join</i>
NHEJ	<i>Nucleotide Excision Repair</i>
OMS	<i>Organização Mundial de Saúde</i>
OR	<i>Odds-Ratio</i>
PCNA	<i>Antígeno nuclear de proliferação celular</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
RNA	<i>Ácido ribonucleico</i>
RPA	<i>Replication Protein A</i>
RPC	<i>Fator de replicação C</i>
RPM	<i>Rotações por minuto</i>
SC	<i>Síndrome de Cockayne</i>
SEERS	<i>Surveillance, Epidemiology and End Results</i>
SRP	<i>Short-Patch Repair</i>
SMD	<i>Síndrome Mielodisplásica</i>
SMP	<i>Síndrome Mieloproliferativa</i>
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
SNP-A	<i>Single Nucleotide Array</i>
SSB	<i>Single Strand Break</i>
T	<i>Timina</i>
TCLE	<i>Termo de Consentimento Livre e Esclarecido</i>
TCR	<i>Transcription-Coupled Repair</i>
TTD	<i>Tricotiodistrofia</i>
WPSS	<i>World Health Organization classification-based Prognostic Scoring System</i>
XP	<i>Xeroderma Pigmentosum</i>
XPA	<i>Xeroderma Pigmentosum group A</i>
XPC	<i>Xeroderma Pigmentosum group C</i>
XPB	<i>Xeroderma Pigmentosum group D</i>
XPF	<i>Xeroderma Pigmentosum group F</i>
XPG	<i>Xeroderma Pigmentosum group G</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	Síndrome Mielodisplásica	12
<i>1.1.1</i>	<i>Definição</i>	12
<i>1.1.2</i>	<i>Epidemiologia</i>	12
<i>1.1.3</i>	<i>Fatores de risco</i>	13
<i>1.1.4</i>	<i>Classificação</i>	14
<i>1.1.5</i>	<i>Prognóstico</i>	15
<i>1.1.6</i>	<i>Citogenética e alterações moleculares</i>	18
1.2	Lesão de DNA	20
<i>1.2.1</i>	<i>Mecanismos de reparo de DNA</i>	21
<i>1.2.2</i>	<i>Mecanismos de reparo de fita dupla de DNA</i>	21
<i>1.2.3</i>	<i>Mecanismos de reparo de fita simples de DNA</i>	22
<i>1.2.3.1</i>	<i>Reparo por excisão de base</i>	22
<i>1.2.3.2</i>	<i>Reparo de erros de emparelhamento de bases</i>	23
<i>1.2.3.3</i>	<i>Reparo por excisão de nucleotídeo</i>	23
<i>1.2.3.3.1</i>	Xeroderma Pigmentoso	26
<i>1.2.3.3.2</i>	Síndrome de Cockayne	26
<i>1.2.3.3.3</i>	Tricotiodistrofia	26
1.3	Genes de reparo de DNA e seus polimorfismos	27
2	OBJETIVOS	30
2.1	Objetivo geral	30
2.2	Objetivos específicos	30
3	PACIENTES, MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1	Aspectos éticos	31
3.2	Delineamento do estudo, pacientes e obtenção de amostras de origem clínica	31
3.3	Discriminação alélica por PCR quantitativo em tempo real (qPCR)	32
<i>3.3.1</i>	<i>Extração de DNA Genômico</i>	32
<i>3.3.2</i>	<i>PCR quantitativo</i>	33
<i>3.3.3</i>	<i>Variáveis analisadas e Análises estatísticas</i>	34
4	RESULTADOS	37
4.1	Caracterização dos pacientes	37

4.2	<i>Análise dos polimorfismos por PCR quantitativo</i>	40
4.2.1	<i>Análise do polimorfismo rs1800975 do gene XPA</i>	40
4.2.2	<i>Análise do polimorfismo rs2228000 do gene XPC</i>	41
4.2.3	<i>Análise do polimorfismo rs1799793 do gene XPD</i>	45
4.2.4	<i>Análise do polimorfismo rs1800067 do gene XPF</i>	48
5	DISCUSSÃO	50
6	RESUMO DOS RESULTADOS	56
7	CONCLUSÃO	56
	REFERÊNCIAS	57
	APÊNDICE A	69
	APÊNDICE B	72

1 INTRODUÇÃO

1.1 Síndrome Mielodisplásica

1.1.1 Definição

A classificação de tumores de tecidos hematopoéticos e linfóides da Organização Mundial da Saúde (*World Health Association - WHO*), OMS, define a Síndrome Mielodisplásica (SMD) como uma doença clonal de células precursoras hematopoéticas (*stem cells*) caracterizada por citopenia, mielodisplasia, hematopoese ineficaz e risco aumentado de progressão para leucemia mielóide aguda (LMA) (SWERDLOW et al., 2008).

1.1.2 Epidemiologia

Em 2001, o programa *Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER)* do *National Cancer Institute and Center for Disease Control and Prevention* iniciou o registro de incidência de SMD nos Estados Unidos. Baseado nos dados coletados de 2001 a 2003, a taxa de incidência global foi estimada em 3,4 casos por 100.000 habitantes (ROLLISON et al, 2008), aumentando para 10 entre indivíduos de 60-69 anos e para 36,6 naqueles com 85 anos ou mais. Dados mais recentes do SEER de levantamento realizado entre 2007 e 2011 mostram uma taxa de incidência global de 4,9 casos por 100.000 habitantes (COGLE, 2015). A taxa de incidência é menor entre pessoas com menos de 40 anos, 0,14 caso por 100.000 habitantes, aumentando progressivamente com a idade, chegando a 36 casos por 100.000 habitantes em pacientes com mais de 80 anos (SEKERES, 2010). Pode-se observar na tabela 1 que, independentemente do sexo, há importante aumento na taxa de incidência de SMD com o envelhecimento. Homens têm uma taxa de incidência significativamente maior do que mulheres (4,5 vs 2,7 por 100.000 por ano). Entre grupos raciais, indivíduos caucasianos tiveram uma maior taxa de incidência. Estimativas acuradas do número de pessoas que vivem com SMD são difíceis de se fazer devido à escassez de registros oficiais de seguimento (COGLE, 2015), porém dados alemães revelam uma taxa de prevalência de SMD de 7 casos por 100.000 habitantes (NEUKIRCHEN et al., 2011). Acredita-se, entretanto, que seja subestimada a incidência de SMD principalmente devido à dificuldade no diagnóstico, o que geraria uma baixa notificação dos casos (COGLE et al., 2011).

Tabela 1: Taxa de incidência de Síndrome Mielodisplásica nos EUA por idade ao diagnóstico, no período de 2004-2008.

Idade ao Diagnóstico	Ambos os Sexos		Masculino		Feminino	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<40	362	0.2	190	0.2	172	0.2
40-49	465	0.8	212	0.7	253	0.9
50-59	1221	2.5	668	2.8	553	2.2
60-69	2619	9.2	1477	11.0	1142	7.6
70-79	5149	27.1	3021	36.6	2128	19.8
>80	6414	49.8	3480	77.5	2934	35.2

Fonte: Adaptado de SEER (2012).

O primeiro levantamento de SMD no Brasil foi estimado por Magalhães et al. Neste estudo, foi apresentado o Registro Brasileiro de Síndromes Mielodisplásicas - Aspectos demográficos, clínico-patológicos e terapêuticos em centros de atenção terciária, elaborado com base em estudo realizado com 476 pacientes com SMD em tratamento em 12 centros das regiões Nordeste, Sudeste, Sul e Centro-Oeste do Brasil, diagnosticados no período de 1º de janeiro de 2003 a 31 de dezembro de 2007 (MAGALHÃES et al., 2010). Um dos principais pontos abordados no estudo foi que a idade mediana do diagnóstico dos pacientes com SMD foi de 68,3 anos, número menor que observado nos EUA e Europa, mas muito similar a Japão e Coréia. Destes, 50,8% eram mulheres e 86,6% residentes em zona urbana (MAGALHÃES et al., 2010).

Em estudo sul-americano mais recente, envolvendo 1080 pacientes com diagnóstico de SMD de novo do Brasil (345), Chile (100) e Argentina (635), observou-se que pacientes chilenos tinham uma menor média de idade (64 anos) ao diagnóstico, predomínio do sexo feminino e maior porcentagem de doentes classificados como de alto risco pelos escores prognósticos (IPSS e IPSS-R), o que lhes conferia menor sobrevida global em relação aos demais grupos. Pacientes argentinos e brasileiros mostraram-se mais semelhantes entre si (BELLI et al., 2015).

1.1.3 Fatores de risco

A SMD pode, ao diagnóstico, apresentar-se *de novo* (pela ausência fator causal evidente), e tem a idade como seu principal fator de risco, aumentando sua incidência em cerca de dez vezes nos indivíduos octogenários, como descreve Sekeres (SEKERES, 2010) ou ser secundária à exposição a radiação ionizante, toxinas ou a drogas quimioterápicas (GERMING et al., 2008), particularmente agentes alquilantes e inibidores de topoisomerase. A SMD não parece ser uma condição hereditária ou congênita, embora haja raros casos descritos com componente familiar (SEKERES, 2010).

1.1.4 Classificação

O termo “Síndrome Mielodisplásica” foi formalmente introduzido em 1982 em uma revisão da classificação Franco-Americano-Britânica (FAB) publicada em 1976 (BENNET et al., 1976) onde se propôs um *guideline* detalhado para seu diagnóstico e classificação baseado nas linhagens celulares afetadas pela displasia e pela porcentagem de blastos no sangue periférico e na medula óssea, sendo esse um sistema baseado unicamente em critérios morfológicos. E a despeito dos avanços em citogenética e citometria de fluxo, a morfologia celular aberrante identificada no sangue periférico e na medula óssea permanecem como fator definidor no diagnóstico de SMD, embora tais achados sejam examinador-dependente e variem significativamente (NATELSON e PYATT, 2013). No intuito de incluir novas informações emergentes, foi criada a classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS) de 2001, revisada em 2008 (SWERDLOW et al., 2008), atualmente utilizada largamente, que se propõe a usar toda informação disponível: clínica, morfologia, citoquímica, imunofenotipagem e genética para definir o significado clínico de cada entidade patológica que compõe a Síndrome Mielodisplásica (NATELSON e PYATT, 2013). A seguir, a tabela 2 mostra a evolução das classificações existentes.

Tabela 2: Evolução na classificação da Síndrome Mielodisplásica.

FAB (1982)	OMS (2001)	OMS (2008)	Displasia-Linhagem (OMS 2008)	% Blastos MO	% Blastos SP
AR	AR SMD-U CRDM del 5q-	CRDU AR NR / TR CRDM del 5q isolada SMD-U	Eritróide Não Eritróide Eritróide + outra Eritróide + mega Unilinhagem + pancito ou CRDM/CRDU com 1% de blastos no SP	< 5 < 5 < 5 < 5 < 5	< 1 < 1 < 1 < 1 < 1
ARSA	ARSA CRDM-SA	ARSA	Eritróide* *>15% sideroblastos em anel	< 5 < 5	< 1 < 1
AREB	AREB-I AREB-II	AREB-I AREB-II	≥ 1 linhagem ≥ 1 linhagem	5-9 10-19	2-4 5-19
AREB-t	LMA	LMA	Mielóide + outra	≥20	
LMMC	SMD/DMP LMMC LMMJ LMCa SMD/DMP-U	SMD/NMP LMMC LMMJ LMC BCR/ABL neg SMD/NMP-U	Variável (monocitose >1 x 10 ⁹ /L)	<20	

Legenda: AR (Anemia Refratária), ARSA (Anemia refratária com sideroblastos em anel), AREB (Anemia refratária com excesso de blastos), AREB-t (AREB em transformação), LMMC (Leucemia Mielomonocítica Crônica), SMD-U (SMD inclassificável), CRDM (citopenia refratária com displasia de multilinhagem), del 5q (deleção 5q isolada), CRDM-SA (CRDM com sideroblastos em anel), LMA (Leucemia mielóide aguda), SMD/DMP (SMD/doenças mieloproliferativas), LMMJ (Leucemia mielomonocítica juvenil), LMCa (Leucemia mielóide crônica atípica), SMD/DMP-U (SMD/ doenças mieloproliferativas inclassificáveis), CRDU (citopenias refratárias com displasia unilinhagem), NR (neutropenia refratária), TR (trombocitopenia refratária), SMD/NMP (SMD/neoplasias mieloproliferativas), SMD/NMP-U (SMD/neoplasias mieloproliferativas inclassificáveis). Fonte: Adaptado de Komrokji, Zhang e Bennett (2010).

1.1.5 Prognóstico

O manejo clínico atual da SMD foca-se na definição do risco da doença ao diagnóstico, levando em consideração as características clínicas e individuais do paciente, classificando-o através de escores prognósticos estabelecidos que estimam a sobrevida e o risco de evolução para leucemia mielóide aguda (JONAS e GREENBERG, 2015). O prognóstico dos pacientes com SMD é muito heterogêneo (GARCIA-MANERO, 2015) e as informações geradas pelos escores prognósticos guiam a escolha terapêutica que pode ir desde uma conduta expectante/paliativa (suporte transfusional) até tratamentos curativos como quimioterapia e transplante alogênico de

medula óssea (JONAS e GREENBERG, 2015). A predição de benefício clínico de tratamentos específicos é também uma área significativa de pesquisas em andamento (LEE et al., 2015).

Fora o intrínseco valor prognóstico das classificações morfológicas, diversos escores prognósticos são atualmente usados em SMD (GARCIA-MANERO, 2015). Todos eles categorizam os pacientes em grupos de risco, cada um tem limitações específicas (LEE et al., 2015).

O primeiro escore de risco foi publicado em 1997 (GREENBERG et al., 1997), o *International Prognostic Scoring System* (IPSS), após estudo de dados clínicos, morfológicos e citogenéticos de 816 pacientes com SMD (a maioria em tratamento de suporte apenas) de um banco internacional de dados. Trata-se de um escore altamente reprodutível e simples de aplicar, tendo sido usado por mais de duas décadas, mas suas limitações tornaram-se evidentes ao longo dos anos (GARCIA-MANERO, 2015). Ele exclui pacientes portadores de Leucemia mielomonocítica crônica (LMMC) e de SMD secundária e foi criado para uso apenas ao diagnóstico, não sendo um escore dinâmico capaz de produzir prognóstico a qualquer momento da evolução da doença (JONAS e GREENBERG, 2015).

Em 2002, formulou-se uma nova proposta para a classificação de SMD *de novo*, o *World Health Organization classification-based Prognostic Scoring System* (WPSS) incorporando aos critérios morfológicos da classificação da OMS (SWERDLOW et al., 2008), as alterações citogenéticas do IPSS e acrescentando a dependência transfusional como fator de mau prognóstico (MALCOVATI et al., 2011). Apesar de ser um escore dinâmico, com valor prognóstico quando aplicado em qualquer momento do seguimento do paciente, tem limitações bem semelhantes ao IPSS (JONAS e GREENBERG, 2015).

Uma grande base de dados internacional contendo 7012 pacientes ainda não tratados com diagnóstico SMD *de novo* foi compilada com o intuito de refinar o IPSS com a incorporação de dados atualizados envolvendo citogenética (foram definidas 16 anormalidades citogenéticas específicas agrupadas em 5 categorias, sendo o peso das alterações citogenéticas aumentado) e contagem de blastos e citopenias sendo categorizados em subgrupos, dado origem ao IPSS-R (Revisado) (GREENBERG et al., 2012; JONAS e GREENBERG, 2015). As categorias citogenéticas foram baseadas em um novo esquema de classificação (SCHANZ et al., 2012). Após análise multivariada com tempo de sobrevida e transformação para LMA, foram criadas 5 categorias de risco: muito baixo, baixo, intermediário, alto e muito alto risco (GREENBERG et al., 2012). O IPSS-R é um escore dinâmico e foi capaz de categorizar com maior precisão os pacientes do estudo levando 27% dos pacientes de baixo risco para categorias superiores e trazendo 18% dos pacientes de maior risco para categorias inferiores (LEE et al., 2015). A idade se mostrou um grande fator prognóstico para sobrevivência global, mas não para a progressão para LMA, nos grupos de menor risco. Tal modelo foi validado por diversos grupos (DE SWART et al., 2015;

NEUKIRCHEN et al., 2014; VOSO et al., 2013; LAMARQUE et al., 2012) sendo considerado um bom escore, apesar de também excluir pacientes portadores de Leucemia mielomonocítica crônica (LMMC) e de SMD secundária.

Tabela 3: Quadro comparativo IPSS x IPSS-R

IPSS, 1997		IPSS-R, 2012	
Parâmetro	Escore	Parâmetro	Escore
BLASTOS MEDULA		BLASTOS MEDULA	
< 5%	0	≤ 2%	0
5-10%	0,5	> 2 e < 5%	1
11-12%	1,5	5-10%	2
21-30%	2	> 10%	3
CITOGENÉTICA*		CITOGENÉTICA**	
Bom	0	Muito favorável	0
Intermediário	0,5	Favorável	1
Ruim	1	Intermediário	2
CITOPENIAS		Desfavorável	3
0 ou 1	0	Muito desfavorável	4
2 ou 3	0,5	HB (g/dL)	
		≥ 10	0
		8 a < 10	1
		< 8	1,5
		NEUTRÓFILOS (x 10⁹/L)	
		≥ 0,8	0
		< 0,8	0,5
		PLAQUETAS (x 10⁹/L)	
		≥ 100	0
		50 a < 100	0,5
		< 50	1

Legenda: Favorável: Normal, - Y, 5q-, 20q-; Desfavorável: complexo (≥ 3 anormalidades) ou anormalidades do cromossomo 7; Intermediário: outras anormalidades. **Muito favorável: -Y, del(11q); Favorável: normal, del(5q), del(12p), del(20q), duas anormalidades incluindo del(5q); Intermediário: del(7q), +8, +10, i(17q), qualquer outra alteração isolada ou dois clones independentes; Desfavorável: -7, inv.(3)/t(3q)/del(3q), duas incluindo -7/del(7q), complexo: 3 anormalidades; Muito desfavorável: complexo >3 anormalidades. Fonte: Adaptado de LEE et al., (2015).

Na tentativa de preencher algumas lacunas dos escores anteriores, foi criado o *MD Anderson Global Prognostic Scoring System* (MPSS) que é resultado de uma análise multivariada de um banco de pacientes contendo 1915 indivíduos portadores de SMD (de novo e secundária), LMMC e SMD/SMP, além de pacientes previamente tratados (KANTARJIAN et al., 2008). Ele dispensa a classificação morfológica da OMS e pode ser aplicado em qualquer momento do tratamento.

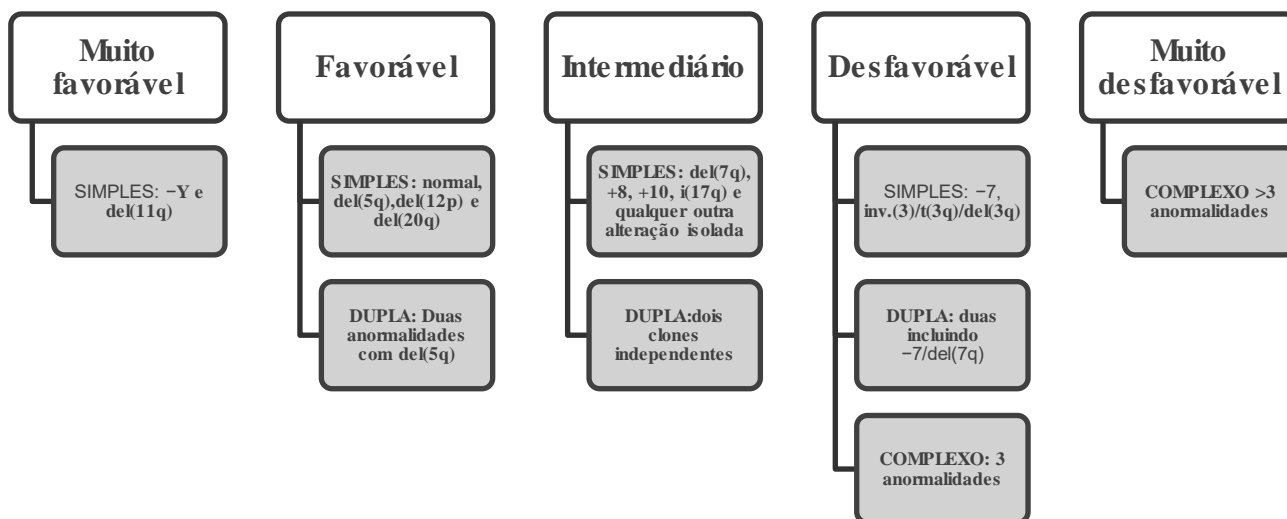
A despeito da SMD ocorrer principalmente em pacientes idosos habitualmente portadores de comorbidades, nenhum dos escores acima inclui o impacto de tais comorbidades na evolução e

desfecho desses pacientes (GARCIA-MANERO, 2015). Um estudo onde foi aplicado um escore de comorbidade (*Adult Comorbidity Evaluation-27*) em um grupo de 500 portadores de SMD mostrou que há um grande impacto independente na sobrevivência de tais pacientes (DELLA PORTA et al., 2011).

1.1.6 Citogenética e alterações moleculares

A citogenética na atualidade é a mais importante variável na determinação do prognóstico da SMD, contribuindo para a sua heterogeneidade (BERNASCONI et al., 2013). Usando o cariótipo convencional, aproximadamente 50% dos pacientes com SMD *de novo* e até 80% dos pacientes com SMD secundária, apresentam anormalidades. A maioria dessas anormalidades representam eventos genéticos secundários resultantes da instabilidade genômica ao invés de serem parte da patogênese primária, com exceção da del 5q (LEE et al., 2015). Usando uma coorte de 2902 pacientes diagnosticados com SMD de novo, Schanz et al. definiu um novo escore com 5 grupos de prognóstico citogenético (SCHANZ et al., 2012), posteriormente adicionado ao IPSS-R. A *Fluorescence in situ hybridization* (FISH) é outra técnica comumente usada para detectar anormalidades cromossômicas e tem como vantagem de poder ser usada em células fora do processo de divisão. A análise é limitada apenas pelo fato de que cada alteração cromossômica exige um *probe* específico. Ainda considerando a limitação de sensibilidade da citogenética convencional, novos métodos como o *Single-nucleotide array* (SNP-A) e a *Comparative genomic hybridization* (CGH) têm emergido como adjuntos na definição do prognóstico (JONAS e GREENBERG, 2015). A combinação do SNP-A com a citogenética convencional aumentou de 44 para 74% a porcentagem de achados de anormalidades cromossômicas com significado prognóstico (TIU et al., 2011). Entretanto, tais técnicas não estão comercialmente disponíveis e precisam de refinamento e padronização antes de ter seu uso generalizado (JONAS e GREENBERG, 2015).

Figura 1: Representação esquemática dos cinco grupos do sistema prognóstico citogenético desenvolvido por Schanz et al., 2012.



Fonte: Adaptado de Schanz et al., 2012

Nos últimos anos, diversos estudos importantes têm sido publicados descrevendo uma análise abrangente da incidência e do impacto clínico de múltiplas lesões gênicas na síndrome mielodisplásica. Em 2011, Bejar e colegas publicaram a primeira análise de 18 genes em 439 pacientes (BEJAR et al, 2011). Recentemente o *European Consortium* (PAPAEMMANUIL et al., 2013) realizou análise de mutação de 111 genes através de técnicas de sequenciamento de última geração em uma coorte de 738 pacientes e encontrou a frequência das mutações mais comuns em portadores de SMD. Esse e outros trabalhos envolvendo centenas de pacientes utilizando conjuntos de mutações genéticas alvo e sequenciamento total de genoma (BEJAR et al., 2011 e HAFERLACH et al., 2014) mostram que até 80% dos pacientes com SMD apresentam alguma mutação de interesse, sendo várias delas associadas a impacto prognóstico como se pode ver na tabela 4. Os dados emergentes devem ser não apenas importantes na definição do prognóstico desses pacientes, mas também potencialmente na seleção do tratamento dos mesmos (GARCIA-MANERO, 2015).

Tabela 4: Impacto prognóstico de mutações recorrentes (> 5%) em SMD

FUNÇÃO	GENE
Modificadores epigenéticos	TET2 ^a , DNMT3A ^c , ASXL1 ^c , EZH2 ^c
Splicing	SF3B1 ^a , SRSF2 ^c , U2AF1 ^c , ZRSR2 ^c
Diferenciação	RUNX1 ^c
Resposta a dano de DNA/apoptose	TP53 ^c , BCOR ^c
Complexo coesina	STAG2 ^b
Sinalização	CLB ^b

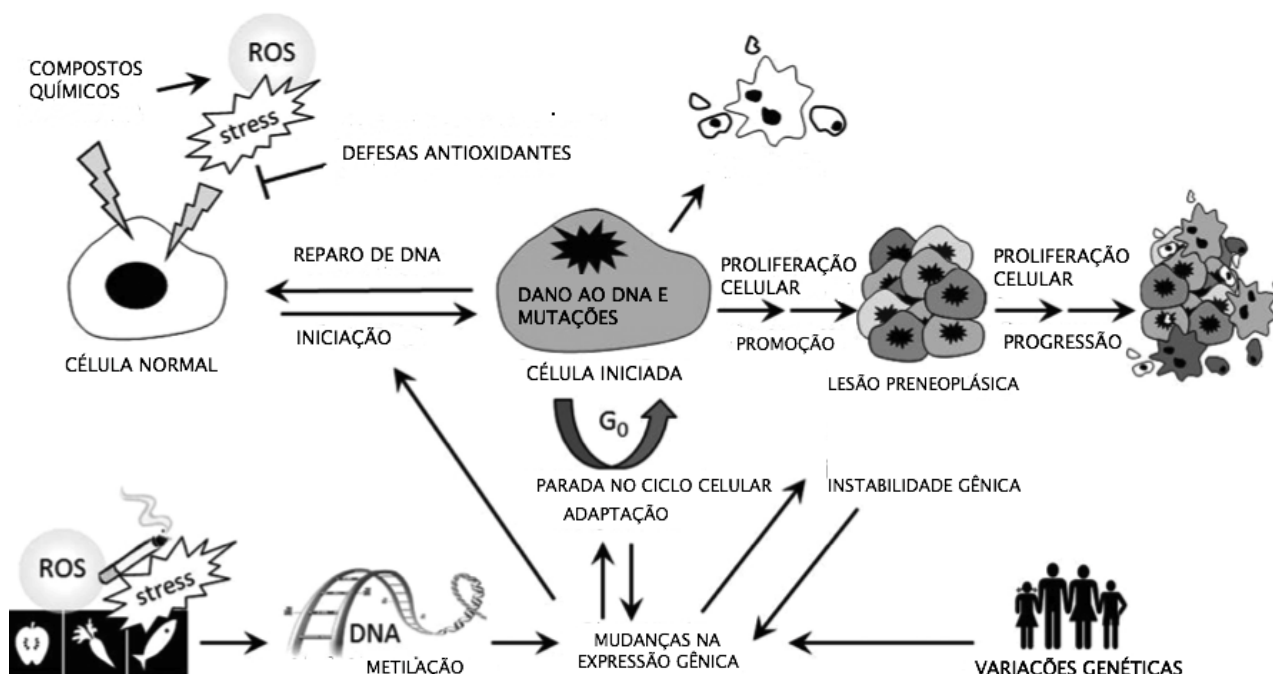
Legenda: ^a Impacto favorável no prognóstico, ^b Impacto neutro no prognóstico e ^c Impacto desfavorável no prognóstico. Fonte: Adaptado de JONAS e GREENBERG, 2015)

1.2 Lesão de DNA

O genoma de todos os organismos são constantemente modificados por moléculas reativas endogenamente produzidas, primariamente via respiração mitocondrial, ou por agentes exógenos/ambientais, físicos, químicos, e biológicos que incluem luz ultravioleta, radiação ionizante, metais pesados, poluentes do ar, quimioterápicos e respostas inflamatórias (LINDAHL, 1993). Estima-se que mais de 10.000 lesões do genoma sejam produzidas diariamente (HOEIJMAKERS, 2009). Os danos gerados podem levar a várias modificações biológicas que incluem: alterações na transcrição de alguns genes, falhas reprodutivas, mutações herdáveis ou não, morte celular e doenças como o câncer (OZTURK e DEMIR, 2011), contribuindo provavelmente para o envelhecimento, doenças relacionadas a senescência e neurodegeneração (IYAMA e WILSON, 2013). Tais modificações são resultado da instabilidade gnômica que ocorre quando vários processos envolvidos na manutenção e replicação do genoma são disfuncionais ou quando há uma relevante exposição a agentes carcinógenos (LANGIE et al., 2015), como mostrado na figura 2.

Existem várias linhas de defesa contra a indução e persistência de dano ao DNA de uma célula. Primariamente, existem os agentes que *previnem* a formação do dano como peptídeos detoxificantes e proteínas e os antioxidantes, como vitamina C e E (OZTURK e DEMIR, 2011). Secundariamente, há vias de resposta ao dano no DNA que *removem* um erro já existente através de vias de reparo de DNA reduzindo assim a possibilidade de indução de mutações. E por fim existe a célula já lesada que pode ser *eliminada* através de morte espontânea ou apoptose. Independente do mecanismo usado, o reparo da lesão ao DNA é indispensável para a manutenção da integridade do genoma (OZTURK e DEMIR, 2011), que por sua vez é essencial para a viabilidade e longevidade de um organismo saudável (IYAMA e WILSON, 2013).

Figura 2: Mecanismos celulares que ligam exposição a compostos químicos e câncer.



Os efeitos das substâncias químicas podem ser modulados por diversas vias e mecanismos, incluindo antioxidantes enzimáticos e nãoenzimáticos, enzimas metabolizadoras de fase I e II, parada de divisão celular, reparo de DNA, apoptose e por mecanismos epigenéticos (como metilação de DNA) que regulam a expressão gênica. Mecanismos de defesa limitam a acumulação de danos ao DNA e reduzem o risco o risco de instabilidade genômica (mutações, anomalias cromossômicas, encurtamento de telômeros etc.) e a progressão para câncer. Fonte: Adaptado de Langie et al., 2015.

1.2.1 Mecanismos de reparo de DNA

Dentro das vias de reparo de DNA podemos citar: o reparo por excisão de nucleotídeo (*Nucleotide Excision Repair – NER*), o reparo por excisão de base (*Base Excision Repair – BER*), o reparo de erros de emparelhamento de bases (*Mismatch Repair – MMR*), que são mecanismos de reparo de fita simples, e o reparo de junções por extremidades não homólogas (*Non-Homologous End-Joining – NHEJ*) e a recombinação homóloga (*Homologous Recombination – HR*), que figuram entre os mecanismos de reparo de fita dupla de DNA (IYAMA e WILSON, 2013).

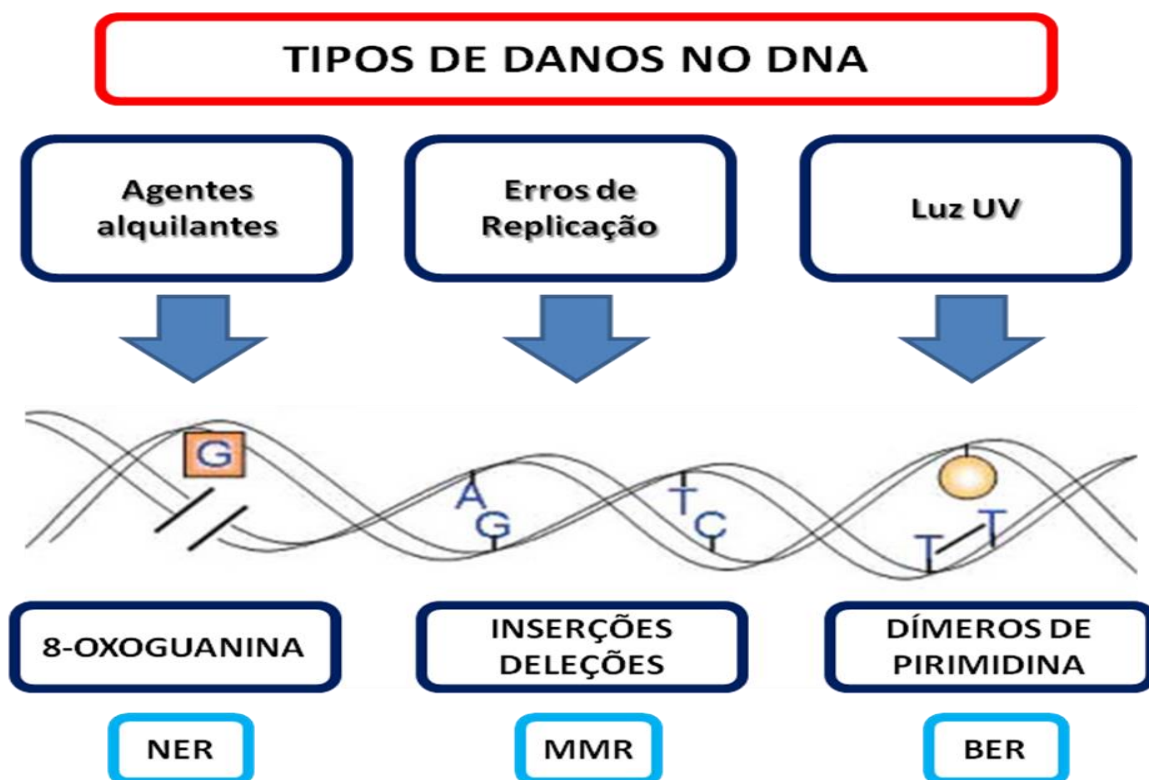
1.2.2 Mecanismos de reparo de fita dupla de DNA

As lesões de fita dupla são as mais deletérias formas de dano ao DNA, ativando morte celular, se não reparada, e promovendo instabilidade do genoma (BOHGAKI, BOHGAKI e HAKEM, 2010). Podem surgir pela ação de radicais livres endogenamente produzidos ou induzidos por fontes exógenas como terapia antineoplásica (IYAMA e WILSON, 2013). Existem duas vias principais: o reparo de junções por extremidades não homólogas (*Non-Homologous End-Joining –*

NHEJ) e a recombinação homóloga (*Homologous Recombination – HR*). A via HR requer uma cromátide-irmã homóloga para sua execução, ao passo que a via NHEJ pode ocorrer em células que estejam ou não em divisão, não necessitando de uma sequência homóloga de controle, o que faz dela uma via com maior chances de erro (OZTURK e DEMIR, 2011). Diversas doenças humanas derivam-se de deficiências em HR e NHEJ e exibem defeitos no desenvolvimento, imunológicos e neurológicos, assim como sensibilidade a radiação, fenótipos de envelhecimento precoce e predisposição ao câncer (IYAMA e WILSON, 2013).

1.2.3 Mecanismos de reparo de fita simples de DNA

Figura 3: Apresentação esquemática dos tipos de mecanismos de reparo em danos de fita simples de DNA.



Legenda: NER *Nucleotide Excision Repair*; MMR *DNA Mismatch Repair*; BER *Base Excision Repair*. Fonte: Adaptado de Boland et al. (2005).

1.2.3.1 Reparo por excisão de base

O reparo por excisão de base (*Base Excision Repair – BER*), pela primeira vez descrito por Tomas Lindahl (LINDAHL, 1974), é a via de reparo de DNA para a maioria das lesões devidas a processos endógenos ou aquelas induzidas por exposição a agentes químicos exógenos ou radiação (DIANOV e HUBSCHER, 2013). O processo tem como objetivo remover o nucleotídeo danificado e é tipicamente iniciado por uma das várias DNA glicosilases substrato-seletivas que reconhecem e

excisam modificações de base (WILSON et al., 2010). Lesões removidas do DNA por BER incluem uracil incorporados, pirimidinas fragmentadas, purinas N-alquiladas (7-metilguanina, 3-metiladenina, 3-metilguanina), 8-oxo-7,8-dihidroguanina (8-OxoG), timinaglicol e muitas outras (WILSON et al., 2010). Sítios apurínicos (perda de Adenina ou Guanina) ou apirimidínicos (perda de Timina ou Citosina), também chamados regiões abásicas (DIANOV e HUBSCHER, 2013), são formados após a remoção de bases e as bases corretas são rapidamente sintetizadas por uma polimerase. Finalmente as extremidades livres são unidas por ligases. O mecanismo de BER é composto por duas vias: uma curta (*Short-Patch Repair – SRP*) e uma longa (*Long-Patch Repair – LRP*) (OSTURK E DEMIR, 2011). Na via curta, apenas um nucleotídeo é excisado pela DNA-glicosilase e então uma AP endonuclease (APE1) forma as extremidades de DNA necessárias ao início do processo de síntese. Após isso a polimerase β acuradamente insere o nucleotídeo correto ao sítio abásico. Finalmente, a ligação é feita pela enzima DNA ligase III. No mecanismo de via longa, vários nucleotídeos (de 2 a 10) são excisados e então as bases corretas são inseridas pelas enzimas polimerase δ e ϵ em cooperação com o fator de replicação C (RPC) e o antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA). Finalmente, as extremidades livres são seladas pela DNA ligase I (DIZDAROGLU, 2015).

1.2.3.2 Reparo de erros de emparelhamento de bases

O reparo de erros de emparelhamento de bases (*Mismatch Repair – MMR*) funciona removendo bases mal pareadas formadas por agentes exógenos e endógenos que causam deaminação, oxidação e metilação de bases, além de erros de pareamento decorrentes de inserções, deleções e erros de replicação (OSTURK E DEMIR, 2011). Os erros de replicação feitos pela maquinaria de replicação do DNA incorporam um nucleotídeo errado a cada 10^7 adições. Infelizmente, cerca de 0,1% desses erros gerados não podem ser reparados pelo sistema MMR e podem levar a mutações (FISHEL, 2015). O MMR engloba passos básicos que incluem reconhecimento da lesão no DNA, discriminação de fita, excisão e reparo (RICHMAN, 2015). Em mamíferos, as proteínas homólogas MutS (MSH1-6, MLH1 e MLH3) e MutL (PMS1 e PMS2) são responsáveis pelo reconhecimento dos locais com erros de pareamento. Na sequência, as bases mal pareadas são excisadas pela enzima exonuclease I e então os nucleotídeos que faltam são sintetizados corretamente pela enzima polimerase δ (OSTURK E DEMIR, 2011). Defeitos na via MMR resultam em instabilidade de microssatélites e ocorrem em 15% dos cânceres colorretais e estão envolvidos ainda em cânceres de endométrio, ovário, estômago e melanoma (RICHMAN, 2015).

1.2.3.3 Reparo por excisão de nucleotídeo

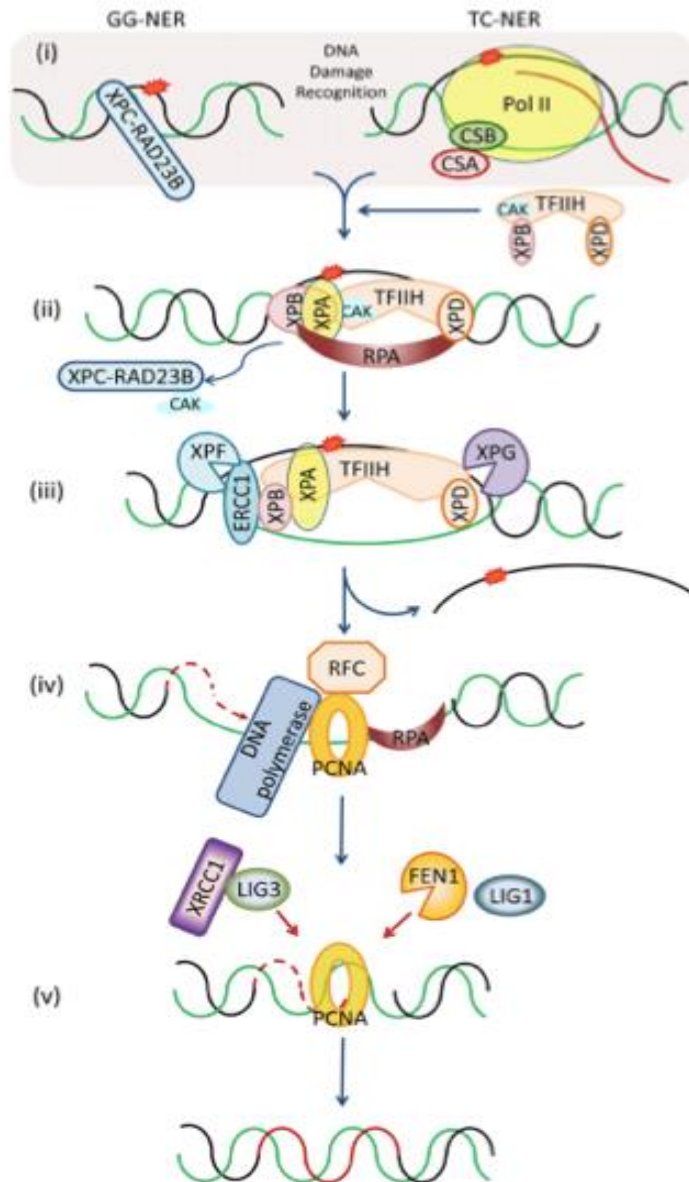
O reparo por excisão de nucleotídeo (*Nucleotide Excision Repair – NER*) é um mecanismo de reparo de longos segmentos de 24 a 30 nucleotídeos em uma fita simples do DNA que causam distorção em sua hélice (ROUILLON e WHITE, 2010). Atua principalmente em danos causados por radiação UV e por um grande número de agentes químicos exógenos incluindo agentes ambientais como benzopirenos e quimioterápicos como a cisplatina (SCHARER, 2013). Envolve, em organismos eucarióticos, a participação de cerca de 30 proteínas e tem três passos principais: (1) a detecção inicial do erro, (2) verificação do dano e (3) remoção do erro seguida de ressíntese (KUPER e KISKER, 2012).

Os principais participantes do NER incluem as sete proteínas que compõem o *Xeroderma Pigmentosum complementation group*, de XPA a XPG, a proteína Excision Repair Complementing group 1 (ERCC1), a proteína homóloga humana da levedura RAD23 (hHR23B), a *Replication Protein A* (RPA), as subunidades do *Transcription Factor* que possui atividade helicase (TFIIH) e as proteínas *Cockayne Syndrome A and B* (CSA e CSB) (BARAKAT, GAJEWSKI e TUSZYNSKI, 2012).

Dois formas de NER existem nos eucariotos e diferem entre si apenas pela forma de reconhecimento da lesão: o reparo acoplado a transcrição (*Transcription-Coupled Repair - TCR*) e o reparo global do genoma (*Global Genome Repair - GGR*). O GGR remove lesões em qualquer parte do genoma, enquanto o TCR remove especificamente lesões de fita transcrita de genes ativos (ALEKSEEV e COIN, 2015).

O GGR é iniciado pela detecção de erro e ligação dos complexos UVDDDB e XPC-hHR23B aos pares de bases alterados. Já no TCR as lesões são detectadas por alterarem estruturalmente a fita de DNA e bloquearem a RNA polimerase II. Tal polimerase é afastada fazendo com que a lesão seja acessível ao reparo, o que exige pelo menos dois fatores específicos a essa via: CSA e CSB (ALEKSEEV e COIN, 2015). A partir de então ambos processos entram em uma via comum onde um complexo multiprotéico que inclui as helicases XPB e XPD age gerando relaxamento do DNA ao redor da lesão permitindo que o complexo XPA-RPA confirme a presença do dano e estabilize-o para a excisão das bases que é realizada pelo complexo da ERCC1-XPF endonuclease gerando um oligonucleotídeo de cerca de 24 a 30 bases que contém a lesão. Neste momento um novo DNA é sintetizado e a falha é fechada por RFC, RPA, PNCA e pelas polimerases β e ϵ (BARAKAT, GAJEWSKI e TUSZYNSKY, 2012). Finalmente a fita é selada pela XRCC1-DNA ligase III (LIG3) ou pela FEN1-DNA ligase I (LIG1) (OGI et al., 2010).

Figura 4: Representação esquemática das vias do reparo por excisão de nucleotídeo (*Nucleotide excision repair pathways – NER*).



Legenda: Duas vias do NER em mamíferos: GG-NER (*Genome Global Repair*) e TC-NER (*Transcription-Coupled Repair*). (i) O complexo XPC-RAD23B reconhece a mudança estrutural induzida pelo dano ao DNA como primeiro passo do GG-NER. TC-NER é iniciado por bloqueio da RNA polimerase II (RNAP) pela lesão, a qual bloqueia a transcrição de um gene ativo. Após esses passos de reconhecimento inicial, as duas vias envolvem os mesmos componentes proteicos. (ii) Seguindo o reconhecimento, o complexo TFIIH é recrutado. Através da atividade das helicases XPB e XPD, TFIIH promove a abertura da fita dupla de DNA ao redor da lesão, facilitando o recrutamento de XPA e RPA. (iii) O complexo XPF-ERCC1 é recrutado para a lesão através de interação direta com XPA, enquanto XPG é especificamente engajada através de interação com TFIIH. (iv) As duas endonucleases, XPF-ERCC1 e XPG removem o fragmento oligonucleotídico que contém o dano e a DNA polimerase se encarrega de realizar a síntese de reparo em cooperação com RFC e PCNA. (v) Finalmente a abertura é selada tanto pelo complexo XRCC1-LIG3 como pelo FEN1-LIG1. Fonte: Adaptado de IYLAMA e WILSON, 2013.

Defeitos funcionais nos genes das proteínas associadas ao NER são relacionados a certas doenças como o xeroderma pigmentoso, a síndrome de Cockayne's, tricotiodistrofia e vários tipos

de cânceres (IYAMA e WILSON, 2013).

1.2.3.3.1 Xeroderma Pigmentoso

O Xeroderma pigmentoso (XP) é uma doença autossômica recessiva rara caracterizada por risco aumentado de cânceres de pele e de mucosa induzidos pela radiação UV, além de outros profundos como tumores cerebrais, leucemias e carcinomas gástricos e pulmonares (DIGIOVANNA E KRAEMER, 2012). As proteínas de XPA a XPG, componentes centrais do NER, estão implicadas na fisiopatologia dessa doença. A perda dessas proteínas resulta em acúmulo de danos ao DNA, colapso replicativo ou mutação nas células em divisão e problemas na transcrição levando a predisposição ao câncer (IYAMA e WILSON, 2013).

É interessante perceber que um quarto dos pacientes com XP desenvolve sintomas neurológicos: microcefalia, deterioração mental, ataxia cerebelar, surdez neurossensorial e neuropatia periférica, que parecem envolver atrofia cerebral. Tais alterações se correlacionam com mutações em XPA, XPD, XPF ou XPG (KRAEMER et al., 2007).

1.2.3.3.2 Síndrome de Cockayne

A Síndrome de Cockayne é uma doença autossômica recessiva que envolve mutações nos genes de CSA ou CSB, classicamente proteínas da via TCR. A forma juvenil é mais grave e caracterizada por fotossensibilidade, microcefalia, retardos de desenvolvimento, surdez neurossensorial, nanismo e envelhecimento acelerado (NATALE, 2011). Entretanto, ao contrário do XP, a SC não apresenta incidência aumentada de câncer, sugerindo defeitos moleculares distintos. A via GGR nesses pacientes é preservada (KRAEMER et al., 2007).

1.2.3.3.3 Tricotiodistrofia

Os pacientes com Tricotiodistrofia (TTD) têm fenótipo semelhante a portadores de XP e SC, assim como apresenta diversas anormalidades outras, incluindo cabelos quebradiços que são geralmente patognomônicos para diagnóstico (FAGHRI et al., 2008). Notavelmente, mais de 80% dos pacientes apresentam anormalidades neurológicas (KRAEMER et al., 2007). Como a SC, a TTC se associa a defeito na via TCR do NER, originando-se de mutações em XPB, XPD e TTDA, gene que codifica uma pequena subunidade do complexo TFIIH (FAGHRI et al., 2008).

Observações relacionadas a diversidade clínica e particularidade de acometimento orgânico dessas doenças fazem crer que defeitos no GGR são relacionados risco de câncer enquanto que defeitos no TCR estão mais associados a complicações neurológicas (IYAMA e WILSON, 2013).

A importância para a saúde humana da manutenção dos mecanismos de reparo do DNA é óbvia na Medicina, uma vez que as doenças acima e muitas outras surgem da mutação de genes de reparo como: Ataxia telangiectasia, anemia de Fanconi, a Síndrome de Bloom, que têm sua fisiopatologia bem estabelecida (JASIN, 2015), como é possível visualizar na tabela 5.

Tabela 5. Genes de reparo de dano ao DNA envolvidos em doenças humanas.

TIPOS DE REPARO DE DNA OU SINALIZAÇÃO	GENES MUTADOS	FENÓTIPOS
Recombinação homóloga	BRCA1, BRCA2, PALB2, RAD51C, RAD51D	Câncer de mama, ovário e outros, anormalidades de desenvolvimento
Reparo de erros de emparelhamento de bases	MLH1, MSH2, MSH6, PMS2	Câncer de cólon e outros
Reparo de junções por extremidades não homólogas	LIG4, NHEJ1, DCLRE1C	Imunodeficiência, retardo de crescimento, microcefalia
Reparo por excisão de nucleotídeo	XPA, XPB, XPC, XPD, XPE, XPF	Xeroderma pigmentoso: fotossensibilidade, câncer
Reparo de fita simples	APTX, TDP1	Ataxia, neurodegeneração, hipercolesterolemia
Reparo associado a transcrição (<i>Transcription-Coupled Repair</i>)	CSA, CSB, UVSSA	Síndrome de Cockayne: fotossensibilidade, anormalidades neurológicas e de desenvolvimento
Quebra de fita dupla	ATM, MRE11, NBS1, RAD50	Ataxia, imunodeficiência, déficit de crescimento e microcefalia

Legenda: APTX: Aprataxin; ATM: Ataxia Telangiectasia Mutated; BRCA1: Breast Cancer 1; BRCA2: Breast Cancer 2; CSA: Cockayne syndrome group A; CSB: Cockayne syndrome group B; DCLRE1C: DNA Cross-Link Repair 1C; LIG4: Ligase IV; MLH1: MutL Homolog 1; MRE11: Meiotic Recombination 11 Homolog A; MSH2: MutS Homolog 2; MSH6: MutS Homolog 6; NBS1: Nijmegen breakage syndrome 1; NHEJ1: Non-omologous end joining factor 1; PALB2: partner and localizer of BRCA2; PMS2: PMS1 homolog 2; RAD50: RAD50 Homolog, Double Strand Break Repair Protein; RAD51C: RAD51 Paralog C; RAD51D: RAD51 Paralog D; TDP1: Tyrosyl-DNA phosphodiesterase; UVSSA: UV stimulated scaffold protein A; XPA: Xeroderma pigmentosum, complementation group A; XPB: Xeroderma pigmentosum, complementation group B; XPC: Xeroderma pigmentosum, complementation group C; XPD: Xeroderma pigmentosum, complementation group D; XPE: Xeroderma pigmentosum, complementation group E; XPF: Xeroderma pigmentosum, complementation group F. Fonte: Adaptado de JASIN, 2015.

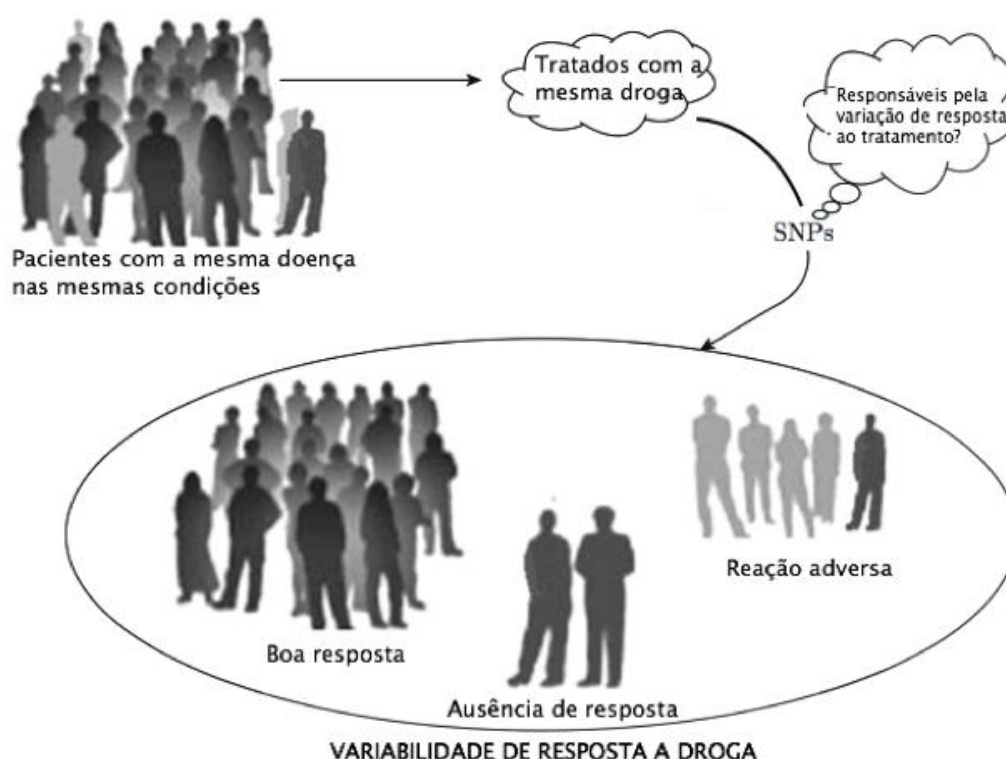
1.3 Genes de reparo de DNA e seus polimorfismos

O genoma humano é composto de aproximadamente 3 bilhões de nucleotídeos pareados e cada polimorfismo de nucleotídeo único (*Single-Nucleotide Polymorphisms – SNP*) se refere a modificação de um único par de bases, presente na população humana numa frequência maior que 1% (KATARA, 2014). Os SNPs constituem as variações de sequência de DNA mais frequentemente encontradas no genoma humano (TAILLON-MILLER, PIERNOT e KWOK, 1999). Embora pareça uma pequena alteração, gera uma grande diferença do ponto de vista funcional e é a mais comum variabilidade genética entre indivíduos (KATARA, 2014). Os SNPs

figuram atualmente como peças-chave no desenvolvimento de conceitos de medicina personalizada (WANG et al., 2012).

Mutações e polimorfismos em genes envolvidos no reparo do DNA são responsáveis por desenvolvimento de tumores e várias doenças hereditárias caracterizadas por alterações metabólicas complexas. Genes de reparo do DNA e suas proteínas são também responsáveis pelo desenvolvimento de resistência a drogas citostáticas em células tumorais (WHIRL-CARRILLO et al., 2012).

Figura 5. Presença de SNPs na farmacodinâmica e farmacocinética gerando respostas variáveis a uma determinada droga.



Fonte: Adaptado de KATARA, 2014.

Nos últimos anos nosso grupo tem estudado uma série de genes relacionados a lesão de fita dupla do DNA com resultados bastante significativos. Ribeiro et al. descreveram que o genótipo heterozigoto (GC) do polimorfismo rs1801320 do gene RAD51 e o genótipo heterozigoto do polimorfismo rs3835 do gene XRCC5 associaram-se a redução de chance de desenvolver SMD e que os genótipos CG e CG+GG do polimorfismo rs2267437 do gene XRCC6 estavam associados a cariótipo normal e medula normocelular e hiper celular (RIBEIRO et al., 2014). Ribeiro et al. também demonstraram, na avaliação do SNP rs228592 do gene ATM, que o genótipo heterozigoto

(AG) correlacionou-se com prevalência reduzida de SMD (RIBEIRO et al., 2013).

Dada a importância inequívoca do mecanismo de reparo por excisão de nucleotídeos na correção de danos causados por tabaco e quimioterápicos de uso habitual e de sua bem documentada relação com doenças que aumentam a susceptibilidade a neoplasias e doenças neurodegenerativas (IYAMA e WILSON, 2013), além dos inúmeros trabalhos aos quais seremos apresentados adiante que correlacionam extensamente SNPs de genes de proteínas do Xeroderma pigmentoso (XPA, XPC, XPD e XPF) a neoplasias tanto de órgãos sólidos quanto hematológicas, resolvemos estudar o impacto, ainda pouco descrito, da presença desses polimorfismos nas características clínico-laboratoriais de pacientes portadores de SMD.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar os polimorfismos dos genes relacionados ao mecanismo de reparo por excisão de nucleotídeo e associa-los às variáveis clínicas observadas em pacientes portadores de Síndrome mielodisplásica.

2.2 Objetivos Específicos

1. Avaliar o SNP rs1800975 do gene XPA por PCR quantitativo em tempo real em indivíduos saudáveis e portadores de SMD;
2. Avaliar o SNP rs2228000 do gene XPC por PCR quantitativo em tempo real em indivíduos saudáveis e portadores de SMD;
3. Avaliar o SNP rs1799793 do gene XPD por PCR quantitativo em tempo real em indivíduos saudáveis e portadores de SMD;
4. Avaliar o SNP rs1800067 do gene XPF por PCR quantitativo em tempo real em indivíduos saudáveis e portadores de SMD;
5. Associar os achados moleculares com as variáveis clínicas encontradas nos pacientes com SMD.

3 PACIENTES, MATERIAL E MÉTODO

3.1 Aspectos éticos

O presente projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará, sob o CAAE: 44406115.7.0000.5054.

Todos os sujeitos estudados somente foram incluídos no estudo após preenchimento do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Adicionalmente, foi preenchida durante entrevista uma ficha contendo informações referentes aos dados epidemiológicos e associados à condição clínica do participante. Foram coletados ainda, no grupo dos pacientes portadores de SMD, informações referentes a exames previamente coletados para seu diagnóstico como: hemogramas completos, citologia e histologia da medula óssea (mielograma e biópsia), avaliação para depósitos de ferro medular e cariótipo.

3.2 Delineamento do estudo, pacientes e obtenção de amostras de origem clínica

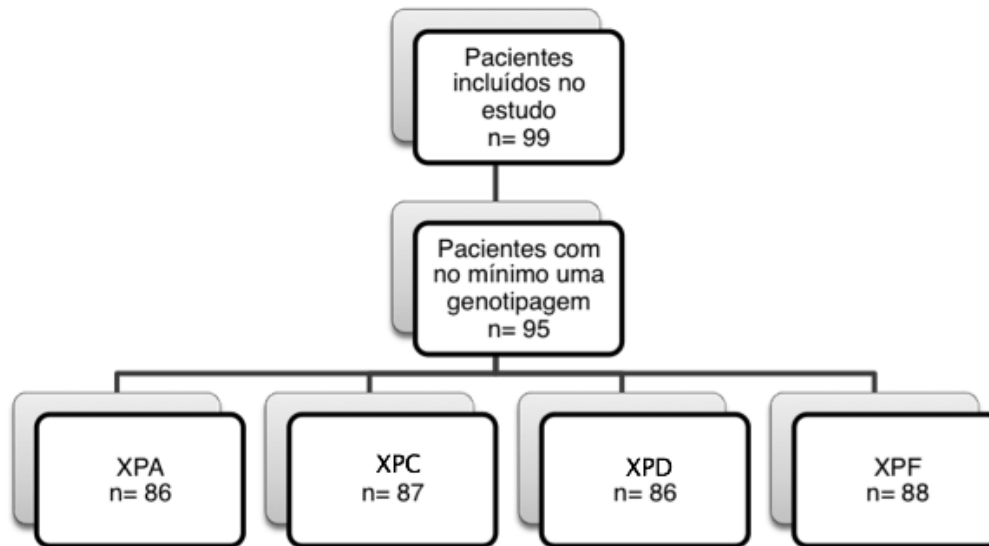
Esse foi um estudo de caso controle de genes candidatos para avaliação de associação de polimorfismos de genes de reparo de DNA com aspectos clínicos e laboratoriais da Síndrome mielodisplásica.

Um número 99 pacientes diagnosticados com Síndrome mielodisplásica atendidos no Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC) da Universidade Federal do Ceará e um grupo controle composto de 100 indivíduos, também pacientes do mesmo hospital, com idade superior a 60 anos, sabidamente não portadores de hemopatias malignas, tiveram seu DNA analisado quanto à presença dos polimorfismos XPA rs1800975, XPC rs2228000, XPD rs1799793 e XPF rs1800067.

Foram coletadas amostras de medula óssea dos indivíduos portadores de SMD e 15mL de sangue periférico de cada indivíduo do grupo controle para realização de hemograma completo, extração de DNA e PCR quantitativo em tempo real para determinação da incidência de polimorfismos.

Do grupo dos pacientes, foram completamente excluídos quatro participantes devido à falha na genotipagem dos quatro genes estudados. Indivíduos que tiveram pelo menos um dos genes genotipados seguiram no estudo. Destes 95 restantes, foram excluídos, por falha na discriminação alélica, nove pacientes na genotipagem de XPA, oito na de XPC, nove na de XPD e sete na de XPF.

Figura 6: Representação esquemática do número de pacientes incluídos no estudo e quantidade final de pacientes genotipados para cada polimorfismo estudado.



Do grupo controle, seis indivíduos foram excluídos por apresentarem citopenia previamente desconhecida em hemograma realizado para o presente estudo (cinco apresentaram anemia e um trombocitopenia). Não houve falhas de genotipagem em nenhum dos genes neste grupo.

3.3 Discriminação alélica por PCR quantitativo em tempo real (qPCR)

3.3.1 Extração do DNA genômico

Após a extração de RNA, a fase orgânica foi reservada para a realização da extração de DNA. O sobrenadante remanescente foi retirado e foram adicionados 500µl de BEB (*Back Extraction Buffer*) ao precipitado e as amostras permaneceram sob agitação constante durante 30 minutos. Em seguida o material foi submetido à centrifugação a 12000rpm durante 15 minutos a 4°C. Após a centrifugação, o sobrenadante obtido foi transferido para um novo tubo. O precipitado resultante dessa fase foi estocado a -80°C para posterior extração de proteínas. No tubo com sobrenadante, foram adicionados 400µl de isopropanol para a precipitação do DNA, a amostra foi homogeneizada por inversão e permaneceu durante 1 hora a -20°C. Após esse período a amostra foi centrifugada a 14000rpm durante 30 minutos a 4°C. Em seguida o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi lavado com etanol 70% e com seguida centrifugação a 14000rpm durante 5 minutos à 4°C, esse procedimento foi repetido durante 4 vezes. Após a última lavagem o sobrenadante foi descartado e tubo contendo o DNA permaneceu secando a temperatura ambiente. O DNA foi

hidratado com água livre de DNase e permaneceu em banho-maria durante 30 minutos à 60°C. As amostras foram quantificadas e estocadas à -20°C.

Foram realizadas leituras espectrofotométricas nos comprimentos de ondas de 220, 260 e 280nm para aferição de pureza, concentração e contaminação das amostras. Foram analisadas amostras com relação $A_{260}/280 > 1,8$.

3.3.2 PCR quantitativo

Para obtenção dos resultados, foi utilizado o ensaio de discriminação alélica para genotipagem dos polimorfismos XPA rs1800975, XPC rs2228000, XPD rs1799793 e XPF rs1800067 com o uso de oligonucleotídeos e sondas Taqman® Assay Probes (Applied Biosystems, California, USA), do equipamento de PCR em tempo real 7500 Fast Real Time PCR System (Applied Biosystems, California, USA).

Para realização do ensaio de discriminação alélica dos polimorfismos, as amostras de DNA extraído foram diluídas de forma a cada amostra conter 30 ng, após quantificação estimada através de leitura espectrofotométrica pelo equipamento Nanodrop (Thermo Fisher Scientific Inc., Shanghai, China). As designações dos genes e seus polimorfismos e as sondas utilizadas estão descritas na tabela 6. Controles negativos foram apropriadamente utilizados. O PCR quantitativo foi realizado seguindo as seguintes condições: 50°C por 2 minutos, 95°C por 10 minutos e 40 ciclos de amplificação (95°C por 15 segundos e 60°C por 1 minuto). Para cada ciclo, o programa 7500 Fast SDS System Software plotou os resultados da discriminação alélica em gráficos que ilustram a emissão de fluorescência em cada amostra submetida à amplificação. Os gráficos gerados para a discriminação alélica dos polimorfismos XPA rs1800975, XPC rs2228000, XPD rs1799793 e XPF rs1800067 estão ilustrados na figura 7.

Tabela 6: Genes e polimorfismos, sua nomenclatura, alelo selvagem, sonda Taqman® e seu alelo.

Gene	Polimorfismo	Identificação do polimorfismo	Alelo selvagem	Sonda Taqman®	Alelo Sonda Taqman®/ Relação com Genoma
XPA	23A>G	rs1800975	G	C__482935_1_	C (reverso)
XPC	Ala499Val	rs2228000	C	C__16018061_10	G (reverso)
XPD/ERCC2	Asp312Asn	rs1799793	G	C__3145050_10	C (reverso)
XPF/ERCC4	Arg415Gln	rs1800067	G	C__3285104_10	G (direto)

Fonte: Adaptado de Wang et al., 2013

Figura 7: Os gráficos gerados para a discriminação alélica dos polimorfismos estudados.

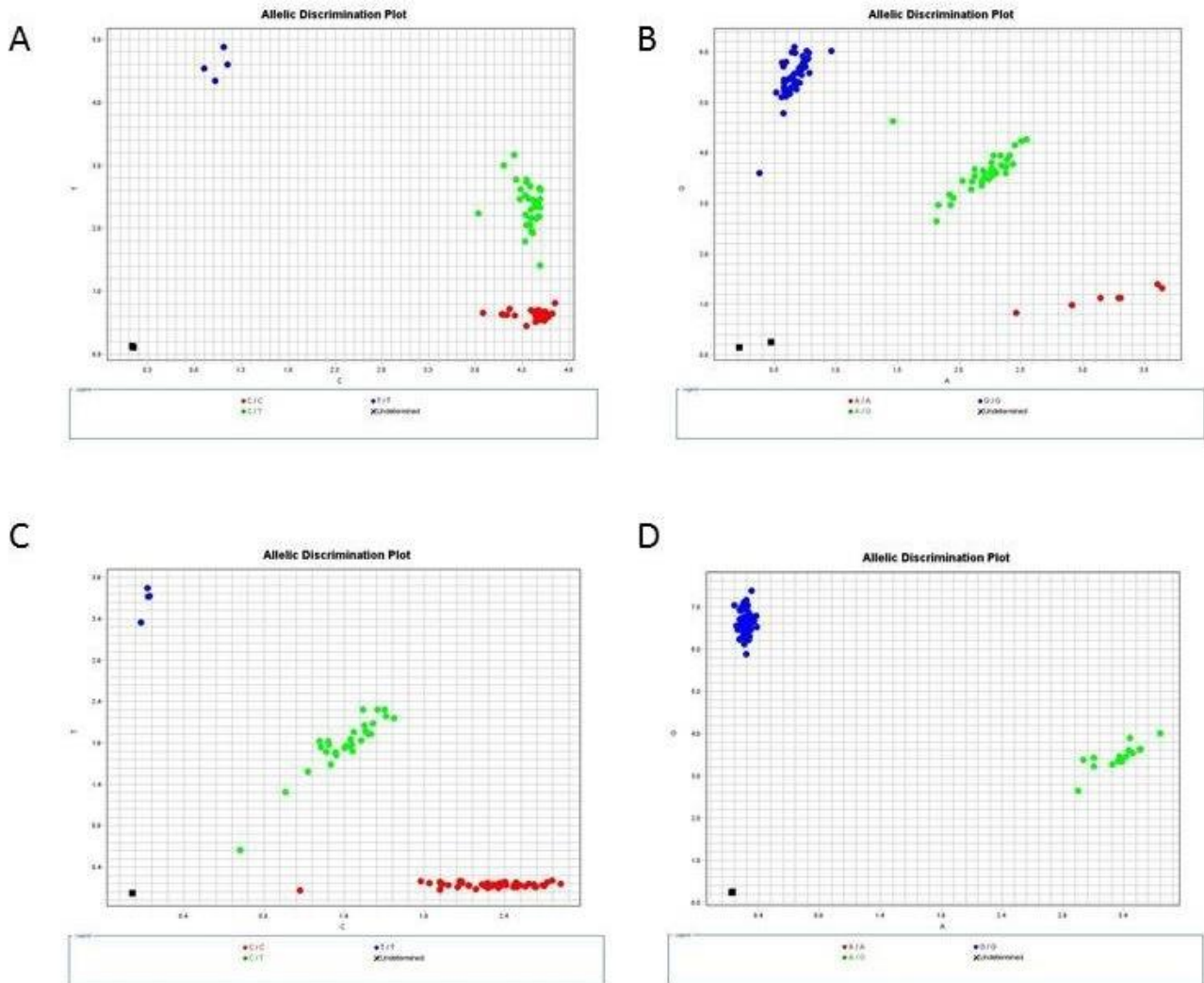


GRÁFICO A: XPA rs1800975, B: XPC rs2228000, C: XPD rs1799793 e D: XPF rs1800067.

3.3.3 Variáveis analisadas e Análises estatísticas

As variáveis analisadas neste estudo foram assim subdivididas:

- Idade: ≤ 60 (menor ou igual a 60 anos) e > 60 (maior que 60 anos);
- Sexo: masculino e feminino;
- Origem: rural e urbana;
- Hemoglobina: ≥ 8 g/dL (maior ou igual a 8g/dL) e < 8 g/dL (menor que 8 g/dL);
- Neutrófilos: $\geq 800/\text{mm}^3$ (maior ou igual a $800/\text{mm}^3$) e $< 800/\text{mm}^3$ (menor que $800/\text{mm}^3$);
- Plaquetas: $\geq 50 \times 10^9/\text{L}$ (maior ou igual a $100 \times 10^9/\text{L}$) e $< 50 \times 10^9/\text{L}$ (menor que $50 \times 10^9/\text{L}$);
- Celularidade da medula óssea: Normocelular, Hipocelular e Hiper celular (utilizados critérios de celularidade propostos por Thiele e colegas (THIELE et al., 2005), onde vê-se como

normocelular a presença das seguintes porcentagens de tecido hematopoético de acordo com a idade: 60-70% em indivíduos de 20-30 anos, 40-50% em indivíduos de 40-60 anos e 30-40% em indivíduos com 70 anos ou mais. Porcentagens inferiores caracterizam hipocelularidade e superiores, hiper celularidade).

- Contagem de blastos em medula óssea (MO): $\leq 2\%$ (menor ou igual a 2%), $> 2-5\%$ (mais que 2% e menos ou igual a 5%), $> 5-10\%$ (mais que 5% e menos ou igual a 10%) e $> 10\%$ (mais de 10%);

- Porcentagem de sideroblastos em anel em MO: $< 15\%$ (menos de 15%) e $\geq 15\%$ (15% ou mais);

- Classificação OMS (SWERDLOW et al., 2008): AREB (Anemia Refratária com Excesso de Blastos), CRDM (Citopenia Refratária com Displasia de Múltiplas Linhagens), ARSA (Anemia Refratária com Sideroblastos em Anel), AR (Anemia Refratária), LMMC (Leucemia mielomonocítica crônica) e SMD Secundária; e classificação de risco: baixo risco (AR, ARSA e CRDM) e alto risco (AREB);

- Cariótipo classificado quanto aos grupos citogenéticos de Schanz: prognóstico muito favorável, favorável, intermediário, desfavorável e muito desfavorável;

- Cariótipo quanto à presença de alteração: normal e alterado;

- Índice prognóstico do IPSS-R (2012): risco muito alto, alto, intermediário, baixo e muito baixo;

- Dependência transfusional: presente e ausente (a presença de dependência transfusional é definida como transfusão de no mínimo um concentrado de hemácias a cada 8 semanas no intervalo de 4 meses);

- Transformação para LMA;

- Evolução para óbito.

Em 2011 foi publicado por Clarke e colegas um protocolo detalhado para a realização da análise estatística básica em estudos de caso controle de associação genética populacional envolvendo polimorfismos de nucleotídeo único (CLARKE et al., 2011). A partir dele e de outros trabalhos de caso controle, definimos os modelos genéticos (descritos na tabela 7) e testes de associação adequados para o presente estudo, assim como o utilizamos na interpretação dos resultados.

As diferenças entre as distribuições alélicas e genótípicas, os modelos genéticos e a análise do Equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p > 0,05$) foram analisadas com o teste de qui-quadrado (com um grau de liberdade) ou teste exato de Fisher (CLARKE et al., 2011). O teorema de Hardy-Weinberg consiste na base teórica da genética das populações, avaliando a o princípio do equilíbrio

gênico no processo evolutivo, consistindo em uma importante análise na verificação da população proposta nos estudos de polimorfismos.

Tabela 7: Lista de modelos genéticos de associação aplicados para cada polimorfismo.

Distribuição Alélica	ALELO SELVAGEM versus ALELO POLIMÓRFICO
Distribuição Genotípica	HOMOZIGOTO SELVAGEM versus HETEROZIGOTO versus HOMOZIGOTO POLIMÓRFICO
Modelo Genético de Dominância	HOMOZIGOTO SELVAGEM versus HOMOZIGOTO POLIMÓRFICO + HETEROZIGOTO
Modelo Genético de Recessividade	HOMOZIGOTO POLIMÓRFICO versus HOMOZIGOTO SELVAGEM + HETEROZIGOTO
Modelo Genético de Homozigose	HOMOZIGOTO SELVAGEM versus HOMOZIGOTO POLIMÓRFICO
Modelo Genético de Heterozigose Dominante	HOMOZIGOTO SELVAGEM versus HETEROZIGOTO
Modelo Genético de Heterozigose Recessiva	HOMOZIGOTO POLIMÓRFICO versus HETEROZIGOTO

Fonte: Adaptado de Clarke et al., 2011

A análise de regressão logística foi utilizada para estimar a razão de chances (*odds ratio*) para as variáveis que contribuem para o risco de SMD e para ajustar as análises de fatores de confusão que contribuem para a susceptibilidade de SMD. O nível de significância estatística utilizado foi $p < 0,05$ (*2-sided*) e todas as análises foram efetuadas com recurso ao software SPSS para Windows na versão 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização dos pacientes

O número amostral deste estudo (n) foi igual a 95 pacientes para o grupo SMD e 94 idosos voluntários para o grupo controle. A média de idade do grupo controle, composto por idosos saudáveis voluntários foi de 74,3 anos (variando de 57 a 90 anos) e para o grupo SMD, a média de idade foi de 65 anos (variando de 15 a 91 anos). Para as faixas de idade propostas, o grupo SMD foi constituído de 29 pacientes com idade ≤ 60 (30,5%) e 66 pacientes com idade > 60 (69,5%).

Quanto à variável de gênero, foram incluídos cinco indivíduos (5,3%) do sexo masculino e 89 (94,7%) do sexo feminino para o grupo controle. Para o grupo SMD, foram incluídos 46 pacientes do sexo masculino (48,4%) e 49 pacientes do sexo feminino (51,6%). Dividimos ainda os pacientes quanto a origem, sendo 59 (64,8%) de áreas urbanas e 32 (35,2%) de áreas rurais.

No quesito anemia, os pacientes subdividiram-se em 2 grupos: 50 pacientes (52,6%) apresentavam $Hb \geq 8$ g/dL e 45 pacientes (47,4%) com $Hb < 8$ g/dL. Em relação a neutropenia os pacientes foram classificados também em 2 grupos: 62 pacientes (65,3%) tiveram neutrófilos ≥ 800 /mm³ e 33 pacientes (34,7%) com neutrófilos < 800 /mm³. Na classificação da trombocitopenia tivemos 65 pacientes (68,4%) com plaquetas $\geq 50 \times 10^9$ /L e 30 pacientes (31,6%) com plaquetas $< 50 \times 10^9$ /L.

A variável celularidade da medula óssea foi dividida em hipocelular, normocelular e hipercelular e avaliada em 63 pacientes que possuíam resultado de tal exame. Obtivemos doze pacientes (19,0%) com medula hipocelular, onze pacientes com medula normocelular (17,5%) e quarenta pacientes com medula hipercelular (63,5%).

Em relação a porcentagem de blastos em medula óssea, os 95 pacientes foram divididos em 4 categorias: 72 pacientes (75,8%) apresentaram $\leq 2\%$ de blastos, nove pacientes (9,5%) apresentaram $>2-5\%$, oito pacientes (8,4%) apresentaram 5-10% e seis pacientes (6,3%) apresentaram $> 10\%$ ao diagnóstico.

A informação da porcentagem de sideroblastos em anel na medula óssea pôde ser obtida em 86 pacientes: Sessenta e nove pacientes (80,2%) apresentaram $<15\%$ de sideroblastos em anel e dezessete pacientes (19,8%) apresentaram $\geq 15\%$.

Na análise da classificação da OMS, observamos quatorze pacientes (17,7%) classificados como AREB, 51 pacientes (53,7%) como CRDM, sete pacientes (7,4%) como AR, doze pacientes (12,6%) como ARSA, dois pacientes (2,1%) como LMMC e 9 pacientes (9,5%) como SMD secundária. Temos setenta pacientes (83,3%) na categoria de formas iniciais e quatorze (16,7%) como formas avançadas.

Quanto à análise citogenética dos indivíduos do grupo SMD, 58 pacientes (66,3%) apresentaram resultado e foram classificados de duas formas:

- segundo os grupos citogenéticos de Schanz (SHANZ et al., 2012) sendo: dois pacientes (3,4%) classificados como de prognóstico muito favorável, 39 pacientes (67,2%) como de prognóstico favorável, 13 pacientes (22,4%) como prognóstico intermediário, 1 paciente (1,7%) como prognóstico desfavorável e 3 pacientes (5,2%) como de prognóstico muito desfavorável;
- segundo a presença de alterações: normal (35 pacientes - 54,0%) e alterado (29 pacientes – 46,0%)

Para a variável IPSS-R (LEE et al., 2015), 58 indivíduos do grupo SMD (portadores de SMD primária) foram divididos em cinco grupos de risco, sendo: cinco pacientes (8,6%) classificados como muito alto risco, seis pacientes (10,3%) como alto risco, nove pacientes (15,5%) como risco intermediário, 28 pacientes (48,3%) como baixo risco e dez pacientes (17,2%) como muito baixo risco.

Noventa pacientes foram separados ainda pela dependência transfusional: 49 (54,4%) necessitavam de transfusão, enquanto 41 (45,6%) não faziam uso desse recurso.

Quanto a transformação para LMA, dos 89 pacientes, oito (12,3%) evoluíram para LMA, 35 (54,7%) seguem em tratamento e 29 (45,3%) faleceram. Pacientes foram acompanhados de 2008 a 2015, com tempo médio de seguimento de 29 meses.

Tabela 8: Características clínicas dos pacientes com SMD.

Variável epidemiológica	Categoria	N	%
SEXO	Feminino	49	51,6%
	Masculino	46	48,4%
IDADE (anos)	≤ 60	29	30,5%
	> 60	66	69,5%
ORIGEM	Urbana	59	64,8%
	Rural	32	35,2%
CLASSIFICAÇÃO DA OMS	AR	7	7,4%
	ARSA	12	12,6%
	CRDM	51	53,7%
	AREB	14	14,7%
	LMMC	2	2,1%
	SMD RELACIONADA A TERAPIA	9	9,5%
FORMAS SMD	INICIAIS	70	83,3%
	AVANÇADAS	14	16,7%
CELULARIDADE MO	HIPOCELULAR	12	19,0%
	NORMOCELULAR	11	17,5%
	HIPERCELULAR	40	63,5%
SIDEROBLASTOS EM ANEL	< 15%	69	80,2%
	≥ 15%	17	19,8%
PORCENTAGEM DE BLASTOS MO	≤ 2%	72	75,8%
	> 2%-5%	9	9,5%
	> 5%-10%	8	8,4%
	> 10%	6	6,3%
HEMOGLOBINA (g/dL)	≥ 8	50	52,6%
	< 8	45	47,4%
NEUTRÓFILOS (/mm ³)	≥ 800	62	65,3%
	< 800	33	34,7%
PLAQUETAS (x 10 ⁹ /L)	≥ 50.000	65	68,4%
	< 50.000	30	31,6%
CLASSIFICAÇÃO CARIÓTIPO	NORMAL	34	54,0%
	ALTERADO	29	46,0%
GRUPOS CITOGNÉTICOS	MUITO FAVORÁVEL	2	3,4%
	FAVORÁVEL	39	67,2%
	INTERMEDIÁRIO	13	22,4%
	DESFAVORÁVEL	1	1,7%
	MUITO DESFAVORÁVEL	3	5,2%
GRUPOS DE RISCO (IPSS-R 2012)	MUITO BAIXO (<=1.5)	10	17,2%
	BAIXO (>1.5-3)	28	48,3%
	INTERMEDIÁRIO (>3-4.5)	9	15,5%
	ALTO (>4.5-6)	6	10,3%
	MUITO ALTO (>6)	5	8,6%
DEPENDÊNCIA TRANSFUSIONAL	NÃO	41	45,6%
	SIM	49	54,4%
EVOLUÇÃO	NÃO	57	87,7%
	SIM	8	12,3%
ÓBITO	NÃO	35	54,7%
	SIM	29	45,3%

4.2 Análise dos polimorfismos por PCR quantitativo

As distribuições dos genótipos referentes aos polimorfismos estudados XPA rs1800975, XPC rs2228000, XPD rs1799793 e XPF rs1800067 para a correlação entre os indivíduos controles (n= 94) e SMD (n= 95) serão apresentados nas seções a seguir.

4.2.1 Análise do polimorfismo rs1800975 do gene XPA

O polimorfismo rs1800975 está localizado na posição 97697296 do gene XPA, que se encontra no braço longo do cromossomo 9 (9q22.3). Dos 95 pacientes, 86 tiveram genotipagem bem sucedida para este polimorfismo. As frequências alélicas apresentadas no grupo controle foram de 143 (76,0%) para o alelo selvagem G e 45 (24,0%) para o alelo mutante A. Para o grupo SMD, a frequência alélica foi de 143 (73,0%) para o alelo G e 46 (27,0%) para o alelo A. Não houve associação significativa entre as frequências alélicas selvagem (G) e mutante (A) para o polimorfismo rs1800975 ($p= 0,492$).

Os genótipos analisados para o polimorfismo rs1800975 encontram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p>0,05$). Na análise das frequências genotípicas para o polimorfismo rs1800975 pode-se observar que o genótipo homocigoto selvagem (GG), o heterocigoto (AG) e homocigoto mutante (AA) apresentaram, respectivamente, as frequências de 53 (56,4%), 37 (39,4%) e 4 (4,2%) para o grupo controle e 49 (57,0%), 28 (32,5%) e 9 (10,5%) para o grupo SMD.

Tabela 9: Genótipos, distribuição alélica e equilíbrio de Hardy-Weinberg nos grupos casos e controles para o SNP rs1800975 do gene XPA.

Gene/SNP	Grupo	Frequência alélica		p valor	Frequência gênica			p valor	H-W teste	
		G	A		GG	AG	AA		X ²	p valor
XPA rs1800975	Controle	143 76%	45 24%	0,379	53 56,4%	37 39,4%	4 4,2%	0,243	0,576	0,448
	SMD	143 73%	46 27%		49 57%	28 32,5%	9 10,5%		2,450	0,117

Legenda: G: alelo selvagem, A: alelo mutante, GG: homocigoto selvagem, AG: heterocigoto e AA: homocigoto mutante. Teste de Qui-quadrado (x²) de Pearson ou Fisher. Valor estatisticamente significativo para $p \leq 0,05$ ou $p \leq 0,001$.

Na análise univariada, através de testes de Qui-quadrado, não houve nenhuma associação significativa nas variáveis estudadas, como é possível observar na tabela 10.

Tabela 10: Valores de p da análise univariada para cada uma das variáveis clínicas nos modelos estatísticos utilizados no estudo do SNP rs1800975 do gene XPA.

Variável epidemiológica	DG	MGD	MGR	MGH	MGHD	MGHR
CASO x CONTROLE	0,243	0,999	0,150	0,238	0,749	0,208
SEXO	0,301	0,382	0,500	0,999	0,147	0,422
IDADE (anos)	0,412	0,999	0,434	0,438	0,591	0,179
ORIGEM	0,754	0,823	0,464	0,696	0,999	0,999
CLASSIFICAÇÃO DA OMS	0,750	0,796	0,358	0,391	0,934	0,328
FORMAS SMD	0,455	0,531	0,339	0,322	0,751	0,550
CELULARIDADE MO	0,999	0,925	0,999	0,999	0,724	0,999
SIDEROBLASTOS EM ANEL MO	0,927	0,999	0,999	0,999	0,767	0,999
PORCENTAGEM DE BLASTOS MO	0,253	0,206	0,452	0,417	0,272	0,380
HEMOGLOBINA (g/dL)	0,335	0,382	0,288	0,167	0,811	0,441
NEUTRÓFILOS (/mm³)	0,744	0,490	0,713	0,703	0,613	0,999
PLAQUETAS (x 10⁹/L)	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999
CLASSIFICAÇÃO CARIÓTIPO	0,520	0,588	0,296	0,258	0,999	0,648
GRUPOS CITOGNÉTICOS	0,882	0,511	0,738	0,661	0,848	0,999
GRUPO DE RISCO (IPSS 2012)	0,337	0,217	0,412	0,242	0,485	0,999
DEPENDÊNCIA TRANSFUSIONAL	0,809	0,652	0,725	0,619	0,999	0,189
EVOLUÇÃO	0,185	0,070	0,618	0,567	0,149	0,999
ÓBITO	0,642	0,999	0,436	0,677	0,999	0,640

Legenda: DG: distribuição genotípica, MGD: modelo genético de dominância, MGR: modelo genético de recessividade, MGH: modelo genético de homozigose, MGHD: modelo genético de heterozigose dominante e MGHR: modelo genético de heterozigose recessiva. Valor estatisticamente significativo para $p \leq 0,05$.

4.2.2 Análise do polimorfismo rs2228000 do gene XPC

O polimorfismo rs2228000 está localizado na posição 14158387 do gene XPC, que se encontra no braço curto do cromossomo 3 (3p25.1). Dos 95 pacientes, 87 tiveram genotipagem bem sucedida para este polimorfismo. As frequências alélicas apresentadas no grupo controle foram de 141 (75,0%) para o alelo selvagem C e 47 (25,0%) para o alelo mutante T. Para o grupo SMD, a frequência alélica foi de 126 (72,0%) para o alelo C e 48 (28,0%) para o alelo T. Não houve associação significativa entre as frequências alélicas selvagem (C) e mutante (T) para o polimorfismo rs2228000 ($p= 0,092$).

Os genótipos analisados para o polimorfismo rs2228000 encontram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p>0,05$). Na análise das frequências genotípicas para o polimorfismo rs2228000 pode-se observar que o genótipo homozigoto selvagem (CC), o heterozigoto (CT) e homozigoto mutante (TT) apresentaram, respectivamente, as frequências de 54 (57,4%), 33 (35,1%) e 7 (7,4%) para o grupo controle e 46 (52,9%), 34 (39,1%) e 7 (8,0%) para o grupo SMD, como descrito na tabela 11.

Tabela 11: Genótipos, distribuição alélica e equilíbrio de Hardy-Weinberg nos grupos casos e controles para o SNP rs2228000 de XPC.

Gene/SNP	Grupo	Frequência alélica		p valor	Frequência gênica			p valor	H-W teste	
		C	T		CC	CT	TT		X ²	p valor
XPC rs2228000	Controle	141 75%	47 28%	0,907	54 57,4%	33 35,1%	7 7,4%	0,922	0,385	0,535
	SMD	126 72%	48 28%		46 52,9%	34 39,1%	7 8%		0,156	0,692

Legenda: C: alelo selvagem, T: alelo mutante, CC: homocigoto selvagem, CT: heterocigoto e TT: homocigoto mutante. Teste de Qui-quadrado (χ^2) de Pearson ou Fisher. Valor estatisticamente significativo para $p \leq 0,05$ ou $p \leq 0,001$.

Na análise univariada, através de testes de Qui-quadrado, foi obtida associação significativa, entre genótipos e hemoglobina nos seguintes modelos: distribuição genotípica (CC x CT x TT) ($p=0,018$), de dominância (CC x CT+TT) ($p=0,029$) e de heterocigose dominante (CC x CT) ($p=0,020$). A relação entre genótipos e contagem de neutrófilos também se repetiu em diversos modelos, sendo eles: distribuição genotípica ($p=0,026$), de dominância ($p=0,036$), de recessividade (TT x CT+CC) ($p=0,013$) e de homocigose (CC x TT) ($p=0,006$). As demais variáveis e modelos não mostraram qualquer associação como é possível observar na tabela abaixo (tabela 13).

Tabela 12: Valores de p da análise univariada para cada uma das variáveis clínicas nos modelos estatísticos utilizados no estudo do SNP rs2228000 de XPC.

Variável epidemiológica	DG	MGD	MGR	MGH	MGHD	MGHR
CASO x CONTROLE	0,922	0,999	0,999	0,999	0,857	0,999
SEXO	0,894	0,514	0,999	0,999	0,643	0,999
IDADE (anos)	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999
ORIGEM	0,491	0,817	0,658	0,665	0,807	0,638
CLASSIFICAÇÃO DA OMS	0,465	0,181	0,875	0,853	0,103	0,844
FORMAS SMD	0,725	0,536	0,999	0,999	0,508	0,999
CELULARIDADE MO	0,817	0,697	0,743	0,692	0,630	0,731
SIDEROBLASTOS EM ANEL MO	0,608	0,973	0,390	0,457	0,999	0,441
PORCENTAGEM DE BLASTOS MO	0,792	0,969	0,436	0,999	0,779	0,355
HEMOGLOBINA (g/dL)	0,018	0,029	0,688	0,999	0,020	0,370
NEUTRÓFILOS (/mm ³)	0,026	0,036	0,013	0,006	0,201	0,071
PLAQUETAS (x 10 ⁹ /L)	0,506	0,325	0,999	0,616	0,302	0,999
CLASSIFICAÇÃO CARIÓTIPO	0,538	0,286	0,999	0,999	0,392	0,999
GRUPOS CITOGNÉTICOS	0,545	0,191	0,999	0,629	0,281	0,999
GRUPO DE RISCO (IPSS 2012)	0,390	0,345	0,999	0,999	0,320	0,999
DEPENDÊNCIA TRANSFUSIONAL	0,886	0,497	0,999	0,999	0,485	0,999
EVOLUÇÃO	0,556	0,999	0,592	0,618	0,696	0,549
ÓBITO	0,591	0,588	0,999	0,999	0,570	0,999

Legenda: DG: distribuição genotípica, MGD: modelo genético de dominância, MGR: modelo genético de recessividade, MGH: modelo genético de homocigose, MGHD: modelo genético de heterocigose dominante e MGHR: modelo genético de heterocigose recessiva. Valor estatisticamente significativo para $p \leq 0,05$.

Foi então realizada regressão logística multinominal para melhor especificar tais associações e encontrou-se, na distribuição genotípica, que o genótipo CT se correlaciona maior razão de chances de níveis de hemoglobina abaixo de 8,0g/dL ($p= 0,010$, OR 3,385, IC 1,343-8,529) (tabela 13). Por sua vez, o genótipo CC correlacionou-se com maior razão de chances de $Hb \geq 8g/dL$ no modelo de dominância ($p= 0,027$, OR 2,75, IC 1,125-6,722) e no modelo de heterozigose dominante ($p= 0,013$, OR 3,333, IC: 1,293-8,591), como mostram as tabelas 14 e 15.

Tabela 13: Regressão logística multinominal para associar valor de hemoglobina $< 8g/dL$ a genótipos do SNP rs2228000 de XPC, na distribuição genotípica.

Variável		IC 95% para Exp (B)				
Hb	Genótipo	Wald	p valor	Exp (B)	Mínimo	Máximo
$< 8g/dL$	TT	0,062	0,803	0,800	0,139	4,618
	CT	6,685	0,010	3,385	1,343	8,529
	CC					

Legenda: CC: homozigoto selvagem, CT: heterozigoto e TT: homozigoto mutante. Valor estatisticamente significante para $p \leq 0,05$.

Tabela 14: Regressão logística multinominal para associar valor de hemoglobina $\geq 8g/dL$ a genótipos do SNP rs2228000 de XPC, em modelo de dominância.

Variável		IC 95% para Exp (B)				
Hb	Genótipo	Wald	p valor	Exp (B)	Mínimo	Máximo
$\geq 8g/dL$	CC	4,921	0,027	2,75	1,125	6,722
	CT + TT					

Legenda: CC: homozigoto selvagem, CT: heterozigoto e TT: homozigoto mutante. Valor estatisticamente significante para $p \leq 0,05$.

Tabela 15: Regressão logística multinominal para associar valor de hemoglobina $\geq 8g/dL$ a genótipos do SNP rs2228000 de XPC, em modelo de heterozigose dominante.

Variável		IC 95% para Exp (B)				
Hb	Genótipo	Wald	p valor	Exp (B)	Mínimo	Máximo
$\geq 8g/dL$	CC	6,212	0,013	3,333	1,293	8,591
	CT					

Legenda: CC: homozigoto selvagem e CT: heterozigoto. Valor estatisticamente significante para $p \leq 0,05$.

Nas associações entre contagem de neutrófilos e genótipos, a regressão logística multinominal mostrou que na distribuição genotípica o genótipo TT tem maior razão de chances de contagem de neutrófilos abaixo de $800/mm^3$ ($p= 0,017$, OR 8,750, IC 1,470-52,098) (tabela 16). Já o genótipo CC correlacionou-se com maior razão de chances de neutrófilos $\geq 800/mm^3$ no modelo de dominância ($p= 0,032$, OR 2,833, IC 1,096-7,327) e no modelo de homozigose ($p= 0,013$, OR 17,500, IC 1,828-167,558), como é possível observar nas tabelas 17 e 18. A combinação CC+CT do

modelo de recessividade também associou-se com maior razão de chances de neutrófilos $\geq 800/\text{mm}^3$ ($p=0,025$, OR 12,500, IC 1,381-113,177), como se vê na tabela 19.

Tabela 16: Regressão logística multinominal para associar valor de neutrófilos $< 800/\text{mm}^3$ a genótipos do SNP rs2228000 de XPC, na distribuição genotípica.

Variável		IC 95% para Exp (B)				
Neutrófilo	Genótipo	Wald	p valor	Exp (B)	Mínimo	Máximo
$< 800/\text{mm}^3$	TT	5,678	0,017	8,750	1,470	52,098
	CT	1,420	0,233	1,826	0,678	4,917
	CC					

Legenda: CC: homocigoto selvagem, CT: heterocigoto e TT: homocigoto mutante. Valor estatisticamente significativo para $p \leq 0,05$.

Tabela 17: Regressão logística multinominal para associar valor de neutrófilos $\geq 800/\text{mm}^3$ a genótipos do SNP rs2228000 de XPC, em modelo de dominância.

Variável		IC 95% para Exp (B)				
Neutrófilo	Genótipo	Wald	p valor	Exp (B)	Mínimo	Máximo
$\geq 800/\text{mm}^3$	CC	4,615	0,032	2,833	1,096	7,327
	CT + TT					

Legenda: CC: homocigoto selvagem, CT: heterocigoto e TT: homocigoto mutante. Valor estatisticamente significativo para $p \leq 0,05$.

Tabela 18: Regressão logística multinominal para associar valor de neutrófilos $\geq 800/\text{mm}^3$ a genótipos do SNP rs2228000 de XPC, em modelo de homocigose.

Variável		IC 95% para Exp (B)				
Neutrófilo	Genótipo	Wald	p valor	Exp (B)	Mínimo	Máximo
$\geq 800/\text{mm}^3$	CC	4,166	0,013	17,500	1,828	167,558
	TT					

Legenda: CC: homocigoto selvagem e TT: homocigoto mutante. Valor estatisticamente significativo para $p \leq 0,05$.

Tabela 19: Regressão logística multinominal para associar genótipos e valor de neutrófilos $\geq 800/\text{mm}^3$ a genótipos do SNP rs2228000 de XPC, em modelo de recessividade.

Variável		IC 95% para Exp (B)				
Neutrófilo	Genótipo	Wald	p valor	Exp (B)	Mínimo	Máximo
$\geq 800/\text{mm}^3$	CC + CT	5,048	0,025	12,500	1,381	113,177
	TT					

Legenda: CC: homocigoto selvagem, CT: heterocigoto e TT: homocigoto mutante. Valor estatisticamente significativo para $p \leq 0,05$.

4.2.3 Análise do polimorfismo rs1799793 do gene XPD

O polimorfismo rs1799793 está localizado na posição 45364001 do gene XPD, que se encontra no braço longo do cromossomo 19 (19q13.3). Dos 95 pacientes, 86 tiveram genotipagem bem sucedida para este polimorfismo. As frequências alélicas apresentadas no grupo controle foram de 151 (80,3%) para o alelo selvagem G e 37 (19,7%) para o alelo mutante A. Para o grupo SMD, a frequência alélica foi de 121 (70,0%) para o alelo G e 51 (30,0%) para o alelo A. Não houve associação significativa entre as frequências alélicas selvagem (G) e mutante (A) para o polimorfismo rs1799793 ($p=0,752$).

Os genótipos analisados para o polimorfismo rs1799793 encontram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p>0,05$). Na análise das frequências genotípicas para o polimorfismo rs1799793 pode-se observar que o genótipo homocigoto selvagem (GG), o heterocigoto (AG) e homocigoto mutante (AA) apresentaram, respectivamente, as frequências de 61 (64,9%), 29 (30,9%) e 4 (4,2%) para o grupo controle e 41 (47,7%), 39 (45,3%) e 6 (7,0%) para o grupo SMD (tabela 20).

Tabela 20: Genótipos, distribuição alélica e equilíbrio de Hardy-Weinberg nos grupos casos e controles para o estudo do SNP rs1799793 de XPD.

Gene/SNP	Grupo	Frequência alélica		p valor	Frequência gênica			p valor	H-W teste	
		G	A		GG	AG	AA		X ²	p valor
XPD rs1799793	Controle	151 80,3%	37 19,7%	0,008	61 64,9%	29 30,9%	4 4,2%	0,045	1,990	0,158
	SMD	121 70%	51 30%		41 47,7%	39 45,3%	6 7%		0,651	0,420

Legenda: G: alelo selvagem, A: alelo mutante, GG: homocigoto selvagem, AG: heterocigoto e AA: homocigoto mutante. Teste de Qui-quadrado (χ^2) de Pearson ou Fisher. Valor estatisticamente significativo para $p \leq 0,05$ ou $p \leq 0,001$.

Na análise univariada, através de testes de Qui-quadrado, foi obtida associação significativa, entre genótipos e grupos nos modelos de distribuição alélica ($p=0,008$), distribuição genotípica (GG x AG x AA) ($p=0,045$), de dominância (GG x AG+AA) ($p=0,010$) e de heterocigose dominante (GG x AG) ($p=0,012$). Observou-se ainda associações genótipos e porcentagem de sideroblastos em anel em medula óssea ($\geq 15\%$ e $< 15\%$) nos modelos: de distribuição genotípica (GG x AG x AA) ($p=0,036$), de dominância (GG x AG+AA) ($p=0,024$) e de heterocigose dominante (GG x AG) ($p=0,020$) e genótipos e porcentagem de sideroblastos em anel em medula óssea (0%, 1-14% e $\geq 15\%$) nos modelos: de dominância (GG x AG+AA) ($p=0,049$) e de heterocigose dominante (GG x AG) ($p=0,047$). As demais variáveis e modelos não mostraram qualquer associação como é possível observar na tabela 21.

Tabela 21: Valores de p da análise univariada para cada uma das variáveis clínicas nos modelos estatísticos utilizados no estudo do SNP rs1799793 de XPD.

Variável epidemiológica	DG	MGD	MGR	MGH	MGHD	MGHR
CASO x CONTROLE	0,045	0,010	0,735	0,478	0,012	0,999
SEXO	0,840	0,999	0,372	0,371	0,999	0,362
IDADE (anos)	0,301	0,808	0,315	0,303	0,999	0,576
ORIGEM	0,999	0,814	0,656	0,645	0,999	0,303
CLASSIFICAÇÃO DA OMS	0,306	0,097	0,959	0,490	0,123	0,999
FORMAS SMD	0,999	0,763	0,999	0,999	0,755	0,999
CELULARIDADE MO	0,279	0,416	0,543	0,390	0,588	0,999
SIDEROBLASTOS EM ANEL MO	0,036	0,024	0,999	0,999	0,020	0,486
PORCENTAGEM DE BLASTOS MO	0,761	0,486	0,825	0,561	0,633	0,999
HEMOGLOBINA (g/dL)	0,590	0,825	0,170	0,174	0,999	0,169
NEUTRÓFILOS (/mm³)	0,292	0,099	0,999	0,999	0,087	0,582
PLAQUETAS (x 10⁹/L)	0,364	0,624	0,317	0,303	0,999	0,313
CLASSIFICAÇÃO CARIÓTIPO	0,503	0,286	0,585	0,999	0,263	0,543
GRUPOS CITOGNÉTICOS	0,791	0,367	0,999	0,999	0,458	0,999
GRUPO DE RISCO (IPSS 2012)	0,378	0,379	0,680	0,369	0,544	0,999
DEPENDÊNCIA TRANSFUSIONAL	0,483	0,491	0,369	0,633	0,249	0,343
EVOLUÇÃO	0,099	0,699	0,055	0,070	0,999	0,086
ÓBITO	0,338	0,170	0,999	0,999	0,093	0,582

Legenda: DG: distribuição genotípica, MGD: modelo genético de dominância, MGR: modelo genético de recessividade, MGH: modelo genético de homozigose, MGHD: modelo genético de heterozigose dominante e MGHR: modelo genético de heterozigose recessiva. Valor estatisticamente significativo para $p \leq 0,05$.

Após realização da regressão nominal multivariada obtivemos que o alelo G se relaciona a menor razão de chances de SMD na distribuição alélica ($p= 0,006$, OR: 1,939, IC 1,202-3,128) e que o genótipo GG se correlaciona com menor razão de chances de SMD no modelo de dominância ($p= 0,009$, OR 0,445, IC 0,242-0,816) e no modelo de heterozigose dominante ($p= 0,010$, OR 0,440, IC 0,235-0,825), como visualizamos nas tabelas 22 e 23; e o mesmo genótipo parece ter ainda menor razão de chances de contagem de sideroblastos em anel em medula óssea $\geq 15\%$ em três modelos distintos: de distribuição genotípica ($p= 0,027$, OR 0,980, IC 0,013-0,768), de dominância ($p= 0,027$, OR 4,643, IC 1,195-18,034) e de heterozigose dominante ($p= 0,022$, OR 5,000, IC 1,265-19,762) (tabelas 24, 25 e 26).

Tabela 22: Regressão logística multinominal para associar prevalência de SMD a genótipos do SNP rs1799793 de XPD, em modelo de dominância.

Variável	SMD	Genótipo	Wald	p valor	Exp (B)	IC 95% para Exp (B)	
						Mínimo	Máximo
Presente		GG	6,840	0,009	0,445	0,242	0,816
		AG + AA					

Legenda: GG: homozigoto selvagem, AG: heterozigoto e AA: homozigoto mutante. Valor estatisticamente significativo para $p \leq 0,05$.

Tabela 23: Regressão logística multinominal para associar prevalência de SMD a genótipos do SNP rs1799793 de XPD, em modelo de heterozigose dominante.

Variável		Wald	p valor	Exp (B)	IC 95% para Exp (B)	
SMD	Genótipo				Mínimo	Máximo
Presente	GG	6,559	0,010	0,440	0,235	0,825
	AG					

Legenda: GG: homozigoto selvagem e AG: heterozigoto. Valor estatisticamente significante para $p \leq 0,05$.

Tabela 24: Regressão logística multinominal para associar presença de 15% ou mais de sideroblastos em anel a genótipos do SNP rs1799793 de XPD, em modelo de distribuição genotípica.

Variável		Wald	p valor	Exp (B)	IC 95% para Exp (B)	
Sideroblastos em anel	Genótipo				Mínimo	Máximo
$\geq 15\%$	GG	4,891	0,027	0,980	0,013	0,768
	AG	0,410	0,839	0,828	0,133	5,138
	AA					

Legenda: GG: homozigoto selvagem, AG: heterozigoto e AA: homozigoto mutante. Valor estatisticamente significante para $p \leq 0,05$.

Tabela 25: Regressão logística multinominal para associar presença de menos de 15% de sideroblastos em anel a genótipos do SNP rs1799793 de XPD, em modelo de dominância.

Variável		Wald	p valor	Exp (B)	IC 95% para Exp (B)	
Sideroblastos em anel	Genótipo				Mínimo	Máximo
$< 15\%$	GG	4,918	0,027	4,643	1,195	18,034
	AG + AA					

Legenda: GG: homozigoto selvagem, AG: heterozigoto e AA: homozigoto mutante. Valor estatisticamente significante para $p \leq 0,05$.

Tabela 26: Regressão logística multinominal para associar presença de menos de 15% de sideroblastos em anel a genótipos do SNP rs1799793 de XPD, em modelo de heterozigose dominante.

Variável		Wald	p valor	Exp (B)	IC 95% para Exp (B)	
Sideroblastos em anel	Genótipo				Mínimo	Máximo
$< 15\%$	GG		0,022	5,000	1,265	19,762
	AG					

Legenda: GG: homozigoto selvagem e AG: heterozigoto. Valor estatisticamente significante para $p \leq 0,05$.

4.2.4 Análise do polimorfismo rs1800067 do gene XPF

O polimorfismo rs1800067 está localizado na posição 13935176 do gene XPF, que se encontra no braço curto do cromossomo 16 (16p13.12). Dos 95 pacientes, 88 tiveram genotipagem bem sucedida para este polimorfismo. As frequências alélicas apresentadas no grupo controle foram de 173 (92,0%) para o alelo selvagem G e 15 (8,0%) para o alelo mutante A. Para o grupo SMD, a frequência alélica foi de 155 (88,0%) para o alelo G e 21 (12,0%) para o alelo A. Não houve associação significativa entre as frequências alélicas selvagem (G) e mutante (A) para o polimorfismo rs1800067 ($p=0,089$).

Os genótipos analisados para o polimorfismo rs1800067 encontram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p>0,05$). Na análise das frequências genotípicas para o polimorfismo rs1800067 pode-se observar que o genótipo homocigoto selvagem (GG), o heterocigoto (AG) e homocigoto mutante (AA) apresentaram, respectivamente, as frequências de 79 (84,0%), 15 (16,0%) e 0 (0,0%) para o grupo controle e 70 (79,5%), 15 (17,0%) e 3 (3,5%) para o grupo SMD (tabela 27).

Tabela 27: Genótipos, distribuição alélica e equilíbrio de Hardy-Weinberg nos grupos casos e controles para o SNP rs1800067 de XPF.

Gene/SNP	Grupo	Frequência alélica		p valor	Frequência gênica			p valor	H-W teste	
		G	A		GG	AG	AA		X ²	p valor
XPF rs1800067	Controle	173 92%	15 8%	0,089	79 84%	15 16%	0 0%	0,233	0,703	0,402
	SMD	155 88%	21 12%		70 79,5%	15 17%	3 3,5%		2,433	0,119

*Teste de Qui-quadrado (χ^2) de Pearson ou Fisher. Valor estatisticamente significativo para $p \leq 0,05$ ou $p \leq 0,001$.

Na análise univariada, através de testes de Qui-quadrado, não houve nenhuma associação significativa nas variáveis estudadas, como é possível observar na tabela 28.

Tabela 28: Valores de p da análise univariada para cada uma das variáveis clínicas nos modelos estatísticos utilizados no estudo do SNP rs1800067 de XPF.

Variável epidemiológica	DG	MGD	MGR	MGH	MGHD	MGHR
CASO x CONTROLE	0,233	0,558	0,099	0,099	0,999	0,999
SEXO	0,290	0,582	0,248	0,247	0,999	0,999
IDADE (anos)	0,999	0,541	0,999	0,999	0,507	0,510
ORIGEM	0,794	0,555	0,999	0,999	0,364	0,362
CLASSIFICAÇÃO DA OMS	0,866	0,428	0,878	0,999	0,420	0,422
FORMAS SMD	0,818	0,999	0,999	0,999	0,685	0,681
CELULARIDADE MO	0,966	0,890	0,999	0,999	0,690	0,682
SIDEROBLASTOS EM ANEL MO	0,685	0,509	0,098	0,104	0,892	0,849
PORCENTAGEM DE BLASTOS MO	0,971	0,999	0,999	0,999	0,936	0,936
HEMOGLOBINA (g/dL)	0,273	0,582	0,248	0,247	0,999	0,999
NEUTRÓFILOS (/mm³)	0,999	0,769	0,999	0,999	0,749	0,750
PLAQUETAS (x 10⁹/L)	0,242	0,755	0,174	0,182	0,999	0,999
CLASSIFICAÇÃO CARIÓTIPO	0,635	0,545	0,999	0,999	0,731	0,736
GRUPOS CITOGNÉTICOS	0,426	0,199	0,696	0,644	0,271	0,309
GRUPO DE RISCO (IPSS 2012)	0,312	0,297	0,999	0,999	0,765	0,763
DEPENDÊNCIA TRANSFUSIONAL	0,606	0,781	0,588	0,586	0,999	0,999
EVOLUÇÃO	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999
ÓBITO	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999

Legenda: DG: distribuição genotípica, MGD: modelo genético de dominância, MGR: modelo genético de recessividade, MGH: modelo genético de homozigose, MGHD: modelo genético de heterozigose dominante e MGHR: modelo genético de heterozigose recessiva. Valor estatisticamente significativo para $p \leq 0,05$.

5 DISCUSSÃO

Quanto a caracterização dos pacientes, dados de diversos países ocidentais (COGLE et al., 2015; ROLLINSON et al., 2008; MA et al., 2007), da Austrália e Nova Zelândia (RODGER e MORISON, 2012), apontam uma média de idade de cerca de 70 (\pm 6) anos ao diagnóstico em portadores de SMD. Dados de levantamento envolvendo pacientes asiáticos apontam uma menor idade ao diagnóstico (YANG et al., 2014; LV et al., 2011; MATSUDA et al., 2005), em torno de 60 anos, embora um estudo populacional japonês recente envolvendo quase 8000 pacientes relate uma idade média ao diagnóstico de 76 anos (CHIHARA et al., 2014). Nossos pacientes apresentam uma média de idade de 65 anos, dado esse que se aproxima mais de média de 68,3 anos encontrada em primeiro levantamento brasileiro publicado em 2010 por Magalhães e colegas (MAGALHÃES et al., 2010) e da média de idade de pacientes sulamericanos, de 69 anos, publicada por Belli e colegas (BELLI et al., 2015).

A relação entre sexo masculino e feminino (M/F) de nossa população de portadores de SMD foi de 0,95. O discreto predomínio feminino difere do que é descrito nos estudos acima citados, tanto ocidentais quanto asiáticos, onde a relação M/F encontra-se habitualmente entre 1 e 2, mas assemelhando-se à relação M/F da população chilena incluída no estudo de Belli e colegas que apresenta relação de 0,8 (BELLI et al., 2015).

Considerando o perfil de celularidade da medula óssea, os pacientes do grupo SMD apresentaram medula hiper celular em sua maioria (63,5%). Tal achado corrobora com os dados apresentados por Bernasconi que associa estes resultados ao próprio perfil patogênico da doença, visto que a característica de apoptose excessiva dos estágios iniciais da doença é equilibrado pelo aumento na proliferação das células progenitoras hematopoiéticas (BERNASCONI, 2008; ISHIBASHI, TAMURA e OGATA, 2011).

Nosso grupo de pacientes apresentou predomínio de CRDM (53,7%) na classificação da OMS, de prognóstico favorável (67,2%) na divisão em grupos citogenéticos (SCHANZ, et al., 2012) e de IPSS-R de baixo risco (48,3%), achados compatíveis com os levantamentos de Belli et al. (BELLI et al., 2015), van Spronsen et al. (VAN SPRONSEN et al., 2014), Neukirchen et al. (NEUKIRCHEN et al., 2014) e Della Porta et al. (DELLA PORTA et al., 2011), diferindo de estudo italiano que mostrou maior prevalência de AR (29%) e IPSS-R de muito baixo risco (38%) (VOSO et al., 2013), mas que manteve, assim como os demais, predomínio de doenças de menor risco.

No tocante a citopenias, nossos pacientes apresentaram maior predomínio de níveis de hemoglobina abaixo de 8g/dL (47,4%) quando comparado a grandes estudos europeus e sulamericano (BELLI et al., 2015; VAN SPRONSEN et al., 2014; NEUKIRCHEN et al., 2014;

DELLA PORTA et al., 2011), em que essa população perfazia no máximo 30% dos indivíduos; entretanto nossa dependência transfusional foi de cerca de 58%, que se assemelha ao relatado nos demais trabalhos. Em nossa amostra tivemos ainda 34,7% dos pacientes com neutrófilos $< 800/\text{mm}^3$, indicando também uma maior prevalência de neutropenia quando comparado aos demais grupos. Ainda em relação aos estudos acima citados, obtivemos maior porcentagem (31,6%) de trombocitopenia (plaquetas $< 50.000 \times 10^9/\text{L}$), sendo os últimos dois dados semelhantes apenas aos encontrados no estudo holandês (VAN SPRONSEN et al., 2014).

É sabido que polimorfismos de genes que codificam enzimas envolvidas na metabolização de carcinógenos e reparo do DNA provavelmente modificam o risco de dano ao DNA e desenvolvimento de câncer. Por outro lado, já mostrou-se que tais polimorfismos podem influenciar a resposta individual ao tratamento oncológico por aumentar a concentração de metabólitos de drogas ou prejudicando as vias enzimáticas que resgatam as células neoplásicas do dano genotóxico e apoptose (FABIANI et al., 2009; SHIN et al., 2008), promovendo melhor resposta a quimioterapia, entretanto, a atividade de reparo prejudicada pode levar ao acúmulo de novos danos ao DNA de células normais levando a importantes toxicidades relacionadas ao tratamento e, não raro, predispondo a neoplasias secundárias (KUPTSOVA-CLARKSON et al., 2010). E alguns trabalhos já indicaram haver correlação desses polimorfismos com diferenças interindividuais a susceptibilidade a SMD e variações clínicas entre os portadores dessa doença (JOSHI et al., 2015; AKTUĞLU et al., 2014; BELICKOVA et al., 2013; LI et al., 2011; FABIANI et al., 2009). Nosso grupo demonstrou previamente, pela primeira vez na literatura, importante associação entre polimorfismo do gene ATM e reduzida razão de chances de desenvolvimento de SMD em pacientes brasileiros (RIBEIRO et al., 2013).

As enzimas da via de reparo por excisão de nucleotídeo, um mecanismo essencial para o reparo de fita simples de DNA, são capazes de reconhecer e eliminar uma grande quantidade de danos como os causados por quimioterapia (STROM et al., 2010), tabaco e luz ultra-violeta (HUTSELL e SANCAR, 2005). Tal capacidade faz dele um mecanismo essencial para a manutenção da estabilidade genômica.

Nós selecionamos para o presente estudo os polimorfismos de único nucleotídeo da via de reparo por excisão de nucleotídeo que têm maior probabilidade de gerar uma proteína alterada tanto em estrutura quanto em função, que ocorrem com relativamente alta frequência, afetando um segmento significativo da população e que já foram previamente reportados como associados ao desenvolvimento e desfecho de cânceres: XPA rs1800975, XPC rs2228000, XPD rs1799793 e XPF rs1800067.

O gene Xeroderma Pigmentoso do Grupo C (XPC) encontra-se no braço curto do cromossomo 3 (3p25.1) e possui 18 éxons. Seus polimorfismos mais estudados são rs2228000

(Ala499Val) e rs2228001 (Lys939Gln). Ambos correlacionam-se a maior susceptibilidade a diversos tumores: mama (LEE et al, 2014; HE et al., 2013), tireoide (SANTOS et al., 2013), estômago (LI et al., 2014), bexiga (WANG, LIU e SHAO, 2014), orofaringe (SONG et al., 2013), linfoma (D'AMELIO et al., 2012) e leucemia (STROM et al., 2010). Alguns trabalhos também conferem papel protetor a XPC rs2228000 (BIASON et al., 2012; PASZKOWSKA-SZCZUR et al., 2013).

Em nosso estudo encontramos que o genótipo selvagem (CC) se correlacionou com Hb \geq 8g/dL e com neutrófilos \geq 800/mm³ e o grupo composto pelo genótipo selvagem e pelo heterozigoto (CC+CT) do polimorfismo XPC rs2228000 também se correlacionou com contagem de neutrófilos \geq 800/mm³. Aachamos ainda que o genótipo homozigoto variante (TT) mostrou correlacionar-se com neutrófilos $<$ 800/mm³ e que o genótipo heterozigoto (CT) relacionou-se com níveis de Hb $<$ 8g/dL. Tais achados nos fazem crer que o alelo selvagem C em homozigose parece ter um papel protetor em relação a anemia e neutropenia graves. Um estudo chinês envolvendo pacientes portadores de LMA mostrou que o genótipo homozigoto selvagem (CC) teve prevalência aumentada no grupo de pacientes com Hb \leq 10g/dL, porém não se correlacionou com contagem de neutrófilos ou plaquetas (XU et al., 2012).

Dois estudos relacionam quantidade de citopenias em portadores de SMD e polimorfismos de genes de reparo de DNA, Ribeiro e colegas demonstraram que o genótipo heterozigoto de polimorfismo ATM rs228593 (RIBEIRO et al., 2013) e que o genótipo homozigoto selvagem de RAD1 rs1801320 (RIBEIRO et al., 2014) se correlacionam com presença de apenas uma citopenia em sangue periférico e possivelmente com doença menos agressiva.

Nenhum trabalho até o momento havia correlacionado um polimorfismo de XPC com SMD, porém há relatos de SNPs desse gene de reparo de DNA em outras doenças hematológicas. Strom e colegas relataram que pacientes portadores de LMA de risco intermediário com genótipo CT/TT de rs2228000 apresentaram menor sobrevida global em relação aos paciente de genótipo homozigoto selvagem (STROM et al., 2010). Guillem e pesquisadores, em estudo envolvendo os polimorfismos rs2228000 e rs2228001 de XPC, mostrou que o haplótipo selvagem deste gene se correlacionou com melhor resposta ao tratamento e melhor sobrevida livre de doença em portadores de leucemia mielóide crônica (LMC) (GUILLEM et al., 2010). Estudos envolvendo polimorfismos de XPC em portadores de linfoma de Hodgkin sugerem que genótipos variantes, principalmente quando em combinação com SNPs variantes de outros genes de reparo de DNA, parecem aumentar susceptibilidade ao desenvolvimento deste tipo de linfoma (D'AMELIO et al., 2012; MONROY et al., 2011; EL-ZEIN et al., 2009). Bahceci e colegas relataram também um papel protetor do alelo variante do polimorfismo rs2228001 de XPC em pacientes não fumantes para o desenvolvimento de linfoma não-Hodgkin de células B (BAHCECI et al., 2015). Porém em nosso estudo não

encontramos correlação entre o polimorfismo XPC rs2228000 e risco aumentado de SMD.

A helicase Xeroderma Pigmentoso do Grupo D (XPD) ou *Excision Repair Cross-Complementing Group 2* (ERCC2) é parte essencial ao reparo do DNA pela via NER e sua função é crítica para correção de danos causados pelo tabaco e outros carcinógenos (AKTUĞLU et al., 2014; LUNN et al., 2000). Seu gene localiza-se no braço longo do cromossomo 19 (19q13.3), possui 24 éxons e seus polimorfismos estão associados a uma maior susceptibilidade a neoplasias (XUE et al., 2012). Os polimorfismos mais investigados do gene da XPD que possuem associação com câncer são uma substituição (A>C) no éxon 16 gerando Lys751Gln (XPD rs13181) e uma substituição (G>A) resultando em Asp312Asn (XPD rs1799793), numa frequência de 29 e 42%, respectivamente (BENHAMOU e SARASIN, 2002). De acordo com diversos estudos epidemiológicos os polimorfismos do XPD estão relacionados com risco aumentado de cânceres de esôfago (BOLDRIN et al., 2015; YUAN et al., 2011), mama (SMITH et al., 2011; GÓMEZ-DÍAZ et al., 2015), bexiga (LI et al., 2014; CHANG et al., 2009; STERN et al., 2009), pâncreas (MCWILLIAMS et al., 2008), pulmão (MEI et al., 2011; QIAN et al., 2011; KIYOHARA e YOSHIMASU, 2007), cólon (PASZKOWSKA-SZCZUR et al., 2015), próstata (MIRECKA et al., 2014), orofaringe (SONG et al., 2013), estômago (XUE et al., 2012), SNC (SALNIKOVA et al., 2010) e vesícula (SRIVASTAVA, SRIVASTAVA e MITTAL, 2009). Um menor, porém significativo, número de trabalhos confere a tais polimorfismos papel protetor (ZHOU et al., 2015; CHANG et al., 2009; LIN et al., 2008; APPLEBAUM et al., 2007).

Neste trabalho, encontramos que o genótipo selvagem (GG) de XPD rs1799793 (Asp312Asn) pode ter um papel protetor quanto ao desenvolvimento de SMD.

Foram publicados dois estudos de caso-controle que correlacionaram o genótipo polimórfico de XPD rs13181 com uma maior chance de desenvolvimento de SMD (JOSHI et al., 2015; AKTUĞLU et al., 2014). Porém, até o momento, não há estudos que correlacionem o polimorfismo XPD rs1799793 com SMD, fazendo da nossa a primeira pesquisa a avaliar a presença do mesmo nos portadores de SMD.

Há duas meta-análises que visaram relacionar neoplasias hematológicas e SNPs de XPD. Uma delas foi publicada em 2014 por Liu e colegas, envolvendo 1494 pacientes e 2259 controles, e relatou que o polimorfismo XPD rs13181 parece ser fator de risco para LMA em indivíduos caucasianos (LIU et al., 2014). Este mesmo polimorfismo, por sua vez, se mostrou protetor para desenvolvimento de linfoma não-Hodgkin, enquanto que o polimorfismo de XPD rs1799793 não teve qualquer correlação, na meta-análise de Zhou e colegas (ZHOU et al., 2014).

O primeiro estudo a relacionar polimorfismos de genes de reparo de DNA e LMA relatou que pacientes portadores de polimorfismos XPD rs13181 e rs1799793 parecem ter menor resistência ao tratamento e maior chance de resposta completa (KUPTSOVA et al., 2007). O mesmo grupo, em

trabalho posterior, com população maior, seguiu correlacionando ambos genótipos variantes de XPD com maior chance de remissão completa em portadores de LMA secundária, assim como haplótipos que contivessem ao menos um destes polimorfismos (KUPTSOVA-CLARKSON et al., 2010). Tais achados não se repetiram em estudos envolvendo crianças com leucemia aguda, onde tais polimorfismos não se correlacionaram com prevalência (BATAR et al., 2009) nem com resposta ao tratamento (MEHTA et al., 2006), possivelmente devido a diferenças biológicas entre as neoplasias que incidem na populações infantil e adulta uma vez que adultos costumam apresentar mais achados citogenéticos de pior prognóstico e maior resistência a quimioterapia (MEHTA et al., 2006). Strom e pesquisadores, por sua vez, correlacionaram o polimorfismo XPD rs13181 com pior sobrevida global em portadores de LMA de risco intermediário (STROM et al., 2010) e El-Zein e colegas relacionaram a variante de XPD rs13181 com maior cardiotoxicidade e pior resposta ao tratamento, achado que não se repetiu com o polimorfismo de XPD rs1799793 (EL-ZEIN et al., 2009).

Trabalhos objetivando relacionar outras doenças hematológicas com polimorfismos de XPD são escassos e possuem resultados ainda conflitantes (BANESCU et al., 2014; POLETTTO et al., 2013; HERNÁNDEZ-BOLUDA et al., 2012; BOLUFER et al., 2006).

Sideroblastos em anel (SA) são precursores eritróides que contém mitocôndrias carregadas de ferro formando um anel perinuclear, comumente encontrados em pacientes com SMD. A presença de no mínimo 15% de sideroblastos em anel em medula óssea é necessária para o diagnóstico de SMD com sideroblasto em anel (SMD-SA) (MUFTI et al., 2012). Porém, sabe-se que sideroblastos em anel podem ser encontrados em outras categorias de SMD da WHO que não são definidas por esse achado morfológico (CAZZOLA et al., 2013). Uma alta prevalência de mutações no gene SF3B1, relacionado ao spliceossoma, foi reportada na SMD-SA (CAZZOLA et al., 2013; YOSHIDA et al., 2011). A mutação de SF3B1 tem um valor preditivo positivo de 97,7% para a presença de sideroblastos em anel (MALCOVATI et al., 2011) e independentemente da categoria da WHO, tal mutação define um subgrupo distinto de SMD com achados moleculares e clínicos homogêneos e prognóstico favorável (MALCOVATI et al., 2015). Patnaik e colegas sugerem ainda uma direta correlação entre a porcentagem de SA (%SA) e presença de mutação de SF3B1 em pacientes com SMD sem excesso de blastos e com %SA \geq 1%, incluindo uma frequência mutacional maior em pacientes com > 50% de SA em comparação com aqueles que possuem de 15 a 49% de SA em medula óssea (PATNAIK et al., 2012).

No presente trabalho encontramos que o genótipo selvagem (GG) de XPD rs1799793 se correlaciona com contagens abaixo de 15% de sideroblastos em anel em medula óssea. Se o status mutacional de SF3B1 positivo aumenta com quantidades progressivamente maiores de SA em medula óssea, como sugere Patnaik e pesquisadores (PATNAIK et al., 2012), seria possível supor

que o genótipo selvagem de XPD rs1799793 poderia estar relacionado a pior prognóstico entre portadores de SMD, dado esse que precisaria ser confirmado em grandes estudos populacionais prospectivos com longo tempo de seguimento para avaliação de progressão de doença e sobrevida.

O gene Xeroderma Pigmentoso do Grupo A (XPA) encontra-se no braço longo do cromossomo 9 (9q22.3) e possui 10 éxons. Seu mais amplamente estudado SNP é o XPA rs1800975, embora seu significado funcional não seja completamente entendido (WANG et al., 2013). Diversos trabalhos correlacionam a presença deste SNP com aumento de risco de tumores sólidos como pulmão (SAKODA et al., 2012; QIAN et al., 2011; CHO et al., 2011), rim (LIN et al., 2008), mama (HAN et al., 2012) e cólon (MA, ZHANG e ZHENG, 2012).

Na atualidade há poucos trabalhos envolvendo polimorfismos de XPA e neoplasias hematológicas. Estudo realizado por Monzo e colegas correlacionaram o SNP variante rs1800975 com maior quimiorresistência em portadores de LMA de risco intermediário (MONZO et al., 2006). Um estudo espanhol envolvendo linfomas de células B afirmou não ter observado qualquer diferença na distribuição dos genótipos entre casos e controles, mesmo separando os indivíduos por gênero ou subtipo de linfoma (RUIZ-COSANO, TORRES-MORENO e CONESA-ZAMORA, 2013).

Em nosso trabalho também não encontramos correlações significativas entre os genótipos de XPA rs1800975 e as características clínicas dos pacientes portadores de SMD. Não há trabalhos outros, até a presente data, envolvendo polimorfismos de XPA e SMD, nem observamos diferença de prevalência entre grupo SMD e controle.

O gene Xeroderma Pigmentoso do Grupo F (XPF) ou *Excision Repair Cross-Complementing Group 4* (ERCC4) localiza-se no braço curto do cromossomo 16 (16p13.12) e contém 11 éxons (SHI ET AL., 2012). O polimorfismo mais comum e frequente de seu gene é o rs1800067 (Arg415Gln), que pode afetar interações entre proteínas, diminuir a atividade do complexo ERCC1/XPF e alterar a susceptibilidade genética ao câncer (WANG et al., 2013). Diversos trabalhos correlacionam sua presença a maior risco de neoplasia de mama (LEE et al., 2014; JORGENSEN et al., 2009; RAJARAMAN et al., 2008; SMITH et al., 2008; HAN et al., 2008), pâncreas (MCWILLIAMS et al., 2008) e glioma (WANG, LIU e SHAO, 2013). Uma meta-análise chinesa sugeriu não haver relação entre diversos polimorfismos de XPF (rs1800067, rs1799801, rs2020955 e rs744154) e risco global de câncer (SHI et al., 2012). Há clara escassez de dados que liguem polimorfismos de XPF e neoplasias hematológicas. Apenas estudo canadense inferiu que XPF rs1800067 não se correlaciona com risco de LLA em crianças (KRAJINOVIC et al., 2002).

Em nosso trabalho também não encontramos correlações significativas entre os genótipos de XPF rs1800067 e as características clínicas dos pacientes portadores de SMD, nem observamos diferença de prevalência entre grupo SMD e controle.

6 RESUMO DOS RESULTADOS

- Associamos o genótipo selvagem do polimorfismo rs2228000 do gene XPC com maior razão de chances de níveis de hemoglobina e contagem de neutrófilos mais altos em portadores de SMD;
- Associamos o genótipo selvagem do polimorfismo rs1799793 do gene XPD a uma menor razão de chances de apresentar SMD e a maior razão de chances de apresentar <15% de sideroblastos em anel em medula óssea;
- Não obtivemos importantes associações dos polimorfismos rs1800067 do gene XPF e rs1800975 do gene XPA com as variáveis estudadas para os pacientes com SMD;
- Este estudo sugere que os polimorfismos de genes de reparo do DNA por excisão de nucleotídeos são associados a características clínicas de pacientes com Síndrome Mielodisplásica.

7 CONCLUSÃO

O presente estudo sugere que os polimorfismos de genes relacionados ao mecanismo reparo por excisão de nucleotídeos podem correlacionar-se com a incidência de SMD e com diversidade de apresentação clínica de tal doença.

REFERÊNCIAS

- AKTUGLU, M. B. et al. Investigation of DNA repair gene variants on myelodysplastic syndromes in a Turkish population. **Med Oncol**, v. 31, n. 10, p. 174, Oct 2014. ISSN 1559-131X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25154760> >.
- ALEKSEEV, S.; COIN, F. Orchestral maneuvers at the damaged sites in nucleotide excision repair. **Cell Mol Life Sci**, v. 72, n. 11, p. 2177-86, Jun 2015. ISSN 1420-9071. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25681868> >.
- APPLEBAUM, K. M. et al. Polymorphisms in nucleotide excision repair genes, arsenic exposure, and non-melanoma skin cancer in New Hampshire. **Environ Health Perspect**, v. 115, n. 8, p. 1231-6, Aug 2007. ISSN 0091-6765. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17687452> >.
- BAHCECI, A. et al. DNA repair gene polymorphisms in B cell non-Hodgkin's lymphoma. **Tumour Biol**, v. 36, n. 3, p. 2155-61, Mar 2015. ISSN 1423-0380. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25400036> >.
- BARAKAT, K.; GAJEWSKI, M.; TUSZYNSKI, J. A. DNA repair inhibitors: the next major step to improve cancer therapy. **Curr Top Med Chem**, v. 12, n. 12, p. 1376-90, 2012. ISSN 1873-4294. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22794314> >.
- BATAR, B. et al. DNA repair gene XPD and XRCC1 polymorphisms and the risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. **Leuk Res**, v. 33, n. 6, p. 759-63, Jun 2009. ISSN 1873-5835. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19101034> >.
- BEJAR, R. et al. Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes. **N Engl J Med**, v. 364, n. 26, p. 2496-506, Jun 2011. ISSN 1533-4406. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21714648> >.
- BELICKOVA, M. et al. DNA repair gene variants are associated with an increased risk of myelodysplastic syndromes in a Czech population. **J Hematol Oncol**, v. 6, p. 9, 2013. ISSN 1756-8722. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23339595> >.
- BELLI, C. B. et al. Myelodysplastic syndromes in South America: A multinational study of 1080 patients. **Am J Hematol**, Jun 2015. ISSN 1096-8652. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26104573> >.
- BENHAMOU, S.; SARASIN, A. ERCC2/XPD gene polymorphisms and cancer risk. **Mutagenesis**, v. 17, n. 6, p. 463-9, Nov 2002. ISSN 0267-8357. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12435843> >.
- BENNETT, J. M. et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. **Br J Haematol**, v. 33, n. 4, p. 451-8, Aug 1976. ISSN 0007-1048. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/188440> >.
- BERNASCONI, P. Molecular pathways in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia: relationships and distinctions-a review. **Br J Haematol**, v. 142, n. 5, p. 695-708, Sep 2008. ISSN 1365-2141. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18540941> >.

- BERNASCONI, P. et al. Validation of the new comprehensive cytogenetic scoring system (NCCSS) on 630 consecutive de novo MDS patients from a single institution. **Am J Hematol**, v. 88, n. 2, p. 120-9, Feb 2013. ISSN 1096-8652. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23349006> >.
- BIASON, P. et al. Nucleotide excision repair gene variants and association with survival in osteosarcoma patients treated with neoadjuvant chemotherapy. **Pharmacogenomics J**, v. 12, n. 6, p. 476-83, Dec 2012. ISSN 1473-1150. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21826087> >.
- BOHGAKI, T.; BOHGAKI, M.; HAKEM, R. DNA double-strand break signaling and human disorders. **Genome Integr**, v. 1, n. 1, p. 15, 2010. ISSN 2041-9414. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21054854> >.
- BOLDRIN, E. et al. Genetic risk of subsequent esophageal cancer in lymphoma and breast cancer long-term survival patients: a pilot study. **Pharmacogenomics J**, Jun 2015. ISSN 1473-1150. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26054330> >.
- BOLUFER, P. et al. Influence of genetic polymorphisms on the risk of developing leukemia and on disease progression. **Leuk Res**, v. 30, n. 12, p. 1471-91, Dec 2006. ISSN 0145-2126. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17023046> >.
- BĂNESCU, C. et al. Polymorphism of XRCC1, XRCC3, and XPD genes and risk of chronic myeloid leukemia. **Biomed Res Int**, v. 2014, p. 213790, 2014. ISSN 2314-6141. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24955348> >.
- CAZZOLA, M.; DELLA PORTA, M. G.; MALCOVATI, L. The genetic basis of myelodysplasia and its clinical relevance. **Blood**, v. 122, n. 25, p. 4021-34, Dec 2013. ISSN 1528-0020. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24136165> >.
- CAZZOLA, M. et al. Biologic and clinical significance of somatic mutations of SF3B1 in myeloid and lymphoid neoplasms. **Blood**, v. 121, n. 2, p. 260-9, Jan 2013. ISSN 1528-0020. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23160465> >.
- CHANG, C. H. et al. Significant association of XPD codon 312 single nucleotide polymorphism with bladder cancer susceptibility in Taiwan. **Anticancer Res**, v. 29, n. 10, p. 3903-7, Oct 2009. ISSN 1791-7530. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19846926> >.
- CHANG, J. S. et al. Nucleotide excision repair genes and risk of lung cancer among San Francisco Bay Area Latinos and African Americans. **Int J Cancer**, v. 123, n. 9, p. 2095-104, Nov 2008. ISSN 1097-0215. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18709642> >.
- _____. Base excision repair genes and risk of lung cancer among San Francisco Bay Area Latinos and African-Americans. **Carcinogenesis**, v. 30, n. 1, p. 78-87, Jan 2009. ISSN 1460-2180. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19029194> >.
- CHIHARA, D. et al. Incidence of myelodysplastic syndrome in Japan. **J Epidemiol**, v. 24, n. 6, p. 469-73, 2014. ISSN 1349-9092. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25088696> >.

- CHO, S. et al. Associations between polymorphisms in DNA repair genes and TP53 mutations in non-small cell lung cancer. **Lung Cancer**, v. 73, n. 1, p. 25-31, Jul 2011. ISSN 1872-8332. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21129811> >.
- CLARKE, G. M. et al. Basic statistical analysis in genetic case-control studies. **Nat Protoc**, v. 6, n. 2, p. 121-33, Feb 2011. ISSN 1750-2799. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21293453> >.
- COGLE, C. R. Incidence and Burden of the Myelodysplastic Syndromes. **Curr Hematol Malig Rep**, v. 10, n. 3, p. 272-81, Sep 2015. ISSN 1558-822X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26134527> >.
- COGLE, C. R. et al. Incidence of the myelodysplastic syndromes using a novel claims-based algorithm: high number of uncaptured cases by cancer registries. **Blood**, v. 117, n. 26, p. 7121-5, Jun 2011. ISSN 1528-0020. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21531980> >.
- D'AMELIO, A. M. et al. Using haplotype analysis to elucidate significant associations between genes and Hodgkin lymphoma. **Leuk Res**, v. 36, n. 11, p. 1359-64, Nov 2012. ISSN 1873-5835. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22902050> >.
- DE SWART, L. et al. Validation of the revised international prognostic scoring system (IPSS-R) in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes: a report from the prospective European LeukaemiaNet MDS (EUMDS) registry. **Br J Haematol**, v. 170, n. 3, p. 372-83, Aug 2015. ISSN 1365-2141. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25907546> >.
- DELLA PORTA, M. G. et al. Risk stratification based on both disease status and extra-hematologic comorbidities in patients with myelodysplastic syndrome. **Haematologica**, v. 96, n. 3, p. 441-9, Mar 2011. ISSN 1592-8721. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21134982> >.
- DIANOV, G. L.; HÜBSCHER, U. Mammalian base excision repair: the forgotten archangel. **Nucleic Acids Res**, v. 41, n. 6, p. 3483-90, Apr 2013. ISSN 1362-4962. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23408852> >.
- DIGIOVANNA, J. J.; KRAEMER, K. H. Shining a light on xeroderma pigmentosum. **J Invest Dermatol**, v. 132, n. 3 Pt 2, p. 785-96, Mar 2012. ISSN 1523-1747. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22217736> >.
- DING, P. et al. The relationship between seven common polymorphisms from five DNA repair genes and the risk for breast cancer in northern Chinese women. **PLoS One**, v. 9, n. 3, p. e92083, 2014. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24642895> >.
- DIZDAROGLU, M. Oxidatively induced DNA damage and its repair in cancer. **Mutat Res Rev Mutat Res**, v. 763, p. 212-45, 2015 Jan-Mar 2015. ISSN 1388-2139. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25795122> >.
- EL-ZEIN, R. et al. Genetic polymorphisms in DNA repair genes as modulators of Hodgkin disease risk. **Cancer**, v. 115, n. 8, p. 1651-9, Apr 2009. ISSN 0008-543X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19280628> >.
- FABIANI, E. et al. Polymorphisms of detoxification and DNA repair enzymes in myelodysplastic syndromes. **Leuk Res**, v. 33, n. 8, p. 1068-71, Aug 2009. ISSN 1873-5835. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19027952> >.

- FAGHRI, S. et al. Trichothiodystrophy: a systematic review of 112 published cases characterises a wide spectrum of clinical manifestations. **J Med Genet**, v. 45, n. 10, p. 609-21, Oct 2008. ISSN 1468-6244. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18603627> >.
- FISHEL, R. Mismatch Repair. **J Biol Chem**, Sep 2015. ISSN 1083-351X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26354434> >.
- GARCIA-MANERO, G. Myelodysplastic syndromes: 2015 Update on diagnosis, risk-stratification and management. **Am J Hematol**, v. 90, n. 9, p. 831-41, Sep 2015. ISSN 1096-8652. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26294090> >.
- GERMING, U. et al. Epidemiology, classification and prognosis of adults and children with myelodysplastic syndromes. **Ann Hematol**, v. 87, n. 9, p. 691-9, Sep 2008. ISSN 0939-5555. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18575866> >.
- GREENBERG, P. et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. **Blood**, v. 89, n. 6, p. 2079-88, Mar 1997. ISSN 0006-4971. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9058730> >.
- GREENBERG, P. L. et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. **Blood**, v. 120, n. 12, p. 2454-65, Sep 2012. ISSN 1528-0020. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22740453> >.
- GUILLEM, V. M. et al. XPC genetic polymorphisms correlate with the response to imatinib treatment in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia. **Am J Hematol**, v. 85, n. 7, p. 482-6, Jul 2010. ISSN 1096-8652. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20575039> >.
- GÓMEZ-DÍAZ, B. et al. Analysis of ERCC1 and ERCC2 gene variants in osteosarcoma, colorectal and breast cancer. **Oncol Lett**, v. 9, n. 4, p. 1657-1661, Apr 2015. ISSN 1792-1074. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25789018> >.
- HAFERLACH, T. et al. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes. **Leukemia**, v. 28, n. 2, p. 241-7, Feb 2014. ISSN 1476-5551. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24220272> >.
- HAN, J. et al. Genetic variation in DNA repair pathway genes and premenopausal breast cancer risk. **Breast Cancer Res Treat**, v. 115, n. 3, p. 613-22, Jun 2009. ISSN 1573-7217. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18551366> >.
- HAN, W. et al. SNP-SNP interactions between DNA repair genes were associated with breast cancer risk in a Korean population. **Cancer**, v. 118, n. 3, p. 594-602, Feb 2012. ISSN 1097-0142. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21751184> >.
- HE, J. et al. Associations of Lys939Gln and Ala499Val polymorphisms of the XPC gene with cancer susceptibility: a meta-analysis. **Int J Cancer**, v. 133, n. 8, p. 1765-75, Oct 2013. ISSN 1097-0215. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23400628> >.
- HERNÁNDEZ-BOLUDA, J. C. et al. A polymorphism in the XPD gene predisposes to leukemic transformation and new nonmyeloid malignancies in essential thrombocythemia and polycythemia vera. **Blood**, v. 119, n. 22, p. 5221-8, May 2012. ISSN 1528-0020. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22496165> >.

- HOEIJMAKERS, J. H. DNA damage, aging, and cancer. **N Engl J Med**, v. 361, n. 15, p. 1475-85, Oct 2009. ISSN 1533-4406. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19812404> >.
- HUTSELL, S. Q.; SANCAR, A. Nucleotide excision repair, oxidative damage, DNA sequence polymorphisms, and cancer treatment. **Clin Cancer Res**, v. 11, n. 4, p. 1355-7, Feb 2005. ISSN 1078-0432. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15746031> >.
- ISHIBASHI, M.; TAMURA, H.; OGATA, K. Disease progression mechanism in myelodysplastic syndromes: insight into the role of the microenvironment. **Leuk Res**, v. 35, n. 11, p. 1449-52, Nov 2011. ISSN 1873-5835. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21757231> >.
- IYAMA, T.; WILSON, D. M. DNA repair mechanisms in dividing and non-dividing cells. **DNA Repair (Amst)**, v. 12, n. 8, p. 620-36, Aug 2013. ISSN 1568-7856. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23684800> >.
- JASIN, M. Accolades for the DNA Damage Response. **N Engl J Med**, Sep 2015. ISSN 1533-4406. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26348215> >.
- JONAS, B. A.; GREENBERG, P. L. MDS prognostic scoring systems – past, present, and future. **Best Pract Res Clin Haematol**, v. 28, n. 1, p. 3-13, Mar 2015. ISSN 1532-1924. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25659725> >.
- JORGENSEN, T. J. et al. DNA repair gene variants associated with benign breast disease in high cancer risk women. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 18, n. 1, p. 346-50, Jan 2009. ISSN 1055-9965. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19124519> >.
- KANTARJIAN, H. et al. Proposal for a new risk model in myelodysplastic syndrome that accounts for events not considered in the original International Prognostic Scoring System. **Cancer**, v. 113, n. 6, p. 1351-61, Sep 2008. ISSN 0008-543X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18618511> >.
- KATARA, P. Single nucleotide polymorphism and its dynamics for pharmacogenomics. **Interdiscip Sci**, v. 6, n. 2, p. 85-92, Jun 2014. ISSN 1867-1462. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25172446> >.
- KIYOHARA, C.; YOSHIMASU, K. Genetic polymorphisms in the nucleotide excision repair pathway and lung cancer risk: a meta-analysis. **Int J Med Sci**, v. 4, n. 2, p. 59-71, 2007. ISSN 1449-1907. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17299578> >.
- KOMROKJI, R. S.; ZHANG, L.; BENNETT, J. M. Myelodysplastic syndromes classification and risk stratification. **Hematol Oncol Clin North Am**, v. 24, n. 2, p. 443-57, Apr 2010. ISSN 1558-1977. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20359636> >.
- KRAEMER, K. H. et al. Xeroderma pigmentosum, trichothiodystrophy and Cockayne syndrome: a complex genotype-phenotype relationship. **Neuroscience**, v. 145, n. 4, p. 1388-96, Apr 2007. ISSN 0306-4522. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17276014> >.
- KRAJINOVIC, M. et al. Polymorphisms in genes encoding drugs and xenobiotic metabolizing enzymes, DNA repair enzymes, and response to treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. **Clin Cancer Res**, v. 8, n. 3, p. 802-10, Mar 2002. ISSN 1078-0432. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11895912> >.

- KUPER, J.; KISKER, C. Damage recognition in nucleotide excision DNA repair. **Curr Opin Struct Biol**, v. 22, n. 1, p. 88-93, Feb 2012. ISSN 1879-033X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22257761> >.
- KUPTSOVA, N. et al. Polymorphisms in DNA repair genes and therapeutic outcomes of AML patients from SWOG clinical trials. **Blood**, v. 109, n. 9, p. 3936-44, May 2007. ISSN 0006-4971. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17197435> >.
- KUPTSOVA-CLARKSON, N. et al. XPD DNA nucleotide excision repair gene polymorphisms associated with DNA repair deficiency predict better treatment outcomes in secondary acute myeloid leukemia. **Int J Mol Epidemiol Genet**, v. 1, n. 4, p. 278-94, 2010. ISSN 1948-1756. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21394217> >.
- LAMARQUE, M. et al. The revised IPSS is a powerful tool to evaluate the outcome of MDS patients treated with azacitidine: the GFM experience. **Blood**, v. 120, n. 25, p. 5084-5, Dec 2012. ISSN 1528-0020. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23243156> >.
- LANGIE, S. A. et al. Causes of genome instability: the effect of low dose chemical exposures in modern society. **Carcinogenesis**, v. 36 Suppl 1, p. S61-88, Jun 2015. ISSN 1460-2180. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26106144> >.
- LEE, E. et al. Combined genetic and nutritional risk models of triple negative breast cancer. **Nutr Cancer**, v. 66, n. 6, p. 955-63, 2014. ISSN 1532-7914. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25023197> >.
- LEE, E. J. et al. The evolving field of prognostication and risk stratification in MDS: Recent developments and future directions. **Blood Rev**, Jun 2015. ISSN 1532-1681. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26119927> >.
- LI, L. et al. Detoxification and DNA repair genes polymorphisms and susceptibility of primary myelodysplastic syndromes in Chinese population. **Leuk Res**, v. 35, n. 6, p. 762-5, Jun 2011. ISSN 1873-5835. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21176850> >.
- LI, S. X. et al. Xeroderma pigmentosum complementation group D (XPD) gene polymorphisms contribute to bladder cancer risk: a meta-analysis. **Tumour Biol**, v. 35, n. 4, p. 3905-15, Apr 2014. ISSN 1423-0380. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24347488> >.
- LI, Y. et al. Potentially functional variants in the core nucleotide excision repair genes predict survival in Japanese gastric cancer patients. **Carcinogenesis**, v. 35, n. 9, p. 2031-8, Sep 2014. ISSN 1460-2180. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24990617> >.
- LIN, J. et al. Case-control analysis of nucleotide excision repair pathway and the risk of renal cell carcinoma. **Carcinogenesis**, v. 29, n. 11, p. 2112-9, Nov 2008. ISSN 1460-2180. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18711149> >.
- LINDAHL, T. Instability and decay of the primary structure of DNA. **Nature**, v. 362, n. 6422, p. 709-15, Apr 1993. ISSN 0028-0836. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8469282> >.
- LUNN, R. M. et al. XPD polymorphisms: effects on DNA repair proficiency. **Carcinogenesis**, v. 21, n. 4, p. 551-5, Apr 2000. ISSN 0143-3334. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10753184> >.

LV, L. et al. Case-control study of risk factors of myelodysplastic syndromes according to World Health Organization classification in a Chinese population. **Am J Hematol**, v. 86, n. 2, p. 163-9, Feb 2011. ISSN 1096-8652. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21264898> >.

MA, X. et al. Myelodysplastic syndromes: incidence and survival in the United States. **Cancer**, v. 109, n. 8, p. 1536-42, Apr 2007. ISSN 0008-543X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17345612> >.

MA, X.; ZHANG, B.; ZHENG, W. Genetic variants associated with colorectal cancer risk: comprehensive research synopsis, meta-analysis, and epidemiological evidence. **Gut**, v. 63, n. 2, p. 326-36, Feb 2014. ISSN 1468-3288. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23946381> >.

MAGALHÃES, S. M. M. et al. **Epidemiological and Clinicopathological Data From the Brazilian Registry of Patients with Myelodysplastic Syndromes and Comparative Analysis between different geographic areas. Blood.** 116, abstract 1884 2010.

MALCOVATI, L. et al. Impact of the degree of anemia on the outcome of patients with myelodysplastic syndrome and its integration into the WHO classification-based Prognostic Scoring System (WPSS). **Haematologica**, v. 96, n. 10, p. 1433-40, Oct 2011. ISSN 1592-8721. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21659359> >.

_____. SF3B1 mutation identifies a distinct subset of myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts. **Blood**, v. 126, n. 2, p. 233-41, Jul 2015. ISSN 1528-0020. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25957392> >.

MATSUDA, A. et al. Difference in clinical features between Japanese and German patients with refractory anemia in myelodysplastic syndromes. **Blood**, v. 106, n. 8, p. 2633-40, Oct 2005. ISSN 0006-4971. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15972453> >.

MCWILLIAMS, R. R. et al. Polymorphisms in DNA repair genes, smoking, and pancreatic adenocarcinoma risk. **Cancer Res**, v. 68, n. 12, p. 4928-35, Jun 2008. ISSN 1538-7445. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18544627> >.

MEHTA, P. A. et al. XPD Lys751Gln polymorphism in the etiology and outcome of childhood acute myeloid leukemia: a Children's Oncology Group report. **Blood**, v. 107, n. 1, p. 39-45, Jan 2006. ISSN 0006-4971. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16150943> >.

MEI, C. R. et al. DNA Repair Gene Polymorphisms in the Nucleotide Excision Repair Pathway and Lung Cancer Risk: A Meta-analysis. **Chin J Cancer Res**, v. 23, n. 2, p. 79-91, Jun 2011. ISSN 1000-9604. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23482879> >.

MIRECKA, A. et al. Common variants of xeroderma pigmentosum genes and prostate cancer risk. **Gene**, v. 546, n. 2, p. 156-61, Aug 2014. ISSN 1879-0038. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24933002> >.

MONROY, C. M. et al. Hodgkin lymphoma risk: role of genetic polymorphisms and gene-gene interactions in DNA repair pathways. **Mol Carcinog**, v. 50, n. 11, p. 825-34, Nov 2011. ISSN 1098-2744. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21374732> >.

MONZO, M. et al. Genomic polymorphisms provide prognostic information in intermediate-risk acute myeloblastic leukemia. **Blood**, v. 107, n. 12, p. 4871-9, Jun 2006. ISSN 0006-4971. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16507781> >.

MORAES, A. C. R. et al. **Síndromes mielodisplásicas: aspectos moleculares, laboratoriais e a classificação OMS 2008**. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 31: 463-470 p. 2009.

MUFTI, G. J. et al. Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome: International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndrome (IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. **Haematologica**, v. 93, n. 11, p. 1712-7, Nov 2008. ISSN 1592-8721. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18838480> >.

NATALE, V. A comprehensive description of the severity groups in Cockayne syndrome. **Am J Med Genet A**, v. 155A, n. 5, p. 1081-95, May 2011. ISSN 1552-4833. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21480477> >.

NATELSON, E. A.; PYATT, D. Acquired myelodysplasia or myelodysplastic syndrome: clearing the fog. **Adv Hematol**, v. 2013, p. 309637, 2013. ISSN 1687-9104. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24194760> >.

NEUKIRCHEN, J. et al. Validation of the revised international prognostic scoring system (IPSS-R) in patients with myelodysplastic syndrome: a multicenter study. **Leuk Res**, v. 38, n. 1, p. 57-64, Jan 2014. ISSN 1873-5835. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24238640> >.

_____. Incidence and prevalence of myelodysplastic syndromes: data from the Düsseldorf MDS-registry. **Leuk Res**, v. 35, n. 12, p. 1591-6, Dec 2011. ISSN 1873-5835. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21708407> >.

OGI, T. et al. Three DNA polymerases, recruited by different mechanisms, carry out NER repair synthesis in human cells. **Mol Cell**, v. 37, n. 5, p. 714-27, Mar 2010. ISSN 1097-4164. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20227374> >.

OZTURK, S.; DEMIR, N. DNA repair mechanisms in mammalian germ cells. **Histol Histopathol**, v. 26, n. 4, p. 505-17, Apr 2011. ISSN 1699-5848. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21360444> >.

PAPAEMMANUIL, E. et al. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. **Blood**, v. 122, n. 22, p. 3616-27; quiz 3699, Nov 2013. ISSN 1528-0020. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24030381> >.

PASZKOWSKA-SZCZUR, K. et al. Polymorphisms in nucleotide excision repair genes and susceptibility to colorectal cancer in the Polish population. **Mol Biol Rep**, v. 42, n. 3, p. 755-64, Mar 2015. ISSN 1573-4978. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25391773> >.

_____. Xeroderma pigmentosum genes and melanoma risk. **Int J Cancer**, v. 133, n. 5, p. 1094-100, Sep 2013. ISSN 1097-0215. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23436679> >.

PATNAIK, M. M. et al. Prognostic irrelevance of ring sideroblast percentage in World Health Organization-defined myelodysplastic syndromes without excess blasts. **Blood**, v. 119, n. 24, p. 5674-7, Jun 2012. ISSN 1528-0020. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22538853>.

POLETTI, V. et al. No association between the XPD Lys751Gln (rs13181) polymorphism and disease phenotype or leukemic transformation in primary myelofibrosis. **Haematologica**, v. 98, n. 8, p. e83-4, Aug 2013. ISSN 1592-8721. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23716550> >.

QIAN, B. et al. Association of genetic polymorphisms in DNA repair pathway genes with non-small cell lung cancer risk. **Lung Cancer**, v. 73, n. 2, p. 138-46, Aug 2011. ISSN 1872-8332. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21195504> >.

RAJARAMAN, P. et al. Nucleotide excision repair polymorphisms may modify ionizing radiation-related breast cancer risk in US radiologic technologists. **Int J Cancer**, v. 123, n. 11, p. 2713-6, Dec 2008. ISSN 1097-0215. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18767034> >.

RIBEIRO, H. L. et al. Polymorphisms of DNA repair genes are related to the pathogenesis of myelodysplastic syndrome. **Hematol Oncol**, Oct 2014. ISSN 1099-1069. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25312513> >.

_____. ATM polymorphism is associated with low risk myelodysplastic syndrome. **DNA Repair (Amst)**, v. 12, n. 2, p. 87-9, Feb 2013. ISSN 1568-7856. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23246256> >.

RICHMAN, S. Deficient mismatch repair: Read all about it (Review). **Int J Oncol**, Aug 2015. ISSN 1791-2423. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26315971> >.

RODGER, E. J.; MORISON, I. M. Myelodysplastic syndrome in New Zealand and Australia. **Intern Med J**, v. 42, n. 11, p. 1235-42, Nov 2012. ISSN 1445-5994. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22032810> >.

ROLLISON, D. E. et al. Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United States, 2001-2004, using data from the NAACCR and SEER programs. **Blood**, v. 112, n. 1, p. 45-52, Jul 2008. ISSN 1528-0020. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18443215> >.

ROUILLON, C.; WHITE, M. F. The evolution and mechanisms of nucleotide excision repair proteins. **Res Microbiol**, v. 162, n. 1, p. 19-26, Jan 2011. ISSN 1769-7123. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20863882> >.

RUIZ-COSANO, J.; TORRES-MORENO, D.; CONESA-ZAMORA, P. Influence of polymorphisms in ERCC5, XPA and MTR DNA repair and synthesis genes in B-cell lymphoma risk. A case-control study in Spanish population. **J BUON**, v. 18, n. 2, p. 486-90, 2013 Apr-Jun 2013. ISSN 1107-0625. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23818366> >.

SAKODA, L. C. et al. Germ line variation in nucleotide excision repair genes and lung cancer risk in smokers. **Int J Mol Epidemiol Genet**, v. 3, n. 1, p. 1-17, 2012. ISSN 1948-1756. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22493747> >.

SALNIKOVA, L. E. et al. Association study of xenobiotic detoxication and repair genes with malignant brain tumors in children. **Acta Naturae**, v. 2, n. 4, p. 58-65, Oct 2010. ISSN 2075-8251. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22649665> >.

SANTOS, L. S. et al. The role of CCNH Val270Ala (rs2230641) and other nucleotide excision repair polymorphisms in individual susceptibility to well-differentiated thyroid cancer. **Oncol Rep**, v. 30, n. 5, p. 2458-66, Nov 2013. ISSN 1791-2431. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23982724> >.

SCHANZ, J. et al. New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international database merge. **J Clin Oncol**, v. 30, n. 8, p. 820-9, Mar 2012. ISSN 1527-7755. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22331955> >.

SCHÄRER, O. D. Nucleotide excision repair in eukaryotes. **Cold Spring Harb Perspect Biol**, v. 5, n. 10, p. a012609, Oct 2013. ISSN 1943-0264. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24086042> >.

SEKERES, M. A. The epidemiology of myelodysplastic syndromes. **Hematol Oncol Clin North Am**, v. 24, n. 2, p. 287-94, Apr 2010. ISSN 1558-1977. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20359626> >.

SHI, T. Y. et al. Association between XPF polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis. **PLoS One**, v. 7, n. 7, p. e38606, 2012. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22768293> >.

SHIN, A. et al. Genotype-phenotype relationship between DNA repair gene genetic polymorphisms and DNA repair capacity. **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 9, n. 3, p. 501-5, 2008 Jul-Sep 2008. ISSN 1513-7368. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18990028> >.

SMITH, T. R. et al. Polygenic model of DNA repair genetic polymorphisms in human breast cancer risk. **Carcinogenesis**, v. 29, n. 11, p. 2132-8, Nov 2008. ISSN 1460-2180. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18701435> >.

_____. Genetic polymorphisms of multiple DNA repair pathways impact age at diagnosis and TP53 mutations in breast cancer. **Carcinogenesis**, v. 32, n. 9, p. 1354-60, Sep 2011. ISSN 1460-2180. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21700777> >.

SONG, X. et al. Variants in nucleotide excision repair core genes and susceptibility to recurrence of squamous cell carcinoma of the oropharynx. **Int J Cancer**, v. 133, n. 3, p. 695-704, Aug 2013. ISSN 1097-0215. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23335232> >.

SRIVASTAVA, K.; SRIVASTAVA, A.; MITTAL, B. Polymorphisms in ERCC2, MSH2, and OGG1 DNA repair genes and gallbladder cancer risk in a population of Northern India. **Cancer**, v. 116, n. 13, p. 3160-9, Jul 2010. ISSN 0008-543X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20564624> >.

STERN, M. C. et al. Polymorphisms in DNA repair genes, smoking, and bladder cancer risk: findings from the international consortium of bladder cancer. **Cancer Res**, v. 69, n. 17, p. 6857-64, Sep 2009. ISSN 1538-7445. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19706757> >.

SWERDLOW, S. H. et al. **WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues**. 4th edition. Lyon, France: IARC Press, 2008.

- TAILLON-MILLER, P.; PIERNOT, E. E.; KWOK, P. Y. Efficient approach to unique single-nucleotide polymorphism discovery. **Genome Res**, v. 9, n. 5, p. 499-505, May 1999. ISSN 1088-9051. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10330130> >.
- THIELE, J. et al. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. **Haematologica**, v. 90, n. 8, p. 1128-32, Aug 2005. ISSN 1592-8721. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16079113> >.
- TIU, R. V. et al. Prognostic impact of SNP array karyotyping in myelodysplastic syndromes and related myeloid malignancies. **Blood**, v. 117, n. 17, p. 4552-60, Apr 2011. ISSN 1528-0020. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21285439> >.
- VAN SPRONSEN, M. F. et al. Improved risk stratification by the integration of the revised international prognostic scoring system with the myelodysplastic syndromes comorbidity index. **Eur J Cancer**, v. 50, n. 18, p. 3198-205, Dec 2014. ISSN 1879-0852. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25454415> >.
- VOSO, M. T. et al. Revised International Prognostic Scoring System (IPSS) predicts survival and leukemic evolution of myelodysplastic syndromes significantly better than IPSS and WHO Prognostic Scoring System: validation by the Gruppo Romano Mielodisplasie Italian Regional Database. **J Clin Oncol**, v. 31, n. 21, p. 2671-7, Jul 2013. ISSN 1527-7755. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23796988> >.
- WANG, J. et al. SNP web resources and their potential applications in personalized medicine. **Curr Drug Metab**, v. 13, n. 7, p. 978-90, Sep 2012. ISSN 1875-5453. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22591348> >.
- WANG, M. et al. Molecular epidemiology of DNA repair gene polymorphisms and head and neck cancer. **J Biomed Res**, v. 27, n. 3, p. 179-92, May 2013. ISSN 1674-8301. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23720673> >.
- WANG, X. F.; LIU, S.; SHAO, Z. K. Effects of polymorphisms in nucleotide excision repair genes on glioma risk in a Chinese population. **Gene**, v. 529, n. 2, p. 317-20, Oct 2013. ISSN 1879-0038. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23911298> >.
- WANG, Y. et al. Association between CCND1 and XPC polymorphisms and bladder cancer risk: a meta-analysis based on 15 case-control studies. **Tumour Biol**, v. 35, n. 4, p. 3155-65, Apr 2014. ISSN 1423-0380. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24264314> >.
- WHIRL-CARRILLO, M. et al. Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. **Clin Pharmacol Ther**, v. 92, n. 4, p. 414-7, Oct 2012. ISSN 1532-6535. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22992668> >.
- WILSON, D. M. et al. Variation in base excision repair capacity. **Mutat Res**, v. 711, n. 1-2, p. 100-12, Jun 2011. ISSN 0027-5107. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21167187> >.
- XU, P. et al. Polymorphisms in XPC provide prognostic information in acute myeloid leukemia. **Int J Hematol**, v. 96, n. 4, p. 450-60, Oct 2012. ISSN 1865-3774. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22968471> >.

XUE, H. et al. The effect of XPD/ERCC2 polymorphisms on gastric cancer risk among different ethnicities: a systematic review and meta-analysis. **PLoS One**, v. 7, n. 9, p. e43431, 2012. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23028453> >.

YANG, Y. T. et al. IPSS-R in 555 Taiwanese patients with primary MDS: Integration of monosomal karyotype can better risk-stratify the patients. **Am J Hematol**, v. 89, n. 9, p. E142-9, Sep 2014. ISSN 1096-8652. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24845799> >.

YOSHIDA, K. et al. Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia. **Nature**, v. 478, n. 7367, p. 64-9, Oct 2011. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21909114> >.

YUAN, L. et al. XPD Lys751Gln polymorphism and esophageal cancer risk: a meta-analysis involving 2288 cases and 4096 controls. **World J Gastroenterol**, v. 17, n. 18, p. 2343-8, May 2011. ISSN 2219-2840. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21633601> >.

ZHOU, J. et al. Genetic polymorphisms of DNA repair pathways influence the response to chemotherapy and overall survival of gastric cancer. **Tumour Biol**, v. 36, n. 4, p. 3017-23, Apr 2015. ISSN 1423-0380. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25542228> >.

ZHOU, J. Y. et al. Comprehensive assessment of associations between ERCC2 Lys751Gln/Asp312Asn polymorphisms and risk of non-Hodgkin lymphoma. **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 15, n. 21, p. 9347-53, 2014. ISSN 1513-7368. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25422223> >.

APÊNDICE A



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PROJETO: ESTUDO DE POLIMORFISMOS DE GENES DE REPARO DO DNA NO DESENVOLVIMENTO E PROGNÓSTICO DA SÍNDROME MIELODISPLÁSICA.

Você está sendo convidado (a) a participar de um projeto de pesquisa. Sua participação é importante, porém, você não deve participar contra a sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar.

O abaixo assinado, _____, _____, _____ anos, RG nº _____, declara que é de livre e espontânea vontade que está participando como voluntário do projeto de pesquisa supracitado, de responsabilidade do pesquisador Prof. Dr. Ronald Feitosa Pinheiro / Sabrina Pinheiro Santiago. O abaixo assinado está ciente de que:

NATUREZA E PROPÓSITO DO ESTUDO

O presente estudo tem por objetivo comparar determinadas características genéticas de 90 pacientes portadores de Síndrome Mielodisplásica (SMD) com as de 180 indivíduos de idade semelhante, não portadores de doença hematológica. Essa investigação visa entender se tais características genéticas são diferentes entre os dois grupos e se contribuem de alguma forma para a instalação e desenvolvimento da SMD.

PROCEDIMENTOS A SEREM REALIZADOS

Antes de sua participação no estudo, você será esclarecido das condições nas quais será desenvolvida a pesquisa clínica. Em entrevista, serão coletados dados pessoais de sexo e idade, condição clínica e medicações em uso.

Para participação no estudo será realizada, após seu consentimento, coleta de 15 mL de sangue em veia do braço, como acontece em qualquer laboratório comum. A coleta será realizada por profissional experiente e qualificado para tal atividade. A punção pode, ocasionalmente, determinar uma equimose (mancha arroxeadada) ou hematoma (pequena coleção de sangue) ao redor do local de onde foi retirado o sangue, habitualmente sem maiores consequências e com desaparecimento em cerca de 14 a 21 dias. Será realizado, a partir desta amostra coletada, seu hemograma completo e a realização da pesquisa dos polimorfismos dos genes de reparo de DNA propostos. O resultado do hemograma lhe será entregue no intervalo máximo de 10 (dez) dias.

Caso haja qualquer alteração em seu hemograma que exija investigação, a pesquisadora, que é hematologista, se compromete a iniciar seu seguimento e encaminhá-lo (a) ao ambulatório de triagem do Hospital Universitário Walter Cantídio caso seja necessário acompanhamento a longo prazo.

Sua participação é voluntária e você tem a liberdade de desistir ou interromper a participação neste estudo no momento em que desejar. Neste caso, você deve informar assim que possível sua decisão à pesquisadora ou a um membro de sua equipe, sem necessidade de qualquer explicação.

Independentemente de seu desejo e consentimento, sua participação no estudo poderá ser interrompida, em função da ocorrência de qualquer complicação que, a critério médico, prejudique a continuação de sua participação no estudo, do não cumprimento das normas estabelecidas, de qualquer outro motivo que, a critério da pesquisadora, seja do interesse de seu próprio bem-estar ou dos demais participantes e, por fim, da suspensão do estudo como um todo.

A pesquisadora o manterá informado, em tempo oportuno, sempre que houver alguma informação adicional que possa influenciar seu desejo de continuar participando no estudo e prestará qualquer tipo de esclarecimento em relação ao progresso da pesquisa, conforme sua solicitação.

DIVULGAÇÃO DE INFORMAÇÕES QUANTO À PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO

Os registros que possam identificar sua identidade serão mantidos em sigilo, a não ser que haja obrigação legal de divulgação. Você não será identificado por ocasião da publicação dos resultados obtidos.

Contudo, o(s) monitor(es) do Estudo, auditor(es), membros do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, ou autoridades do(s) órgão(s) regulamentar(es) envolvido(s) terão direito de ter acesso aos registros originais de dados clínicos de sua pessoa, coletados durante a pesquisa, na extensão em que for permitido pela Lei e regulamentações aplicáveis, como o propósito de verificar os procedimentos e dados do estudo, sem, no entanto, violar a condição de que tais informações são confidenciais. Ao assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, você está também autorizado tal acesso, mesmo se você se retirar do estudo.

CONTATOS E PERGUNTAS

Caso surja algum imprevisto ou dúvidas, você deverá entrar em contato direto com o pesquisador responsável pelo estudo: **Dr. Ronald Feitosa Pinheiro (85 – 9986-3473)** ou com a aluna de Mestrado Acadêmico **Sabrina Pinheiro Santiago (85 – 9626-9333)**.

Poderá contatar a Secretaria do **Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará** na Rua Coronel Nunes de Melo, 1000, **3366-8344** para apresentar recursos ou reclamações em relação ao estudo.

Só assine este termo se você tiver a certeza de que recebeu todos os esclarecimentos e informações para decidir conscientemente sobre a sua participação neste estudo.

ASSINATURAS

Ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, eu também estou certificando que toda a informação que eu prestei, é verdadeira e correta, e declaro estar recebendo uma cópia assinada deste documento.

Autorizo o acesso às minhas informações de saúde aos membros da equipe de pesquisadores, nas condições estabelecidas descritas nos itens acima.

Não renunciei qualquer direito legal que eu venha a ter ao participar deste Estudo.

Eu, por fim, declaro que li cuidadosamente todo este documento denominado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após, tive oportunidade de fazer perguntas sobre o conteúdo do mesmo e também sobre o Estudo, e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas e reafirmo estar livre e espontaneamente decidido a participar do Estudo.

Data: ____/____/____

Assinatura do participante da pesquisa

Data ____/____/____

Assinatura do Pesquisador

APÊNDICE B



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PROJETO: ESTUDO DE POLIMORFISMOS DE GENES DE REPARO DO DNA NO DESENVOLVIMENTO E PROGNÓSTICO DA SÍNDROME MIELODISPLÁSICA.

Você está sendo convidado (a) a participar de um projeto de pesquisa. Sua participação é importante, porém, você não deve participar contra a sua vontade. Leia atentamente as informações abaixo e faça qualquer pergunta que desejar.

O abaixo assinado, _____, _____, _____ anos, RG nº _____, declara que é de livre e espontânea vontade que está participando como voluntário do projeto de pesquisa supracitado, de responsabilidade do pesquisador Prof. Dr. Ronald Feitosa Pinheiro / Sabrina Pinheiro Santiago. O abaixo assinado está ciente de que:

NATUREZA E PROPÓSITO DO ESTUDO

O presente estudo tem por objetivo comparar determinadas características genéticas de 90 pacientes portadores de Síndrome Mielodislásica (SMD) com as de 180 indivíduos de idade semelhante, não portadores de doença hematológica. Essa investigação visa entender se tais características genéticas são diferentes entre os dois grupos e se contribuem de alguma forma para a instalação e desenvolvimento da SMD.

PROCEDIMENTO A SER REALIZADO

Antes de sua participação no estudo, você será esclarecido das condições nas quais será desenvolvida a pesquisa clínica. Serão coletados, em entrevista, dados pessoais como sexo e idade, medicações em uso, apresentação clínica e checagem dos exames laboratoriais aos quais você foi previamente submetido durante investigação diagnóstica de sua doença tais como hemogramas completos, citologia e histologia da medula óssea (mielograma e biópsia), avaliação para depósitos de ferro medular e cariótipo.

Para participação no estudo será realizada, após seu consentimento, coleta de 15 mL de sangue em veia do braço, como acontece em qualquer laboratório comum. A coleta será realizada por profissional experiente e qualificado para tal atividade. A punção pode, ocasionalmente, determinar uma equimose (mancha arroxeadada) ou hematoma (pequena coleção de sangue) ao redor do local de onde foi retirado o sangue, habitualmente sem maiores consequências e com desaparecimento em cerca de 14 a 21 dias.

Será realizada, a partir desta amostra coletada, seu hemograma completo e a realização da pesquisa dos polimorfismos dos genes de reparo de DNA propostos. O resultado do hemograma lhe será entregue no intervalo máximo de 10 (dez) dias.

Sua participação é voluntária e você tem a liberdade de desistir ou interromper a participação neste estudo no momento em que desejar. Neste caso, você deve informar assim que possível sua decisão à pesquisadora ou a um membro de sua equipe, sem necessidade de qualquer explicação.

Independentemente de seu desejo e consentimento, sua participação no estudo poderá ser interrompida, em função da ocorrência de qualquer complicação que, a critério médico, prejudique a continuação de sua participação no estudo, do não cumprimento das normas estabelecidas, de qualquer outro motivo que, a critério da pesquisadora, seja do interesse de seu próprio bem-estar ou dos demais participantes e, por fim, da suspensão do estudo como um todo.

A pesquisadora o manterá informado, em tempo oportuno, sempre que houver alguma informação adicional que possa influenciar seu desejo de continuar participando no estudo e prestará qualquer tipo de esclarecimento em relação ao progresso da pesquisa, conforme sua solicitação.

DIVULGAÇÃO DE INFORMAÇÕES QUANTO À PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO

Os registros que possam identificar sua identidade serão mantidos em sigilo, a não ser que haja obrigação legal de divulgação. Você não será identificado por ocasião da publicação dos resultados obtidos.

Contudo, o(s) monitor(es) do Estudo, auditor(es), membros do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, ou autoridades do(s) órgão(s) regulamentar(es) envolvido(s) terão direito de ter acesso aos registros originais de dados clínicos de sua pessoa, coletados durante a pesquisa, na extensão em que for permitido pela Lei e regulamentações aplicáveis, como o propósito de verificar os procedimentos e dados do estudo, sem, no entanto, violar a condição de que tais informações são confidenciais. Ao assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, você está também autorizado tal acesso, mesmo se você se retirar do estudo.

CONTATOS E PERGUNTAS

Caso surja algum imprevisto ou dúvidas, você deverá entrar em contato direto com o pesquisador responsável pelo estudo: **Dr. Ronald Feitosa Pinheiro (85 – 9986-3473)** ou com a aluna de Mestrado Acadêmico **Sabrina Pinheiro Santiago (85 – 9626-9333)**.

Poderá contatar a Secretaria do **Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará** na Rua Coronel Nunes de Melo, 1000, **3366-8344** para apresentar recursos ou reclamações em relação ao estudo.

Só assine este termo se você tiver a certeza de que recebeu todos os esclarecimentos e informações para decidir conscientemente sobre a sua participação neste estudo.

ASSINATURAS

Ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, eu também estou certificando que toda a informação que eu prestei, é verdadeira e correta, e declaro estar recebendo uma cópia assinada deste documento.

Autorizo o acesso às minhas informações de saúde aos membros da equipe de pesquisadores, nas condições estabelecidas descritas nos itens acima.

Não renunciei qualquer direito legal que eu venha a ter ao participar deste Estudo.

Eu, por fim, declaro que li cuidadosamente todo este documento denominado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após, tive oportunidade de fazer perguntas sobre o conteúdo do mesmo e também sobre o Estudo, e recebi explicações que responderam por completo minhas dúvidas e reafirmo estar livre e espontaneamente decidido a participar do Estudo.

Data: ____/____/____

Assinatura do participante da pesquisa

Data ____/____/____

Assinatura do Pesquisador