



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
CURSO DE FARMÁCIA

MARIA AMANDA SILVA DE ARAÚJO

**AVALIAÇÃO DE POLIMORFISMOS EM GENES DAS CITOCINAS IL-6 E IL-10 EM
PACIENTES PORTADORES DA NEOPLASIA MIELODISPLÁSICA**

FORTALEZA
2023

MARIA AMANDA SILVA DE ARAUJO

**AVALIAÇÃO DE POLIMORFISMOS EM GENES DAS CITOCINAS IL-6 E IL-10 EM
PACIENTES PORTADORES DA NEOPLASIA MIELODISPLÁSICA**

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Ronald Feitosa Pinheiro.
Coorientadora: Dra. Roberta Taiane Germano de Oliveira.

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

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

A69a Araújo, Maria Amanda Silva de.
Avaliação De Polimorfismos Em Genes Das Citocinas Il-6 E Il-10 Em Pacientes Portadores Da
Neoplasia Mielodisplásica / Maria Amanda Silva de Araújo. – 2023.
81 f : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia,
Odontologia e Enfermagem, Curso de Farmácia, Fortaleza, 2023.

Orientação: Prof. Dr. Ronald Feitosa Pinheiro.

Coorientação: Prof. Dr. Roberta Taiane Germano de Oliveira.

1. Neoplasia Mielodisplásica. 2. citocinas. 3. polimorfismos. 4. imunologia. I. Título.

CDD 615

MARIA AMANDA SILVA DE ARAUJO

**AVALIAÇÃO DE POLIMORFISMOS EM GENES DAS CITOCINAS IL-6 E IL-10 EM
PACIENTES PORTADORES DA NEOPLASIA MIELODISPLÁSICA**

Monografia apresentada ao Curso de Farmácia
da Universidade Federal do Ceará, como
requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.

Aprovada em: 30/06/2023.

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dra. Daniela de Paula Borges
Centro Universitário Christus (UNICHRISTUS)

Prof. Dr. Tiago Lima Sampaio
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me manter forte e permitir-me alcançar os meus objetivos.

Aos meus pais: obrigada papai por sempre estar ao meu lado, me ensinando o caminho correto e sendo um exemplo para mim. Ao meu irmão, que por vezes me trouxe a leveza necessária nos dias mais difíceis, você é o orgulho da maninha. Em especial, agradeço a minha mãe, que foi e sempre será minha principal inspiração, que me fez abraçar um sonho e torná-lo realidade, que sempre acreditou e confiou em mim. Esse é apenas o começo.

A minha companheira, Laís, que nunca me deixou desistir, que incontáveis vezes foi minha professora e me manteve firme, você foi essencial nessa etapa.

Aos meus filhos de quatro patas: Jasmim, Jack, João e José, por serem os seres mais puros do mundo, que acalmam o meu coração mais que qualquer ser humano.

À minha prima Grazy, por ter sido a primeira pessoa a me mostrar que o conhecimento é uma peça vital, que o estudo é uma fonte capaz de modificar o mundo.

Ao meu primo Emanuel, que é exemplo de determinação e um grande parceiro e irmão mais velho.

Aos meus familiares, em especial minha tia Liduína, tia Paula, minha avó Umbelina, minha prima Camilla, minha prima Emanuela e meu tio Evaldo por serem parte da minha história e minha base.

Aos meus amigos de trajetória: Vanessa, Clarissa, Alessandro, Gabriela e Ana, vocês foram incríveis e seguraram a minha mão quando pensei que não conseguiria, viveram essa etapa comigo mais que todo mundo e são parte da minha vida e da minha história.

À minha coorientadora, Roberta, por me ensinar tanto, para além dos conhecimentos acadêmicos. Você é inspiração para mim.

Aos queridos JV e Mateus por terem me ajudado e sanado todas minhas dúvidas, pela abdicação de tempo e pela parceria.

À Mayara, por ter sido uma ótima mentora, um exemplo de pessoa e profissional para mim, obrigada por todo carinho e acolhimento.

A todos os membros do Laboratório de Citogenômica do Câncer por serem minha porta de entrada e me fornecerem as ferramentas necessárias para traçar os meus objetivos, agradeço também por me ensinarem a amar a ciência e serem pessoas e profissionais incríveis.

Aos professores participantes da banca examinadora, Daniela de Paula Borges e Tiago Lima Sampaio pelo tempo concedido a mim e pelas valiosas sugestões e colaborações.

Ao meu orientador, professor Ronald Feitosa, por ser um exemplo de profissional e por mostrar que o conhecimento abre portas.

Ao meu preceptor de estágio, Tiê, que foi um grande parceiro nessa etapa, me auxiliando, ensinando e me ouvindo sempre que precisei. A todos do Hemoce, em especial ao setor de imuno-hematologia, que me acompanharam e me mostraram que conhecimento e ética são aliados e fundamentais para vida.

À Professora Alcínia, por ter me ensinado a amar hematologia, por ter fortalecido meu apreço pelo curso de farmácia e sido minha inspiração acadêmica.

Ao presidente Lula, por ser peça chave na democratização do acesso ao ensino superior e fazer meu sonho ser alcançável.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa iniciação científica.

“Se as coisas são inatingíveis... ora!
Não é motivo para não querê-las...
Que tristes os caminhos, se não fora
A presença distante das estrelas!”

(Mário Quintana)

“Os que se encantam com a prática
sem a ciência são como os timoneiros que
entram no navio sem timão nem bússola,
nunca tendo certeza do seu destino”.

(Leonardo da Vinci)

RESUMO

A Neoplasia Mielodisplásica é enquadrada num grupo heterogêneo de doenças hematológicas, sendo descrita pela presença de hematopoiese ineficaz, citopenias são comumente apresentadas, variando de uma ou mais linhagens hematopoiéticas. A patologia de cunho clonal atinge em sua maioria indivíduos mais velhos, onde aproximadamente 80% dos pacientes acometidos são idosos acima de 65 anos. Com grande variedade de fatores de progressão, algumas alterações imunológicas foram descritas para a doença, tanto no nível celular quanto humoral. Os chamados *Checkpoints* imunes possuem como principal papel a regulação das vias que estabelecem os sinais estimulatórios e inibitórios liberados para mediar a resposta imunológica, no entanto diversas neoplasias conseguem escapar dessa vigilância, construindo um cenário complexo de desregulação no sistema imune. A desregulação do sistema imunológico pode ser desencadeada pela presença de variantes polimórficas em genes que estão presentes na ativação da cascata imunológica da imunidade inata; genes de citocinas anti-inflamatórias, que realizam o controle do sistema imune, podem possuir variantes polimórficas relevantes em pacientes com a Neoplasia Mielodisplásica. Nesse contexto, o estudo teve como objetivo avaliar os polimorfismos dos genes das citocinas IL-6 e IL-10 na Neoplasia Mielodisplásica, contribuindo para elucidar a presença ou ausência de associação desses polimorfismos com variáveis de prognóstico. Trata-se de um estudo transversal, analítico, com 44 pacientes com diagnóstico clínico e laboratorial de SMD, entre 2008 e 2023, com média de idade de 70.45 anos, sendo a maioria do sexo masculino e 145 controles saudáveis, pareados pelos genótipos. Através da extração de DNA nas amostras coletadas, foi realizada PCR qualitativa e ensaio de discriminação alélica dos polimorfismos rs1800795 e rs1800896. As análises estatísticas foram realizadas através do *software* SPSS versão 20 e valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes. Para *IL6*, o alelo polimórfico G foi mais frequentemente presente nos pacientes diagnosticados com SMD (84,09%) quando comparado aos controles (71,59%). Quanto à presença dos genótipos, através do teste de qui-quadrado foi possível observar uma associação significativa entre os diferentes genótipos e o número de citopenias -1,2,3 ($p=0,002$). Houve também uma associação significativa entre os diferentes genótipos e a presença ou ausência de disgranulopoiese ($p=0,034$) e uma associação significativa entre os diferentes genótipos e a contagem de neutrófilos $< 0,8$, $\geq 0,80$, com ($p=0,036$). Para os outros modelos genéticos de associação, não foram encontrados resultados significativos, concluindo que não existiu associação significativa desse polimorfismo para as demais variáveis na SMD para população

do estudo. Para o gene *IL10* as análises dos modelos genéticos de associação não revelaram associação significativa, mostrando que não existiu significância entre a presença do polimorfismo e as variáveis clínicas e laboratoriais para SMD na população estudada.

Palavras-chave: Neoplasia Mielodisplásica, citocinas, polimorfismos, imunologia.

ABSTRACT

Myelodysplastic Neoplasm is classified as a heterogeneous group of hematological disorders, characterized by ineffective hematopoiesis. Cytopenias, affecting one or more hematopoietic lineages, are commonly observed. This clonal pathology primarily affects older individuals, with approximately 80% of affected patients being above 65 years of age. The disease exhibits a wide range of progression factors, and immune alterations have been described at both the cellular and humoral levels. Immune checkpoints play a crucial role in regulating the pathways that establish stimulatory and inhibitory signals to mediate the immune response. However, several neoplasms can evade this surveillance, creating a complex scenario of immune system dysregulation. Dysregulation of the immune system can be triggered by the presence of polymorphic variants in genes involved in the activation of the innate immune cascade. Polymorphic variants in anti-inflammatory cytokine genes, which control the immune system, may also be relevant in patients with Myelodysplastic Neoplasm. In this context, the objective of this study was to evaluate polymorphisms in the IL-6 and IL-10 cytokine genes in Myelodysplastic Neoplasm, contributing to the elucidation of the presence or absence of an association between these polymorphisms and prognostic variables. This was a cross-sectional, analytical study involving 44 patients diagnosed with MDS based on clinical and laboratory criteria between 2008 and 2023, with a mean age of 70.45 years. The majority of participants were male, and there were 145 healthy controls matched by genotype. Qualitative PCR and allele discrimination assays for the rs1800795 and rs1800896 polymorphisms were performed on collected DNA samples. Statistical analyses were conducted using SPSS software version 20, with p-values <0.05 considered statistically significant. For IL6, the polymorphic G allele was more frequently present in patients diagnosed with MDS (84.09%) compared to controls (71.59%). Regarding genotype presence, a significant association was observed, through the chi-square test, between different genotypes and the number of cytopenias (-1,2,3) ($p=0.002$). There was also a significant association between different genotypes and the presence or absence of dysgranulopoiesis ($p=0.034$), as well as a significant association between different genotypes and neutrophil count (<0.8 , ≥ 0.80) ($p=0.036$). For other genetic association models, no significant results were found, leading to the conclusion that there was no significant association of this polymorphism with the other variables in MDS for the study population. For the IL10 gene, genetic association models did not reveal any significant associations, indicating no

significance between the presence of the polymorphism and the clinical and laboratory variables for MDS in the studied population.

Keywords: Myelodysplastic Neoplasm, cytokines, polymorphisms, immunology.

LISTA DE TABELAS

Tabela 01:	Classificação atualizada de Síndrome Mielodisplásica, proposta pela OMS em 2016.....	18
Tabela 02:	Lista de testes estatísticos de associação realizados para cada polimorfismo e variável.....	37
Tabela 03:	Variáveis clínicas dos pacientes SMD.....	39
Tabela 04:	Classificação da população do estudo quanto ao Cariótipo, Prognóstico IPSS-R, Grupo de Risco IPSS-R e OMS (2016).....	41
Tabela 05:	Variáveis de Progressão da doença e Evolução para LMA obtidos com a coorte.....	42
Tabela 06:	Descrição Clínica dos pacientes com SMD do presente estudo.....	43
Tabela 07:	Resultado do cálculo do equilíbrio de Hardy-Weinberg para o polimorfismo rs1800795.....	46
Tabela 08:	Resultado do cálculo do equilíbrio de Hardy-Weinberg para o polimorfismo rs1800896.....	47
Tabela 09:	Relação dos polimorfismos no gene avaliado e sua respectiva localização gênica; população “Latino Americana 2”, de acordo com dbSNP - NCBI - <i>National Institutes of Health (NIH)</i>	48
Tabela 10:	Análise do genótipo em relação a variável citopenia.....	49
Tabela 11:	Análise do genótipo em relação a variável disgranulopose.....	49
Tabela 12:	Análise do genótipo em relação a variável contagem absoluta de neutrófilos...	49
Tabela 13:	Análise dos genótipos e variáveis clínicas.....	50
Tabela 14:	Análise do modelo dominante e variáveis clínicas.....	53
Tabela 15:	Análise do modelo recessivo em relação às variáveis clínicas.....	56
Tabela 16:	Análise do genótipo em relação às variáveis clínicas.....	59
Tabela 17:	Análise do modelo dominante em relação às variáveis clínicas.....	62
Tabela 18:	Análise do modelo recessivo em relação às variáveis clínicas.....	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 01:	Processo de Hematopoiese e origem das células blásticas.....	17
Figura 02:	Representação esquemática da análise Citogenética, desde a coleta de medula óssea até a cariotipagem.....	20
Figura 03:	Representação esquemática dos cinco grupos do sistema prognóstico citogenético desenvolvido por Schanz et al., 2012.....	21
Figura 04:	Função básica da imunidade inata mostrando a interação de antígenos com como receptores em macrófagos. Esta figura também ilustra a interface entre o inato e o adaptativo.....	24
Figura 05:	Efeitos das Citocinas nas Células do Sistema Imune.....	28
Figura 06:	Representação dos Produtos finais obtidos a partir do procedimento de Lise Eritrocitária.....	35
Figura 07:	Fluxograma resumido da metodologia realizada no Estudo para preparo e análise das amostras.....	37
Figura 8:	Organograma resumo das metodologias utilizadas neste estudo.....	38

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01:	Frequência Alélica gene <i>IL6</i>	47
Gráfico 02:	Frequência Alélica gene <i>IL10</i>	48

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CD8+	Linfócitos T citotóxicos
IFN- γ	Interferon gama
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
NK	Células Natural Killers
NPDM	Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos
PBS	Solução tampão salina-fosfato
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PRR	Receptores de reconhecimento padrão
SMD	Síndrome mielodisplásica
SNPs	Polimorfismos de nucleotídeo único
TGF- β	Fator de crescimento transformador beta
Th17	Linfócitos T CD4+ helper 17
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa

LISTA DE SÍMBOLOS

®	Marca Registrada
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
1.1	Neoplasia Mielodisplásica	19
1.2	Etiopatiogênese da Síndrome Mielodisplásica	20
1.2.1	Classificação Clínica e Estratificação Prognóstica da SMD	21
1.3	Citogenética e alterações moleculares para diferenciação da Neoplasia Mielodisplásica	23
1.4	Epidemiologia	26
1.5	Imunidade Inata	26
1.6	Tumorigênese na SMD	28
1.7	Polimorfismos de Nucleotídeo Único	29
1.8	Citocinas	31
1.9	Interleucina 6	32
1.10	Interleucina 10	33
2	JUSTIFICATIVA	36
3	OBJETIVO	36
3.1	Objetivo geral	36
3.2	Objetivos específicos	36
4	MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1	Tipo de Estudo e Aspectos Éticos	37
4.2	Casuística e Seleção de Amostras	37
4.3	Cariótipo por Banda G	37
4.4	Lise de Células Eritrocitárias	38
4.5	Extração de DNA Genômico	39
4.6	PCR Qualitativa	39
4.7	Variáveis Analisadas	40
4.8	Análise Estatística	41
5	RESULTADOS	43
5.1	Caracterização da População	43
5.2	Análise da Frequência Alélica do polimorfismo rs1800795 no gene <i>IL6</i>	50
5.3	Análise da Frequência Alélica do polimorfismo rs1800896 no gene <i>IL10</i>	51
5.4	Análises do Polimorfismo do gene <i>IL6</i>	53

<i>5.4.1 Influência do polimorfismo rs1800795 do gene IL6 sobre os parâmetros laboratoriais e clínicos</i>	53
5.5 Análises do polimorfismo rs1800896 do gene IL10	63
<i>5.5.1 Influência do polimorfismo rs1800896 do gene IL10 sobre os parâmetros laboratoriais e clínicos</i>	63
6 DISCUSSÃO	72
7 CONCLUSÃO	74
REFERÊNCIAS	78

1 INTRODUÇÃO

1.1 Neoplasia Mielodisplásica

A Neoplasia Mielodisplásica (SMD), anteriormente conhecida como Síndrome Mielodisplásica é enquadrada num grupo heterogêneo de doenças hematológicas de cunho clonal, em que a progressão da doença para Leucemia Mieloide Aguda é de grande recorrência, vista em cerca de um terço dos casos de SMD (VASSALLO; MAGALHÃES, 2009).

A avaliação clínica e laboratorial é feita atualmente com a realização de metodologias que incluem análise do sangue periférico e medula óssea, aplicando técnicas como citogenética e imunofenotipagem, além da avaliação do histórico de exposição a substâncias potencialmente carcinogênicas ao paciente (ARBER et al., 2016; VASSALLO et al., 2009). A heterogeneidade da doença, munida de outros fatores hematopoiéticos faz da Neoplasia Mielodisplásica uma das doenças malignas mais desafiantes da hematologia (LIST, 2010).

Descrita pela presença de Hematopoiese ineficaz, citopenias são comumente apresentadas, variando de uma ou mais linhagens hematopoiéticas. As Neoplasias Mielodisplásicas ocorrem principalmente em indivíduos mais velhos, onde aproximadamente 80% dos pacientes acometidos são idosos acima de 65 anos (CAZZOLA e MALCOVATI, 2010). O fator envelhecimento é ponderado com cautela para o diagnóstico da doença, enquanto a prevalência é de cerca de 4/100.000 na população dos EUA, ela aumenta após 60 anos para 35/100.000, o que demonstra a importância dessa variável, principalmente em quadros iniciais da doença e diagnóstico. Vários mecanismos moleculares estão envolvidos no envelhecimento, o que inclui danos genômicos, redução dos telômeros ou alterações epigenéticas (GOTTLIEB et al., 2007). Além disso, o envelhecimento está associado a um aumento no número de mutações somáticas, que, no compartimento hematopoiético, criam uma ampla gama de células-tronco geneticamente distintas (ANDRADE; COSTA; SILVA, 2012).

Em sua etiologia, pode ser classificada como SMD primária (de *novo*) quando não há causa conhecida, ou secundária, quando se desenvolve como resultado de tratamento baseados em quimioterapia ou radioterapia. Embora a etiologia da SMD primária seja desconhecida, estudos têm atribuído alguns fatores de risco ao desenvolvimento da SMD, a saber: idade, com predominância de idosos, sexo, onde o masculino é mais acometido, estilo

de vida, onde obesidade e tabagismo são apontados, além de exposição a fatores ambientais e ocupacionais (tais como benzeno, solventes, tinturas de cabelo, radiação e pesticidas) (MA et al., 2009; BOWEN, 2013).

Atualmente, existem diferentes fenótipos clínicos para Neoplasia Mielodisplásica, nos últimos anos, mutações pontuais foram identificadas e relacionadas aos fenótipos, onde existe um potencial clínico para refletir nos resultados de diagnóstico e pontuação para prognóstico do paciente (PAPAEMMANUIL et al., 2011). A nível molecular, a desregulação imunológica na Neoplasia Mielodisplásica causa, como fator principal, a apoptose celular e a capacidade de evasão da vigilância imunológica (SUGIMORI et al., 2010; EPLING-BURNETTE e LIST, 2009), o que mostra que a complexidade da SMD está relacionada também aos diferentes mecanismos de desregulação imune presentes na patologia.

1.2 Etiopatogênese da Síndrome Mielodisplásica

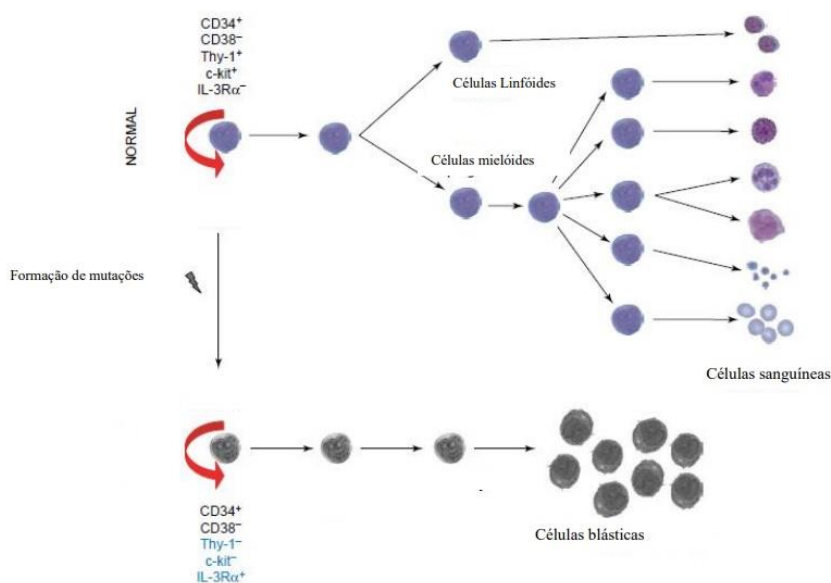
A SMD é uma doença que se caracteriza pelo crescimento descontrolado de células precursoras hematopoiéticas mutadas. Essas células passam por um processo chamado hematopoiese, no qual ocorre renovação, proliferação, diferenciação e maturação celular coordenadas por fatores de transcrição. Acredita-se que todas as células sanguíneas derivam de uma única célula-tronco pluripotente presente na medula óssea (WANG; DICK, 2005). Durante a hematopoiese, essa célula-tronco se divide em duas linhagens: a linhagem linfóide, que gera os linfócitos, e a linhagem mielóide, responsável pela produção de eritrócitos, granulócitos, monócitos e plaquetas. O desenvolvimento da SMD ocorre devido a uma série de mutações nessas células precursoras, resultando em um clone maligno e na produção descontrolada de células sanguíneas anormais (MAIOLI; SOUZA, 2012).

A desregulação intrínseca da célula das vias imunes e inflamatórias inatas, bem como a inflamação sistêmica, foram implicadas em defeitos hematopoiéticos associados ao envelhecimento, hematopoiese clonal e SMD. A formação das células blásticas ocorre a partir de um clone de células que apresentam defeitos em seu DNA (NIERO-MELO et al., 2006). Na SMD, foram identificadas diversas alterações genéticas recorrentes que contribuem para o seu desenvolvimento. Essas alterações incluem a expressão anômala de proto-oncogenes, translocações cromossômicas que resultam em fusões gênicas que codificam quinases ativas e fatores de transcrição alterados, alterações no número de cópias cromossômicas e mutações genéticas específicas (ZON, 1995; WANG E DICK 2005). Essas alterações genéticas interferem no processo regulatório normal, resultando em uma capacidade de

autorrenovação ilimitada, desregulação da proliferação celular e bloqueio da diferenciação, contribuindo para a transformação das células-tronco hematopoiéticas ou suas progenitoras (MESQUITA, 2009).

Os blastos são células jovens e imaturas encontradas comumente em extensões sanguíneas e medulares de pacientes com SMD e leucemias agudas (Figura 01). A sua morfologia citológica é caracterizada por múltiplos nucléolos visíveis, citoplasma escasso e levemente basofílico, e núcleo grande com cromatina nuclear que pode variar de fina a densa (NIERO-MELO et al., 2006). Essas características são importantes para a identificação e classificação dos blastos durante a análise laboratorial, pacientes com SMD podem apresentar Blastos na medula óssea abaixo de 5%, entre 5% e 9%, entre 10% e 19%; Blastos no sangue periférico abaixo de 1%, entre 1% e 5%, entre 5% e 19% (ANDRADE; COSTA; SILVA, 2012).

Figura 01- Processo de Hematopoiese e origem das células blásticas.



Fonte: Adaptado de Wang e Dick (2005).

1.2.1 Classificação Clínica e Estratificação Prognóstica da SMD

A Organização Mundial da Saúde (OMS) identificou a SMD como uma das cinco principais categorias de neoplasias mieloides. Em sua atualização de 2016 sobre câncer no

sangue, a OMS pressionou por uma reorganização da classificação das síndromes mielodisplásicas para levar em conta o número de blastos e citopenias no sangue periférico, bem como alterações morfológicas, como displasia e sideroblastos do anel mielóide, dividindo a patologia em dez subtipos (ARBER et al., 2016).

Tabela 01 - Classificação atualizada de Síndrome Mielodisplásica, proposta pela OMS em 2016.

SUBTIPO	SANGUE PERIFÉRICO	MEDULA ÓSSEA
SMD com Displasia em Única Linhagem (SMD-DU)	≤1% de Blastos; Uni ou Bicitopenia	Displasia em 1 linhagem; 5%* de Sideroblastos em anel; ≤5% de blastos
SMD com Displasia em Múltiplas Linhagens (SMD- DM)	Citopenia em 1 ou mais linhagens; ≤1% de blastos	Displasia em 2 ou 3 linhagens; 5% de Sideroblastos em anel*; ≤5% de blastos
SMD com Sideroblastos em Anel (SMD-SA)		
SMD-SA com Displasia em Única Linhagem (SMD-SA- DU)	≤1% de Blastos; Uni ou Bicitopenia	Displasia em 1 linhagem; ≥15% ou ≥5%* de Sideroblastos em anel; ≤5% de blastos
SMD-SA com Displasia em Múltiplas Linhagens (SMD- SA- DM)	Citopenia em 1 ou mais linhagens; ≤1% de blastos	Displasia em 2 ou 3 linhagens; ≥15% ou ≥5%* de Sideroblastos em anel; ≤5% de blastos
SMD com Excesso de Blastos (SMD-EB)		
SMD com Excesso de Blastos 1 (SMD-EB1)	Citopenia em 1 ou mais linhagens; 2 a 4% de blastos	Displasia em 0,1, 2 ou 3 linhagens; 5 a 9% de blastos
SMD com Excesso de Blastos 2 (SMD-EB2)	Citopenia em 1 ou mais linhagens; 5 a 19% de blastos	Displasia em 0,1, 2 ou 3 linhagens; 10 a 19% de blastos
SMD inclassificável (SMD-i)		
SMD-i com 1% de blastos	Citopenia em 1 ou mais linhagens; ≤1% ¹ de blastos	Displasia em 1 ou mais linhagens; ≤5% de blastos
SMD-i com displasia em única linhagem e pancitopenia	Citopenia em 3 linhagens; ≤1% de blastos	Displasia em 1 linhagem; ≤5% de blastos
SMD-i baseada em alterações citogenéticas	Citopenia em 1 ou mais linhagens; ≤1% de blastos	Ausência de displasias; ≤15% de Sideroblastos em anel; ≤5% de blastos
SMD com del(5q) isolada	≤1% de Blastos; Uni ou Bicitopenia	Displasia em 1 ou mais linhagens; ≤5% de blastos; del(5q) isolada ou com 1 alteração adicional, exceto del(7q)/-7

*Quando há presença de mutação do gene SF3B1 ; 1% de blastos deve ser encontrado em pelo menos duas situações isoladas.

Fonte: Adaptado de Arber et al (2016).

1.3 Citogenética e alterações moleculares para diferenciação da Neoplasia Mielodisplásica

Outros fatores prognósticos, como características dos pacientes, comorbidades ou mutações somáticas e novas pontuações estão sendo desenvolvidas. A hematopoiese clonal é caracterizada pela representação de células sanguíneas derivadas de um único clone. Vários estudos identificaram mutações somáticas recorrentes em vários genes que conduzem a hematopoiese clonal (JÚNIOR et al., 2010). Essas mutações de perda de função dizem respeito principalmente a genes envolvidos na metilação do DNA.

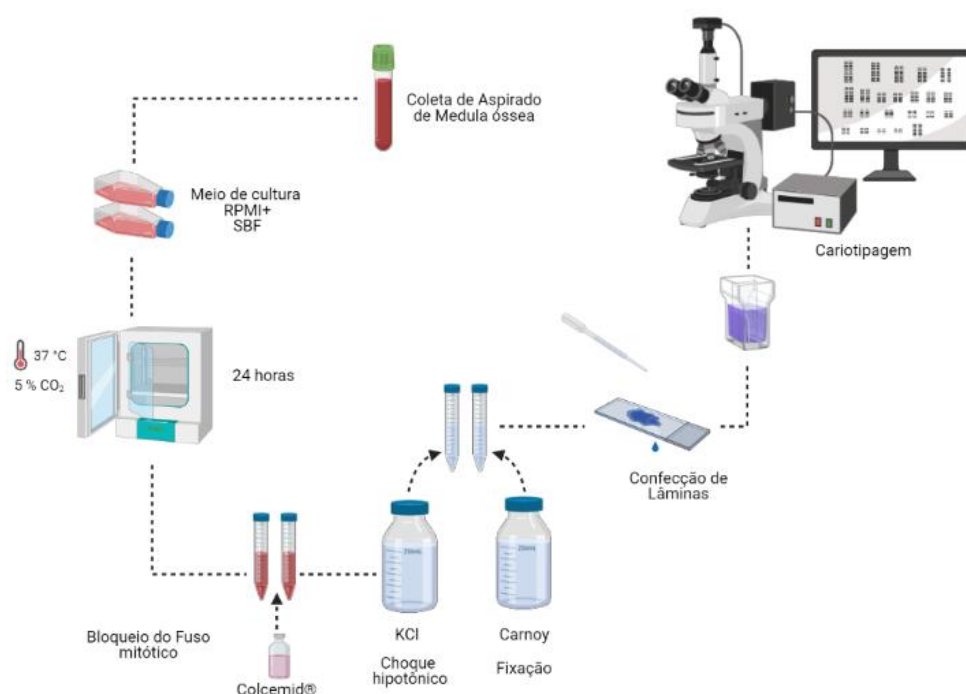
A Neoplasia Mielodisplásica, dada sua complexidade, pode ter características distintas quando decorrente de um estado subjacente de insuficiência medular, como anemias. Para isso, uma avaliação medular é necessária (VASSALO; MAGALHÃES, 2009). Para casos de medula hipocelular, com suspeita de SMD, o aumento na contagem de células de diferenciação CD34 pode ser quantificado por citometria de fluxo, provindas de aspirados de medula óssea, ou a análise pode ser realizada por imuno-histoquímica, na biópsia central, o que aumenta a acurácia do diagnóstico diferencial entre anemia aplástica, já que as duas patologias apresentam, clinicamente e laboratorialmente de forma semelhante (SOUZA, 2009), processo destacado na Figura 02. Ademais, estudos de hibridização *in situ* fluorescente (FISH) podem ser adicionados, habitualmente, tem-se usado um conjunto de sondas que englobam as seguintes regiões: 5/5q, 7/7q, 9p, 11q23, t(8;21), 20q, 10, 17 e Chic2, avaliando aberrações comuns para patologia (FOPPA, 2009).

A citogenética é considerada um método de estudo de alterações cromossômicas, muito aplicado para auxiliar no diagnóstico, como também evidencia aspectos importantes da biologia da doença, diferenciar subtipos e prognóstico dos pacientes. As alterações cromossômicas mais frequentes em SMD envolvem os cromossomos: 5, 7, 8, 11, 13, 17, 20, 21 e X. Alterações cariotípicas estão presentes em 25% das anemias refratárias (AR), em 10% das anemia refratárias com sideroblastos em anel (ARSA), 50% das citopenias refratárias com displasia de múltiplas linhagens (CRDM), em 30-50% das anemias refratárias com excesso de blastos (AREB) e em 100% das Síndromes 5q-, que, aliás, necessitam da identificação desta alteração isolada para serem assim consideradas (MAIOLI; SOUZA, 2012). A deleção 5q-, quando ocorre de forma isolada é considerada fator de prognóstico favorável, já quando presente em conjunto a outras alterações é desfavorável (Figura 03).

Em pacientes que apresentam resultado de cariótipo não informativo ou com ausência, os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) podem ser considerados como ferramenta para






detectar as aberrações citogenéticas, que investiga simultaneamente milhares de regiões no genoma humano para identificar variações no número de cópias (OLIVEIRA, 2018). A gravidade na SMD é definida pelo Sistema Internacional de Pontuação de Prognóstico Revisado (IPSS-R). Os resultados das análises citogenéticas de medula óssea são confirmados segundo os critérios estabelecidos pelo Sistema Internacional de Nomenclatura Citogenética Humana (ISCN) (MCGOWAN-JORDAN, 2016) (Figura 01).

Figura 02 - Representação esquemática da análise Citogenética, desde a coleta de medula óssea até a cariotipagem.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 03 - Representação esquemática dos cinco grupos do sistema prognóstico citogenético desenvolvido por Schanz et al., 2012.

Muito favorável		Del (11q), -Y
Favorável		Normal, Del(5q), Del(12p), Del(20p), quaisquer duas alterações incluindo Del(5q)
Intermediário		Del(7q), +8, +19, i(17q), qualquer outra alteração
Desfavorável		Del(3q), -7, quaisquer duas alterações incluindo o cromossomo 7, cariótipo complexo
Muito desfavorável		Cariótipo complexo >3 alterações

Fonte: Adaptado de Schanz et al., 2012

Nos últimos anos, foram publicados vários estudos importantes que descrevem uma análise abrangente da incidência e do impacto clínico de múltiplas lesões genéticas na síndrome mielodisplásica. Em 2011, Bejar e colaboradores publicaram a primeira análise de 18 genes em 439 pacientes (BEJAR et al., 2011). Recentemente, o European Consortium (PAPAEMMANUIL et al., 2013) realizou uma análise de mutação em 111 genes usando técnicas de sequenciamento de última geração em uma coorte de 738 pacientes e descobriu a frequência das mutações mais comuns em portadores de SMD. Esses e outros estudos, envolvendo centenas de pacientes, que utilizaram conjuntos de mutações genéticas específicas e sequenciamento completo do genoma (BEJAR et al., 2011 e HAFERLACH et al., 2014), mostram que até 80% dos pacientes com SMD apresentam alguma mutação de interesse, sendo que várias delas estão associadas a um impacto prognóstico. Os dados emergentes não só são importantes na definição do prognóstico desses pacientes, mas também podem potencialmente auxiliar na seleção do tratamento adequado (GARCIAMANERO, 2015).

1.4 Epidemiologia

Nos últimos anos, apesar das melhorias para diagnóstico e acompanhamento do paciente com SMD, dados epidemiológicos para doença ainda são considerados escassos, principalmente em fatores de incidência e prevalência. Dados como manejo clínico, histórico do paciente e classificação são necessários para avaliação. No que tange os últimos 30 anos, período em que houve mudanças na classificação e diagnóstico do paciente, esses dados não foram coletados em larga escala (AUL et al, 2001; STROM; VELEZ-BRAVO; ESTEY, 2008).

O diagnóstico das síndromes mielodisplásicas é mais frequentemente encontrado em indivíduos considerados idosos, com idade média do diagnóstico variando de 65 a 70 anos. Pessoas com menos de 50 anos representam menos de 10% dos casos (RUIZ, 2001). Embora haja um leve desequilíbrio de gênero, com os homens sendo afetados com mais frequência, há uma exceção para a variante isolada da síndrome 5q, que é mais prevalente em mulheres (OLIVEIRA, 2011). Embora a incidência anual exata de síndromes mielodisplásicas seja desconhecida, os especialistas estimam que ocorram aproximadamente quatro casos em cada 100.000 indivíduos, enquanto o número de casos aumenta significativamente para 40-50 casos por 100.000 pessoas após os 70 anos de idade (BEGHÉ; WILSON; ERSHLER, 2004).

Aproximadamente um terço dos casos pediátricos, incluindo crianças com síndrome de Down, anemia de Fanconi, síndrome de ataxia-telangiectasia e neurofibromatose, apresentam predisposição hereditária para o distúrbio. Embora a predisposição hereditária seja menos comum em adultos, ela ainda deve ser investigada em adultos jovens ou em famílias com outros casos de síndromes mielodisplásicas, leucemia mielóide aguda ou anemia aplástica (SENA; FILHO SILVIO; LYRA, 2010).

A mielodisplasia é influenciada por diversos fatores ambientais, como tratamento quimioterápico prévio, principalmente com agentes alquilantes e análogos de purina, além de tabagismo e radioterapia. Existem também fatores ocupacionais reconhecidos, como a exposição ao benzeno e seus derivados, levando a um aumento no número de casos notificados entre trabalhadores agrícolas e industriais (PINHEIRO; CHAUFFAILLE, 2006).

1.5 Imunidade Inata

Com grande variedade de fatores de progressão, algumas alterações imunológicas foram descritas para a doença, tanto no nível celular quanto humoral (BAUMANN et al.,

2010). Nesse cenário, desequilíbrios hematológicos podem alterar a regulação dos chamados *checkpoints* imunes, que desempenham um papel importante na regulação dos sinais estimulatórios e inibitórios que medeiam a resposta imunológica, o equilíbrio dessa resposta é normalmente regulado pela ação de moléculas inibitórias e seus ligantes, no entanto, diversos tipos de neoplasias conseguem escapar dessa vigilância, construindo um cenário complexo de desregulação no sistema imune (BODDU P et al., 2018).

Para os mecanismos de desregulação imunológica na Neoplasia Mielodisplásica, tanto o sistema imunológico inato quanto o adaptativo são pertinentes na patogênese da doença (MEKINIAN et al., 2016). Enquanto a seleção clonal envolve principalmente inflamação latente, uma disfunção da imunidade celular leva ao aumento da apoptose e proliferação de blastos. A desregulação nos níveis de citocinas, dada pela alteração na homeostase do sistema imune inato, afeta vias de sinalização inflamatória, contribuindo para hematopoiese anormal, ademais, células T CD8+, capazes de induzir a morte celular por mecanismos citotóxicos, fazem parte do sistema imune adaptativo e são ativadas por células tronco SMD malignas, causando supressão da hematopoiese e falha na vigilância do sistema imunológico (BARREYRO et al., 2012).

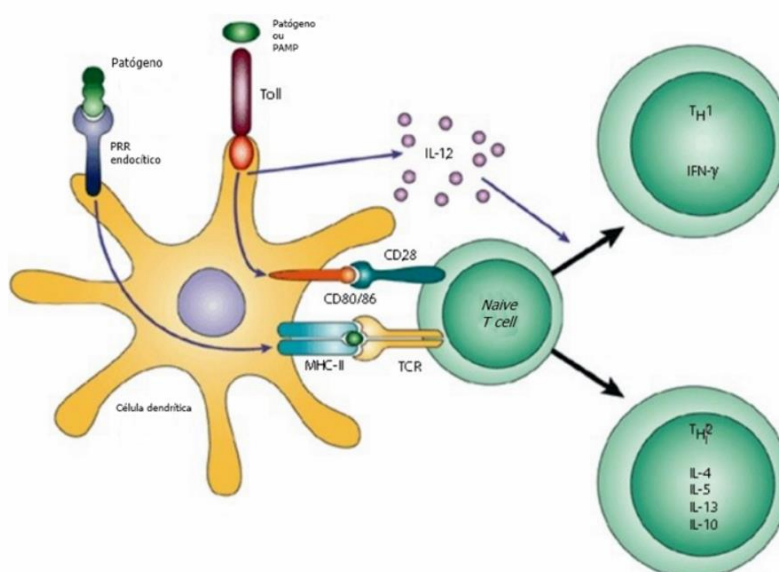
A imunidade inata é um pré-requisito obrigatório para o início das respostas imunes adaptativas, como também necessária para o recrutamento de células T ativadas e moléculas presentes nas células dessa via imunológica, incluindo *Natural Killers*, células dendríticas, macrófagos, células endoteliais etc. (JÚNIOR et al., 2010). O sistema imunológico se desenvolveu ao longo do tempo para realizar monitoramento e erradicação eficientes de patógenos nocivos, minimizando qualquer dano causado ao hospedeiro, como inflamação autoimune e exacerbação. Isso é feito por meio do uso de reguladores negativos e pontos de verificação que ajudam a restringir a duração e a intensidade da resposta imune (SOUZA, 2009).

Apesar dessas medidas, certas células podem escapar da vigilância imunológica e causar danos. Portanto, interromper os processos de regulação do sistema imunológico pode potencialmente aumentar a eficácia da resposta imune contra o câncer (FERRAZ et al., 2011). Nesse cenário, as células dendríticas são responsáveis pela detecção dos invasores por meio da expressão de seus receptores de reconhecimento padrão que podem detectar PAMPs e DAMPs, representado na Figura 04.

A função biológica dessas vias inatas relacionadas à imunidade e à inflamação não serve apenas para detectar e defender contra patógenos estranhos, mas também é crítica para a adaptação a ambientes estressados, processos de desenvolvimento e direcionamento de

programas de sobrevivência e autorrenovação celular (NIERO-MELO et al., 2006). A análise do perfil imunológico para Neoplasia Imunológica pode responder sobre muitos fatores relacionados à fisiopatologia da doença (OLIVEIRA, 2011).

Figura 04 - Função básica da imunidade inata mostrando a interação de antígenos com como receptores em macrófagos. Esta figura também ilustra a interface entre o inato e o adaptativo.



Fonte: adaptado de MURPHY, 2014.

1.6 Tumorigênese na SMD

Uma das características proeminentes do microambiente tumoral é a presença significativa de macrófagos infiltrados. Embora ainda haja muito a ser compreendido sobre a interação entre esses macrófagos e as células tumorais na SMD, evidências indicam que essas células podem desempenhar um papel dual na progressão da doença. Esse estado se afirma quando, por um lado, os macrófagos podem suprimir a imunidade anti-tumoral (SAVILL et al., 2002; OGDEN et al., 2005) e, por outro lado, eles também têm a capacidade de produzir fatores de crescimento que auxiliam na regulação da apoptose (LEVENS et al., 2000; OGDEN et al., 2005).

Evidências acumuladas indicaram que a falência medular na SMD está associada com autoimunidade, mielossupressão mediada por células T e citopenias induzidas por citocinas.

Além disso, em pacientes com qualquer doença autoimune tem sido associado com um risco aumentado de SMD e – vice-versa – manifestações clínicas de doença autoimune são frequentemente descritas em pacientes com SMD e leucemia mielomonocítica crônica. As citocinas são elementos-chave na interação do clone maligno com o microambiente juntamente com a hematopoiese ineficaz na SMD e podem influenciar uma variedade de manifestações clínicas que caracterizam a doença. O papel do fator de necrose tumoral- α (TNF- α) em afetar as taxas de apoptose intramedular, o resultado de pacientes com SMD e a resposta ao tratamento com eritropoetina (EPO) foi amplamente confirmado. Níveis mais altos de interferon- γ (IFN- γ) também foram demonstrados em biópsias com trefina e no plasma da medula óssea (MO).

Camadas de células aderentes de pacientes com SMD em cultura produziram níveis mais altos de interleucina-6 (IL-6) e TNF- α , enquanto aumentou os níveis de IL-6, que foram independentemente associados. Uma maior produção do crescimento transformador fator- β (TGF- β) por células-tronco mesenquimais foi observada no grupo de alto risco. A patologia SMD contribui para o aumento de células T reguladoras, o que foi observado em estudos anteriores (ZHAO et al., 2012).

Inicialmente, acredita-se que a Interleucina10 (IL-10) atuava como inibidora da ativação dos macrófagos em resposta às concentrações locais no microambiente tumoral. No entanto, agora se sabe que a IL-10 pode gerar um fenótipo de ativação "alternativa" ou polarização "M2" nos macrófagos (MANTOVANI et al., 2002; GORDON, 2003). Os macrófagos do microambiente tumoral são capazes de expressar IL-10 em resposta à presença de corpos apoptóticos, o que representa um mecanismo autócrino de inibição da via de NF-kB e da expressão de Interleucina 12 (IL-12) nessas células. Isso resulta na inibição das respostas antitumorais (SICA et al., 2000).

Ainda no contexto do câncer, a IL-10 possui como característica relevante o efeito imunossupressor, que pode estar envolvido na patogênese de certas neoplasias. Isso também ocorre por meio da inibição dos macrófagos e da supressão da produção de IFN- γ , que são mediadores potentes com propriedades antitumorais e antivirais (FASSONE et al., 2000).

1.7 Polimorfismos de Nucleotídeo Único

Os Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNP) são os polimorfismos mais comuns na natureza e caracterizados por uma troca única de base nitrogenada no DNA, ou seja, substituição de um único nucleotídeo (adenina, guanina, citocina ou timina) por outra, em um

determinado local da sequência de DNA. Esta é a forma mais comum de variante encontrada no genoma (SAFADY, 2021). Embora essas variações possam ocorrer em qualquer parte do genoma humano, é mais comum que elas ocorram em regiões não codificantes, que não têm um impacto direto na síntese de proteínas.

Estima-se que a frequência de SNPs seja de aproximadamente 1 em 1000 pares de base no genoma. No entanto, é importante ressaltar que essa frequência pode variar em diferentes regiões do genoma e em diferentes populações. A grande maioria dos SNPs não causa alterações significativas no organismo, uma vez que muitos deles estão localizados em regiões não codificantes do DNA. Essas regiões não estão diretamente envolvidas na produção de proteínas, e, portanto, as mutações nesses locais têm menos probabilidade de afetar a função dos genes (BIER; MOTA; SILVA, 1992).

No entanto, é importante mencionar que alguns SNPs em regiões regulatórias ou em genes específicos podem ter efeitos funcionais, influenciando a expressão gênica ou a atividade de proteínas. Essas variações podem contribuir para a diversidade genética observada na população e podem estar associadas a características fenotípicas ou predisposição a certas patologias (GONDEK et al., 2008).

Para o presente estudo, o SNP T/C foi ponderado para patologia da SMD e refere-se a uma variação genética em que uma base de nucleotídeo T (timina) em uma sequência de DNA que é substituída por uma base de nucleotídeo C (citosina) em uma determinada posição. Uma sequência de DNA onde a letra T seja substituída pela letra C em um local específico (GONDEK et al., 2008). Por exemplo, se tivermos a sequência "ATGCAT", onde a base T é substituída pela base C, teríamos a sequência resultante "ACGCAC". Essa mudança de T para C é um exemplo de um SNP T/C.

Vários relatórios identificaram variantes polimórficas em genes de antígeno leucocitário humano e em genes de citocinas que estão ligadas à suscetibilidade ao câncer e autoimunidade e que contribuem diferencialmente para o desenvolvimento da doença, progressão e resposta à terapia. Variantes funcionais, como polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) localizados nas regiões promotoras ou reguladoras de genes de citocinas relevantes podem influenciar sua expressão genética, distorcendo assim o funcionamento das células imunes através da ação de suas moléculas efectoras, as citocinas e quimiocinas (MEENAGH et al., 2002). Estudos anteriores provaram que a presença do TNF -308A, IFNG +875 12 CA-repetição, IL6 -174G e os alelos TGFB1 +869C ou +915G aumentam a expressão do transcrito e/ou a proteína das citocinas codificadas. Embora a influência dessas variantes tenha sido confirmada in vitro (SAINZ et al., 2008), ou seja, estimulação mitogênica

de células em cultura, isolamento de alelos individuais de promotores de genes por clonagem adjacente a um gene repórter e/ou realizar um ensaio de mudança de mobilidade na presença de extratos nucleares, em que certos dados reforçam a noção de uma modulação *in vivo*.

1.8 Citocinas

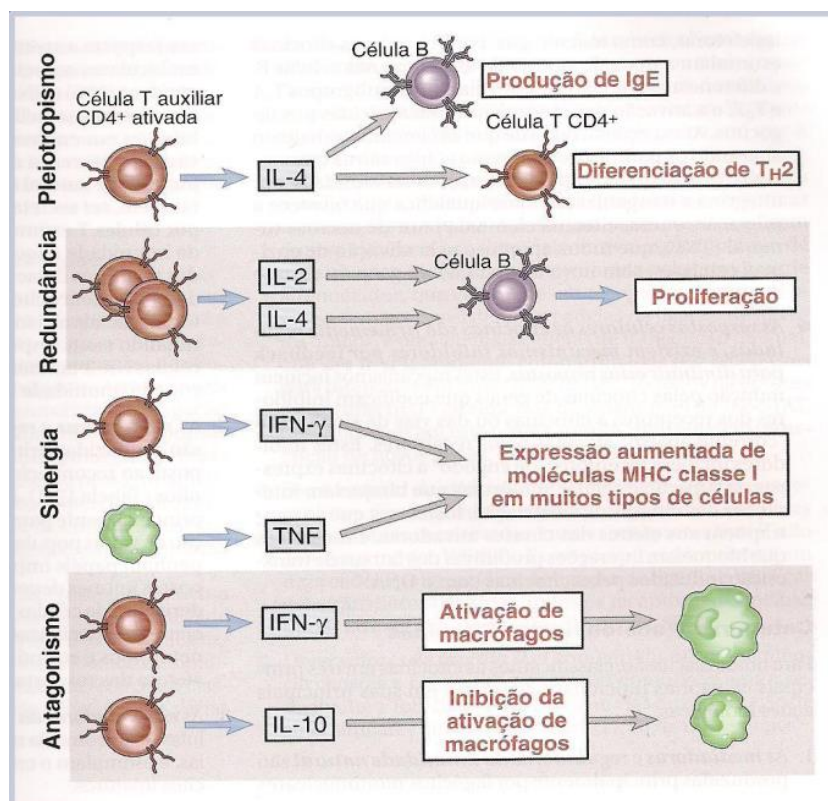
As citocinas representam um conjunto variado de mensageiros moleculares imunes, de modo que apresentam funcionalidade mediada por receptores solúveis, antagonistas de receptores e polimorfismos gênicos, dentre outros fatores. Nesse contexto, a expressão de citocinas pode ser desencadeada por múltiplas vias, as quais realizam ou o controle do sistema imune ou sua ativação. Assim, a interleucina 6 e a interleucina 10 podem ser destacadas como partes integrantes dessa rede complexa de citocinas (REA et al., 2018).

A IL-6 tem atividades pró e antiinflamatórias e influencia na resposta inflamatória aguda, atuando na transição da imunidade inata para a adquirida, no controle metabólico e na patogênese de muitas doenças crônicas. A IL-10 é uma das principais citocinas imunossupressoras, de modo que controla as atividades IL-6, TNF- α (fator de necrose tumoral alfa) e IL-8 (interleucina 8) (REA et al., 2018). Ambas as citocinas desempenham papéis complexos e interligados no sistema imunológico, e a avaliação dos polimorfismos nesses genes pode fornecer *insights* sobre a associação entre suas expressões e a Neoplasia Mielodisplásica (OLIVEIRA et al., 2011).

Havendo um desequilíbrio na homeostase do sistema imune processos inflamatórios e/ou de proliferação celular são viabilizados, ao passo que linfócitos são recrutados e ativados, bem como TNF- α e outras citocinas relacionadas (IFN- γ ou IL-6) são secretadas (YANG et al., 2015; GAÑÁN-GÓMEZ et al., 2015), processo demonstrado na Figura 05. Por conseguinte, o aumento na secreção desses fatores é comumente observado em subtipos de menor risco de neoplasia mielodisplásica e está ligado a vários aspectos do fenótipo da doença, de modo que se verifica o desenvolvimento de displasias e citopenias (GAÑÁN-GÓMEZ et al., 2015). Já em estágios de maior risco, é verificado um estímulo maior de citocinas supressoras como TGF- β e IL-10 associado com níveis mais baixos de função das células CD8 +, Th17 e NK e pior prognóstico da doença (GAÑÁN-GÓMEZ et al., 2015; WOLACH; STONE, 2016). Os polimorfismos no gene da IL-10 em pacientes com SMD são estudados com o objetivo de entender se essas variantes genéticas estão associadas ao desenvolvimento, progressão e prognóstico da doença (OLIVEIRA et al., 2011).

As citocinas podem influenciar a síntese de outras citocinas e são frequentemente pleiotrópicas e redundantes, além de que agem sobre outras citocinas podendo ser antagonistas e sinergistas (BIER; MOTA; SILVA, 1992). como demonstrado na Figura 05.

Figura 05 - Efeitos das Citocinas nas Células do Sistema Imune.



Fonte: BIER, O., SILVA, W. D. da & MOTA, I. Imunologia Básica e Aplicada.

1.9 Interleucina 6

A resposta inflamatória do organismo a neoplasias envolve uma complexa rede de vias humorais e celulares. A hierarquia da resposta imune e a expressão dos principais mediadores imunológicos durante a SMD são fortemente influenciados pela variação genética em genes reguladores (SPASOVA et al., 2005). Dentro da complexa rede de citocinas, a IL6 é geralmente considerada uma das mais importantes mediadoras na patogênese de diversos cânceres e documentada em pacientes com sepse e diversas outras patologias (SAINZ et al., 2008).

IL-6 é, também, o exemplo mais proeminente de uma citocina relevante para doenças inflamatórias. Na década de 1970, o grupo de Kishimoto identificou inicialmente o IL-6 como uma proteína solúvel produzida por células T que ativa a diferenciação de células B em

células produtoras de anticorpos; portanto, inicialmente era conhecido como fator estimulador de células B (BSF-2; KISHIMOTO e ISHIZAKA, 1976). Em 1986, o IFN- β 2 e uma proteína de 26 kD foram identificados em fibroblastos; (HAEGEMAN et al., 1986; ZILBERSTEIN et al., 1986). Posteriormente, o fator estimulador de hepatócitos e o fator de crescimento de plasmocitoma foram clonados e mostraram ser relação com IL6, destacando as diversas atividades biológicas dessa proteína (GAULDIE et al., 1987).

A Interleucina 6 é um componente multifuncional da resposta pró-inflamatória. Normalmente ausente, é abundantemente produzida durante doenças infecciosas, desempenhando um papel crucial na regulação das respostas imunes (ALADZSITY et al., 2009). As células do sistema imunológico inato e adaptativo são responsáveis pela produção de IL-6, que estimula o crescimento e a diferenciação das células, além de induzir a produção de proteínas de fase aguda, como a proteína Creativa (PCR). Além disso, a IL-6 contribui para a ativação e/ou proliferação das células T (SAINZ et al., 2008).

A IL6 é uma citocina pleiotrópica com potentes efeitos biológicos, abrangendo a estimulação de linfócitos B e T e indução da resposta de fase aguda hepática (BORDEN & CHIN, 1994; BARTON, 1996). A concentração sistêmica de IL6 é regulada principalmente no nível transcricional, uma vez que A IL6 é rapidamente eliminada do sangue (CASTELL et al., 1988). A expressão de IL6 é rigidamente regulada por uma série de fatores de transcrição, incluindo o fator nuclear κ B (AKIRA et.al., 1992). Recentemente, um polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) funcionalmente relevante foi descrito com 174 pares de bases upstream do códon de iniciação ATG do gene IL6 (FISHMAN et al., 1998). O alelo C deste polimorfismo G/C é associado com menor produção de IL6 em um ensaio de gene repórter após estimulação de células HeLa transfectadas com Interleucina1(IL1) ou lipopolissacarídeo (LPS). Em indivíduos saudáveis em jejum, diferenças significativas nos níveis plasmáticos de IL6 são encontradas dependendo do genótipo IL6-174 (FISHMAN et al., 1998), demonstrando a relevância funcional deste polimorfismo.

1.10 Interleucina 10

A interleucina-10 (IL-10) é uma citocina com propriedades anti-inflamatórias e desempenha diversas funções no sistema imunológico. Os níveis de IL-10 no sangue podem variar consideravelmente entre os indivíduos, possivelmente devido a polimorfismos na região promotora do gene IL-10. Esses polimorfismos específicos IL-10 -819C/T; CC/CT

C=0,453255 (136458/301062, ALFA) em pacientes com SMD durante o tratamento, estão relacionados a uma maior suscetibilidade a infecções (QI et al., 2016).

A IL-10 desempenha controle da resposta imune, especialmente nas células Th1, células natural killer (NK) e macrófagos. Sua função é reduzir a imunopatologia, ou seja, limitar os danos causados pela resposta inflamatória excessiva (MOORE, 2001), além desempenhar um papel crucial como uma citocina anti-inflamatória na resposta imunológica. Ela é produzida por células ativadas, como células T do tipo Th2, macrófagos, monócitos, células B ativadas e mastócitos (JÚNIOR et al., 2010).

A Interleucina 10 possui múltiplas funções, sendo um poderoso inibidor de citocinas do perfil Th1, como a IL-2 e o IFN- γ . Além disso, ela também inibe a expressão de moléculas do complexo de histocompatibilidade (MHC), fator estimulador de colônias de granulócitos e monócitos (GM-CSF), fator inibidor da leucemia (LIF) e fator ativador de plaquetas (PAF). A IL-10 atua como fator de crescimento para mastócitos e promove a diferenciação e proliferação de linfócitos B, auxiliando assim na resposta imunológica (FERRAZ et al., 2011).

Recentemente, a IL-10 tem despertado interesse devido ao seu papel como um importante modulador da resposta imune inata durante processos inflamatórios, especialmente em relação à invasão de microorganismos oportunistas. Estudos têm revelado novas funções dessa citocina no controle do sistema imunológico nesse contexto. Um aspecto de grande interesse é entender como os Receptores de Padrões de Reconhecimento (PRRs) e os receptores Toll-like (TLRs) coordenam suas ações por meio da via de sinalização Janus quinase transdutor de sinal e ativador de transcrição (JAK-STAT) após a detecção de microorganismos (KUWATA et al., 2003; CAREY et al., 2012).

Mecanicamente, é a IL-10 do macrófago M2 que promove a proliferação, dependente da ativação da via JAK2/STAT3 (QI et al., 2016). Na via de sinalização JAK-STAT, a IL-10 se liga ao seu receptor celular, o que induz a dimerização ou polimerização dos receptores na superfície celular (SWIATEK et al., 2012). Esse processo desencadeia a ativação de quinases JAK, que são uma família de tirosina quinases citosólicas que interagem com os domínios citoplasmáticos do receptor. Essa interação resulta na fosforilação de resíduos de tirosina presentes tanto no domínio citoplasmático do receptor como nas quinases JAK, desencadeando uma cascata de sinalização intracelular que afeta a expressão gênica e regula a resposta imune (KUWATA et al., 2003).

A ligação da IL-10 aos seus receptores resulta na regulação gênica da fosforilação das tirosina-quinases (JAKs), desencadeando a dimerização dos fatores de transcrição STATs

(JÚNIOR et al., 2010). Esses complexos STAT dimerizados se deslocam para o núcleo, onde atuam sobre genes-alvo, incluindo aqueles envolvidos na inibição da expressão de genes que codificam outras citocinas (HO et al., 1993; SPASOVA et al., 2005). A região promotora do gene *IL-10* possui mais de 100 polimorfismos descritos depositados no banco de dados dbSNP (NCBI, *National Center for Biotechnology Information*).

Dentre os genótipos bem caracterizados na porção proximal da região promotora do gene *IL-10*, por possuírem efeito funcional, o *IL-10*-819T>C, alelo T e C na posição -819 do gene *IL-10* podem estar associados à baixa produção da proteína. Existem amplas variações nos níveis de *IL-10* entre os indivíduos, e isso pode ser devido a polimorfismos presentes na região promotora do gene *IL-10* (XIAO et al., 2019). No entanto, o conhecimento sobre o fenótipo das células envolvidas nas interações anti-inflamatórias mediadas por essa citocina ainda é limitado. Diante do exposto, evidencia-se a necessidade de realizar estudos para investigar a influência desses polimorfismos na expressão desses fenótipos celulares (LU YONG-LIANG et al., 2010).

2 JUSTIFICATIVA

A avaliação do perfil polimórfico presente nas citocinas IL-6 e IL-10 na Neoplasia Mielodisplásica pode contribuir para elucidar a presença ou ausência de associação da expressão desses mediadores com variáveis de prognóstico, em virtude da reunião de dados de interesse clínico que permitam um melhor conhecimento da fisiopatologia da doença e uma possível mudança de intervenção terapêutica durante o acompanhamento dos pacientes.

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

Investigar a presença de variantes polimórficas relacionadas as Interleucinas 6 e 10 em pacientes portadores de Neoplasia mielodisplásica.

3.2 Objetivos específicos

1. Descrever a frequência dos polimorfismos rs1800795; rs1800896 em pacientes portadores da Neoplasia Mielodisplásica.
2. Analisar a influência dos polimorfismos rs1800795; rs1800896 em pacientes portadores da Neoplasia Mielodisplásica.
3. Avaliar a importância dos polimorfismos rs1800795; rs1800896 e a relação com a progressão da doença em pacientes portadores da Neoplasia Mielodisplásica.
4. Associar a presença dos polimorfismos rs1800795; rs1800896 com características clínicas e laboratoriais dos pacientes diagnosticados com Neoplasia Mielodisplásica.
5. Associar a presença dos polimorfismos rs1800795; rs1800896 com a progressão e evolução da doença para Leucemia Mielóide Aguda.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Tipo de Estudo e Aspectos Éticos

A pesquisa foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal do Ceará/PROPESQ-UFC (número de processo: 96542518.8.0000.5054) através do sistema da Plataforma Brasil, utilizando-se de Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) apresentados na sessão apêndice. A equipe executora desta pesquisa comprometeu-se a cumprir todas as diretrizes e normas reguladoras descritas na Resolução nº 466 de 12 de dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde que aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos.

4.2 Casuística e Seleção de Amostras

Foram selecionados 44 pacientes diagnosticados com SMD atendidos, entre 2008 e 2023, no Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) da Universidade Federal do Ceará (UFC), bem como 145 indivíduos saudáveis que foram voluntariamente incluídos no grupo controle. Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Foi realizada a coleta de medula óssea por médico hematologista experiente com agulha para mielograma após punção esternal, em que o material (4ml de amostra de sangue) foi armazenado em tubos *Vacutainer*® contendo EDTA e passaram por processamento de extração de DNA, a fim de realizar os experimentos de genotipagem. Assim, foram analisados dados de genotipagem dos genes (tabela 1) em amostras de *pool* celular de medula óssea de pacientes diagnosticados com SMD conforme os critérios da Organização Mundial de Saúde (ARBER et al, 2016).

4.3 Cariótipo por Banda G

A técnica de citogenética foi realizada seguindo os protocolos estabelecidos pelo Laboratório de Citogenômica do Câncer da Universidade Federal do Ceará, com base na técnica descrita por Chauffaille e adaptada por Pinheiro (PINHEIRO et al., 2009) e exemplificado na Figura 02. A amostra de medula foi coletada em tubos estéreis contendo heparina e dividida em dois frascos contendo 8mL de meio RPMI 1640 (pH 7,0), 2 mL de

soro fetal bovino e 100µL de estreptomicina e penicilina. Em seguida, a amostra foi cultivada por 24 horas a 37°C na estufa.

Posteriormente, adicionou-se 70µL de colchicina (Colcemid®) por 30 minutos. O material foi centrifugado e ressuspenso em uma solução hipotônica de KCl 0,075M por 20 minutos. Antes de uma nova centrifugação, adicionou-se 0,5mL de Carnoy (solução 3:1 de metanol e ácido acético) e o material foi homogeneizado. Após a centrifugação, o material foi lavado até três vezes em solução de Carnoy. Para a preparação das lâminas, o material foi gotejado em lâminas previamente "envelhecidas" em placas. O bandeamento cromossômico foi realizado pela técnica de tripsina e as lâminas foram coradas com corante Wright. Para cada paciente, foram analisadas 20 metáfases, sempre que possível, que foram capturadas em um sistema computadorizado com software de cariotipagem: *CytoVision*®. Os resultados das análises citogenéticas da medula óssea foram interpretados de acordo com os critérios estabelecidos pelo Sistema Internacional de Nomenclatura Citogenética Humana (ISCN) (MCGOWAN-JORDAN, 2016) para confirmação.

4.4 Lise de Células Eritrocitárias

Para a separação das células do pool celular da medula óssea, foi realizado uma centrifugação a 1811g por 10 minutos a 4°C e, seguidamente, o plasma foi retirado e o material restante lavado com 1ml de solução de lise (45mL de solução de Cloreto de amônio 0,144M e 5ml de Bicarbonato de amônio 0,01 M). Após isso, a amostra foi transferida para um tubo do tipo Falcon de 50mL contendo 24ml de solução de lise, havendo logo após um descanso de 15 minutos do material no gelo antes de seguir para a centrifugação (3000 rpm por 10 minutos a 4°C). Em seguida, desprezou-se a fase aquosa e o pellet lavado mais uma vez com 5ml de solução de lise, com manutenção do material sob o gelo por 10 minutos, homogeneização do tubo e centrifugação conforme descritos anteriormente. Após isso, o sobrenadante foi desprezado e acrescentou-se 250µL de PBS, de acordo com o volume do material obtido. Posteriormente será adicionado 750uL de *Trizol LS Reagent*® (*Invitrogen, EUA*) para cada 250uL de volume de PBS aplicado no pool medular. O material foi homogeneizado com pipeta até a dissolução completa. Após este procedimento, o material foi armazenado no freezer a -80°C para posterior extração do DNA contendo os produtos obtidos de acordo com a Figura 06.

Figura 06- Representação dos produtos obtidos a partir do procedimento de Lise Eritrocitária.



Fonte: Protocolo de Lise de Células Eritrocitárias para Armazenamento em Trizol a -80°C - Laboratório de Citogenômica do Câncer, 2023.

4.5 Extração de DNA Genômico

O DNA foi extraído após o procedimento de lise celular, as células foram armazenadas no Trizol Reagente®. Após remover completamente a fase aquosa contendo o RNA, isolou-se a interfase contendo o DNA da fase orgânica, que contém proteínas e compostos fenólicos. Utilizou-se o kit *PureLink™ Genomic DNA mini kit (Invitrogen)* para a extração do DNA, empregando 200 μL da amostra coletada em um tubo contendo EDTA. Todas as amostras foram extraídas de acordo com as recomendações do fabricante.

O DNA extraído foi então armazenado a -80°C para ser utilizado posteriormente nos experimentos de genotipagem. 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 $A_{260}/A_{280} > 1,7$ e $\leq 2,0$.

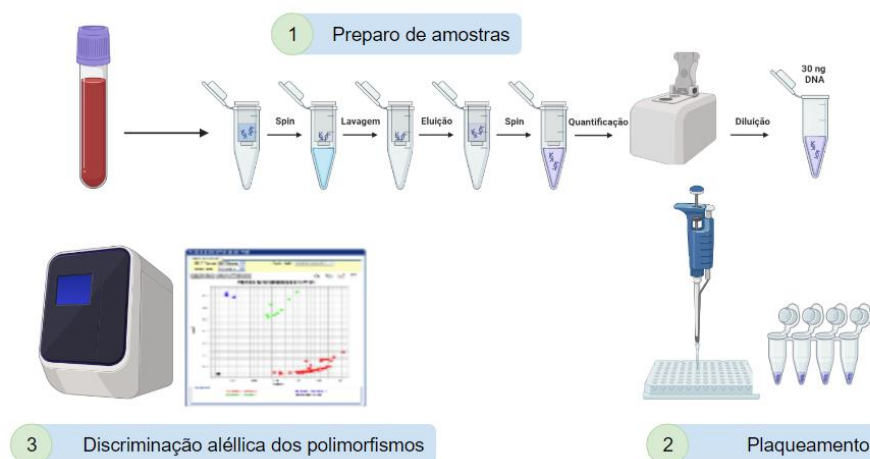
4.6 PCR Qualitativa

Para obtenção dos resultados, foi utilizado o ensaio de discriminação alélica para genotipagem do polimorfismo, com o uso de oligonucleotídeos e sondas *Taqman® AssayProbes (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 30ng, após quantificação estimada através de leitura espectrofotométrica pelo equipamento *Nanodrop (Thermo Fisher Scientific Inc., Shanghai, China)*. 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 (Figura 07).

Figura 07. Fluxograma resumido da metodologia realizada no Estudo para preparo e análise das amostras.



Fonte: Elaborada pelo autor.

4.7 Variáveis Analisadas

- Grupo: Caso e Controle;
- Sexo: Feminino e Masculino;
- Idade: >60 e ≤60 (Classificação IPSS-R);
- Cariótipo: Normal e Alterado;
- Sideroblastos em anel: 0%, ≥1% - ≤14%, ≥15%;
- Percentual de blastos (IPSS-R): ≤2%, >2 a <5%, >5% - ≤10%;
- Contagem absoluta de neutrófilos (ANC) (mm³): ≥800, <800;
- Prognóstico IPSS-R: Muito Favorável, Favorável, Intermediário, Desfavorável, Muito Desfavorável;
- Classificação dos valores de hemoglobina (Hb) (IPSS-R): ≥10g/dL, 8- <10g/dL e <8g/dL;
- Classificação dos valores de plaquetas (IPSS-R): ≥100.000 por mm³, 50.000 - <100.000 por mm³ e ≤50.000 por mm³ (GREENBERG et al., 2012);

- Classificação do grupo de risco de acordo com o IPSS-R: muito baixo e baixo, intermediário, alto e muito alto;
- Classificação do número de citopenias no sangue periférico: 1 citopenia, 2 citopenias e 3 citopenias;
- Quanto a classificação da OMS (2016): SMD-DU (SMD com Displasia de Única Linhagem), SMD-DM (SMD com Displasia de Múltipla Linhagem), SMD-EB (SMD com Excesso de Blastos), SMD-SA (SMD com Sideroblastos em Anel);
- Progressão da doença: Ausência ou Presença;
- Evolução para LMA: Ausência e Presença.

4.8 Análise Estatística

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)

As diferenças entre as distribuições alélicas e genotípicas, os modelos genéticos e a análise do Equilíbrio de Hardy-Weiberg ($p > 0,05$) foram analisadas com o teste de quiquadrado (com 1 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 o princípio do equilíbrio gênico no processo evolutivo, consistindo em uma importante análise na verificação da população proposta nos estudos de polimorfismos.

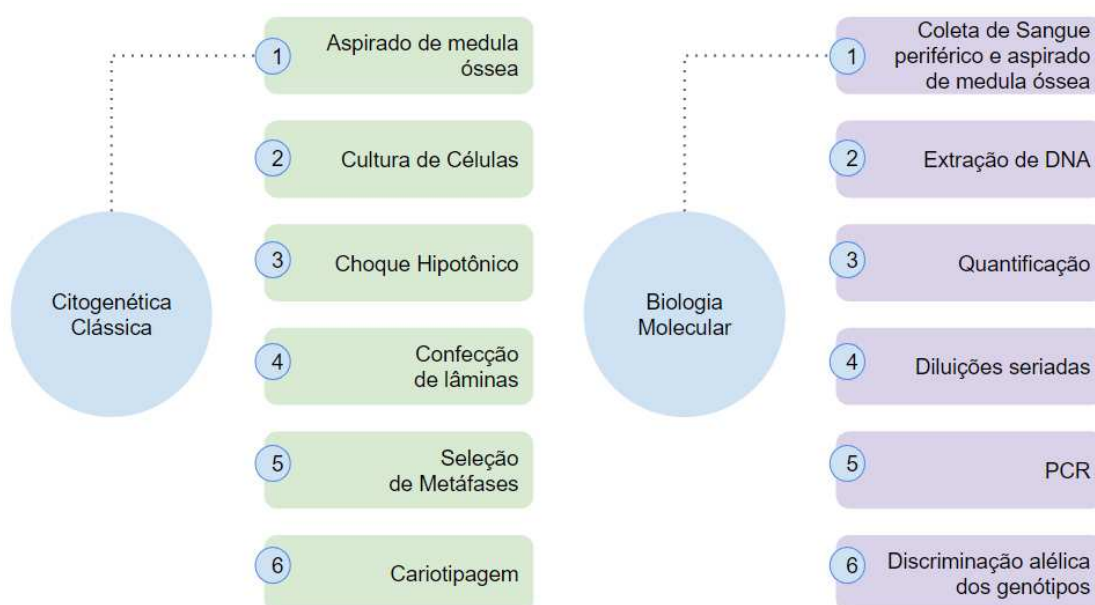
Tabela 2 – Lista de testes estatísticos de associação realizados para cada polimorfismo e variável.

<i>Distribuição Genotípica</i>	SELVAGEM versus HETEROZIGOTO versus MUTANTE
<i>Modelo Genético de Dominância</i>	SELVAGEM versus MUTANTE + HETEROZIGOTO

<i>Modelo Genético de Recessividade</i>	MUTANTE versus SELVAGEM + HETEROZIGOTO
<i>Modelo Genético de Homozigose</i>	HOMOZIGOTO SELVAGEM versus HOMOZIGOTO MUTANTE
<i>Modelo Genético de Heterozigose Dominante</i>	HOMOZIGOTO SELVAGEM versus HETEROZIGOTO
<i>Modelo Genético de Heterozigose Recessiva</i>	HOMOZIGOTO MUTANTE versus HETEROZIGOTO

Para as variáveis que contribuem para o risco de SMD foram realizadas as análises de forma demonstrativa para discorrer os fatores 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 26.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Figura 8: Organograma resumo das metodologias utilizadas neste estudo.



Fonte: elaborado pelo autor.

5. RESULTADOS

5.1 Caracterização da População

Foram avaliados um total 44 pacientes diagnosticados com SMD, dentre os quais 23 (52,3%) eram do sexo masculino e 21 (47,7%) eram do sexo feminino. Com relação à idade, a média foi de 70,45 anos, com mediana de 71,5 anos, e, ao estratificar essa variável em ≤ 60 e > 60 , observou-se que 77,3% dos indivíduos encontravam-se acima dos 60 anos (Tabela 3).

Nas variáveis clínico-laboratoriais, 44 indivíduos foram analisados, sendo que 17 (38,6%) apresentaram hemoglobina inferior a 8g/dL, 26 (59,1%) apresentavam apenas uma citopenia, 13 (29,5%) apresentaram 2 citopenias e apenas 5 (11,4%) apresentaram 3 citopenias. Nesta caracterização, a citopenia mais frequente foi a neutropenia, presente em 34 (77,3%) dos indivíduos amostrados e a menos frequente foi a plaquetopenia, a qual estava em 10 (22,7%) destes (Tabela 3).

Dentre os resultados de mielograma da presente coorte, foi observado que a maioria apresentava 1 ou 2 displasias (36,36% e 50%, respectivamente), dessas foi observada a predominância de diseritropoiese, 38 (86,4%) dos indivíduos, seguida por dismegacariopoesse 25 (56,8%) dos indivíduos e por último disgranulopoesse, presente em 19 (43,2%) dos indivíduos. Vale ressaltar que não foi possível ter acesso aos dados dos demais pacientes.

Estratificando o percentual de blastos de 41 indivíduos, 23 (56,09%) apresentaram contagens inferiores a 2% de blastos, além disso, 7 (17,7%) apresentaram contagens entre 5 e 10%, 7 (17,7%) possuíam contagens entre 2% - 5% de blastos na medula óssea e 3 (6,5%) apresentaram contagens $> 10\%$ (Tabela 3).

Quanto ao percentual de sideroblastos em anel, foram contabilizados dados de 44 pacientes. Destes, a maioria - 32 (72,7%) - não apresentava esta característica nas contagens, no entanto, 10 (22,4%) dos pacientes apresentaram contagens superiores a 15% de sideroblastos em anel em suas células da medula óssea (Tabela 3).

Tabela 3- Variáveis clínicas dos pacientes SMD.

Variáveis		N	%
Grupo	Caso	44	23,2
	Controle	145	76,8

<i>Sexo</i>	Feminino	21	47,7
	Masculino	23	52,3
<i>Idade (Categorizada de acordo com o IPSS 2012)</i>	≤60 anos	10	22,7
	>60 anos	34	77,3
<i>Diseritropoese</i>	Presença	38	86,4
	Ausência	6	13,6
<i>Disgranulopoeese</i>	Presença	19	43,2
	Ausência	25	56,8
<i>Dismegacariopoeese</i>	Presença	25	56,8
	Ausência	19	43,2
<i>Presença de Sideroblastos em anel</i>	0%	32	72,7
	≥1% -≤14%	2	4,5
	≥15%	10	22,4
<i>Percentual de blastos (IPSS-R)</i>	≤2%	23	57,5
	>2 a <5%	7	17,5
	>5% -≤10%	7	17,5
	>10%	3	7,5
<i>Percentual de blastos _Categoria 2</i>	< 10%	34	87,2
	≥ 10%	5	12,8
<i>Percentual de blastos _Categoria 3</i>	<5%	28	75,7
	>5%	9	24,3
<i>Hemoglobina (g/dL)</i>	≥10	8	18,2
	8-<10	19	43,2
	<8	17	38,6
<i>Contagem absoluta de neutrófilos (ANC)(mm3)</i>	≥800	34	77,3
	<800	10	22,7
<i>Plaquetas(mm3)</i>	≥100	22	50
	50 -<100	10	22,7
	<50	12	27,3
<i>Plaquetas(mm3) _Categoria 2</i>	≤100	18	40,9
	>100	26	59,1
<i>Número de citopenias</i>	1	26	59,1
	2	13	29,5
	3	5	11,4

Estratificando os dados relacionados ao prognóstico segundo IPSS-R, foi possível perceber que apenas 1 paciente (3,0%) apresentou cariótipo classificado como muito favorável, a maioria - 24 (72,7%) apresentaram cariótipo considerado favorável, 5 (15,2%) apresentou cariótipo intermediário, apenas 1 (3,0%) com cariótipo desfavorável e 2 (6,1%), cariótipo muito desfavorável.

Com análise do Grupo de Risco (IPSS-R), foi possível identificar que apenas 1 paciente (3,2%) apresentou como classificação risco muito baixo, a maioria – 18 (58,1%) apresentaram risco baixo, seguido por 6 (19,4%) com risco intermediário, 4 (12,9%) com risco alto e 2 (6,5%) com risco muito alto.

Dentre os pacientes portadores de SMD, o subtipo mais frequente foi SMD com Displasia em multilinhagem com 17 (38,6%) pacientes, seguido pelo subtipo SMD com sideroblastos em anel com 6 (13,6%) pacientes, 5 pacientes com subtipo SMD com Excesso de Blastos I (11,4%), 5 pacientes com subtipo SMD com Excesso de Blastos II (11,4%) e 6 (13,6%) pacientes do subtipo SMD com displasia unilinhagem.

Tabela 04 - Classificação da população do estudo quanto ao Cariótipo, Prognóstico IPSS-R, Grupo de Risco IPSS-R e OMS (2016).

<i>Variáveis</i>		N	%
<i>Cariótipo</i>	Normal	19	57,6
	Alterado	14	42,4
<i>Prognóstico (IPSS-R)</i>	Muito Favorável	1	3,0
	Favorável	24	72,7
	Intermediário	5	15,2
	Desfavorável	1	3,0
	Muito Desfavorável	2	6,1
<i>Grupo de Risco (IPSS-R)</i>	Muito Baixo	1	3,2
	Baixo	18	58,1
	Intermediário	6	19,4
	Alto	4	12,9
	Muito Alto	2	6,5
<i>Classificação (OMS – 2016)</i>	SMD-DU	7	15,9
	SMD-DM	17	38,6
	SMD-SA-DU	6	13,6

	SMD-AS-DM	4	9,1
	SMD-EB1	5	11,4
	SMD-EB2	5	11,4

Analisando a variável que computa os dados relacionados à progressão da doença, foi entendido que a maioria - 32 (86,5%) dos pacientes não apresentaram progressão, enquanto 5 (13,5%) apresentaram progressão da doença.

Dentre os resultados relacionados à evolução para Leucemia Mielóide Aguda, foram computados dados de 36 pacientes, dos quais 31 (86,1%) não apresentaram evolução para patologia e 5 (13,9) evoluíram para LMA.

Tabela 5 –Variáveis de Progressão da doença e Evolução para LMA obtidos com a coorte.

<i>Variáveis</i>		N	%
<i>Progressão da doença</i>	Sim	5	13,5
	Não	32	86,5
<i>Evolução _LMA</i>	Sim	5	13,9
	Não	31	86,1

A citogenética nos permitiu avaliar os cariótipos, de onde foram obtidos os resultados de 42 pacientes. Nas análises, 19 (45,24%) pacientes não possuíam alterações no cariótipo e 14 (33,33%) apresentaram um cariótipo alterado, 9 (21,43%) apresentaram ausência de metáfases. Dos 33 cariótipos com resultado diferente de ausência de metáfases, 12 (36,36%) apresentaram cariótipo complexo e a alteração mais comum entre eles foi a del5q-.

Tabela 06- Descrição Clínica dos pacientes com SMD do presente estudo.

Paciente	Sexo	Idade	Cariótipo	OMS_2016	Grupo de Risco	Progressão	Evolução
1	F	65	46,XX[20]	SMD-DM	Intermediário	Não	Não
2	F	72	46,XX[5]	SMD-DM	Baixo Risco	Não	Não
3	M	73	Ausência de metáfase	SMD-EB2	Ignorado	Não	Não
4	M	62	Ausência de metáfase	MD-DM	Ignorado	Ignorado	Ignorado
5	M	66	Ausência de metáfase	SMD-EB1	Ignorado	Não	Não
6	M	91	45,X-Y[4]/46,XY[16]	SMD-SA-DU	Muito Baixo	Não	Não
7	M	45	47,XY,+mar[3]/46,XY[17]	SMD-DM	Alto Risco	Não	Não
8	M	46	46,XY[8]	SMD-DM	Baixo Risco	Sim	Sim
9	M	73	Ausência de metáfase	SMD-DM	Ignorado	Não	Não
10	F	28	46 XX [20]	SMD-SA-DU	Baixo Risco	Não	Não
11	M	82	46,XY[20]	SMD-SA-DM	Baixo Risco	Não	Não
12	M	92	Ausência de metáfase	SMD-DM	Ignorado	Não	Não
13	M	64	37,X,-2,-3,-9,-11,-12,-15,-16,-18,-Y[8]/46,XY,del(5)(q15q33)[5]/46,XY[6]	SMD-EB2	Muito Alto	Não	Não
14	F	81	46,XX[5]	SMD-SA-DM	Baixo Risco	Não	Não
15	F	87	47,XX,t(4;11)(q27;q32),+mar[4]/46,XX[16]	SMD-DM	Intermediário	Não	Não
16	F	70	Ausência de metáfase	SMD-DM	Ignorado	Sim	Não
17	M	87	46,XY[6]	SMD-SA-DM	Baixo Risco	Não	Não
18	F	23	46,XX,del(5)(q15q33)[4]/46,XX[18]	SMD-DM	Baixo Risco	Não	Não
19	M	69	47,XY,del(5)(q31),+mar[7]/46,XY,del(11)(q23)[3]/46,XY,del(5)(q31),del(11)(q23)[5].	SMD-DM	Ignorado	Sim	Sim
20	M	80	46,XY[17]	SMD-SA-DU	Baixo Risco	Não	Não

21	F	84	Ausência de metáfase	SMD-SA-DU	Ignorado	Não	Não
22	F	64	46,XX[20]	SMD-DU	Baixo Risco	Não	Não
23	F	59	Ausência de metáfase	SMD-DU	Ignorado	Não	Sim
24	M	77	46,XY,add(13)(p11)[12]/46,XY,del(7)(q32),add(13)(p11)[4]/48,XY,add(13)(p11),+22,+mar[9] /48,XY,del(7)(q32),add(13)(p11),+22,+mar[3]/46,XY[2]	SMD-DM	Ignorado	Não	Não
25	M	83	46,XY[18]	SMD-DU	Intermediário	Não	Não
26	F	83	46,XX[20]	SMD-EB1	Intermediário	Não	Não
27	F	72	46,XX[6]	SMD-DU	Baixo Risco	Não	Não
28	M	31	46,XY[24]	SMD-DU	Baixo Risco	Não	Não
29	M	85	46,XY[20]	SMD-EB1	Intermediário	Ignorado	Não
30	M	57	46,XY,del(5)(q32)[3]/46,XY,del(5)(q32),del(7)(q36)[3]/46,XY,-5,+mar[9]/46,XY[7]	SMD-DM	Alto Risco	Não	Ignorado
31	M	98	46,XY,del(5)(q32)[13]/46,XY[17]	SMD-SA-DM	Baixo Risco	Ignorado	Ignorado
32	F	54	46,XX,del(5)(q31q33)[7]/46,xx[15]	SMD-DM	Baixo Risco	Não	Ignorado
33	M	56	45,X,-Y[15]/45,X,-Y,del(5)(q32)[3]/46,XY[2]	SMD-EB2	Alto Risco	Sim	Sim
34	F	90	46,XX[20]	SMD-DU	Baixo Risco	Não	Não
35	F	81	46,XX[20]	SMD-SA-DU	Baixo Risco	Não	Não
36	F	73	Ausência de metáfase	SMD-DM	Ignorado	Ignorado	Ignorado
37	F	70	46,XY,add(17)(p13)[8]/46,XY,del(9)(q13),add(17)(p13)[10]/46,XY[2]	SMD-EB2	Muito Alto	Não	Não
38	F	49	46,XX[20]	SMD-DM	Baixo Risco	Sim	Sim
39	F	80	46,XX[20]	SMD-DU	Baixo Risco	Ignorado	Ignorado
40	M	81	46,XY[18]	SMD-DM	Baixo Risco	Ignorado	Ignorado
41	F	88	47,XX+8[15]	SMD-EB1	Alto Risco	Não	Não
42	M	79	46,XY,del(5)(q32)[9]/46,XY[11]	SMD-EB1	Intermediário	Ignorado	Ignorado

43	M	78	Dado não informado	SMD-SA-DU	Ignorado	Não	Não
44	F	72	Dado não informado	SMD-EB2	Ignorado	Não	Não

5.2 Análise da Frequência Alélica do polimorfismo rs1800795 no gene *IL6*

O polimorfismo rs1800795 no gene *IL6*, localizado no braço curto do cromossomo 7, na posição p15.3. A frequência encontrada do alelo de referência – C é menos frequente que o alelo polimórfico - G, para população de referência “Latino Americana 2”, avaliada a partir dos dados obtidos no *dbSNP*, o que está relatado na Tabela 09.

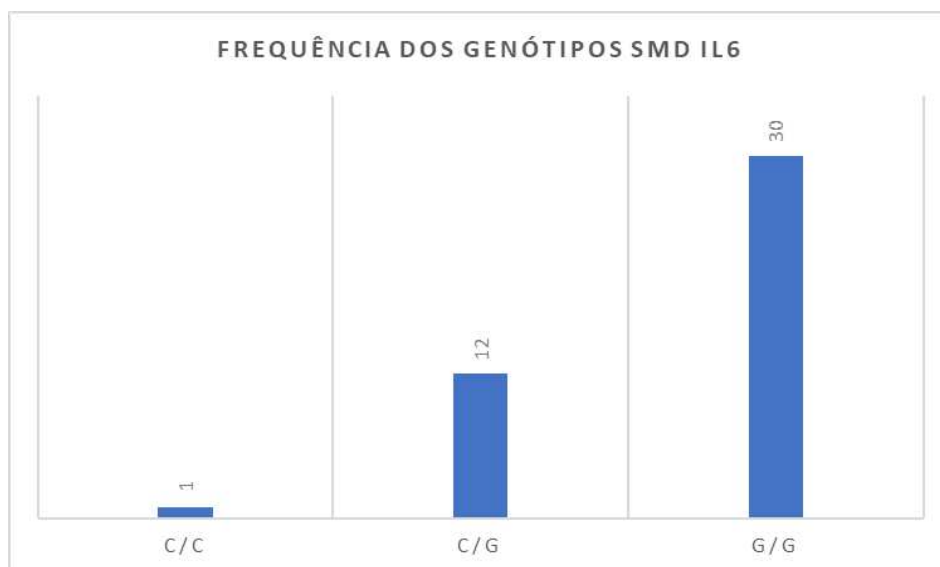
Ao realizarmos a análise do equilíbrio de Hardy-Weinberg, detectamos que os genótipos analisados para o polimorfismo rs1800795 encontram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p > 0,05$), indicando que a amostragem poderá ser utilizada para prosseguir com as análises (Tabela 07).

Tabela 07 – Resultado do cálculo do equilíbrio de Hardy-Weinberg para o polimorfismo rs1800795.

<i>Equilíbrio de HW</i>		
	X²	p valor
<i>Controle</i>	1.61035	0,44701
<i>SMD</i>	0,01018	0,99493

Legenda: X² – Teste de qui-quadrado.

Para *IL6*, o alelo polimórfico está mais presente nos pacientes diagnosticados com SMD, apresentando 74 alelos G (84,09%), quando comparado ao grupo controle - 184 Alelos G (71,59%). A presença do Homozigoto selvagem - CC foi encontrada em apenas 1 (2,27%) da amostragem dos pacientes, seguido por 12 (27,27%) de heterozigoto CG e a maioria apresentou o homozigoto mutante GG, com 31 (70,45%) da amostragem. O alelo Selvagem C foi quantificado nos pacientes com SMD, encontrando a presença de apenas 14 alelos C na amostragem, o que representa 15,55% do total. Para o grupo controle, computou-se 73 alelos C, representando 28,04% do total.

Gráfico 01 - Frequência Alélica gene *IL6*.

Fonte: elaborado pelo autor.

5.3 Análise da Frequência Alélica do polimorfismo rs1800896 no gene *IL10*

O polimorfismo rs1800896 no gene *IL10*, localizado no braço curto do cromossomo 1, na posição q32.1. A frequência encontrada do alelo de referência – T é mais comum que o alelo polimórfico - C, para população de referência “Latino Americana 2”, o que está relatado na Tabela 09.

Ao realizarmos a análise do equilíbrio de Hardy-Weinberg, detectamos que os genótipos analisados para o polimorfismo rs1800896 encontram-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p > 0,05$), indicando que a amostragem poderá ser utilizada para prosseguir com as análises (Tabela 08).

Tabela 08 – Resultado do cálculo do equilíbrio de Hardy-Weinberg para o polimorfismo rs1800896

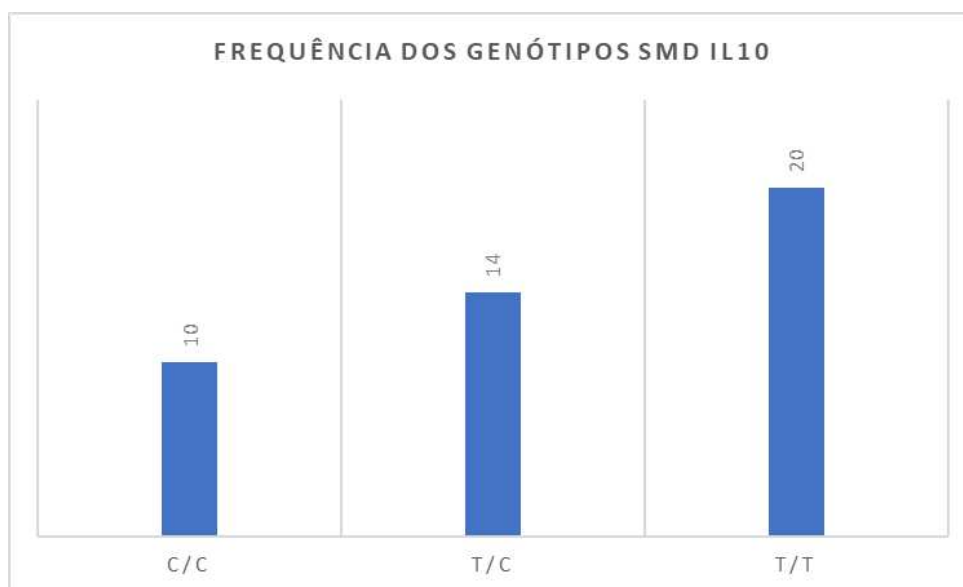
	<i>Equilíbrio de HW</i>	
	χ^2	<i>p valor</i>
<i>Controle</i>	0,01482	0,99261
<i>SMD</i>	2.39258	0,30231

Legenda: χ^2 – Teste de qui-quadrado.

Para *IL10*, a presença do alelo Selvagem na SMD é mais encontrada, com frequência de 54 alelos T, o que representa 61,3% do total, quando comparado ao alelo mutante C - 34

(38,66%). A presença do homozigoto selvagem foi predominante, com 20 pacientes com genótipo TT, o que representa 45,45% do total. Já para o heterozigoto TC, foram encontrados 14 pacientes, representando 31,81% da amostragem. A presença do homozigoto mutante CC representou 10 (22,72%). Para o grupo controle, a frequência do alelo selvagem TT foi de 183 (62,67%) e do alelo mutante foi de 109 (37,32%).

Gráfico 02 - Frequência Alélica gene *IL10*.



Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 09 - Relação dos polimorfismos no gene avaliado e sua respectiva localização gênica; população “Latino Americana 2”, de acordo com dbSNP - NCBI – *National Institutes of Health (NIH)*.

SNP	Gene	Locus	Frequência “Latino Americana 2” –Alelo de referência	Frequência “Latino Americana 2” Alelo mutante	Alelo de referência	Alelo mutante
rs1800795	<i>IL6</i>	7p15.3	0.180	0.820	C	G
rs1800896	<i>IL10</i>	1q32.1	0.7164	0.2836	T	C

Legenda: Alelo de referência Citosina no Genoma; Alelo mutante Guanina no Genoma; Alelo de referência Timina no Genoma; Alelo mutante Citosina no Genoma.

5.4 Análises do Polimorfismo do gene *IL6*

5.4.1 Influência do polimorfismo rs1800795 do gene *IL6* sobre os parâmetros laboratoriais e clínicos

A estratificação dos dados laboratoriais quanto ao polimorfismo do gene *IL6* na região rs1800795 revelou, através do teste de qui-quadrado uma associação significativa entre os diferentes genótipos e o número de citopenias -1,2,3 ($p=0,002$). Dados descritos na Tabela 10.

Tabela 10- Análise do genótipo em relação a variável citopenia.

Citopenias (Categoria 1)	Genótipo	Contagem	Contagem esperada	%	<i>p-Valor</i>
1	C/C	2	1,2	0	0,002
	C/G	4	7,1	13,6	
	G/G	20	17,7	45,5	
2	C/C	1	0,6	0	
	C/G	5	3,5	13,6	
	G/G	7	8,9	15,9	
3	C/C	1	0,2	4,5	
	C/G	1	1,4	0	
	G/G	3	3,4	6,8	

A estratificação dos dados laboratoriais quanto ao polimorfismo do gene *IL6* na região rs1800795 revelou através do teste de qui-quadrado uma associação significativa entre os diferentes genótipos e a presença ou ausência de disgranulopoiese ($p=0,034$).

Tabela 11-Análise do genótipo em relação a variável disgranulopoiese

Disgranulopoiese	Genótipo	Contagem	Contagem esperada	%	<i>p-Valor</i>
Não	C/C	2	1,1	0	0,034
	C/G	8	6,8	22,7	
	G/G	15	17	34,1	
Sim	C/C	2	0,9	4,5	
	C/G	2	5,2	4,5	
	G/G	15	13	34,1	

A estratificação dos dados laboratoriais quanto ao polimorfismo do gene *IL6* na região rs1800795 revelou, através do teste de qui-quadrado, uma associação significativa entre os diferentes genótipos e a contagem de neutrófilos $< 0,8$, $\geq 0,80$ ($p=0,036$).

Tabela 12-Análise do genótipo em relação a variável contagem absoluta de neutrófilos

ANC	Genótipo	Contagem	Contagem esperada	%	<i>p-Valor</i>
< 0,8	C/C	2	0,5	4,5	0,036
	C/G	3	2,7	6,8	
	G/G	5	6,8	11,4	
≥ 0,8	C/C	0	1,5	0	
	C/G	9	9,3	20,5	
	G/G	25	23,2	56,8	

Para as demais variáveis não foi encontrado valores significativos, apresentando *p-valor* maior que 0,05 o que está evidenciado na Tabela 13.

Tabela 13 – Análise dos genótipos em relação a variáveis clínicas.

Variáveis	Genótipo	Contagem	Contagem esperada	%	<i>p-Valor</i>
Grupos					
Caso	C/C	2	3,2	1,1	0,463
	C/G	12	14,1	6,3	
	G/G	30	26,6	15,8	
Controle	C/C	12	10,8	6,3	
	C/G	49	46,9	25,8	
	G/G	85	88,4	44,7	
Sexo					
Feminino	C/C	0	1	0	0,579
	C/G	6	5,7	13,6	
	G/G	15	14,3	34,1	
Masculino	C/C	2	1	4,5	
	C/G	6	6,3	13,6	
	G/G	15	15,7	34,1	
Idade					
≤ 60 anos	C/C	1	0,5	2,3	0,819
	C/G	3	2,7	6,8	
	G/G	6	6,8	13,6	
> 60 anos	C/C	1	1,5	2,3	
	C/G	9	9,3	20,5	
	G/G	24	23,2	54,5	
OMS (2016)					
SMD-DU	C/C	0	0,3	0	0,377
	C/G	3	1,9	6,8	
	G/G	4	4,8	9,1	
SMD-DM	C/C	1	0,8	2,3	
	C/G	5	4,6	11,4	

	G/G	11	11,6	25		
SMD-SA-DU	C/C	0	0,3	0		
	C/G	1	1,6	2,3		
	G/G	5	4,1	11,4		
SMD-SA-DM	C/C	0	0,2	0		
	C/G	0	1,1	0		
	G/G	4	2,7	9,1		
SMD-EB1	C/C	0	0,2	0		
	C/G	3	1,4	6,8		
	G/G	2	3,4	4,5		
SMD-EB2	C/C	1	0,2	2,3		
	C/G	0	1,4	0		
	G/G	4	3,4	9,1		
Número de Citopenias						
1	C/C	2	1,2	0	0,002	
	C/G	4	7,1	13,6		
	G/G	20	17,7	45,5		
2	C/C	1	0,6	0		
	C/G	5	3,5	13,6		
	G/G	7	8,9	15,9		
3	C/C	1	0,2	4,5		
	C/G	1	1,4	0		
	G/G	3	3,4	6,8		
Cariótipo						
Normal	C/C	2	1,2	0	0,08	
	C/G	4	5,2	12,1		
	G/G	15	12,7	45,5		
Alterado	C/C	2	0,8	6,1		
	C/G	5	3,8	15,2		
	G/G	7	9,3	21,2		
Percentual de Sideroblastos em anel						
0%	C/C	2	1,5	4,5		0,367
	C/G	10	8,7	22,7		
	G/G	20	21,8	45,5		
1% - 14%	C/C	0	0,1	0		
	C/G	1	0,5	2,3		
	G/G	1	1,4	2,3		
> 15%	C/C	0	0,5	0		
	C/G	1	2,7	2,3		
	G/G	9	6,8	20,5		
Percentual de Blastos IPSS-R						
≤ 2%	C/C	1	1,2	2,5	0,512	
	C/G	5	6,3	12,5		

	G/G	17	15,5	42,5	
2% - 5%	C/C	0	0,4	0	
	C/G	3	1,9	7,5	
	G/G	4	4,7	10	
5% - 10%	C/C	1	0,4	2,5	
	C/G	3	1,9	7,5	
	G/G	3	4,7	7,5	
> 10%	C/C	0	0,2	0	
	C/G	0	0,8	0	
	G/G	3	2	7,5	
Hemoglobina IPSS-R					
≥ 10g/dL	C/C	0	0,4	0	
	C/G	0	2,2	0	
	G/G	8	5,5	18,2	
8 – 10g/dL	C/C	0	0,9	0	
	C/G	8	5,2	18,2	
	G/G	11	13	25	
< 8 g/dL	C/C	2	0,8	4,5	
	C/G	4	4,6	9,1	
	G/G	11	11,6	25	
Contagem Absoluta de Neutrófilos IPSS-R					
< 0,8	C/C	2	0,5	4,5	0,036
	C/G	3	2,7	6,8	
	G/G	5	6,8	11,4	
≥ 0,8	C/C	0	1,5	0	
	C/G	9	9,3	20,5	
	G/G	25	23,2	56,8	
Contagem de Plaquetas IPSS-R					
≥ 100	C/C	0	1	0	0,103
	C/G	8	6	18,2	
	G/G	14	15	31,8	
50 < 100	C/C	0	0,5	0	
	C/G	3	2,7	6,8	
	G/G	7	6,8	15,9	
< 50	C/C	2	0,5	4,5	
	C/G	1	3,3	2,3	
	G/G	9	8,2	20,5	
Prognóstico IPSS-R					
Muito Favorável	C/C	0	0,1	0	0,106
	C/G	0	0,3	0	
	G/G	1	0,7	3	
Favorável	C/C	0	1,5	0	
	C/G	5	6,5	15,2	

	G/G	19	16	57,6	
Intermediário	C/C	1	0,3	3	
	C/G	3	1,4	9,1	
	G/G	1	3,3	3	
Desfavorável	C/C	0	0,1	0	
	C/G	1	0,3	3	
	G/G	0	0,7	0	
Muito Desfavorável	C/C	1	0,1	3	
	C/G	0	0,5	0	
	G/G	1	1,3	3	
Grupo de Risco IPSS-R					
Muito Baixo	C/C	0	0,1	0	
	C/G	0	0,3	0	
	G/G	1	0,7	3,2	
Baixo	C/C	0	1,2	0	
	C/G	3	4,6	9,7	
	G/G	15	12,2	48,4	
Intermediário	C/C	0	0,4	0	
	C/G	3	1,5	9,7	
	G/G	3	4,1	9,7	
Alto	C/C	1	0,3	3,2	
	C/G	2	1	6,5	
	G/G	1	2,7	3,2	
Muito Alto	C/C	1	0,1	3,2	
	C/G	0	0,5	0	
	G/G	1	1,4	3,2	
Evolução (LMA)					
Sim	C/C	0	0,3	0	
	C/G	2	1,1	5,6	
	G/G	3	3,6	8,3	
Não	C/C	2	1,7	5,6	
	C/G	6	6,9	16,7	
	G/G	23	22,4	63,9	

0,098

0,683

A análise multivariada do modelo dominante – C/C + C/G *versus* G/G foi realizada para avaliar a influência do genótipo dominante para o polimorfismo rs1800795. Os resultados não apresentaram diferenças estatísticas significativas, apresentando *p-valor* maior que 0,05 o que está evidenciado na Tabela 14.

Tabela 14 – Análise do modelo dominante em relação a variáveis clínicas.

Variáveis	Genótipo	Contagem	Contagem esperada	%	p-Valor
Grupos					
Caso	C/C +C/G	1	3	0,5	0,202
	G/G	43	41	22,6	
Controle	C/C +C/G	12	10	6,3	
	G/G	134	136	70,5	
Sexo					
Feminino	C/C +C/G	0	0,5	0	1,000
	G/G	21	20,5	47,7	
Masculino	C/C +C/G	1	0,5	2,3	
	G/G	22	22,5	50	
Idade					
≤ 60 anos	C/C +C/G	0	0,2	0	1,000
	G/G	10	9,8	22,7	
> 60 anos	C/C +C/G	1	0,8	2,3	
	G/G	33	33,2	75	
OMS (2016)					
SMD-DU	C/C +C/G	0	0,2	0	0,318
	G/G	7	6,8	15,9	
SMD-DM	C/C +C/G	0	0,4	0	
	G/G	17	16,6	39,5	
SMD-SA-DU	C/C +C/G	0	0,1	0	
	G/G	6	5,9	13,6	
SMD-SA-DM	C/C +C/G	0	0,1	0	
	G/G	4	3,9	9,1	
SMD-EB1	C/C +C/G	0	0,1	0	
	G/G	5	4,9	11,4	
SMD-EB2	C/C +C/G	1	0,1	2,3	
	G/G	4	4,9	9,1	
Número de Citopenias					
1	C/C +C/G	0	0,6	0	0,114
	G/G	26	25,4	59,1	
2	C/C +C/G	0	0,3	0	
	G/G	13	12,7	29,5	
3	C/C +C/G	1	0,1	2,3	
	G/G	4	4,9	9,1	
Cariótipo					
Normal	C/C +C/G	0	0,6	0	0,424
	G/G	19	18,4	57,6	
Alterado	C/C +C/G	1	0,4	3	
	G/G	13	13,6	39,4	
Percentual de Sideroblastos em anel					
0%	C/C +C/G	1	0,7	2,3	1,000

	G/G	31	31,3	70,5	
1% - 14%	C/C +C/G	0	0	0	
	G/G	2	2	4,5	
> 15%	C/C +C/G	0	0,2	0	
	G/G	10	9,8	22,7	
Percentual de Blastos (IPSS-R)					
≤ 2%	C/C +C/G	0	0,6	0	0,425
	G/G	23	22,4	57,5	
2% - 5%	C/C +C/G	0	0,2	0	
	G/G	7	6,8	17,5	
5% - 10%	C/C +C/G	1	0,2	2,5	
	G/G	6	6,8	15	
> 10%	C/C +C/G	0	0,1	0	
	G/G	3	2,9	7,5	
Hemoglobina					
≥ 10g/dL	C/C +C/G	0	0,2	0	0,568
	G/G	8	7,8	18,2	
8 – 10g/dL	C/C +C/G	0	0,4	0	
	G/G	19	18,6	43,2	
< 8 g/dL	C/C +C/G	1	0,4	2,3	
	G/G	16	16,6	36,4	
Contagem Absoluta de Neutrófilos					
< 0,8	C/C +C/G	1	0,2	2,3	0,227
	G/G	9	9,8	20,5	
≥ 0,8	C/C +C/G	0	0,8	0	
	G/G	34	33,2	77,3	
Contagem de Plaquetas					
≥ 100	C/C +C/G	0	0,5	0	0,500
	G/G	22	21,2	50	
50 < 100	C/C +C/G	0	0,2	0	
	G/G	10	9,8	22,7	
< 50	C/C +C/G	1	0,3	2,3	
	G/G	11	11,7	25	
Prognóstico					
Muito Favorável	C/C +C/G	0	0	0	0,121
	G/G	1	1	3	
Favorável	C/C +C/G	0	0,7	0	
	G/G	24	23,3	72,7	
Intermediário	C/C +C/G	0	0,2	0	
	G/G	5	4,8	15,2	
Desfavorável	C/C +C/G	0	0	0	
	G/G	1	1	3	
Muito	C/C +C/G	1	0,1	3	

Desfavorável	G/G	1	1,9	3	
Grupo de Risco					
Muito Baixo	C/C +C/G	0	0	0	0,097
	G/G	1	1	3,2	
Baixo	C/C +C/G	0	0,6	0	
	G/G	18	17,4	58,1	
Intermediário	C/C +C/G	0	0,2	0	
	G/G	6	5,8	19,4	
Alto	C/C +C/G	0	0,1	0	
	G/G	4	3,9	12,9	
Muito Alto	C/C +C/G	1	0,1	3,2	
	G/G	1	1,9	3,2	
Evolução (LMA)					
Sim	C/C +C/G	0	0,1	0	1,000
	G/G	5	4,9	13,9	
Não	C/C +C/G	1	0,9	2,8	
	G/G	30	30,1	83,3	

A análise multivariada do modelo recessivo – C/C + C/G *versus* G/G foi realizada para avaliar a influência do genótipo dominante para o polimorfismo rs1800795. Os resultados não apresentaram diferenças estatísticas significativas, apresentando *p*-valor maior que 0,05 o que está evidenciado na Tabela 15.

Tabela 15- Análise do modelo recessivo em relação às variáveis clínicas

Variáveis	Genótipo	Contagem	Contagem esperada	%	P-Valor
Grupos					
Caso	G/G	31	26,9	16,3	0,162
	C/C +C/G	13	17,1	6,8	
Controle	G/G	85	89,1	44,7	
	C/C +C/G	61	56,9	32,1	
Sexo					
Feminino	G/G	15	14,8	34,1	1,000
	C/C +C/G	6	6,2	13,6	
Masculino	G/G	16	16,2	36,4	
	C/C +C/G	7	6,8	15,9	
Idade					
≤ 60 anos	G/G	7	7	15,9	1,000
	C/C +C/G	3	3	6,8	
> 60 anos	G/G	24	24	54,5	
	C/C +C/G	10	10	22,7	

OMS (2016)					
SMD-DU	G/G	4	4,9	9,1	0,427
	C/C +C/G	3	2,1	6,8	
SMD-DM	G/G	12	12	27,3	
	C/C +C/G	5	5	11,4	
SMD-SA-DU	G/G	5	4,2	11,4	
	C/C +C/G	1	1,8	2,3	
SMD-SA-DM	G/G	4	2,8	9,1	
	C/C +C/G	0	1,2	0	
SMD-EB1	G/G	2	3,5	4,5	
	C/C +C/G	3	1,5	6,8	
SMD-EB2	G/G	4	3,5	9,1	
	C/C +C/G	1	1,5	2,3	
Número de Citopenias					
1	G/G	13	11,3	29,5	0,48
	C/C +C/G	3	4,7	6,8	
2	G/G	14	15,5	31,8	
	C/C +C/G	8	6,5	18,2	
3	G/G	4	4,2	9,1	
	C/C +C/G	2	1,8	4,5	
Cariótipo					
Normal	G/G	15	13,2	45,5	0,257
	C/C +C/G	4	5,8	12,1	
Alterado	G/G	8	9,8	24,2	
	C/C +C/G	6	4,2	18,2	
Percentual de Sideroblastos em anel					
0%	G/G	21	22,5	47,7	0,299
	C/C +C/G	11	9,5	25	
1% - 14%	G/G	1	1,4	2,3	
	C/C +C/G	1	0,6	2,3	
> 15%	G/G	9	7	20,5	
	C/C +C/G	1	3	2,3	
Percentual de Blastos (IPSS-R)					
≤ 2%	G/G	18	16,1	45	0,171
	C/C +C/G	5	6,9	12,5	
2% - 5%	G/G	4	4,9	10	
	C/C +C/G	3	2,1	7,5	
5% - 10%	G/G	3	4,9	7,5	
	C/C +C/G	4	2,1	10	
> 10%	G/G	3	2,1	7,5	
	C/C +C/G	0	0,9	0	
Hemoglobina					
≥ 10g/dL	G/G	8	5,6	18,2	0,100

8 – 10g/dL	C/C +C/G	0	2,4	0	0,449
	G/G	11	13,4	25	
	C/C +C/G	8	5,6	18,2	
< 8 g/dL	G/G	12	12	27,3	
	C/C +C/G	5	5	11,4	
Contagem Absoluta de Neutrófilos					
< 0,8	G/G	6	7	13,6	0,449
	C/C +C/G	4	3	9,1	
≥ 0,8	G/G	25	24	56,8	
	C/C +C/G	9	10	20,5	
Contagem de Plaquetas					
≥ 100	G/G	14	15,5	31,8	0,475
	C/C +C/G	8	6,5	18,2	
50 < 100	G/G	7	7	15,9	
	C/C +C/G	3	3	6,8	
< 50	G/G	10	8,5	22,7	
	C/C +C/G	2	3,5	4,5	
Prognóstico					
Muito Favorável	G/G	1	0,7	3	0,151
	C/C +C/G	0	0,3	0	
Favorável	G/G	19	16,7	57,6	
	C/C +C/G	5	7,3	15,2	
Intermediário	G/G	2	3,5	6,1	
	C/C +C/G	3	1,5	9,1	
Desfavorável	G/G	0	0,7	0	
	C/C +C/G	1	0,3	3	
Muito Desfavorável	G/G	1	1,4	3	
	C/C +C/G	1	0,6	3	
Grupo de Risco					
Muito Baixo	G/G	1	0,7	3,2	0,420
	C/C +C/G	0	0,3	0	
Baixo	G/G	15	12,8	48,4	
	C/C +C/G	3	5,2	9,7	
Intermediário	G/G	3	4,3	9,7	
	C/C +C/G	3	1,7	9,7	
Alto	G/G	2	2,8	6,5	
	C/C +C/G	2	1,2	6,5	
Muito Alto	G/G	1	1,4	3,2	
	C/C +C/G	1	0,6	3,2	
Evolução (LMA)					
Sim	G/G	3	3,8	8,3	0,581
	C/C +C/G	2	1,2	5,6	
Não	G/G	24	23,3	66,7	

C/C +C/G	7	7,8	19,4
----------	---	-----	------

5.5 Análises do polimorfismo rs1800896 do gene *IL10*

5.5.1 Influência do polimorfismo rs1800896 do gene *IL6* sobre os parâmetros laboratoriais e clínicos

A estratificação dos dados laboratoriais quanto ao polimorfismo do gene *IL10* na região rs1800896 revelou, através do teste de qui-quadrado, que não houve resultados significativos entre os diferentes genótipos relacionados às variáveis analisadas, o que pode ser evidenciado na Tabela 16.

Tabela 16 - Análise do genótipo em relação às variáveis clínicas.

Variáveis	Genótipo	Contagem	Contagem esperada	%	p-Valor
Grupos					
Caso	T/T	20	17,8	10,5	0,265
	T/C	15	19,5	7,9	
	C/C	9	6,7	4,7	
Controle	T/T	57	59,2	30	
	T/C	69	64,5	36,3	
	C/C	20	22,3	10,5	
Sexo					
Feminino	T/T	9	9,5	20,5	0,926
	T/C	8	7,2	18,2	
	C/C	4	4,3	9,1	
Masculino	T/T	11	10,5	25	
	T/C	7	7,8	15,9	
	C/C	5	4,7	11,4	
Idade					
≤ 60 anos	T/T	6	4,5	13,6	0,235
	T/C	4	3,4	9,1	
	C/C	0	2	0	
	T/T	14	15,5	31,8	
> 60 anos	T/C	11	11,6	25	
	C/C	9	7	20,5	
OMS (2016)					
SMD-DU SMD-DM	T/T	1	3,2	2,3	0,414
	T/C	5	2,4	11,4	
	C/C	1	1,4	2,3	
	T/T	10	7,7	22,7	

	T/C	4	5,8	9,1	
	C/C	3	3,5	6,8	
SMD-SA-DU	T/T	2	2,7	4,5	
	T/C	1	2	2,3	
	C/C	3	1,2	6,8	
SMD-SA-DM	T/T	2	1,8	4,5	
	T/C	1	1,4	2,3	
	C/C	1	0,8	2,3	
SMD-EB1	T/T	3	2,3	6,8	
	T/C	2	1,7	4,5	
	C/C	0	1	0	
SMD-EB2	T/T	2	2,3	4,5	
	T/C	2	1,7	4,5	
	C/C	1	1	2,3	
Número de Citopenias					
1	T/T	5	7,3	11,4	
	T/C	7	5,5	15,9	
	C/C	4	3,3	9,1	
2	T/T	12	10	27,3	
	T/C	6	7,5	13,6	
	C/C	4	4,5	9,1	
3	T/T	3	2,7	6,8	
	T/C	2	2	4,5	
	C/C	1	1,2	2,3	0,704
Cariótipo					
Normal	T/T	7	7,5	21,2	
	T/C	8	7,5	24,2	
	C/C	4	4	12,1	
Alterado	T/T	6	5,5	18,2	
	T/C	5	5,5	15,2	
	C/C	3	3	9,1	1,000
Percentual de Sideroblastos em anel					
0%	T/T	15	14,5	34,1	
	T/C	13	10,9	29,5	
	C/C	4	6,5	9,1	
1% - 14%	T/T	1	0,9	2,3	
	T/C	0	0,7	0	
	C/C	1	0,4	2,3	
> 15%	T/T	4	4,5	9,1	
	T/C	2	3,4	4,5	
	C/C	4	2	9,1	0,222
Percentual de Blastos (IPSS-R)					
≤ 2%	T/T	10	10,4	25	0,898

2% - 5%	T/C	8	8,6	20	0,465	
	C/C	5	4	12,5		
	T/T	3	3,2	7,5		
	T/C	3	2,6	7,5		
	C/C	1	1,2	2,5		
5% - 10%	T/T	4	3,2	10		
	T/C	3	2,6	7,5		
	C/C	0	1,2	0		
>10%	T/T	1	1,3	2,5		
	T/C	1	1,1	2,5		
	C/C	1	0,5	2,5		
Hemoglobina						
≥ 10g/dL	T/T	4	3,6	9,1		0,465
	T/C	4	2,7	9,1		
	C/C	0	1,6	0		
8 – 10g/dL	T/T	7	8,6	15,9		
	T/C	7	6,5	15,9		
	C/C	5	3,9	11,4		
< 8 g/dL	T/T	9	7,7	20,5		
	T/C	4	5,8	9,1		
	C/C	4	3,5	9,1		
Contagem Absoluta de Neutrófilos						
< 0,8	T/T	5	4,5	11,4	0,727	
	T/C	4	3,4	9,1		
	C/C	1	2	2,3		
≥ 0,8	T/T	15	15,5	34,1		
	T/C	11	11,6	25		
	C/C	8	7	18,2		
Contagem de Plaquetas						
≥ 100	T/T	9	10	20,5		0,378
	T/C	7	7,5	15,9		
	C/C	6	4,5	13,6		
50 < 100	T/T	7	4,5	15,9		
	T/C	2	3,4	4,5		
	C/C	1	2	2,3		
< 50	T/T	4	5,5	9,1		
	T/C	6	4,1	13,6		
	C/C	2	2,5	4,5		
Prognóstico						
Muito Favorável	T/T	0	0,4	0	0,222	
	T/C	0	0,4	0		
	C/C	1	0,2	3		
	T/T	9	9,5	27,3		

	T/C	11	9,5	33,3	
	C/C	4	5,1	12,1	
Intermediário	T/T	1	2	3	
	T/C	2	2	6,1	
	C/C	2	1,1	6,1	
Desfavorável	T/T	1	0,4	3	
	T/C	0	0,4	0	
	C/C	0	0,2	0	
Muito Desfavorável	T/T	2	0,8	6,1	
	T/C	0	0,8	0	
	C/C	0	0,4	0	
Grupo de Risco					
Muito Baixo	T/T	0	0,4	0	
	T/C	0	0,4	0	
	C/C	1	0,2	3,2	
Baixo	T/T	8	7	25,8	
	T/C	7	7,5	22,6	
	C/C	3	3,5	9,7	
Intermediário	T/T	1	2,3	3,2	
	T/C	4	2,5	12,9	
	C/C	1	1,2	3,2	
Alto	T/T	2	1,5	6,5	
	T/C	2	1,7	6,5	
	C/C	0	0,8	0	
Muito Alto	T/T	1	0,8	3,2	
	T/C	0	0,8	0	
	C/C	1	0,4	3,2	0,359
Evolução (LMA)					
Sim	T/T	3	2,2	8,3	
	T/C	1	1,7	2,8	
	C/C	1	1,1	2,8	
Não	T/T	13	13,8	36,1	
	T/C	11	10,3	30,6	
	C/C	7	6,9	19,4	0,832

A análise multivariada do modelo dominante –T/T + T/C *versus* C/C foi realizada para avaliar a influência do genótipo dominante para o polimorfismo rs1800896. Os resultados não apresentaram diferenças estatísticas significativas, apresentando *p-valor* maior que 0,05 o que está evidenciado na Tabela 17.

Tabela 17- Análise do modelo dominante em relação às variáveis clínicas.

Grupos					
Caso	TT +T/C	21	18,1	11,1	0,382
	C/C	23	25,9	12,1	
Controle	TT +T/C	57	59,9	30	
	C/C	89	86,1	46,8	
Sexo					
Feminino	TT +T/C	10	10	22,7	1,000
	C/C	11	11	25	
Masculino	TT +T/C	11	11	25	
	C/C	12	12	27,3	
Idade					
≤ 60 anos	TT +T/C	6	4,8	13,6	0,481
	C/C	4	5,2	9,1	
> 60 anos	TT +T/C	15	16,2	34,1	
	C/C	19	17,8	43,2	
OMS (2016)					
SMD-DU	TT +T/C	1	3,3	2,3	0,325
	C/C	6	3,7	13,6	
SMD-DM	TT +T/C	11	8,1	25	
	C/C	6	8,9	13,6	
SMD-SA-DU	TT +T/C	2	2,9	4,5	
	C/C	4	3,1	9,1	
SMD-SA-DM	TT +T/C	2	1,9	4,5	
	C/C	2	2,1	4,5	
SMD-EB1	TT +T/C	3	2,4	6,8	
	C/C	2	2,6	4,5	
SMD-EB2	TT +T/C	2	2,4	4,5	
	C/C	3	2,6	6,8	
Numero de Citopenias					
1	TT +T/C	5	7,6	11,4	0,224
	C/C	11	8,4	25	
2	TT +T/C	12	10,5	27,3	
	C/C	10	11,5	22,7	
3	TT +T/C	4	2,9	9,1	
	C/C	2	3,1	4,5	
Cariótipo					
Normal	TT +T/C	8	8,1	24,2	1,000
	C/C	11	10,9	33,3	
Alterado	TT +T/C	6	5,9	18,2	
	C/C	8	8,1	24,2	
Percentual de Sideroblastos em anel					
0%	TT +T/C	16	15,3	36,4	0,858
	C/C	16	16,7	36,4	

1% - 14%	TT +T/C	1	1	2,3	
	C/C	1	1	2,3	
> 15%	TT +T/C	4	4,8	9,1	
	C/C	6	5,2	13,6	
Percentual de Blastos (IPSS-R)					
≤ 2%	TT +T/C	10	10,4	25	0,956
	C/C	13	12,7	32,5	
2% - 5%	TT +T/C	3	3,2	7,5	
	C/C	4	3,9	10	
5% - 10%	TT +T/C	4	3,2	10	
	C/C	3	3,9	7,5	
> 10%	TT +T/C	1	1,4	2,5	
	C/C	2	1,7	5	
Hemoglobina					
≥ 10g/dL	TT +T/C	4	3,8	9,1	0,922
	C/C	4	4,2	9,1	
8 – 10g/dL	TT +T/C	8	9,1	18,2	
	C/C	11	9,9	25	
< 8 g/dL	TT +T/C	9	8,1	20,5	
	C/C	8	8,9	18,2	
Contagem Absoluta de Neutrófilos					
< 0,8	TT +T/C	6	4,8	13,6	0,481
	C/C	4	5,2	9,1	
≥ 0,8	TT +T/C	15	16,2	34,1	
	C/C	19	17,8	43,2	
Contagem de Plaquetas					
≥ 100	TT +T/C	9	10,5	20,5	0,306
	C/C	13	11,5	29,5	
50 < 100	TT +T/C	7	4,8	15,9	
	C/C	3	5,2	6,8	
< 50	TT +T/C	5	5,7	11,4	
	C/C	7	6,3	15,9	
Prognóstico					
Muito Favorável	TT +T/C	0	0,4	0	0,185
	C/C	1	0,6	3	
Favorável	TT +T/C	10	10,2	30,3	
	C/C	14	13,8	42,4	
Intermediário	TT +T/C	1	2,1	3	
	C/C	4	2,9	12,1	
Desfavorável	TT +T/C	1	0,4	3	
	C/C	0	0,6	0	
Muito Desfavorável	TT +T/C	2	0,8	6,1	
	C/C	0	1,2	0	

Grupo de Risco					
Muito Baixo	TT +T/C	0	0,4	0	1,000
	C/C	1	0,6	3,2	
Baixo	TT +T/C	8	7,5	25,8	
	C/C	10	10,5	32,3	
Intermediário	TT +T/C	2	2,5	6,5	
	C/C	4	3,5	12,9	
Alto	TT +T/C	2	1,7	6,5	
	C/C	2	2,3	6,5	
Muito Alto	TT +T/C	1	0,8	3,2	
	C/C	1	1,2	3,2	
Evolução (LMA)					
Sim	TT +T/C	3	2,4	8,3	0,650
	C/C	2	2,6	5,6	
Não	TT +T/C	14	14,6	38,9	
	C/C	17	16,4	47,2	

A análise multivariada do modelo recessivo – C/C *versus* TT + T/C foi realizada para avaliar a influência do genótipo dominante para o polimorfismo rs1800896. Os resultados não apresentaram diferenças estatísticas significativas, apresentando *p-valor* maior que 0,05 o que está evidenciado na Tabela 18.

Tabela 18- Análise do modelo recessivo em relação às variáveis clínicas.

Variáveis	Genótipo	Contagem	Contagem esperada	%	p-Valor
Grupos					
Caso	C/C	9	6,7	4,7	0,338
	TT +T/C	35	37,3	18,4	
Controle	C/C	20	22,3	10,5	
	TT +T/C	126	123,7	66,3	
Sexo					
Feminino	C/C	4	4,3	9,1	1,000
	TT +T/C	17	16,7	38,6	
Masculino	C/C	5	4,7	11,4	
	TT +T/C	18	18,3	40,9	
Idade					
≤ 60 anos	C/C	0	2	0	0,092
	TT +T/C	10	8	22,7	
> 60 anos	C/C	9	7	20,5	
	TT +T/C	25	27	56,8	
OMS (2016)					

SMD-DU	C/C	1	1,4	2,3	0,478
	TT +T/C	6	5,6	13,6	
SMD-DM	C/C	13	3,5	6,8	
	TT +T/C	14	13,5	31,8	
SMD-SA-DU	C/C	3	1,2	6,8	
	TT +T/C	3	4,8	6,8	
SMD-SA-DM	C/C	1	0,8	2,3	
	TT +T/C	3	3,2	6,8	
SMD-EB1	C/C	0	1	0	
	TT +T/C	5	4	11,4	
SMD-EB2	C/C	1	1	2,3	
	TT +T/C	4	4	9,1	
Número de Citopenias					
1	C/C	4	3,3	9,1	0,875
	TT +T/C	12	12,7	27,3	
2	C/C	4	4,5	9,1	
	TT +T/C	18	17,5	40,9	
3	C/C	1	1,2	2,3	
	TT +T/C	5	4,8	11,4	
Cariótipo					
Normal	C/C	4	4	12,1	1,000
	TT +T/C	15	15	45,5	
Alterado	C/C	3	3	9,1	
	TT +T/C	11	11	33,3	
Percentual de Sideroblastos em anel					
0%	C/C	4	6,5	9,1	0,078
	TT +T/C	28	25,5	63,6	
1% - 14%	C/C	1	0,4	2,3	
	TT +T/C	1	1,6	2,3	
> 15%	C/C	4	2	9,1	
	TT +T/C	6	8	13,6	
Percentual de Blastos (IPSS-R)					
≤ 2%	C/C	5	4	12,5	0,576
	TT +T/C	18	19	45	
2% - 5%	C/C	1	1,2	2,5	
	TT +T/C	6	5,8	15	
5% - 10%	C/C	0	1,2	0	
	TT +T/C	7	5,8	17,5	
> 10%	C/C	1	0,5	2,5	
	TT +T/C	2	2,5	5	
Hemoglobina					
≥ 10g/dL	C/C	0	1,6	0	0,304
	TT +T/C	8	6,4	18,2	

8 – 10g/dL	C/C	5	3,9	11,4	0,431
	TT +T/C	14	15,1	31,8	
< 8 g/dL	C/C	4	3,5	9,1	
	TT +T/C	13	13,5	29,5	
Contagem Absoluta de Neutrófilos					
< 0,8	C/C	1	2	2,3	
	TT +T/C	9	8	20,5	
≥ 0,8	C/C	8	7	18,2	
	TT +T/C	26	27	59,1	
Contagem de Plaquetas					
≥ 100	C/C	6	4,5	13,6	
	TT +T/C	16	17,5	36,4	
50 < 100	C/C	1	2	2,3	
	TT +T/C	9	8	20,5	
< 50	C/C	2	2,5	4,5	
	TT +T/C	10	9,5	22,7	
Prognóstico					
Muito Favorável	C/C	1	0,2	3	
	TT +T/C	0	0,8	0	
Favorável	C/C	4	5,1	12,1	
	TT +T/C	20	18,9	60,6	
Intermediário	C/C	2	1,1	6,1	
	TT +T/C	3	3,9	9,1	
Desfavorável	C/C	0	0,2	0	
	TT +T/C	1	0,8	3	
Muito Desfavorável	C/C	0	0,4	0	
	TT +T/C	2	1,6	6,1	
Grupo de Risco					
Muito Baixo	C/C	1	0,2	3,2	
	TT +T/C	0	0,8	0	
Baixo	C/C	3	3,5	9,7	
	TT +T/C	15	14,5	48,4	
Intermediário	C/C	1	1,2	3,2	
	TT +T/C	5	4,8	16,1	
Alto	C/C	0	0,8	0	
	TT +T/C	4	3,2	12,9	
Muito Alto	C/C	1	0,4	3,2	
	TT +T/C	1	1,6	3,2	
Evolução (LMA)					
Sim	C/C	1	1,1	2,8	
	TT +T/C	4	3,9	11,1	
Não	C/C	7	6,9	19,4	
	TT +T/C	24	24,1	66,7	

6 DISCUSSÃO

Neste estudo, foram analisados os polimorfismos rs1800795 e rs1800896 nos genes *IL6* e *IL10*, respectivamente, em 44 pacientes diagnosticados com Síndrome Mielodisplásica. A expressão de citocinas pode ser influenciada por diversas vias, que regulam o sistema imunológico ou ativam sua resposta. Portanto, a *IL6* e a *IL-10* desempenham um papel importante nessa complexa rede de citocinas, podendo atuar como biomarcadores em cânceres e influenciar tanto a definição quanto a eficácia das terapias (REA et al., 2018; QI et al., 2016). Polimorfismos dos genes *IL6* e *IL10* em amostras de sangue de 44 pacientes e 145 controles foram testados no presente estudo para esse fim.

O câncer é uma doença multifatorial e um dos fatores relacionados é o avanço da idade. À medida que envelhecemos, a capacidade e a qualidade da resposta imunológica são influenciadas. Além disso, em doenças associadas à idade, o processo de envelhecimento pode levar a um estado pró-inflamatório aumentado no organismo (BARREYRO et al., 2012). Nesse contexto, o envelhecimento por inflamação se destaca, caracterizado por inflamação crônica e distúrbios imunológicos. Além disso, os danos ao DNA, juntamente com citocinas pró-inflamatórias, podem desencadear esse processo (XIA et al., 2016).

Nos últimos anos, foram publicados vários estudos relevantes que descrevem uma análise abrangente da incidência e do impacto clínico de múltiplas lesões genéticas na síndrome mielodisplásica. Em 2011, Bejar e seus colegas publicaram a primeira análise de 18 genes em 439 pacientes (BEJAR et al., 2011). O European Consortium (PAPAEMMANUIL et al., 2013) realizou uma análise de mutação de 111 genes usando técnicas de sequenciamento de última geração em uma coorte de 738 pacientes e identificou as mutações mais comuns em portadores de SMD. Esses estudos, juntamente com outros que envolveram centenas de pacientes e utilizaram conjuntos de mutações genéticas específicas e sequenciamento total do genoma (BEJAR et al., 2011 e HAFERLACH et al., 2014), revelaram que até 80% dos pacientes com SMD apresentam alguma mutação de interesse, muitas das quais estão associadas a um impacto prognóstico. Esses dados emergentes não apenas ajudam a definir o prognóstico desses pacientes, mas também têm o potencial de orientar a seleção do tratamento (GARCIAMANERO, 2015).

O polimorfismo rs1800795 -174G/C, está localizado no gene da Interleucina 6 (*IL6*), uma citocina pró-inflamatória com um papel importante na regulação da resposta imune e inflamatória. A Neoplasia Mielodisplásica (SMD) é um grupo de distúrbios hematológicos caracterizados por uma produção anormal de células sanguíneas na medula óssea em que

tanto o sistema imunológico inato quanto o adaptativo são relevantes para os mecanismos de desregulação imunológica associados à patogênese da doença (MEKINIAN et al., 2016).

Um trabalho Argentino conduzido por BESTACH e colaboradores sugeriu que a frequência do polimorfismo rs1800795 -174G/C foi diferente entre pacientes e controles saudáveis, sugerindo uma relação com a suscetibilidade à SMD. Outros estudos, como o de ALADZSITY e colaboradores não encontraram uma associação significativa (ALADZSITY et al., 2009). Essas diferenças podem ser devido a variações étnicas na frequência do alelo C, muito difundido e presença na maior parte da população estudada, tanto para o grupo controle, quanto para o grupo composto por pacientes diagnosticados com SMD, bem como à complexidade e heterogeneidade da SMD como uma doença. Os resultados são copiosos e ainda não há um consenso claro sobre sua associação e impacto no prognóstico da doença, com desfechos não associativos e inconclusivos.

Apesar da resposta imune adaptativa ser reduzida em idosos, a inflamação e outros mecanismos da imunidade inata é aumentada e conforme foi citado anteriormente, a Síndrome Mielodisplásica é uma doença de múltiplos passos, onde a patogênese é acompanhada por condições inflamatórias, dano ao DNA e epigenético e disfunção telomérica, onde inicialmente as células tumorais são sensíveis ao *checkpoint* imunológico, mas em formas mais avançadas, ocorre a resistência a este mecanismo (CHAMSEDDINE et al., 2016). Para *IL6*, o alelo polimórfico foi mais frequentemente encontrado em pacientes diagnosticados com SMD, com 74 alelos G (84,09%), em comparação com o grupo controle, que possui 184 alelos G (71,59%). Para explicar essa frequência alélica, vamos adaptar ao contexto do câncer na genética populacional.

O câncer é resultado de alterações genéticas que conferem vantagens adaptativas às células tumorais, como a capacidade de desenvolver metástase. Essas mutações progressivas impulsionam o crescimento do tumor, aumentando a vantagem adaptativa das células afetadas. No entanto, nossa compreensão sobre a dinâmica da replicação, sobrevivência e evolução das células tumorais ainda não alcançou o mesmo nível de avanços obtidos na genética molecular (HANAHAHAN; WEINBERG, 2000). O câncer pode originar-se de alterações causadas por fatores internos, como mutações genéticas hereditárias, ou por fatores externos, como agentes ambientais mutagênicos. Ambos os casos podem levar a um aumento na replicação celular. No estágio inicial do desenvolvimento tumoral, as células não possuem uma vantagem adaptativa significativa, e o processo de transformação é lento, dependendo do surgimento de novas mutações ao longo do tempo para garantir a sobrevivência do tumor. No entanto, quando acumula um número suficiente de mutações, uma célula tumoral adquire

vantagem em relação às outras (STRATTON; CAMPBELL; FUTREAL, 2009). Além de se proliferar mais rapidamente, essas alterações podem conferir habilidades adicionais, como escapar de sinais de apoptose celular ou promover a vascularização do tumor. Portanto, a predominância de um alelo polimórfico em um grupo diagnosticado com uma determinada neoplasia, em comparação com um grupo controle, pode estar relacionada à suscetibilidade ao desenvolvimento do câncer. Isso ocorre porque uma mutação em um gene relacionado à resistência a uma doença específica pode se tornar mais comum em uma população que foi amplamente exposta à doença ao longo dos anos (HANAHA; WEINBERG, 2000). Resumidamente, quanto mais uma população é exposta a uma infecção, maior a probabilidade de ocorrência de mutações, como a mutação encontrada com maior frequência no grupo diagnosticado em comparação com o grupo controle sem a neoplasia.

Na presente coorte, a estratificação dos dados laboratoriais quanto ao polimorfismo do gene *IL6* na região rs1800795 revelou, através do teste de qui-quadrado uma associação significativa entre os diferentes genótipos e o número de citopenias -1,2,3 ($p=0,002$), mostrando que existe uma diferença entre a presença dos genótipos (esperado *versus* obtido) nos pacientes com SMD, o que pode estar relacionado a qualquer uma das citopenias presentes, porém, dada a limitação do estudo, não foi realizada regressão logística para investigação dessa associação significativa ao número de citopenias. Uma associação significativa foi encontrada também entre os diferentes genótipos e a presença ou ausência de disgranulopoiese ($p=0,034$), variável que vamos discutir juntamente com a associação significativa encontrada entre os diferentes genótipos e a contagem de neutrófilos $< 0,8$, $\geq 0,80$, com ($p=0,036$).

Conforme citado anteriormente, o estudo apresentou limitações quanto à realização de regressão logística para sanar a investigação das variáveis que demonstraram valores associativos, porém, explicações alternativas serão formuladas com os resultados. A disgranulopoiese refere-se a um conjunto de alterações displásicas nas células granulocíticas, incluindo os neutrófilos hiposegmentados. A displasia na SMD refere-se a anormalidades na aparência e maturação das células sanguíneas, incluindo neutrófilos, eritrócitos e plaquetas (NETO; JOES., 2011). A observação microscópica de células da medula óssea permite identificar essas anormalidades, como alterações na forma, tamanho e estrutura celular. A displasia granulocítica é especialmente relevante, uma vez que é uma característica frequentemente encontrada na SMD e pode ser indicativa da presença da doença. Essa alteração é comumente observada em pacientes com suspeita de Síndrome Mielodisplásica (SMD) e é considerada um padrão displásico. Além da displasia, as alterações no número de

neutrófilos também são observadas na SMD. Pacientes com SMD podem apresentar um aumento, diminuição ou variações no número de neutrófilos circulantes. O aumento do número de neutrófilos, conhecido como neutrofilia, pode ocorrer como resultado de uma resposta inflamatória ou como uma reação compensatória da medula óssea à produção inadequada de outras células sanguíneas. É importante ressaltar que as características de displasia e as alterações no número de neutrófilos na SMD variam entre os diferentes subtipos da doença (GRIGNANO et al., 2018).

A classificação da SMD leva em consideração não apenas a presença de displasia, mas também outros critérios, como a contagem de células sanguíneas, a citogenética e a presença de blastos na medula óssea. Essas características morfológicas e hematológicas têm implicações significativas no prognóstico da SMD. Pacientes com SMD e displasia granulocítica acentuada, geralmente apresentam um prognóstico desfavorável e maior risco de progressão para leucemia mieloide aguda (LMA). Por outro lado, pacientes com displasia menos pronunciada e menor alteração no número de neutrófilos podem ter um melhor prognóstico e uma evolução mais estável da doença (TANAKA; BEJAR, 2019). Devido essa atuação ativa dos neutrófilos, nesses casos, coloca-se em questão que essa associação pode levar ao desenvolvimento de padrões displásicos em pacientes com SMD, o que pode estar relacionado à presença de diferentes genótipos associados ao polimorfismo estudado. Porém, vale ressaltar que as outras variáveis clínicas não obtiveram associação significativa no presente estudo. Há também uma baixa correspondência na literatura acerca de nossos achados, além disso, a população amostral caracteriza-se como limitação do estudo, em razão disto, ressalta-se a necessidade de maiores investigações, com o objetivo de observar melhor o papel dos polimorfismos em questão.

Recentemente, tem havido um crescente interesse na IL-10 devido ao seu papel como um importante modulador da resposta imune inata durante processos inflamatórios, especialmente quando se trata da invasão de microorganismos oportunistas. Estudos como de RALLIS e colaboradores têm revelado novas funções dessa citocina no controle do sistema imunológico no contexto de cânceres, mostrando que o polimorfismo rs180089 no Gene – *IL10* apresentou efeito antitumoral (RALLIS et al., 2021). Recentemente, um estudo realizado na Croácia relacionou a Alta expressão do alelo -1082G em pacientes em comparação com controles a presença de neoplasias (câncer de pulmão de células não pequenas, linfoma difuso de grandes células B, câncer cervical e oral) e promoveu o desenvolvimento de processos patológicos nessas doenças (TRIFUNOVIĆ et al., 2015).

Um recente estudo realizado em Bangladesh associou o polimorfismo rs180089 no Gene – *IL10* com a presença de câncer cervical em mulheres (DATTA et al., 2020), porém são escassos os estudos que correlacionam a presença desse polimorfismo na SMD, o que dificulta ainda mais seu cenário patológico.

A Interleucina 10 (IL-10) desempenha diversas funções, atuando como um potente inibidor de citocinas do perfil Th1, como a IL-2 e o IFN- γ . Além disso, a IL-10 também inibe a expressão de moléculas do complexo de histocompatibilidade (MHC), o fator estimulador de colônias de granulócitos e monócitos (GM-CSF), o fator inibidor da leucemia (LIF) e o fator ativador de plaquetas (PAF). A produção de IL-10 é estimulada por vários fatores endógenos e exógenos, mas certas variantes alélicas do gene IL-10 também estão associadas a diferenças na expressão de IL-10 (ŚWIĄTEK, 2012). O polimorfismo do promotor do gene IL10 em amostras de sangue de 44 pacientes com 145 controles foram testados no presente estudo para esse fim, porém não houve diferença significativa conclusiva entre pacientes e controles em relação à IL10, portanto outros mecanismos relacionados à patogênese da SMD parecem não estar relacionados ao polimorfismo estudado na população da amostragem.

Devido à escassez de resultados citada anteriormente, não há consenso definitivo sobre o impacto desse polimorfismo no prognóstico da doença. Isso indica que a presença desse polimorfismo não se mostrou significativa para a Neoplasia Mielodisplásica na população estudada. Todavia, dada a complexidade da doença, o campo da genética e da pesquisa em doenças hematológicas continua evoluindo, e estudos adicionais são necessários para fornecer uma compreensão mais completa dessa relação.

6 CONCLUSÃO

A partir do desenvolvimento deste estudo, podemos concluir que:

- Foi observado que o alelo polimórfico -G estava mais frequentemente encontrado em pacientes diagnosticados com SMD (84,09%), em comparação com o grupo controle G (71,59%).

- Encontramos associações significativas referentes ao polimorfismo rs1800795 para o gene *IL6* entre os diferentes genótipos e o número de citopenias presentes nos pacientes com SMD.

- Encontramos associações significativas referentes ao polimorfismo rs1800795 para o gene *IL6* entre os diferentes genótipos e a presença ou ausência de disgranulopoise nos pacientes com SMD.

- Encontramos associações significativas referentes ao polimorfismo rs1800795 para o gene *IL6* entre os diferentes genótipos e a contagem de neutrófilos nos pacientes com SMD.

- Não obtivemos importantes associações do polimorfismo rs1800795 para o gene *IL10*, quanto às demais variáveis clínicas e laboratoriais nos pacientes com SMD.

- Não obtivemos importantes associações do polimorfismo rs1800896 para o gene *IL10* quanto a nenhuma das variáveis clínicas e laboratoriais nos pacientes com SMD. No entanto, dada a complexidade da neoplasia e associação do polimorfismo a outros tipos de cânceres, assim como o papel da citosina na regulação da imunidade, estudos adicionais são necessários para fornecer uma compreensão mais completa dessa relação.

REFERÊNCIAS

- ARIATTI, Cristiano *et al*, Common-variable immunodeficiency-related lymphomas associate with mutations and rearrangements of BCL-6: Pathogenetic and histogenetic implications, **Human Pathology**, v. 31, n. 7, p. 871–873, 2000.
- BRAGA, Matheus *et al*, Influence of IL10 (rs1800896) Polymorphism and TNF- α , IL-10, IL-17A, and IL-17F Serum Levels in Ankylosing Spondylitis, **Frontiers in Immunology**, v. 12, 2021.
- BIER, Otto G.; MOTA, Ivan; SILVA, Wilmar Dias Da, Imunologia básica e aplicada, **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 34, n. 4, p. 322–322, 1992.
- BODDU, P. et al. The emerging role of immune checkpoint based approaches in AML and MDS. **Leukemia & Lymphoma**, v. 59, n. 4, p. 790–802, 3 abr. 2018.
- Cazzola M, Malcovati L. Síndromes mielodisplásicas - lidando com hematopoiese ineficaz. **N Engl J Med**. 17 de novembro de 2005;353(20):2088-91.
- C, Beghé; A, Wilson; WB, Ershler, Prevalence and outcomes of anemia in geriatrics: a systematic review of the literature, **The American journal of medicine**, v. 116 Suppl 7A, 2004.
- DEVITT, Andrew *et al*, Persistence of apoptotic cells without autoimmune disease or inflammation in CD14^{-/-} mice, **Journal of Cell Biology**, v. 167, n. 6, p. 1161–1170, 2004.
- GAÑÁN-GÓMEZ, I. et al. Deregulation of innate immune and inflammatory signaling in myelodysplastic syndromes. **Leukemia**, v. 29, n. 7, p. 1458–1469, jul. 2015.
- GREENBERG, P. L.; YOUNG, N. S.; GATTERMANN, N. **Myelodysplastic syndromes. Hematology. Am. Soc. Hematol. Educ. Program.**, p. 136-161, 2010.
- GRIGNANO, Eric et al, Autoimmune manifestations associated with myelodysplastic syndromes, **Annals of Hematology**, v. 97, n. 11, p. 2015–2023, 2018.
- GOTTLIEB, Maria Gabriela Valle *et al*, Aspectos genéticos do envelhecimento e doenças associadas: uma complexa rede de interações entre genes e ambiente, **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 10, p. 273–284, 2019.
- HANAHAHAN, D.; WEINBERG, R. A., The hallmarks of cancer, **Cell**, v. 100, n. 1, p. 57–70, 2000.
- KADAN-LOTTICK, N. S. et al. Childhood Cancer Survivors' Knowledge About Their Past Diagnosis and Treatment: Childhood Cancer Survivor Study. **JAMA**, v. 287, n. 14, p. 1832, 10 abr. 2002.
- KANTONO, M.; GUO, B. Inflammasomes and Cancer: The Dynamic Role of the Inflammasome in Tumor Development. **Frontiers in Immunology**, v. 8, p. 1132, 12 set. 2017.

KUWATA, Hirotaka *et al*, IL-10-inducible Bcl-3 negatively regulates LPS-induced TNF- α production in macrophages, **Blood**, v. 102, n. 12, p. 4123–4129, 2003.

LIST, A. **Deciphering the path ahead in myelodysplastic syndrome**. *Am.J.Hematol.*, v. 85, p. 157-158, 2010.

MARTINS, S.L.R. *et al*. **A Importância da Imunofenotipagem na Leucemia Mielóide Aguda**. Revista Associação Médica Brasileira 2000. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/ramb/a/3jpsbjcpSbDSYBVk6tg7ftS/?lang=pt>>. Acesso em: 05.jan.2022.

MAIOLI, Maria Christina; SOUZA, Maria Helena de Síndromes Mielodisplásticas (SMD), **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto** v. 11, n. 1, 2012.

MORAES, S.E. *et al*. **Análise de Indivíduos com Leucemia: Limitações do Sistema de Vigilância do Câncer**. Ciências e Saúde Coletiva 2017. Disponível em: <<https://www.scielo.org/article/csc/2017.v22n10/3321-3332/>>.

MEENAGH, Ashley *et al*, Frequency of cytokine polymorphisms in populations from western Europe, Africa, Asia, the Middle East and South America, **Human Immunology**, v. 63, n. 11, p. 1055–1061, 2002.

MOREIRA, Maria Elisabete C.; BARCINSKI, Marcello A., Apoptotic cell and phagocyte interplay: recognition and consequences in different cell systems, **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 76, p. 93–115, 2004.

NAOUM, Paulo Cesar. **Doenças dos Eritrócitos**. São José do Rio Preto: Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto, 2013. Disponível em: <[http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/doenca_dos_eritrocitos/14Doença dos Eritrócitos - geral.pdf](http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/doenca_dos_eritrocitos/14Doenca%20dos%20Eritrocitos%20-%20geral.pdf)>.

NIERO-MELO, Lígia *et al*, Diretrizes para diagnóstico morfológico em síndromes mielodisplásticas, **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 28, p. 167–174, 2006.

OLIVEIRA, Jakeline Santos, Determinação das alterações genômicas em pacientes com malformações congênitas, 2018.

O diagnóstico das síndromes mielodisplásticas: revisão da literatura. Disponível em: <<https://www.rbac.org.br/artigos/o-diagnostico-das-sindromes-mielodisplasicas-revisao-da-literatura/>>. Acesso em: 26 fev. 2023.

PAPAEMMANUIL, E. *et al*, Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts, **The New England Journal of Medicine**, v. 365, n. 15, p. 1384–1395, 2011.

PINHEIRO, Ronald F.; CHAUFFAILLE, Maria de Lourdes L. F., Síndrome mielodisplásica secundária à quimio ou radioterapia: SMD relacionada a tratamento, **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 28, p. 201–203, 2006.

QI, Ling *et al*, IL-10 secreted by M2 macrophage promoted tumorigenesis through interaction with JAK2 in glioma, **Oncotarget**, v. 7, n. 44, p. 71673–71685, 2016.

REA, I. M. et al. Age and Age-Related Diseases: Role of Inflammation Triggers and Cytokines. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 586, 9 abr. 2018.

ROSA, T. L. S. A. **Análise do papel do inflamassoma na imunopatogênese do Eritema Nodoso Hanseniano**. Arca Fiocruz, 2021.

SANTOS, C.C. *et al*. **Leucemia - Sociedade em Risco**. Trabalho de Conclusão de Curso - Faculdade São Paulo. Rolim de Moura, 2014. Disponível em: <<https://facsapaulo.edu.br/wp-content/uploads/sites/16/2018/05/ed2/7.pdf>>.

SPASOVA, Maria I *et al*, Interleukin-6, interleukin-8, interleukin-10, and C-reactive protein in febrile neutropenia in children with malignant diseases, **Folia medica**, v. 47, n. 3–4, p. 46–52, 2005.

SAFADY, Nágela G., **SNP: variante associada a importantes doenças**, Varsomics, disponível em: <<https://blog.varsomics.com/snp-pequena-mutacao-associadas-a-importantes-doencas/>>. acesso em: 17 jun. 2023.

SILVA JUNIOR, F. C. D.; ODONGO, F. C. A.; DULLEY, F. L. Células-tronco hematopoéticas: utilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, p. 53–58, maio 2009.

SOUZA, Daiane Corrêa de Souza e, Estudo do padrão cromossômico em síndrome mielodisplásica primária hipocelular e sua correlação com aspectos celulares e clínicos, 2009.

STRATTON, Michael R.; CAMPBELL, Peter J.; FUTREAL, P. Andrew, The cancer genome, *Nature*, v. 458, n. 7239, p. 719–724, 2009.

ŚWIĄTEK, Bogna J., Is interleukin-10 gene polymorphism a predictive marker in HCV infection?, **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 23, n. 1, p. 47–59, 2012.

TANAKA, Tiffany N.; BEJAR, Rafael, MDS overlap disorders and diagnostic boundaries, *Blood*, v. 133, n. 10, p. 1086–1095, 2019.

VITORIANO, Bruna Ferreira, Avaliação imunomolecular e ativação de retrovírus endógenos em pacientes portadores de síndrome mielodisplásica, 2019.

XIAO, F. *et al*, miRecords: an integrated resource for microRNA-target interactions, **Nucleic Acids Research**, v. 37, n. Database, p. D105–D110, 2009.

WANG, Jean C. Y.; DICK, John E., Cancer stem cells: lessons from leukemia, **Trends in Cell Biology**, v. 15, n. 9, p. 494–501, 2005.

WOLACH, O.; STONE, R. Autoimmunity and Inflammation in Myelodysplastic Syndromes. **Acta Haematologica**, v. 136, n. 2, p. 108–117, 2016.

YANG, L. et al. The inflammatory microenvironment in MDS. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 72, n. 10, p. 1959–1966, maio 2015.

ZHU, H.; CAO, X. NLR members in inflammation-associated carcinogenesis. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 14, n. 5, p. 403–405, maio 2017.