



**Ministério da Saúde
Instituto Nacional de Câncer
Coordenação de Pós-graduação**

**INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER
Pós-Graduação em Oncologia**

ELAIZA ALMEIDA ANTÔNIO DE KÓS

**ESTUDO DO IMPACTO PROGNÓSTICO DO PADRÃO CROMOSSÔMICO EM
PACIENTES PEDIÁTRICOS COM SÍNDROME MIELODISPLÁSICA TRATADOS
COM TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOÉTICAS ALOGÊNICO**

Orientadora: Prof. ^a Dr. ^a Teresa de Souza Fernandez Seixas

**RIO DE JANEIRO
2018**



**Ministério da Saúde
Instituto Nacional de Câncer
Coordenação de Pós-graduação**

**INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER
Pós-Graduação em Oncologia**

ELAIZA ALMEIDA ANTÔNIO DE KÓS

**ESTUDO DO IMPACTO PROGNÓSTICO DO PADRÃO CROMOSSÔMICO EM
PACIENTES PEDIÁTRICOS COM SÍNDROME MIELODISPLÁSICA TRATADOS
COM TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOÉTICAS ALOGÊNICO**

Dissertação apresentada ao Instituto Nacional de Câncer
como parte dos requisitos para obtenção do título de
Mestre em Oncologia

Orientadora: Prof. ^a. Dr. ^a Teresa de Souza Fernandez Seixas

**RIO DE JANEIRO
2018**

Palavras-chave: 1. Síndrome mielodisplásica pediátrica 2. Citogenética. 3. IPSS. 4. IPSS-R. 5. Transplante de células-tronco hematopoéticas alogênico



**Ministério da Saúde
Instituto Nacional de Câncer
Coordenação de Pós-graduação**

**INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER
Pós-Graduação em Oncologia**

AUTORA: ELAIZA ALMEIDA ANTÔNIO DE KÓS

**ESTUDO DO IMPACTO PROGNÓSTICO DO PADRÃO CROMOSSÔMICO
EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM SÍNDROME MIELODISPLÁSICA
TRATADOS COM TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOÉTICAS
ALOGÊNICO**

ORIENTADOR: Prof.ª Dr.ª Teresa de Souza Fernandez Seixas

Aprovada em: 04/05/2018

EXAMINADORES:

**Prof.ª Dr.ª Sheila Coelho Soares Lima
Prof.ª Dr.ª Sima Esther Ferman
Prof.ª Dr.ª Dayse Aparecida da Silva
Prof.ª. Dr.ª Renata Binato Gomes
Prof.ª Dr.ª Cíntia Barros Santos-Rebouças**

**RIO DE JANEIRO
2018**

Às pessoas mais importantes da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Às Forças Superiores, Deus, Alá, ou como quiserem chamar, por iluminarem meus caminhos e me darem a serenidade necessária para a elaboração e escrita desta dissertação.

À minha família; meus pais, Jerônimo e Iraciara, pelo amor incondicional, ensinamentos e suporte durante toda a minha vida; a meu irmão Wesley e sua linda família que, mesmo longe, torcem por mim.

Ao Fernando, mais que meu namorado, meu companheiro nessa jornada, pelo amor e palavras de carinho e incentivo.

À minha orientadora, Dra. Teresa Fernandez, pela oportunidade de fazer parte do seu grupo de pesquisa, por me conduzir na área de citogenética e por todos os ensinamentos durante a realização deste trabalho.

À Dra. Eliana Abdelhay, ao Dr. Luis Fernando Bouzas e ao Dr. Décio Lerner pelo apoio na realização deste projeto.

À toda equipe médica do CEMO, em especial a Dra. Rita de Cássia Tavares;

Ao programa de pós-graduação do INCA pela bolsa concedida (Ministério da Saúde-INCA) tão importante para minha permanência na cidade do Rio de Janeiro. Aos professores do Programa de PG do INCA pela contribuição na minha formação acadêmica e científica.

A todos os meus amigos do laboratório, em especial a Viviane, a Daiane, a Luize, a Eliane e a Elizete pela valiosa contribuição para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos funcionários do arquivo médico, em especial o Sr. Fernando Marques, por toda atenção e, principalmente, paciência ao atender os meus pedidos de prontuários.

Aos pacientes e seus familiares, sem os quais este trabalho não seria possível.

Aos membros da banca por aceitarem o convite para fazer parte deste momento único na minha vida.



**Ministério da Saúde
Instituto Nacional de Câncer
Coordenação de Pós-graduação**

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER

ESTUDO DO IMPACTO PROGNÓSTICO DO PADRÃO CROMOSSÔMICO EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM SÍNDROME MIELODISPLÁSICA TRATADOS COM TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOÉTICAS ALOGÊNICO RESUMO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Elaiza Almeida Antônio de Kós

A síndrome mielodisplásica (SMD) compreende um conjunto heterogêneo de doenças de origem clonal de célula-tronco hematopoética caracterizada por uma hematopoese ineficaz, displasias na medula óssea, citopenias no sangue periférico e risco aumentado de evolução para leucemia mieloide aguda (LMA). A SMD é uma doença rara na infância. O transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH) alogênico tem sido indicado como o principal tratamento para pacientes pediátricos com SMD. A citogenética é uma importante “ferramenta” para o diagnóstico e prognóstico desse grupo de pacientes. Entretanto, uma revisão da literatura mostra que, até o momento, são poucos os estudos baseados no padrão cromossômico em pacientes pediátricos com SMD tratados com o TCTH alogênico. O objetivo deste trabalho foi analisar o impacto do padrão cromossômico, através da citogenética convencional e molecular (FISH), em pacientes pediátricos com SMD tratados com o TCTH alogênico no sentido de verificarmos a frequência de cariótipos anormais, as principais alterações cromossômicas e o papel da citogenética na indicação e na recidiva da doença. Foi realizado um estudo citogenético e clínico em 46 pacientes pediátricos com SMD tratados com TCTH alogênico no CEMO no período de 1991 a 2017. Nossos resultados mostraram que cariótipos anormais estavam presentes em 72% do total de pacientes no pré-transplante. As principais alterações encontradas foram: -7, del(11)(q23) e del(17)(p12). A frequência de cariótipos anormais aumenta conforme a doença evolui. Observamos 62% de cariótipos anormais no estágio inicial (CR) e, nos avançados, 82% em AREB e 100% em AREB-t. A presença de cariótipos anormais apresentou uma forte associação com a recidiva da SMD, sendo as principais alterações cromossômicas observadas: del(7q) e -7, +8, alteração cromossômica biclonal, del(11)q23), del(12p), del(17p), +mar e cariótipo complexo. Em relação ao grupo de risco citogenético, o IPSS mostrou ser um sistema mais eficaz para avaliar a recidiva e a mortalidade relacionada à recidiva em comparação com o IPSS-R, uma vez que, em nosso estudo, a del(11)(q23) esteve associada à recidiva e óbito e o IPSS-R considera essa alteração como sendo de muito bom prognóstico. Quando utilizada a citogenética “corrigida” (considerando a del(11)(q23) e a +8 como alterações de prognóstico desfavorável), os grupos de risco citogenéticos pelo IPSS e IPSS-R puderam prever com mais precisão a recidiva e a mortalidade relacionada à recidiva. Nossos resultados sugerem que o padrão cromossômico desempenha um papel importante na indicação dos pacientes pediátricos para o TCTH alogênico, principalmente selecionando os pacientes com alterações cromossômicas específicas no estágio inicial da doença (CR) para esse tratamento.



**Ministério da Saúde
Instituto Nacional de Câncer
Coordenação de Pós-graduação**

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER

STUDY OF THE PROGNOSTIC IMPACT OF THE CHROMOSOMAL PATTERN IN PEDIATRIC PATIENTS WITH MYELODYSPLASTIC SYNDROME TREATED WITH ALLOGENEIC HAEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

ABSTRACT

MASTERS DISSERTATION

Elaiza Almeida Antônio de Kós

Myelodysplastic syndrome (MDS) comprises a heterogeneous group of hematopoietic stem cell clonal diseases, characterized by ineffective hematopoiesis, bone marrow dysplasias, peripheral blood cytopenias and increased risk of progression to acute myelogenous leukemia (AML). MDS is rare in childhood. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) has been indicated as the primary treatment for pediatric patients with MDS. Cytogenetics is an important “tool” for the diagnosis and prognosis of this patients group. However, a review of the literature shows that to date there are few studies based on the chromosomal pattern in pediatric MDS patients treated with allogeneic HSCT. The aim of this study was to analyze the prognostic impact of the chromosomal pattern through conventional and molecular (FISH) cytogenetics in pediatric patients with MDS treated with allogeneic HSCT, in order to verify the frequency of abnormal karyotypes, the main chromosomal abnormalities and the role of cytogenetics in the indication and relapse of the disease. A study was conducted in 46 pediatric MDS patients treated with allogeneic HSCT at CEMO from 1991 to 2017. Our results showed that abnormal karyotypes were present in 72% of the patients in pre-transplant. The main chromosomal changes were: -7, del(11)(q23) and del(17)(p12). The frequency of abnormal karyotypes increases as the disease progresses. We observed 62% of abnormal karyotypes in the initial stage (RC) and , in advanced stages, 82% in RAEB and 100% in RAEB-t. The presence of abnormal karyotypes had a strong association with recurrence of MDS, with the main chromosomal alterations observed: del(7q) and -7, +8, biclonal chromosomal alteration, del(11)(q23), del(12p), del(17p) and complex karyotype. In relation to the cytogenetic risk groups, IPSS was shown to be a more effective system to evaluate relapse-related mortality compared to IPSS-R, since in our study, del(11)(q23) was associated with relapse and death, and the IPSS-R considers this chromosomal alteration as a very good prognosis. When we used the “corrected” cytogenetic (considering the del(11)(q23) and the +8 as unfavorable prognostic risk, the groups of cytogenetic risk by IPSS and IPSS-R could more accurately predict relapse and relapse – related mortality. Our results suggest that the chromosomal pattern plays an important role in the indication of pediatric patients for allogeneic HSCT, mainly by selecting patients with specific chromosomal abnormalities at the initial stage of the disease (RC) for this treatment.

ÍNDICE

1 – INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Síndrome Mielodisplásica.....	1
1.2 Síndrome Mielodisplásica Primária Pediátrica.....	3
1.3 Classificação da Síndrome Mielodisplásica Primária Pediátrica.....	5
1.4 Alterações Citogenéticas e Moleculares em Pacientes Pediátricos com Síndrome Mielodisplásica Primária	6
1.5 Fatores Prognósticos e Escalas Prognósticas em SMD Primária.....	13
1.6 Opções de Tratamento para Pacientes com SMD Primária.....	15
1.6.1 Transplante de Células - Tronco Hematopoéticas.....	18
2 – OBJETIVOS.....	31
2.1 – Objetivo Geral.....	31
2.2 - Objetivos Específicos.....	31
3 – METODOLOGIA.....	32
3.1 – Pacientes.....	32
3.2 – Análise Citogenética.....	33
3.2.1 –Citogenética Clássica.....	34
3.2.1.1 - Cultura de Células de Medula Óssea.....	34
3.2.1.2 - Término das Culturas e Preparação das Lâminas.....	34
3.2.1.3 - Bandeamento GTG.....	35
3.2.1.4 - Análise Cromossômica.....	35
3.2.2 Citogenética Molecular - Análise por Hibridização “in situ” por Fluorescência (FISH)	37
3.3 - Análise Estatística.....	39
3.4 Fluxograma da metodologia utilizada para a pesquisa “Estudo do Impacto Prognóstico do Padrão Cromossômico em Pacientes Pediátricos com Síndrome Mielodisplásica tratados com Transplante de Células Tronco Hematopoéticas Alogênico”.	39
4 – RESULTADOS.....	40
4.1 Análise do Padrão Cromossômico em Pacientes Pediátricos com SMD Primária pré-TCTH alogênico	40
4.2 Frequência das Alterações Cromossômicas em Pacientes Pediátricos com SMD Primária pré-TCTH alogênico	41

4.3 Distribuição da Frequência do Padrão Cromossômico em Estágio Inicial (CR) e Avançados (AREB/AREB-t) em Pacientes Pediátricos com SMD Primária pré-TCTH alogênico	47
4.4. Distribuição dos Pacientes Pediátricos com SMD Primária segundo os Grupos de Risco Citogenéticos estabelecidos pelo IPSS e pelo IPSS-R	50
4.5. Acompanhamento Citogenético e Clínico dos Pacientes Pediátricos com SMD Primária pós-TCTH Alogênico	51
4.5.1 Análise do Impacto do Padrão Cromossômico em Pacientes Pediátricos com SMD Primária tratados com TCTH Alogênico	52
4.5.2 Análise dos Grupos de Risco em relação à Citogenética segundo o IPSS e o IPSS-R	56
4.5.3 Análise do Impacto do Estágio da Doença em Pacientes Pediátricos com SMD Primária tratados com TCTH Alogênico	58
4.5.4 Análise do Impacto de Doador Aparentado versus Não Aparentado em Pacientes Pediátricos com SMD Primária tratados com TCTH Alogênico	59
4.5.5 Análise do Impacto da Fonte de Células-Tronco nos Pacientes Pediátricos com SMD Primária tratados com TCTH Alogênico	61
4.6. Análise de Fatores Prognósticos em Pacientes Pediátricos com SMD Primária tratados com TCTH Alogênico	62
5 – DISCUSSÃO	65
6 – CONCLUSÕES.....	84
7 – REFERÊNCIAS.....	86
ANEXO I.....	131
ANEXO II.....	133

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1: Principais diferenças entre pacientes pediátricos e adultos com SMD primária	4
Tabela 1.2: Classificação da SMD pediátrica	5
Tabela 1.3: Alterações cromossômicas encontradas em pacientes pediátricos com SMD primária.	11
Tabela 1.4: Pontuação segundo os parâmetros críticos do IPSS (1997) para a SMD	13
Tabela 1.5: Subgrupos citogenéticos propostos pelo IPSS-R (2012) para a SMD	14
Tabela 3.1: Características clínicas dos pacientes pediátricos com SMD e do TCTH alogênico	33
Tabela 4.1: Distribuição da frequência de cariótipos anormais por subtipo da SMD primária pediátrica	41
Tabela 4.2: Distribuição da frequência do padrão cromossômico por subtipo em SMD primária pediátrica	48
Tabela 4.3: Distribuição dos pacientes pediátricos com SMD primária nos diferentes grupos de risco citogenéticos de acordo com o IPSS	50
Tabela 4.4: Distribuição dos pacientes pediátricos com SMD primária nos diferentes grupos de risco citogenéticos de acordo com o IPSS-R	50
Tabela 4.5: Causas de óbito entre os pacientes pediátricos tratados com TCTH alogênico	52
Tabela 4.6: Frequência de pacientes com SMD primária nos diferentes grupos de risco citogenéticos segundo o IPSS.	57

Tabela 4.7: Frequência de pacientes com SMD primária nos diferentes grupos de risco citogenéticos segundo o IPSS-R.	57
Tabela 4.8: Frequência de pacientes com SMD primária nos diferentes grupos de risco citogenético (IPSS) segundo a “citogenética corrigida”.	58
Tabela 4.9: Frequência de pacientes com SMD primária nos diferentes grupos de risco citogenético (IPSS-R) segundo a “citogenética corrigida”.	58
Tabela 4.10: Distribuição da frequência da recidiva da doença em relação aos estágios da SMD primária	59
Tabela 4.11: Frequência de doadores aparentados e não aparentados e sua associação com a recidiva e mortalidade	60
Tabela 4.12: Frequência de fontes de células-tronco e sua associação com a recidiva e mortalidade	62
Tabela 4.13: Análise de fatores prognósticos em pacientes pediátricos com SMD primária tratados com TCTH alogênico	64
Tabela 5.1: Estudos em pacientes pediátricos com SMD tratados com TCTH alogênico	81
Tabela 8.1: Características citogenéticas e clínicas dos pacientes pediátricos com SMD tratados com TCTH alogênico	134

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: Características da SMD	1
Figura 1.2: Abordagem de tratamento adaptado ao risco para pacientes com SMD	17
Figura 1.3: Principais marcos no campo do transplante de células-tronco alogênico	19
Figura 1.4: Esquema da posição e organização dos genes HLA no cromossomo 6	21
Figura 1.5 A: Transplante de células-tronco hematopoéticas alogênico mieloablativo	25
Figura 1.5 B: Transplante de células-tronco hematopoéticas alogênico não mieloablativo	25
Figura 1.6: Esquema do processo de transplante de células-tronco alogênico	26
Figura 3.1: Metodologia da análise cromossômica de células de medula óssea através da citogenética clássica por bandeamento GTG	36
Figura 3.2: Metodologia da citogenética molecular, técnica de hibridização “in situ” por fluorescência (FISH)	38
Figura 3.3: Fluxograma do estudo.	39
Figura 4.1: Frequência de cariótipos anormais versus cariótipos normais em pacientes pediátricos com SMD primária pré-TCTH alogênico	40
Figura 4.2: Frequência das alterações cromossômicas em pacientes pediátricos com SMD primária pré-TCTH alogênico.	42
Figura 4.3: Cariótipo: 45,XY,-7; análise por bandeamento GTG.	42
Figura 4.4: Cariótipo: 46,XX,del(11)(q23); análise por bandeamento GTG	43

Figura 4.5: Cariótipo: 46,XY,del(17)(p12); análise por bandeamento GTG	43
Figura 4.6: Análise pela técnica de FISH usando a sonda LSI MLL “dual color break apart rearrangement probe” em núcleos interfásicos	44
Figura 4.7: Análise pela técnica de FISH usando a sonda LSI p53, “spectrum orange”	45
Figura 4.8: Análise pela técnica de FISH usando a sonda LSI D7S486 “spectrum orange” SO/CEP 7 “spectrum green” SG	45
Figura 4.9: Análise por FISH utilizando a sonda de dupla marcação do cromossomo 5	46
Figura 4.10: Distribuição do padrão cromossômico por subtipo da SMD pediátrica	49
Figura 4.11: Análise do impacto prognóstico da citogenética na recidiva da doença: cariótipos anormais versus cariótipos normais	53
Figura 4.12: Frequência das alterações cromossômicas específicas dos pacientes pediátricos com SMD primária que apresentaram recidiva pós-TCTH alogênico	54
Figura 4.13: Cariótipo complexo por bandeamento GTG pré-TCTH alogênico	55
Figura 4.14: Cariótipo complexo observado no acompanhamento pós-TCTH alogênico	55
Figura 4.15: FISH mostrando a trissomia do cromossomo 8 utilizando a sonda LSI MYC SpectrumOrange Probe	56
Figura 4.16: Distribuição dos pacientes com recidiva da doença em relação aos estágios da SMD pediátrica: CR x AREB/AREB-t	59
Figura 4.17: Distribuição do tipo de doador em pacientes pediátricos com SMD primária tratados com TCTH alogênico	60
Figura 4.18: Distribuição do tipo de fonte de células tronco usadas em pacientes	61

pediátricos com SMD primária tratados com TCTH alogênico

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>ACHE</i>	Acetilcolinesterase
<i>AEE</i>	Fatores estimulantes da eritropoese
<i>ALIP</i>	Localização atípica de progenitores imaturos
<i>AR</i>	Anemia refratária
<i>AREB</i>	Anemia refratária com excesso de blastos
<i>AREB-t</i>	Anemia refratária com excesso de blastos em transformação
<i>ARSA</i>	Anemia refratária com sideroblastos em anel
<i>ATG</i>	Globulina anti-timócito
<i>ATM</i>	“ATM Serine/Threonine Kinase”
<i>Bu</i>	Bussulfan
<i>Ca (2+)</i>	Cálcio
<i>CEBPA</i>	“CCAAT/enhancer-binding protein alpha”
<i>CEMO</i>	Centro de Transplante de Medula Óssea
<i>cen</i>	Centrômero
<i>CIR</i>	Condicionamento de intensidade reduzida
<i>CR</i>	Citopenia refratária
<i>Csa/Csp</i>	Ciclosporina
<i>CSNK1A1</i>	“Casein Kinase 1 Alpha 1”
<i>CUTL1</i>	“Cut Like Homeobox 1”
<i>Cy</i>	Ciclofosfamida
<i>DECH</i>	Doença do enxerto contra o hospedeiro
<i>DECHa</i>	Doença do enxerto contra o hospedeiro aguda
<i>DECHc</i>	Doença do enxerto contra o hospedeiro crônica
<i>del</i>	Deleção
<i>DLA</i>	Antígeno leucocitário de cães
<i>DMTI</i>	DNA metiltransferase
<i>DNA</i>	Ácido desorribonucleico
<i>EGR1</i>	“Early Growth Response 1”
<i>EPO</i>	Eritropoietina
<i>EVL</i>	Enxerto contra leucemia
<i>EZH2</i>	“Enhancer of Zeste 2 polycomb repressive complex 2 subunit”
<i>FAB</i>	Grupo cooperativo franco-americano-britânico
<i>FBXL13</i>	“F-box and leucine rich repeat protein 13”

FISH	Hibridização <i>in situ</i> por fluorescência
GAP1	“General amino-acid permease GAP1”
GATA 2	“GATA binding protein 2”
G-CSF	Fator estimulante de colônias granulocíticas
GLRA1	Receptor de glicina alfa 1
GTP	Trifosfato de guanosina
H3K27	Lisina 27 da histona 3
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HLA	Antígeno leucocitário humano
HMA	Agentes hipometilantes
ILD	Infusão de linfócitos de doador
INCA	Instituto Nacional de Câncer
IPSS	Sistema Internacional de Pontuação Prognóstica
IPSS-R	Sistema Internacional de Pontuação Prognóstica Revisado
KMT2A	“Lysine Methyltransferase 2A”
L3MBT	“Lethal(3)malignant brain tumor-like protein”
LCT	Linfócito C citotóxico
LLA	Leucemia linfoblástica aguda
LMA	Leucemia mieloide aguda
LMMJ	Leucemia mielomonocítica juvenil
mar	Cromossomo marcador
MAT	Mielopoesse anormal transitória
MHC	Principal complexo de histocompatibilidade
MLL	“Mixed lineage leucemia”
MO	Medula óssea
mRNA	RNA mensageiro
MTX	Metotrexato
MYBL2	“MYB proto-oncogene like 2”
MYC	MYC proto-oncogene
NK	“Natural killer”
NMDP	“National Donor Marrow Program”
OMS	Organização Mundial da Saúde
p	Braço curto do cromossomo
PCR	Reação em cadeia da Polimerase
PRC2	Complexo repressivo 2 da família Polycomb

q	Braço longo do cromossomo
QM	Quimerismo misto
QT	Quimerismo total
<i>RASA4</i>	“RAS P21 protein activator 4”
REDOME	Registro Nacional de Doadores Voluntários de Medula Óssea
REREME	Registro Nacional de Receptores de Medula Óssea
<i>RPS14</i>	“Ribosomal protein S14”
RT-PCR	Reação em cadeia da polimerase da transcrição reversa em tempo real
<i>RUNX1</i>	“Runt-related transcription factor 1”
SCUP	Sangue do cordão umbilical
SD	Síndrome de Down
<i>SFRS6</i>	“Serine and arginine rich splicing factor 6”
SG	Spectrum Green
SMD	Síndrome mielodisplásica
SO	Spectrum Orange
SP	Sangue periférico
<i>SPARC</i>	“Secreted protein acidic and cysteine rich”
TBI	Irradiação corporal total
TCTH	Transplante de células-tronco hematopoéticas
ter	Telômero
TIS	Terapia imunossupressora
<i>TP53</i>	“Tumor protein p53”
Treg	Células-T reguladoras
-	Perda cromossômica
+	Ganho cromossômico

1 INTRODUÇÃO

1.1 Síndrome Mielodisplásica

A síndrome mielodisplásica (SMD) compreende um conjunto de neoplasias com origem em uma célula-tronco hematopoética e apresenta como principais características a presença de displasias na medula óssea e citopenias no sangue periférico (HOFFBRAND & MOSS, 2013) (Figura 1.1). O paradoxo das citopenias no sangue periférico, apesar da medula óssea normalmente apresentar padrão hipercelular ou normocelular, é uma consequência da hematopoese ineficaz, ou seja, proliferação e apoptose ocorrendo simultaneamente. Observa-se, também, um aumento do risco para transformação em leucemia mieloide aguda (LMA) (CAZZOLA *et al*, 2013; GANGAT *et al*, 2016; GREENBERG *et al*, 2017) ou, em casos raros, para leucemia linfoblástica aguda (LLA) (DISPERATI *et al*, 2006; VIDAL *et al*, 2007; MORAES *et al*, 2009).

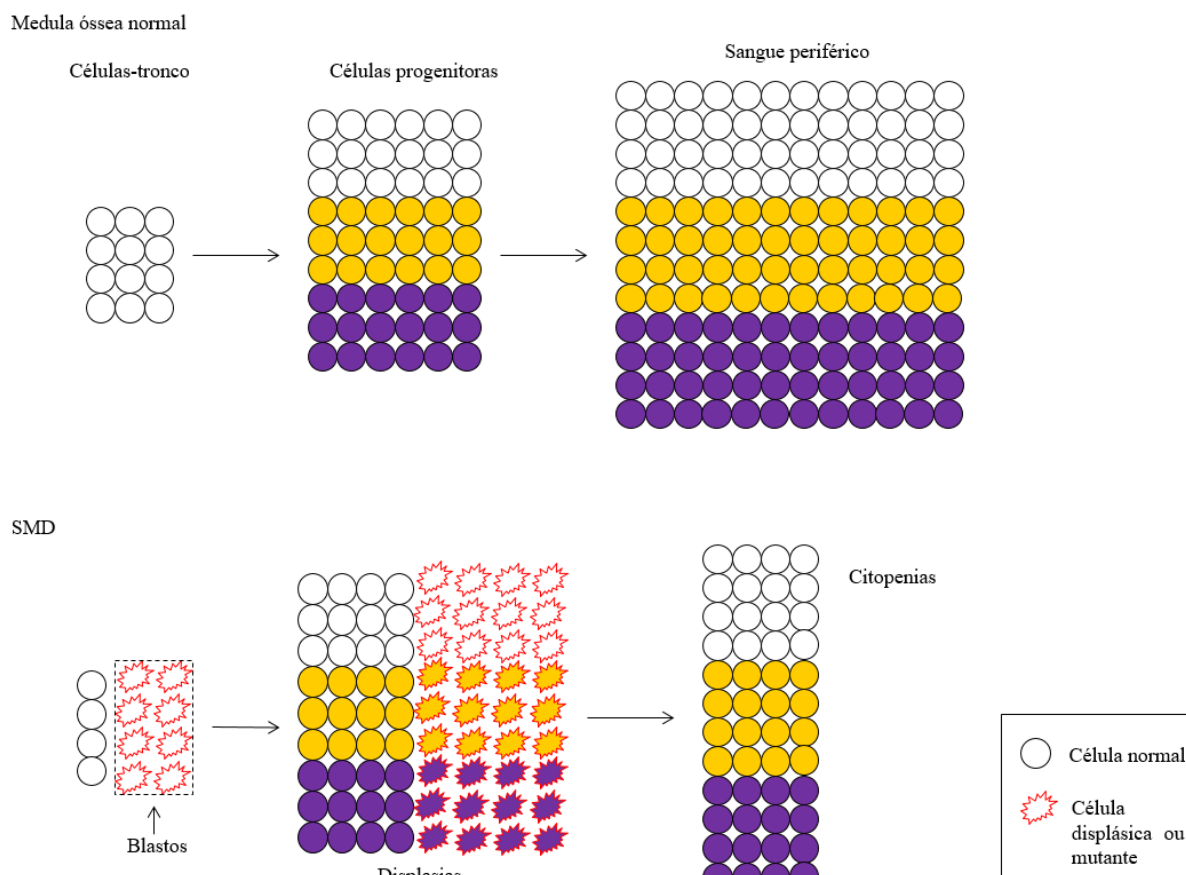


Figura 1.1: Características da SMD: A Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica a SMD como uma doença clonal caracterizada por displasias e hematopoese ineficaz que leva a citopenias no sangue periférico (Adaptado de SPERLING *et al*, 2017).

A SMD pode ser classificada como: primária (também chamada *de novo*), quando não há uma causa prévia conhecida para o desenvolvimento da doença; ou secundária, quando

decorrente de quimioterapia ou radioterapia (GANGAT *et al*, 2015). A exposição ambiental a agentes químicos como benzeno, inseticidas e pesticidas também pode contribuir para o desenvolvimento da SMD secundária (GANGAT *et al*, 2016).

A incidência da SMD aumenta com o avanço da idade, variando de 4,1 - 12,6 casos novos /100.000 habitantes/ano, chegando a cerca de 90 casos novos /100.000 habitantes/ano na população com idade superior a 80 anos (AUL *et al*, 1995; MAGALHÃES & LORAND-METZE, 2004; FERREIRA JÚNIOR *et al*, 2013), sendo mais prevalente em indivíduos caucasianos e do sexo masculino (MA, 2012). No entanto, aproximadamente 6% dos casos são diagnosticados em pessoas com menos de 50 anos de idade (DAO, 2017).

Embora os pacientes com SMD possam ser assintomáticos ao diagnóstico, tendo a doença identificada pela descoberta acidental de citopenias, muitos apresentam sintomas clínicos como fadiga (associada à anemia), sangramentos (devido à trombocitopenia) e febre ou infecções recorrentes (como resultado da neutropenia). O curso clínico é variável: alguns pacientes vivem por muitos anos com terapia mínima, enquanto outros evoluem rapidamente para LMA. A morbidade e a mortalidade em SMD estão relacionadas, primariamente, com complicações decorrentes de citopenias e da transformação leucêmica (SPERLING *et al*, 2017).

Para o diagnóstico da SMD, são necessários critérios mínimos, entre os quais se incluem 2 pré-requisitos: (1) citopenia estável (por um período mínimo de seis meses), a não ser que seja acompanhada por um cariótipo específico ou uma displasia em 2 linhagens celulares, caso em que são necessários apenas dois meses de citopenias estáveis) e (2) a exclusão de outras manifestações clínicas apresentando displasias ou citopenias como, por exemplo: o abuso de álcool, anemia megaloblástica, deficiências nutricionais, infecções por parvovírus e HIV (KALOUTSI *et al*, 1994; GREENBERG, 2000; HOFFBRAND & MOSS, 2013; GREENBERG *et al*, 2017). Além disso, o diagnóstico da SMD requer pelo menos um dos três critérios relacionados com a doença: (1) displasia presente em uma ou mais das 3 linhagens eritrocítica, granulocítica ou megacariocítica); (2) uma contagem de blastos de 5% - 19%; e (3) um cariótipo específico associado a SMD [exemplos: del(5q), del(20q), +8 ou - 7 / del(7q)]. Alguns critérios adicionais podem ajudar a confirmar o diagnóstico de SMD: imunofenótipo aberrante caracterizado por citometria de fluxo, imuno-histoquímica e histologia da medula óssea anormais (expressão anormal do antígeno CD34, fibrose, localização atípica de progenitores imaturos [ALIP]) (VALENT *et al*, 2007; GREENBERG *et al*, 2017).

Para estabelecer o diagnóstico de SMD, é necessário uma revisão morfológica criteriosa e sua correlação com as características clínicas do paciente (KALOUTSI *et al*,

1994; GREENBERG, 2000; HOFFBRAND & MOSS, 2013; GREENBERG *et al*, 2017). Em razão da dificuldade de diagnóstico devido à grande heterogeneidade da SMD, esta neoplasia hematológica tem sido alvo de grande discussão em relação a classificação e a escala prognóstica para os pacientes adultos e, principalmente, para os pacientes pediátricos.

1.2 Síndrome Mielodisplásica Primária Pediátrica

Embora a SMD seja considerada uma doença de pacientes idosos, também pode afetar crianças e adolescentes, correspondendo a menos de 5% das neoplasias hematopoéticas na faixa etária pediátrica (NIEMEYER & BAUMANN, 2008; GREENBERG *et al*, 2017; ZINI, 2017).

Distúrbios genéticos e síndromes de falência medular hereditárias tais como: anemia de Fanconi, disqueratose congênita (PDQ-NCI, 2017), síndrome de Shwachman-Diamond, anemia Diamond-Blackfan (ROSENBERG *et al*, 2004; ALTER *et al*, 2010; LUDWIG *et al*, 2014), neutropenia congênita grave (TAMARY *et al*, 2010), trombocitopenia amegacariocítica congênita (OWEN *et al*, 2008; LIEW & OWEN, 2011; GHAURI *et al*, 2014), mutações em *GATA 2* (VINH *et al*, 2010; AUER *et al*, 2014) e mutações em *RUNX1* ou *CEBPA* (OWEN *et al*, 2008; LIEW & OWEN, 2011) podem ser considerados fatores de risco para o desenvolvimento da SMD pediátrica (ALTER *et al*, 2010; RAU *et al*, 2012; PDQ-NCI, 2017).

Têm sido indicado a presença de diferenças significativas entre a SMD nos adultos e nas crianças, principalmente em relação às características morfológicas, achados citogenéticos, fatores prognósticos e objetivo de tratamento (HASLE, 2016). Por exemplo, nos pacientes pediátricos a citopenia refratária (CR) representa o subtipo mais frequente (BAUMANN *et al*, 2008; HASLE & NIEMEYER, 2011; WLODARSKI *et al*, 2016); já o subtipo ARSA é muito raro nesse grupo de pacientes; a monossomia do cromossomo 7 é a alteração mais frequente em crianças, enquanto que nos adultos, as alterações cromossômicas mais observadas são a del(5q) e os cariótipos complexos (GÖHRING, 2010; WLODARSKI *et al*, 2016; HASLE, 2016). As possibilidades terapêuticas em pacientes adultos com SMD são limitadas devido à idade avançada, sendo indicada, geralmente, uma terapia paliativa, ao passo que, nas crianças com SMD, a principal terapia é a curativa, através do transplante de células tronco hematopoéticas alogênico (HASLE *et al*, 2003; HASLE & NIEMEYER, 2011; RAU *et al* 2012). A Tabela 1.1 mostra as principais diferenças observadas em pacientes pediátricos e adultos com SMD.

Tabela 1.1: Principais diferenças entre pacientes pediátricos e adultos com SMD primária

Características	Crianças	Adultos
Incidência anual/milhão	1-2	40
Anormalidades clínicas associadas	1-3	< 5%
ARSA	< 2%	25%
SMD hipoplásica	comum	rara
Alterações citogenéticas	60%	40%
del(5q)	<2%	20%
monossomia 7	30%	8%-10%
Objetivo do tratamento	Curativo	Paliativo

(Adaptado de RAU *et al*, 2012 e HASLE, 2016)

Embora a SMD primária pediátrica seja considerada uma doença com características displásicas e hematopoese ineficaz, como a SMD do adulto, as características clínicas, a presença de anormalidades genéticas associadas e a caracterização das alterações cromossômicas têm refletido uma diferente questão biológica durante a SMD na infância (POLYCHRONOPOULOU *et al.*, 2004; HASLE & NIEMEYER, 2011; GLAUBACH *et al.*, 2014).

Devido a diferenças observadas na SMD pediátrica em relação à SMD dos adultos, a utilização dos sistemas de classificação tradicionais como FAB (BENNETT *et al*, 1982) e OMS (HARRIS *et al*, 2000; JÄDERSTEN & HELLSTRÖM-LINDBERG, 2009) foi tema de muita discussão, uma vez que existia uma dificuldade de inclusão dos pacientes pediátricos nas classificações citadas. Nesse sentido, Hasle e colaboradores (2003) sugeriram novos critérios para classificação da SMD pediátrica.

1.3 Classificação da Síndrome Mielodisplásica Primária Pediátrica

Em 2003, Hasle e colaboradores propuseram uma classificação específica para a SMD pediátrica com três categorias principais de diagnóstico: (1) o grupo das doenças mielodisplásicas/mieloproliferativas, representado pela leucemia mielomonocítica juvenil (LMMJ); (2) a leucemia mieloide da síndrome de Down, incluindo a SMD e a LMA; (3) SMD propriamente dita, com os subtipos: citopenia refratária (CR), anemia refratária com excesso de blastos (AREB) e anemia refratária com excesso de blastos em transformação (AREB-t) (HASLE *et al*, 2003).

A citopenia persistente com medula óssea apresentando padrão hipo / hiper celular e uma contagem de blastos abaixo de 5% podem indicar a SMD quando doenças infecciosas, distúrbios metabólicos e outras causas de citopenia e displasia forem descartadas. Como nem sempre a anemia está presente, o termo mais adequado para nomear o subtipo inicial da SMD ficou sendo citopenia refratária. O subgrupo AREB é definido por uma contagem de blastos na medula entre 5%-19%. No subgrupo AREB-t, a contagem de blastos na medula ou no sangue periférico se encontra entre 20%–29%. A tabela 1.2 mostra os grupos adotados na classificação da SMD pediátrica segundo Hasle e colaboradores (2003).

Tabela 1.2: Classificação da SMD pediátrica

Subgrupos
<i>I- Doenças Mielodisplásicas/ Mieloproliferativas</i> Leucemia mielomonocítica juvenil (LMMJ)
<i>II- Doenças da síndrome de Down (SD)</i> Mielopoese anormal transitória (MAT) Leucemia mieloide da SD – SMD ou LMA
<i>III- Síndrome Mielodisplásica (SMD)</i> Citopenia refratária (CR): (Blastos em SP <2% e blastos na MO <5%) Anemia refratária com excesso de blastos (AREB): (Blastos em SP <2%-19% e blastos na MO 5%-19%) Anemia refratária com excesso de blastos em transformação (AREB-t): (Blastos em SP ou MO de 20%-29%)

(Adaptado de HASLE *et al*, 2003)

A LMMJ ocorre principalmente em meninos com menos de 2 anos de idade. Esses pacientes apresentam, em geral, hepatoesplenomegalia, febre, infecção, sangramento, alta contagem leucocitária com uma monocitose absoluta, anemia, trombocitopenia e hemoglobina fetal aumentada. Citogeneticamente, a LMMJ é caracterizada, em 25-30% dos casos, pela monossomia do cromossomo 7. Cerca de 10% dos pacientes apresentam outras

alterações cromossômicas e, em cerca de 60% dos casos, os cariótipos são normais. Molecularmente, a LMMJ é caracterizada, com frequência, por mutações nos genes *NFI*, *N-ras* e *PTPN11*, apresentando a via de sinalização para proliferação celular ativada (CHAN *et al*, 2009). Devido à LMMJ apresentar características clínicas e biológicas definidas, atualmente este subgrupo foi retirado da classificação da SMD, sendo considerada uma doença mieloproliferativa (CHAN *et al*, 2009).

A classificação da SMD pediátrica também retirou o subgrupo anemia refratária com sideroblastos em anel (ARSA), presente na classificação FAB, de 1982, baseada em pacientes adultos, devido a sua frequência ser muito baixa na infância, aproximadamente 2% dos casos (CHAN *et al*, 1997; HASLE *et al*, 2003, RAU *et al*, 2012).

De acordo com a classificação de Hasle e colaboradores (2003), o diagnóstico para SMD pediátrica deve incluir, pelo menos, dois dos seguintes critérios: citopenia sem causa aparente (neutropenia, trombocitopenia ou anemia); displasia em pelo menos 2 linhagens mieloides; alteração citogenética clonal adquirida. Esse último critério tem gerado discussão uma vez que aproximadamente 50-60% dos pacientes apresentam cariótipos normais (POLYCHRONOPOULOU *et al.*, 2004; NIEMEYER & BAUMANN, 2011; LOCATELLI & STRAHM, 2018).

1.4 Alterações Citogenéticas e Moleculares em Pacientes Pediátricos com Síndrome Mielodisplásica Primária

Na SMD primária, a descoberta de anormalidades cromossômicas não-randômicas confirmou a clonalidade, fornecendo uma maneira de identificar o clone maligno e apontar alguns oncogenes e genes supressores de tumor possivelmente envolvidos no desenvolvimento e na transformação leucêmica (KAWANKAR *et al*, 2011; DE SOUZA *et al*, 2014).

As alterações citogenéticas clonais podem ser detectadas em 50%-70% dos pacientes pediátricos com SMD (GÖHRING *et al*, 2010; RAU *et al*, 2012; DE SOUZA *et al*, 2014; HASLE, 2016).

A monossomia do cromossomo 7 é a anormalidade citogenética mais comum nesses pacientes e é vista em cerca de 25% dos casos (LE BEAU *et al*, 1996; NIEMEYER & BAUMANN, 2008; GÖHRING *et al*, 2010; HASLE, 2016). Essa alteração cromossômica está associada a um prognóstico desfavorável e tem indicação para o transplante de células-tronco hematopoéticas alogênicas. A trissomia dos cromossomos 8 e 21 são as alterações

numéricas mais frequentes depois da monossomia de 7 (HASLE *et al*, 1995a; RAU *et al*, 2012; HASLE, 2016).

As alterações citogenéticas associadas com bom prognóstico, identificadas em pacientes adultos, como por exemplo, -Y, del(5q) e del(20q), são raras em crianças. O cariótipo complexo é aquele que apresenta três ou mais alterações numéricas e/ou estruturais, e está associado a um desfecho clínico muito desfavorável (GÖHRING *et al*, 2010; HASLE, 2016). Alterações citogenéticas simples ocorrem com frequência nos estágios iniciais da doença. Entretanto, durante a evolução da SMD, é comum a ocorrência de mudanças citogenéticas mais complexas (FERNANDEZ *et al.*, 2000; WANG, 2010).

As deleções no braço longo do cromossomo 5 (5q) são as alterações cromossômicas mais frequentemente encontradas na SMD dos adultos (até 15% dos casos diagnosticados) (HAASE *et al*, 2007; ZAHID *et al*, 2017; SPERLING *et al*, 2017). Essa alteração, quando se manifesta isoladamente, pode ser reconhecida como síndrome 5q⁻ e é associada, geralmente, a pacientes do sexo feminino e idades avançadas. O quadro clínico característico é composto por anemia macrocítica, hiperplasia eritroide na medula óssea, megacariócitos pequenos e hipolobulados, trombocitose, menos de 5% de blastos na medula óssea e diagnóstico de AR (HARRIS *et al*, 2000; HAASE, *et al*, 2007). A del(5q) é uma alteração cromossômica rara na infância e, quando observada, normalmente ocorre em um contexto de cariótipo complexo (NIEMEYER & KRATZ, 2008; DE SOUZA *et al*, 2010).

A del(5q) envolve genes cuja perda pode afetar processos importantes envolvidos na hematopoese (BOULTWOOD *et al*, 1994 a; PELLAGATTI & BOULTWOOD, 2015). A região comumente deletada na síndrome 5q⁻ encontra-se entre as regiões 5q32-q33 flanqueadas pelo marcador de DNA D5S413 e o gene *GLRA1* (Receptor alfa 1 de glicina, que fornece instruções para fazer uma parte, a subunidade alfa 1 da proteína receptora de glicina) (BOULTWOOD *et al*, 1994 b; JAJU *et al*, 1998; BOULTWOOD *et al*, 2002; PELLAGATTI & BOULTWOOD, 2015; NIH, 2017 a). Essa região mostrou vários mapeamentos promissores de genes candidatos associados à doença, incluindo o gene supressor de tumor *SPARC*, o gene de proteína ribossômica *RPS14* e vários de microRNAs (BOULTWOOD *et al*, 2002; BOULTWOOD *et al*, 2007; PELLAGATTI & BOULTWOOD, 2015). A haploinsuficiência do gene ribossômico *RPS14* mostrou causar um defeito na linhagem eritrocítica na del(5q) (BOULTWOOD *et al*, 2007; EBERT *et al*, 2008; DE SOUZA *et al*, 2010; PELLAGATTI & BOULTWOOD, 2015). Um estudo recente mostrou que o gene *CSNK1A1* desempenha um papel central na patogênese da SMD (5q) (SCHNEIDER *et al*, 2014; PELLAGATTI & BOULTWOOD, 2015). *CSNK1A1* codifica CK1 α , um regulador central de β -catenina (CHEONG & VIRSHUP, 2011; PELLAGATTI

& BOULTWOOD, 2015), que é um dos principais estimuladores da auto-renovação das células-tronco. A haploinsuficiência de *CSNK1A1* leva à expansão de células-tronco hematopoéticas em camundongos e pode desempenhar um papel na expansão clonal inicial em pacientes com síndrome 5q- (SCHNEIDER *et al*, 2014; PELLAGATTI & BOULTWOOD, 2015).

As alterações do cromossomo 7 (a monossomia 7 ou a deleção 7q) são relatadas em aproximadamente 10% dos casos de SMD primária (HAASE *et al*, 2007; ZAHID *et al*, 2017). As regiões geralmente deletadas no braço longo do cromossomo 7 identificadas na SMD estão localizadas nas posições 7q22, 7q32-33 e 7q35-36 (LE BEAU *et al*, 1996; HAASE, 2008; ZAHID *et al*, 2017). Na região 7q22 se localiza o gene *ACHE* (Acetilcolinesterase), que tem ampla expressão na medula óssea, entre outros tecidos. A acetilcolinesterase hidrolisa o neurotransmissor acetilcolina nas junções neuromusculares e sinapses cerebrais, terminando a transmissão do sinal. Também é encontrada nas membranas dos glóbulos vermelhos, onde constitui o antígeno do grupo sanguíneo Yt (NIH, 2017 b). Há também os genes: *CUTL1* (a proteína codificada por este gene é um membro da família de proteínas com homeodomínio de ligação do DNA) que pode regular a expressão gênica, a morfogênese, a diferenciação celular e também pode desempenhar um papel na progressão do ciclo celular) (NIH, 2017 c); *RASA4* (este gene codifica um membro da família GAP1 de proteínas ativadoras de GTPase que suprime a via de proteína quinase ativada por Ras/mitógeno em resposta a Ca²⁺). Os estímulos que aumentam os níveis intracelulares de Ca²⁺ resultam na translocação desta proteína para a membrana plasmática, onde ativa a atividade de Ras GTPase) (NIH, 2017 d); *EPO* (a proteína codificada é sintetizada principalmente no rim, secretada no plasma sanguíneo e liga-se ao receptor de eritropoietina para promover a produção de glóbulos vermelhos, ou eritropoiese, na medula óssea) (NIH, 2017 e); e *FBXL13* (relacionado a processos de ubiquitinação) (NIH, 2017 f). Na região 7q35-q36, está localizado o gene *EZH2* (NIH, 2017 g) que codifica uma proteína considerada um membro-chave do complexo repressivo 2 da família Polycomb (PRC2), sendo responsável pela regulação da metilação da lisina 27 na histona 3 (H3K27), bem como a repressão transcricional associada (VIRE *et al*, 2006; CABRERO *et al*, 2016). As mutações em *EZH2* são comuns em SMD, o que implica que este gene tem um papel fisiopatológico na doença (CABRERO *et al*, 2016).

A trissomia do cromossomo 8 (+8) é a segunda alteração numérica mais comum em SMD e parece ser predominante no sexo masculino. Ocorre em aproximadamente 5% dos pacientes e correlaciona-se com um risco prognóstico intermediário (SLOAND *et al*, 2007; KAWANKAR & VUNDINTI, 2011; ZAHID *et al*, 2017). Não está associada a um subtipo

específico, mas geralmente se apresenta com citopenia de uma ou três linhagens. Uma característica marcante dessa anormalidade citogenética na SMD é sua observação como um evento tardio durante a patogênese da doença (NILSSON *et al*, 2002; ZAHID *et al*, 2017). Pacientes com trissomia de 8 como anomalia isolada têm risco significativamente maior de transformação leucêmica, estando associada a um prognóstico desfavorável. As células hematopoéticas com essa alteração expressam níveis mais elevados de muitos genes que se localizam nesse cromossomo, incluindo o gene *MYC* (ODENIKE *et al*, 2011), que é um proto-oncogene que codifica uma fosfoproteína nuclear que desempenha um papel na progressão do ciclo celular, apoptose e transformação celular (NIH, 2017 h). Portanto, podemos perceber que os estudos em relação ao valor prognóstico da +8 ainda são controversos.

A deleção 11q envolve, preferencialmente, as regiões q13-q14 e q23. Essa anomalia foi observada com mais frequência em mulheres idosas com ARSA e é dito que pacientes que possuem a del(11q) isolada têm um prognóstico mais favorável (CLIMENT, 2000; HAASE *et al*, 2007; ZAHID *et al*, 2017). Porém, na região 11q23 encontra-se o gene *KMT2A*, denominado anteriormente como *MLL*. Este gene codifica uma proteína com múltiplos domínios, pertencente ao grupo de proteínas Trithorax (TrxG), um co-ativador transcricional que desempenha um papel essencial na regulação da expressão gênica durante estágios iniciais do desenvolvimento e da hematopoese (NIH, 2017 i). Membros da família Trithorax estão associados com a regulação positiva de expressão de genes-alvo. A proteína *MLL* é processada pós-tradução por clivagem proteolítica, gerando os fragmentos N-terminal e C-terminal. Os domínios associados a porção C-terminal auxiliam na preparação da cromatina para a transcrição eficiente e, os domínios associados a porção N-terminal contém características essenciais para o correto direcionamento do complexo *MLL*. Desta forma, o complexo *MLL* coordena três principais mecanismos de modificação da cromatina: metilação, acetilação e remodelamento nucleossômico (KRIVTSOV & ARMSTRONG, 2007; JOBE *et al*, 2012).

O gene *MLL* encontra-se rearranjado em 70% dos casos das leucemias agudas da infância e 10% dos casos das leucemias agudas de adultos (KRIVTSOV & ARMSTRONG, 2007; LIM *et al.*, 2014). Em pacientes adultos com SMD, este gene foi descrito estando associado com a transformação para LMA (IBRAHIM *et al.*, 2000). No entanto, existem poucos estudos mostrando o envolvimento do gene *MLL* em SMD primária pediátrica (RODRIGUES *et al.*, 2007).

Na região 11q22, está o gene *ATM*, que fornece instruções para produzir uma proteína que auxilia no controle da taxa de proliferação e divisão celular. A proteína originada

também desempenha um papel importante no reconhecimento de danos nas fitas de DNA, atuando no reparo do DNA (NIH, 2017 j). Dessa forma, alguns estudos têm mostrado a associação de *ATM* com a gênese e etiologia da SMD (ZHOU *et al*, 2013; RIBEIRO *et al*, 2017).

A deleção do braço curto do cromossomo 17, del(17p), está associada com a perda de um dos alelos do gene *TP53* (SEBAA *et al*, 2012), que desempenha um papel crítico em várias vias oncogênicas (MULLER & VOUSDEN, 2014; CHANG *et al*, 2017). A proteína codificada por este gene é uma fosfoproteína localizada na região p13.1 do braço curto do cromossomo 17 e atua como detector de danos no DNA, auxiliando o sistema de reparo da célula ao utilizar os “checkpoints” para interromper o ciclo celular ou induzir a apoptose, de modo que não ocorra a proliferação de células com o DNA mutado (ARRUDA *et al*, 2008). As mutações em *TP53* são detectadas, principalmente, em SMD de alto risco e SMD relacionada à terapia (KANEKO *et al*, 1995; CHRISTIANSEN *et al*, 2001; PICH *et al*, 2017). Em tais doenças, as mutações de *TP53* revelaram ter um impacto prognóstico negativo (KANEKO *et al*, 1995; BEJAR *et al*, 2011; DUARTE *et al*, 2017; PICH *et al*, 2017).

A deleção do braço longo do cromossomo 20, del(20q), como alteração única ou associada a outros achados citogenéticos, é uma alteração recorrente bem documentada em neoplasias mieloides (COURVILLE *et al*, 2016). A del(20q) isolada é relatada com maior frequência na SMD de baixo risco, mas também é encontrada em alguns casos de SMD de alto risco (BREZINOVA *et al*, 2005; DOUET-GUILBERT *et al*, 2008; BACHER *et al*, 2009; BRAUN *et al*, 2011; GREENBERG *et al*, 2012; PAN *et al*, 2014; BACHER *et al*, 2014; COURVILLE *et al*, 2016). A deleção 20q está presente em aproximadamente 5% dos casos de SMD primária (KNAPP *et al* 1985; DOUET-GUILBERT *et al*, 2008). O mecanismo da leucemogênese associado com a del (20q) é desconhecido, porém, a deleção de genes supressores de tumor é tida como uma possível causa do aumento da proliferação das células neoplásicas (BILHOU-NABERA, 2000). Usando a análise de RT-PCR, Bench e colaboradores identificaram genes-alvo em potencial na região de sobreposição entre LMA, SMD e doenças mieloproliferativas na região 20q12, dentre os quais: *L3MBT* (regula a estrutura da cromatina durante a mitose), *SFRS6* (codifica uma proteína importante para a regulação do splicing alternativo do mRNA) e *MYBL2* (um membro da família do fator de transcrição MYB e envolvido no controle do ciclo celular) (WANG *et al*, 1999; BENCH *et al*, 2000; LI *et al*, 2004).

A nulissomia do cromossomo Y (-Y) é uma alteração que pode ocorrer em SMD (GREENBERG *et al*, 1997; SOLÉ *et al*, 1992, 2000, 2005) sendo observada em 5%-15%

dos pacientes do sexo masculino (WIKTOR *et al*, 2000; HAASE *et al*, 2007; GANSTER *et al*, 2015). Na literatura, a perda do cromossomo Y está associada a um bom prognóstico nos pacientes com SMD (SOLÉ *et al*, 2005; SCHANZ *et al*, 2012; ZAHID *et al*, 2017).

Os cariótipos complexos são caracterizados pela presença de três ou mais anormalidades cromossômicas independentes na mesma célula (SLOVAK *et al*, 2000; HASLE *et al*, 2004; OLNEY & LE BEAU, 2007; GÖHRING *et al*, 2010; MCQUILTEN *et al*, 2015). São observados em cerca de 20% dos pacientes com SMD primária (GODLEY *et al*, 2002; ODENIKE *et al*, 2011) e constituem o fator de risco com prognóstico mais desfavorável para esses doentes (VALCÁRCEL *et al*, 2013).

Os cariótipos normais estão presentes em aproximadamente 50% dos pacientes com SMD (HAASE *et al*, 2007; HADDAD *et al*, 2008; DE SWART *et al*, 2018). No entanto, este grupo é geneticamente heterogêneo e, provavelmente, as alterações leucemogênicas ocorrem a nível molecular (PAPAEMMANUIL *et al*, 2013; DELLA PORTA & PICONE, 2017), não sendo possível a sua detecção por métodos de citogenética clássica. O cariótipo normal é classificado como de bom prognóstico segundo os sistemas de escalas prognósticas utilizados para SMD. No entanto, tem sido observado que alguns pacientes com cariótipos normais podem apresentar evolução da doença, sendo necessárias pesquisas para a identificação de marcadores moleculares de prognóstico (GREENBERG *et al*, 1997; OLNEY & LE BEAU, 2007; GREENBERG *et al.*, 2012).

A Tabela 1.3 mostra alterações cromossômicas encontradas em pacientes pediátricos com SMD primária.

Tabela 1.3: Alterações cromossômicas encontradas em pacientes pediátricos com SMD primária.

Cromossomo	Gene	Função
7	<i>EZH2</i>	Regulação da metilação da lisina 27 na histona 3 (H3K27), repressão transcricional
8	<i>MYC</i>	Tem papel na progressão do ciclo celular, apoptose e transformação celular
11	<i>KMT2A</i>	Codifica uma proteína essencial na regulação da expressão gênica
	<i>ATM</i>	Codifica uma proteína que atua na proliferação, divisão celular e reparo do DNA
17	<i>TP53</i>	Tem papel crítico em várias vias oncogênicas. Considerado o “guardião” do genoma

A incidência de alterações citogenéticas pode conduzir a uma instabilidade genômica clonal, levando a uma pré-disposição para aquisições de lesões genéticas adicionais. Estudos citogenéticos demonstraram que alterações cromossômicas simples, observadas na fase inicial da SMD, podem ser acrescidas de outras alterações cromossômicas durante a evolução da doença para LMA (FERNANDEZ *et al.*, 2000; MORI *et al.*, 2000; MHAWECH & SALEEM, 2001; DEININGER *et al.*, 2017), sendo sugerido um modelo de múltiplas etapas (AUL *et al.*, 1998; ROSENFELD & LIST, 2000; ZOI & CROSS, 2015; SPERLING *et al.*, 2017).

Os mecanismos fisiopatológicos precisos da SMD não são claros. Porém, tem sido sugerido que as vias associadas com a evolução de SMD para LMA envolvem alterações genéticas, repressão da apoptose e desestabilização do microambiente (STINTZING *et al.*, 2011; VASILATOU *et al.*, 2013). Estudos recentes mostram o importante papel dos mecanismos epigenéticos na patogênese e prognóstico da SMD. Na verdade, diversos estudos vêm fornecendo evidências de que as moléculas-chave envolvidas na metilação do DNA, na modificação das histonas e na regulação de microRNAs estão envolvidas no desenvolvimento da SMD e sua evolução para LMA (VASILATOU *et al.*, 2013; DEININGER *et al.*, 2017; SPERLING *et al.*, 2017).

O notável progresso na compreensão da leucemogênese foi sustentado por desenvolvimentos metodológicos no campo da citogenética, desde a citogenética clássica (o bandeamento cromossômico) até a citogenética molecular (que combina princípios da citogenética clássica com biologia molecular, utilizando sondas moleculares que marcam cromossomos inteiros ou regiões cromossômicas específicas) (ROMEO *et al.*, 2002; BERNASCONI *et al.*, 2003; NYBAKKEN & BAGG, 2014; CIABATTI *et al.*, 2017). As alterações citogenéticas forneceram a base molecular para a descoberta dos genes envolvidos nos mecanismos de leucemogênese. Em vários estudos, a citogenética é considerada um dos parâmetros prognósticos mais importantes e foi incorporada em modelos estatísticos visando uma melhor predição do prognóstico individual e auxiliando na escolha do tratamento (GREENBERG *et al.*, 1997; HAASE, 2008; SCHANZ *et al.*, 2012; GREENBERG *et al.*, 2012; DE SOUZA *et al.*, 2014; SÉBERT *et al.*, 2017; MONTALBAN-BRAVO & GARCIA-MANERO, 2018).

1.5 Fatores Prognósticos e Escalas Prognósticas em SMD Primária

Apesar da existência de vários sistemas de risco prognóstico para avaliação do desfecho clínico para os pacientes com SMD, ainda havia imprecisão quanto a essas análises. Para tentar melhorar esse panorama, em 1997, um estudo internacional combinou dados citogenéticos, morfológicos e clínicos de sete grandes estudos anteriores, que eram baseados em risco, e que geraram sistemas prognósticos (MUFTI *et al*, 1985; OSCIER, 1987; SANZ *et al*, 1989; AUL *et al*, 1992; MOREL *et al*, 1993; TOYAMA *et al*, 1993; GREENBERG *et al*, 1993, 1997). Nesse estudo, que originou o Sistema Internacional de Pontuação Prognóstica (IPSS), uma análise global foi realizada e as variáveis prognósticas críticas foram re-avaliadas para gerar um sistema prognóstico de consenso, particularmente usando uma classificação citogenética da medula óssea mais refinada (GREENBERG *et al*, 1997).

As principais variáveis encontradas que tiveram impacto no desfecho da doença e na evolução para LMA foram: cariótipo, porcentagem de blastos na medula óssea e número de citopenias no sangue periférico (GREENBERG *et al*, 1997; MALCOVATI *et al*, 2007; DELLA PORTA *et al*, 2015). O IPSS reconhece 4 grupos de risco, de acordo com a pontuação alcançada pelo paciente: baixo (0 pontos), intermediário-1 (0.5-1.0 ponto), intermediário-2 (1.5-2.0 pontos) e alto risco (≥ 2.5 pontos). Já os subgrupos de risco citogenéticos foram os seguintes: bom prognóstico (cariótipos normais, -Y, del(5q) e del(20q)); prognóstico desfavorável (cariótipos complexos ou alterações envolvendo o cromossomo 7); e prognóstico intermediário (as demais alterações) (GREENBERG *et al*, 1997). A Tabela 1.4 mostra os parâmetros utilizados e a pontuação do sistema.

Tabela 1.4. Pontuação segundo os parâmetros críticos do IPSS (1997) para a SMD

Variáveis prognósticas	Pontuação				
	0	0.5	1.0	1.5	2.0
Blastos MO (%)	< 5	5-10	-	11-20	21-30
Cariótipo *	Bom	Intermediário	Desfavorável		
Citopenias	0/1	2/3			

As pontuações para os grupos de risco são as seguintes: Baixo (0 pontos); Intermediário-1 (0.5-1.0 pontos); Intermediário-2 (1.5-2.0 pontos); e Alto (≥ 2.5 pontos).

* Cariótipos: Bom prognóstico: normal, -Y, del(5q), del(20q); Prognóstico desfavorável: cariótipos complexos (≥ 3 alterações) ou alterações envolvendo o cromossomo 7; Prognóstico intermediário: outras alterações cromossômicas (Adaptado de GREENBERG *et al*, 1997).

O IPSS ganhou destaque pela sua utilidade clínica devido ao fato de permitir a previsão da evolução da doença em séries independentes de pacientes sem tratamento prévio. No entanto, apesar de sua importância, este sistema apresenta algumas limitações principalmente em relação aos grupos de risco da citogenética. Algumas críticas a este sistema foram: a dificuldade em atribuir valor prognóstico às alterações citogenéticas raras, a determinação do grupo considerado de prognóstico intermediário (aproximadamente 14% dos pacientes) ter sido feita por exclusão e não por dados de sobrevida e a indeterminação da relevância prognóstica de duas anormalidades combinadas, como a del(5q) e +8 (GIAGOUNIDIS & HAASE, 2013).

Em 2012, o IPSS foi revisado (IPSS-R) por Greenberg e colaboradores. Nesse novo sistema de escala prognóstica são reconhecidos 5 grupos de risco em relação à citogenética: muito bom [-Y, del(11q)]; bom (cariótipo normal, del(5q), del(20q), del(12p)]; intermediário [trissomia do cromossomo 8 (+8), del(7q)]; desfavorável (-7, inv3, cariótipo complexo com 3 anormalidades) e muito desfavorável (cariótipo complexo com >3 alterações) (GARCIA-MANERO, 2012; GREENBERG *et al*, 2012; GANGAT *et al*, 2016) (Tabela 1.5).

Tabela 1.5. Subgrupos citogenéticos propostos pelo IPSS-R (2012) para a SMD

Subgrupos prognósticos	Anormalidades citogenéticas
Muito bom	-Y, del(11q)
Bom	normal, del(5q), del(12p), del(20q), alteração dupla que inclua del(5q)
Intermediário	del(7q), +8, +19, i(17q), quaisquer outros clones independentes simples ou duplos
Desfavorável	-7, inv (3)/ t(3q)/ del(3q), alteração dupla que inclua -7/del(7q), cariótipo complexo com 3 alterações
Muito desfavorável	cariótipo complexo com mais de 3 alterações

(Adaptado de GREENBERG *et al*, 2012)

Devido à extrema heterogeneidade da SMD, tanto seu diagnóstico como o prognóstico são considerados práticas clínicas difíceis, principalmente para os pacientes pediátricos. Assim, a análise citogenética tem mostrado ser uma importante ferramenta laboratorial para diagnóstico e prognóstico da doença (DE SOUZA *et al*, 2014). No entanto, as estratificações em grupos de risco em relação à citogenética foram construídas com base em pacientes adultos submetidos a terapias de suporte (ARMAND *et al.*, 2010). Dessa forma, faz-se necessário um maior número de estudos que tenham a citogenética como foco. É preciso,

ainda, uma maior investigação do grupo de risco prognóstico intermediário de modo a auxiliar na determinação do valor prognóstico de alterações tidas como duvidosas. Como exemplos, temos + 8 e a del(11), consideradas pelo IPSS como sendo alterações de prognóstico intermediário; o IPSS-R manteve a classificação da +8 como prognóstico intermediário, mas considerou a del(11q) para o grupo de alterações de muito bom prognóstico, inclusive considerando um melhor prognóstico em comparação com os cariótipos normais. Porém, alguns estudos mostraram que essas alterações cromossômicas estão associadas com a evolução da SMD para LMA (FERNANDEZ *et al*, 2000; WANG *et al*, 2011; DE SOUZA *et al*, 2014).

1.6 Opções de Tratamento para Pacientes com SMD Primária

Existem diversas modalidades de tratamento para os pacientes com SMD primária, onde o IPSS e o IPSS-R auxiliam no planejamento inicial da escolha do tratamento (GREENBERG *et al*, 2017; MONTALBAN-BRAVO & GARCIA-MANERO, 2018). Além disso, fatores como a idade e a presença de comorbidades (doenças cardíacas, renais, pulmonares e o diabetes, entre outras) são determinantes críticos devido a sua grande influência sobre a capacidade do paciente tolerar certos tratamentos mais agressivos, como o transplante de células tronco hematopoéticas alogênico (GREENBERG, *et al*, 2017). As decisões de tratamento são dinâmicas e podem ser alteradas ao longo do curso da doença, por influência do quadro geral do paciente, pela resposta ao tratamento anterior ou mesmo por escolha do paciente (DELLA PORTA *et al*, 2011; ZEIDAN *et al*, 2013).

As opções de tratamento para os pacientes com SMD abrangem cuidados de suporte, terapia de baixa intensidade (quimioterapia de baixa intensidade), terapia de alta intensidade (quimioterapia intensiva e transplante de células-tronco hematopoéticas alogênico) e agentes hipometilantes (CHESON *et al*, 2000, 2006; GREENBERG, *et al*, 2017).

As terapias de suporte envolvem as transfusões sanguíneas, os antibióticos, os fatores de crescimento isolados ou em combinação, a ciclosporina ou a globulina anti-timócito (ATG). Os fatores estimulantes da eritropoese (AEE) têm uma taxa de resposta de 40% - 50% em pacientes com SMD de menor risco e são usados para tratamento de anemia, que ocorre em mais de 90% dos pacientes com SMD (SANTINI, 2016; GANGAT *et al*, 2016). O esteroide anabólico danazol também tem sido usado no tratamento de pacientes com anemia (LETENDRE *et al*, 1995; GANGAT *et al*, 2016).

A terapia imunossupressora (TIS) deve ser considerada particularmente para pacientes com SMD hipoplásica (que corresponde de 10%-20% dos casos da doença). A não-

quimioterapia atualmente disponível com agentes de baixa intensidade incluem: globulina anti-timócito (ATG), ciclosporina e lenalidomida (MOLLREM *et al*, 1997; GREENBERG, 2000; DEEG *et al*, 2004; GARG *et al*, 2009; FENAUX *et al*, 2011; PASSWEG *et al*, 2011; SANTINI, 2016; GANGAT *et al*, 2016; GREENBERG *et al*, 2017). A lenalidomida (um análogo da talidomida) é um agente imunomodulador com atividade em pacientes com SMD de menor risco (LIST *et al*, 2005, 2006; GREENBERG *et al*, 2017). Bons resultados foram particularmente evidentes para os pacientes com a alteração cromossômica del(5q) (LIST *et al*, 2005, 2006; NIMER, 2006; KRONKE *et al*, 2015; GREENBERG *et al*, 2017; TALATI *et al*, 2017). A lenalidomida suprime as células clonais del (5q) e atua no compartimento eritróide para melhorar os níveis de hemoglobina, levando a uma taxa de resposta eritróide de 83% e independência de transfusão durável (LIST *et al*, 2005; ARCIONI *et al*, 2018).

O único tratamento para trombocitopenia é o uso de transfusões de plaquetas com risco de aloimunização, pois as terapias como lenalidomida e agentes hipometilantes (HMA), muitas vezes, intensificam a gravidade do quadro inicial (GANGAT *et al*, 2016).

Os agentes hipometilantes são análogos de nucleósidos que inibem a DNA metiltransferase (DMTI) para ativar a expressão de alguns genes supressores de tumores (XIE *et al*, 2015) incluem a azacitidina e a decitabina (HAREL *et al*, 2015). A azacitidina é um inibidor da metilação do DNA que causa citotoxicidade direta a células hematopoéticas anormais na medula óssea. Os efeitos citotóxicos da droga causam a morte de células em rápida divisão, incluindo células neoplásicas que não respondem mais aos mecanismos normais de controle do crescimento (CELGENE CORPORATION, 2014; MAPLES *et al*, 2018). Tem sido estudada tanto no contexto de manutenção do tratamento quanto da recidiva após TCTH alogênico, devido às suas propriedades imuno-moduladoras adicionais (DE LIMA *et al*, 2010; BOLANOS-MEADE *et al*, 2011; SCHROEDER *et al*, 2013; CRADDOCK *et al*, 2016; MAPLES *et al*, 2018). A azacitidina deve ser considerada ou para o tratamento de pacientes que evoluem clinicamente na doença ou para SMD de alto risco. A decitabina, parece ter efeitos citotóxicos diretos e /ou afeta a diferenciação celular e a apoptose (KANTARJIAN *et al*, 2012). É um análogo de nucleosídeo da citosina que, uma vez incorporado ao DNA, inibe a metilação adicional do DNA. Como consequência, genes silenciados de forma aberrante, incluindo supressores tumorais, podem ser reativados e expressos (KANTARJIAN *et al*, 2006). A decitabina foi aprovada para pacientes com IPSS de risco intermediário ou alto risco, vem sendo considerada como terapia de baixa intensidade (GANGAT *et al*, 2016; GREENBERG *et al*, 2017). Tanto azacitidina como decitabina afetam os marcadores de incorporação de azanucleosídeos no DNA, incluindo

depleção de DNMT1 e hipometilação de DNA, sendo esses marcadores mais sensíveis à decitabina. A azacitidina afeta todo o ciclo celular, enquanto a decitabina afeta principalmente a transição G0 / G1 para S. A decitabina modifica os mecanismos mediados por DNA, induzindo a resposta a danos no DNA, além da modulação epigenética, enquanto a azacitidina é mais potente na redução da viabilidade celular e da síntese proteica. (HAREL *et al*, 2015).

É importante notar que nenhuma das terapias farmacológicas atualmente disponíveis para SMD é de natureza curativa e o transplante de células-tronco hematopoéticas alogênico continua a ser a única opção de tratamento potencialmente curativo (GANGAT *et al*, 2016). A Figura 1.2 mostra um esquema de manejo da SMD, quanto ao tratamento.

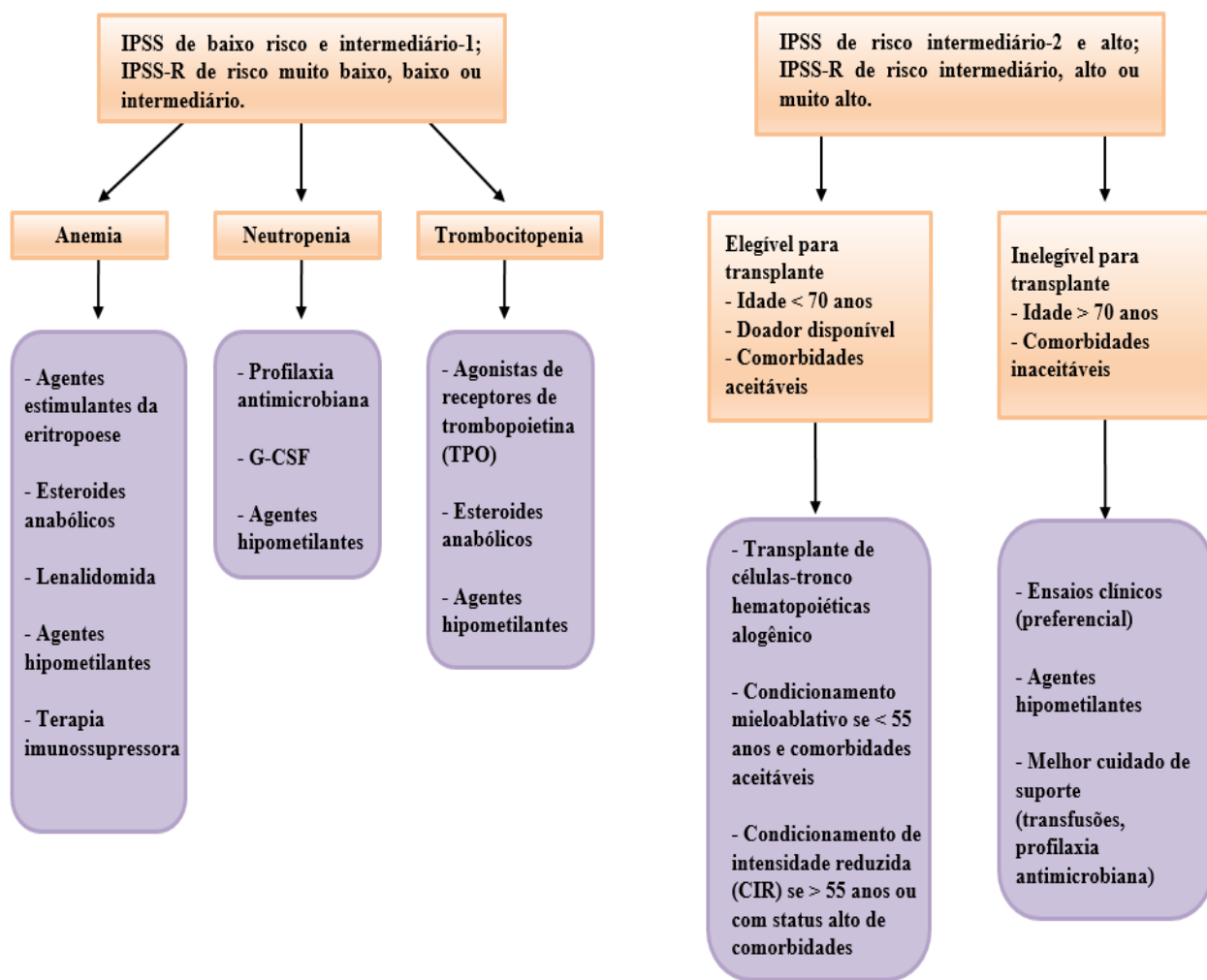


Figura 1.2. Abordagem de tratamento adaptado ao risco para pacientes com síndrome mielodisplásica (Adaptado de GANGAT *et al*, 2016).

1.6.1 Transplante de Células - Tronco Hematopoéticas

O campo do transplante de células tronco hematopoéticas (TCTH) fez um progresso inovador no tratamento de muitas condições malignas e não malignas. Também foi pioneiro nos conceitos de terapia com células tronco e imunoterapia como uma ferramenta contra o câncer. O sucesso do transplante para doenças malignas hematológicas deriva tanto da capacidade de tratar pacientes com quimioterapia e radioterapia intensiva, quanto de potentes efeitos de enxerto versus leucemia mediados pela imunidade do doador.

O transplante alogênico tornou-se mais viável após a descoberta do MHC, o principal complexo de histocompatibilidade, o que rendeu o prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina a Baruj Benacerraf, Jean Dausset e George D. Snell, em 1980. Em 1990, o prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina foi concedido a descobertas que permitiram o desenvolvimento do transplante de órgãos e células em um método para o tratamento de doenças humanas. Joseph E. Murray descobriu como a rejeição após o transplante de órgãos no homem poderia ser dominada, e E. Donnall Thomas conseguiu diminuir a reação severa que o enxerto pode causar no receptor, isto é, a chamada reação "enxerto contra hospedeiro" (ECH). Além disso, Thomas pôde mostrar que as células da medula óssea infundidas intravenosamente eram capazes de repovoar a medula óssea e produzir novas células sanguíneas. A Figura 1.3 mostra os principais acontecimentos no campo do transplante

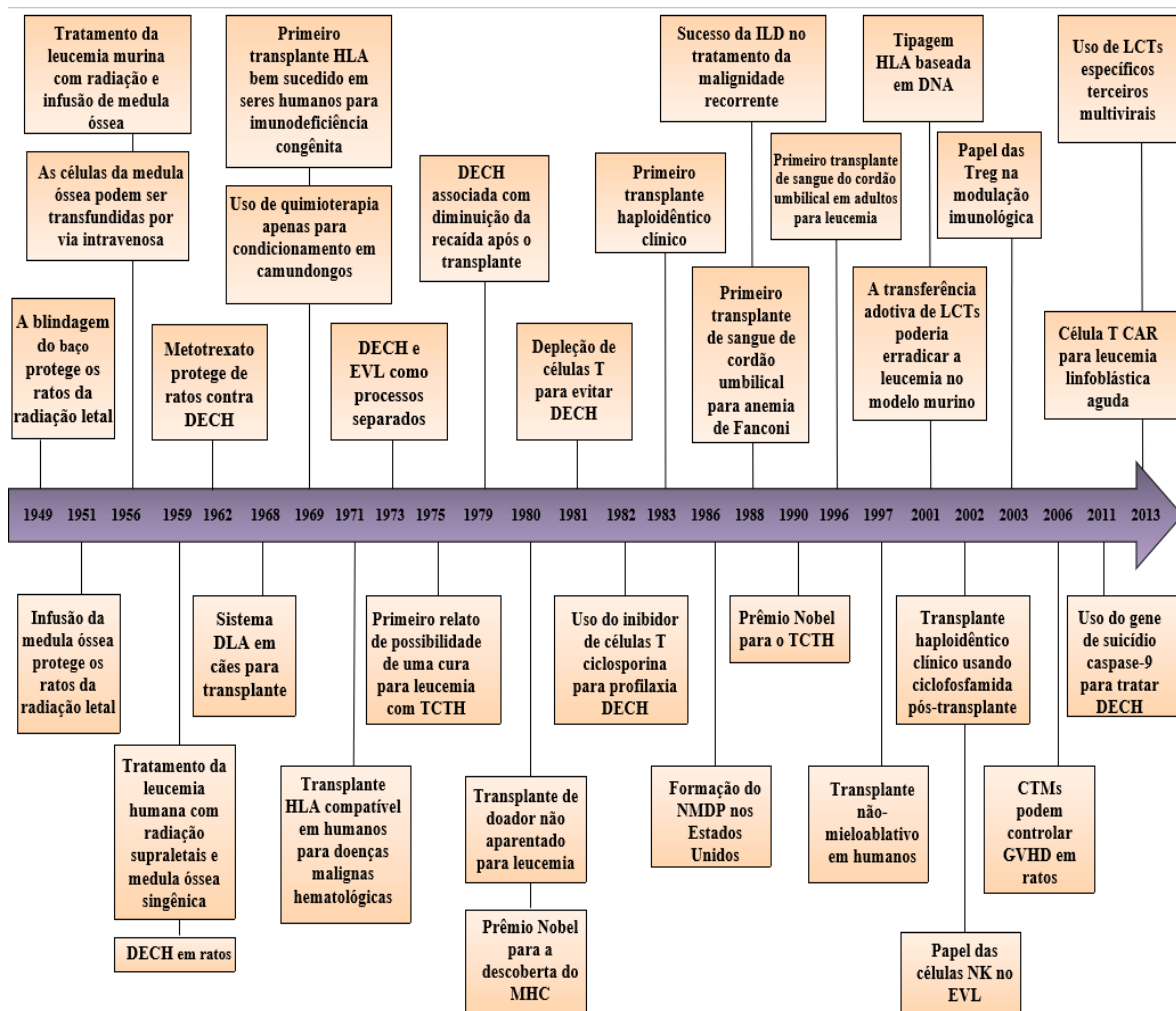


Figura 1.3. Principais marcos no campo do transplante de células-tronco alogênico. **DECH**: doença do enxerto contra o hospedeiro; **HLA**: antígeno leucocitário humano; **DLA**: antígeno leucocitário de cães; **EVL**: enxerto contra leucemia; **MHC**: principal complexo de histocompatibilidade; **ILD**: infusão de linfócitos de doador; **NMDP**: *National Donor Marrow Program*; **LCT**: linfócito C citotóxico; **Treg**: células-T reguladoras; **NK**: *natural killer* (Adaptado de SINGH & MCGUIRK, 2016).

O TCTH é um procedimento rápido, semelhante a uma transfusão sanguínea, com duração média de 2 horas. A medula infundida é rica em células progenitoras, que uma vez na corrente sanguínea, migram e colonizam a medula óssea. O paciente, após se submeter a um tratamento que destruirá a sua própria medula, receberá as células de uma nova medula de um doador (REDOME, 2017).

A decisão de utilizar o transplante como uma modalidade de tratamento para um paciente com SMD é complexa, assim como as decisões sobre quando, no curso da doença, realizar o procedimento (BHATT & STEENSMA, 2016), pois o mesmo é arriscado envolvendo comorbidades e um risco substancial de mortalidade relacionada (SABER & HOROWITZ, 2016).

Existem três tipos de transplante de células-tronco hematopoéticas: o autólogo, o alogênico e o singênico. O transplante autólogo é aquele no qual as células precursoras da medula óssea provêm do próprio indivíduo transplantado. As células da medula (ou do sangue periférico) do próprio paciente são coletadas e armazenadas em baixíssimas temperaturas para, posteriormente, serem utilizadas. Essa modalidade de transplante é indicada para doenças que não comprometam a qualidade da medula óssea (que não se originam diretamente na medula) ou quando o paciente entrou em estado de remissão (quando a doença diminui ao ponto de não ser mais detectada na medula óssea). O transplante alogênico é aquele no qual as células precursoras da medula provêm de outro indivíduo (doador) que não o paciente, de acordo com o nível de compatibilidade do material sanguíneo (REDOME, 2017). Há, também, o transplante singênico, que é aquele no qual as células-tronco provêm de um irmão gêmeo univitelino (ABTO, 2017). Uma modalidade de transplante alogênico que vem ganhando força nos últimos anos é o chamado haploidêntico, no qual há uma compatibilidade de 50% com um doador aparentado (KEKRE & ANTIN, 2014).

Para que haja o TCTH alogênico é preciso que o doador e o receptor apresentem compatibilidade no complexo principal de histocompatibilidade (MHC) denominado sistema de antígenos leucocitários humanos (HLA). Os sistemas HLA são classificados como os principais complexos de histocompatibilidade (MHCs) devido ao seu relevante papel de permitir que o sistema imunológico diferencie os antígenos "próprios" de antígenos "não-próprios" (HUDSON & ALLEN, 2016; CRUX & ELAHI, 2017). Os *loci* HLA clássicos consistem nas classes: Ia (HLA-A, -B, -C), Ib (HLA-E, -F, -G, -H) e II (HLA-DR, -DQ, -DM e -DP), que estão envolvidos na apresentação do antígeno às células T CD8 +, células *natural killer* (células NK) e células T CD4 +, respectivamente (LEDDON & SANT, 2010; ALLARD *et al*, 2014; CRUX & ELAHI, 2017). Eles são codificados em um segmento de ~ 3.500 kb na região p21.3 do cromossomo 6, que é a região mais variável no genoma humano (SHIINA *et al*, 2009; CRUX & ELAHI, 2017) (Figura 1.4).

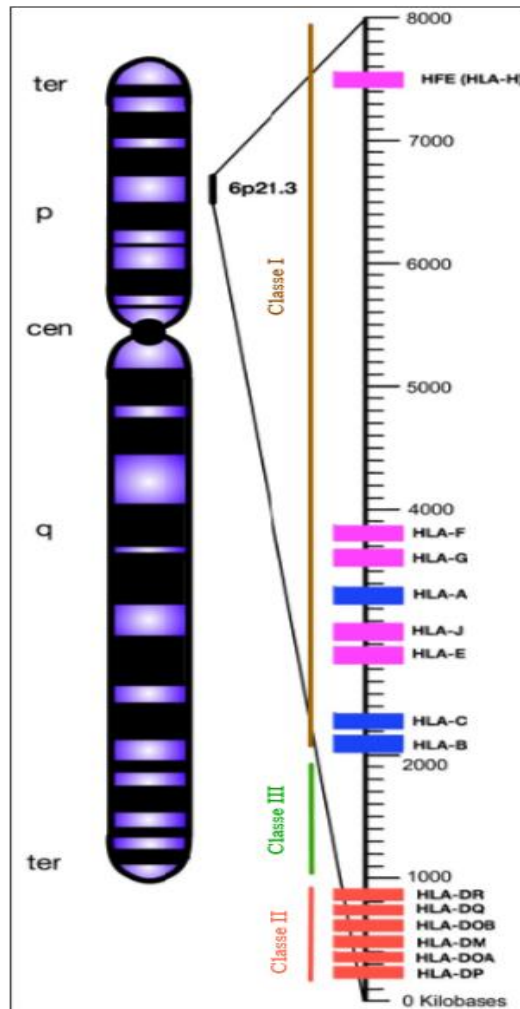


Figura 1.4. Esquema da posição e organização dos genes HLA no cromossomo 6. O HLA-classe I engloba os *loci* HLA-Ia “clássicos” e HLA-Ib e “não clássicos”, que são diferenciados por azul e rosa, respectivamente. HLA-classe II são codificados por vários *loci* HLA-II marcados pelo vermelho. Ao contrário das classes HLA I e II, a região HLA-classe III não codifica HLAs. Em vez disso, esta região densamente compactada codifica para várias moléculas inflamatórias, complementos e proteínas de choque térmico. **ter:** telômero; **p:** braço curto; **q:** braço longo; **cen:** centrômero (Adaptado de CRUX & ELAHI, 2017).

O doador de medula óssea pode ser aparentado ou não. No primeiro caso, quem pode doar é uma pessoa da própria família do paciente, em geral, um irmão ou um dos pais. A probabilidade de encontrar um doador compatível na família é de, aproximadamente, 25%. Quando não há doador aparentado, as chances do paciente encontrar uma pessoa compatível são de 1 em 100 mil, em média. Havendo um irmão com compatibilidade total, este será a primeira escolha para ser um doador. Caso o paciente não tenha irmão ou este não seja compatível, também avalia-se a compatibilidade com a mãe e o pai. Se não há um doador aparentado com boa compatibilidade, começa a busca por alternativas para a realização do transplante (REDOME, 2017).

O transplante de células HLA-haploidênticas envolve um risco aumentado de rejeição do enxerto, embora os regimes de condicionamento usados atualmente tenham reduzido esse risco, e a incidência de DECH é semelhante ou menor do que a observada com a utilização de células de doador HLA-compatíveis (DEEG, 2015).

As vantagens de usar este tipo de transplante são a disponibilidade imediata do doador, acesso instantâneo ao doador para terapia celular após o transplante e a possibilidade de selecionar vários membros da família de acordo com as características clínicas e a atividade de células NK (*natural killer*). Como desvantagens, pode-se citar o risco aumentado de desenvolvimento de DECH, a necessidade de depleção de células T *in vivo* ou *ex vivo*, levando a uma maior incidência de infecção e alta incidência de recidiva (DI IANNI *et al*, 2011; RAIOLA *et al*, 2014; HAMERSCHLAK, 2016).

As informações dos pacientes que precisam de transplante, mas não têm um irmão compatível são incluídas no Registro Nacional de Receptores de Medula Óssea (REREME). Os doadores são cadastrados no Registro Nacional de Doadores Voluntários de Medula Óssea (REDOME). Os dados dos dois registros são cruzados para verificar a compatibilidade entre pacientes e doadores em uma busca automática. A partir do momento que o paciente é cadastrado no REREME, ocorre a primeira tentativa de encontrar um doador. Depois disso, o próprio sistema, diariamente, refaz a busca (REDOME, 2017).

Um resultado preliminar indica uma lista de possíveis doadores compatíveis. A equipe médica analisa qual dos possíveis doadores tem chance de ser mais compatível com o paciente. Paralelamente, dá-se a busca na Rede BrasilCord, que armazena os dados dos cordões umbilicais guardados nos Bancos Públicos de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário. Na eventualidade de não ser encontrado um doador em território nacional, inicia-se uma busca internacional que ocorre praticamente de forma simultânea (REDOME, 2017).

Como fontes de células-tronco para o transplante, podem ser utilizadas a medula óssea, o sangue periférico e o sangue de cordão umbilical (DA SILVA JUNIOR *et al*, 2009; MENDES & BITTENCOURT, 2010). Células de medula óssea são obtidas por repetidas punções nas cristas ilíacas, sob anestesia geral ou local (COPELAN, 2006; KOLINS *et al*, 2011; REDOME, 2017). O número de células – tronco no sangue periférico pode ser aumentado pela mobilização com o fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF), com posterior coleta por aférese (AZEVEDO & RIBEIRO, 2000; BENSINGER *et al*, 2001; COPELAN, 2006; KOLINS *et al*, 2011). O sangue de cordão umbilical é coletado imediatamente após o nascimento e depois congelado em um banco para uso futuro (COPELAN, 2006; GYURKOCZA *et al*, 2010; KOLINS *et al*, 2011; BAEK *et al*, 2011).

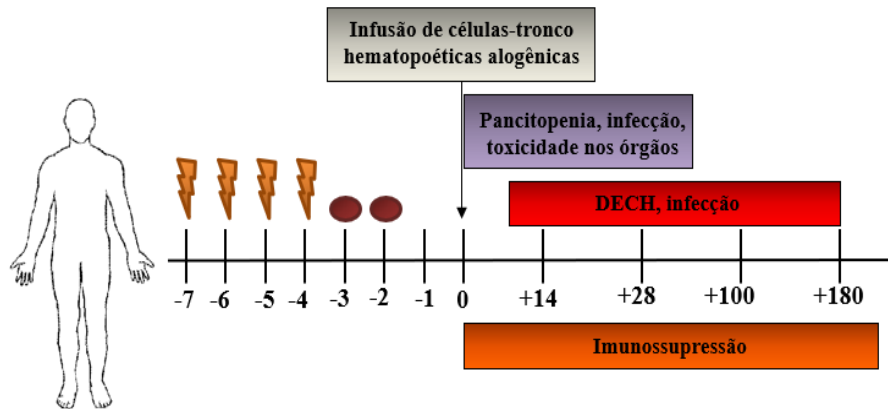
O sangue do cordão umbilical (SCUP) é uma fonte alternativa de células hematopoéticas que apresenta 2 vantagens: uma tolerância relativa à disparidade de HLA e uma fonte de células tronco criopreservadas, garantindo disponibilidade rápida com tempo flexível de transplante (BARKER *et al*, 2002, 2010; GERDS *et al*, 2017). Uma grande desvantagem do uso do SCUP como fonte de enxerto é o número limitado de células tronco disponíveis, levando a atrasos no tempo de enxertia e reconstituição imune, limitação essa que foi parcialmente superada pelo uso de 2 unidades de cordão, ou expansão *ex vivo* de uma unidade de cordão antes da infusão no paciente (DAHLBERG *et al*, 2011; SCARADAVOU *et al*, 2013; GERDS *et al*, 2017). Ao longo da última década, as melhorias na seleção, condicionamento e cuidados de suporte levaram a melhores resultados em adultos após o transplante com SCUP. Análises retrospectivas contemporâneas sugerem que a sobrevida livre de doença para doenças malignas hematológicas após o transplante com cordão é comparável à do transplante com doadores compatíveis aparentados ou não (BRUNSTEIN *et al*, 2010, 2012; CHEN *et al*, 2012; GERDS *et al*, 2017).

No âmbito do TCTH, o regime de condicionamento é uma etapa fundamental. O condicionamento é realizado com três objetivos principais: 1) a “criação de um espaço” na medula óssea de modo a permitir a enxertia; 2) imunossupressão, para que não ocorra rejeição às células transplantadas e; 3) erradicação da doença para prevenir sua recidiva (GRATWOHL, 2008; KOLINS *et al*, 2011). Os regimes de condicionamento mieloablativos, baseados em doses supressoras de quimioterapia e irradiação corporal total (TBI) (GYURKOCZA *et al*, 2010), destroem completamente a medula óssea existente e suprimem o sistema imunológico do receptor para evitar a rejeição do enxerto doado (ou seja, a recuperação hematopoética do receptor ocorre apenas com células-tronco hematopoéticas do doador) (COPELAN, 2006; KOLINS *et al*, 2011). Os regimes não mieloablativos têm efeitos colaterais menos tóxicos e menor supressão medular, mas ainda permitem a enxertia na medula óssea dos pacientes (COPELAN, 2006; BARRETT *et al*, 2010; KOLINS *et al*, 2011). As doses elevadas de quimioterapia às quais os pacientes são submetidos durante os regimes de condicionamento podem trazer efeitos colaterais como: alopecia, mucosite, cistite hemorrágica, doença hepática veno-oclusiva, CMV, entre outros (STMO, 2017).

Historicamente, os regimes mieloablativos de alta dose foram utilizados para maximizar a morte de células neoplásicas. Porém, como a SMD é uma doença que ocorre preferencialmente em pacientes idosos (ROLLISON *et al*, 2008; SABER & HOROWITZ, 2016) e os pacientes com idades mais avançadas geralmente mostram baixa tolerância ao condicionamento das altas dosagens tendo morbidade e mortalidade excessivas relacionadas

a esse processo, foi introduzido regimes de condicionamento com intensidade reduzida. A introdução desses regimes, que proporcionam alguns efeitos citotóxicos e também supressão imune suficiente para facilitar o enxerto, permite que o TCTH alogênico seja realizado em pacientes com idade mais avançada (de 65-70 anos). Devido às preocupações com a alta mortalidade relacionada ao transplante, o condicionamento de intensidade reduzida é a opção na maioria dos pacientes com idade superior a 65 anos (SABER & HOROWITZ, 2016). As Figuras 1.5 A e B mostram uma representação dos regimes de condicionamento mieloablativo e não mieloablativo para SMD.

A. Transplante de células-tronco hematopoéticas alogênicas mieloablativo



B. Transplante de células-tronco hematopoéticas alogênicas não-mieloablativo

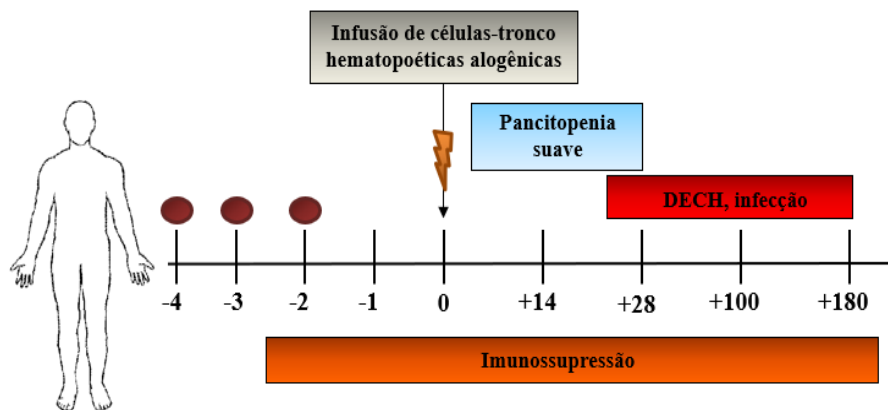


Figura 1.5: O transplante de células-tronco hematopoéticas alogênicas mieloablativo (figura A) envolve a administração de quimioterapia intensiva, muitas vezes combinada com a irradiação total do corpo, antes das células serem transplantadas (dia 0). A quimioterapia e a radioterapia intensivas proporcionam atividade antitumoral significativa, mas diminui a hematopoese e a imunidade do hospedeiro. O enxerto de células-tronco do doador (infusão de células-tronco hematopoéticas alogênicas) é essencial para resgatar o paciente de toxicidade hematopoética letal. Os medicamentos imunossupressores, como ciclosporina e metotrexato, são administrados pós-transplante para prevenir a doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH). As principais complicações do transplante de células-tronco após este regime mieloablativo são os danos aos órgãos, devido à terapia citotóxica intensiva, infecção oportunista durante o período de neutropenia profunda e DECH. Durante o condicionamento não mieloablativo (figura B), a fludarabina combinada com quimioterapia de baixa intensidade ou irradiação de corpo inteiro com baixa dose, são administradas ao paciente antes que as células-tronco hematopoéticas sejam transplantadas. Este condicionamento menos intenso não é mieloablativo, mas é suficientemente imunossupressor para permitir o enxerto de células-tronco doador. Os imunossupressores são administrados tanto para evitar a rejeição das células transplantadas quanto para prevenir a DECH (Adaptado de BLEAKLEY & RIDDELL, 2004).

Geralmente um dia ou dois após o tratamento de condicionamento terminar, o paciente recebe as células-tronco que foram previamente armazenadas. As células-tronco do doador são infundidas através de cateter central ou na veia do paciente em um processo que dura de 1-4 horas. Para estimular o crescimento de linfócitos, o fator de estimulação de colônias de

granulócitos (G-CSF) também pode ser administrado neste momento. Além disso, a reposição de células sanguíneas, suporte nutricional e medicamentos para prevenir a doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) podem ser usados. O período de enxertia é crítico, pois como a imunidade do paciente está muito baixa, o risco de infecções e complicações potencialmente letais é alto (LRF, 2016). A Figura 1.6 mostra uma visão geral do processo de transplante de células-tronco hematopoéticas alogênicas.

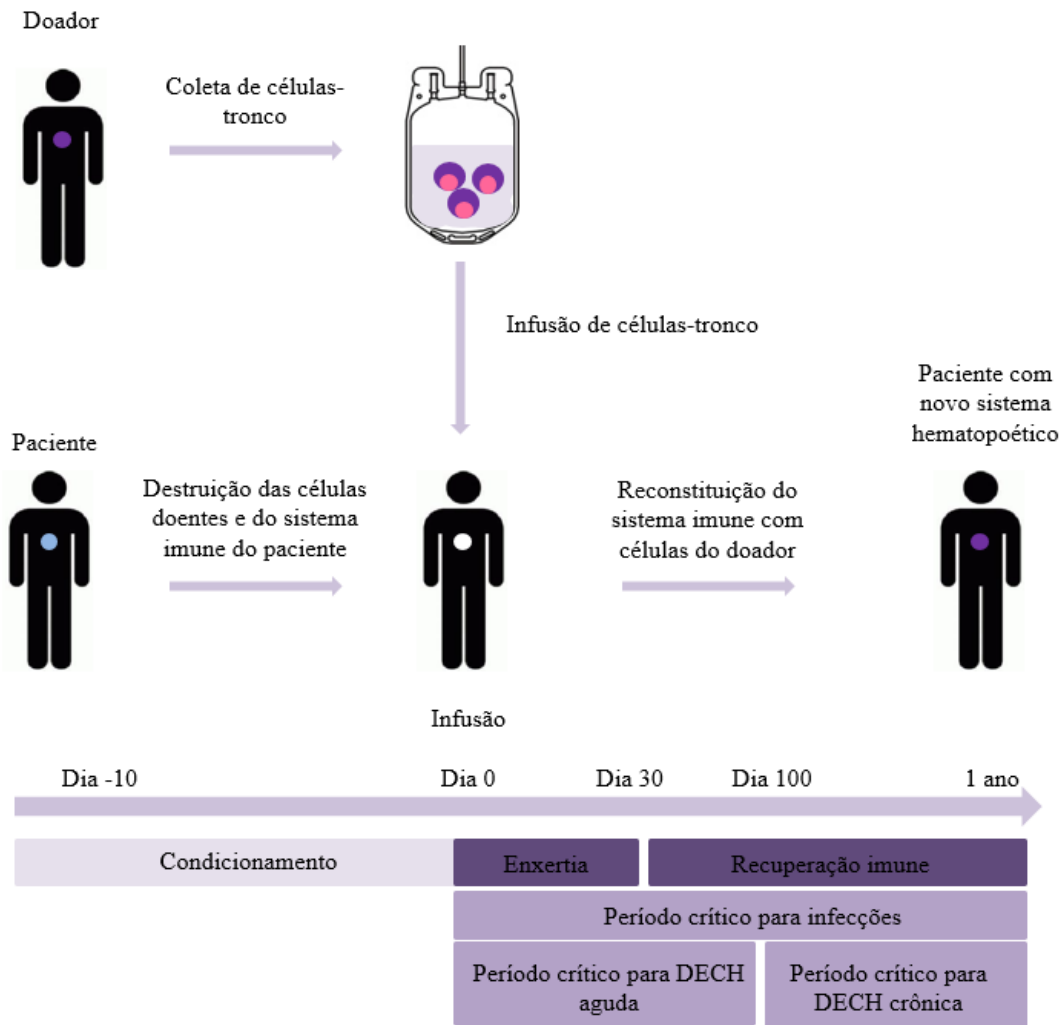


Figura 1.6: Esquema do processo de transplante de células-tronco alogênico (Adaptado de MILTENYI BIOTEC, 2017).

A doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) é uma das principais complicações do TCTH alogênico (GYURKOCZA *et al*, 2010; COPELAN *et al*, 2017). A DECH é um processo imunológico em que as células T do doador atacam o tecido do receptor que reconhecem como “não-próprias” segundo alguns critérios: (1) O enxerto deve conter células imunologicamente ativas (agora entendidas como células T); (2) O receptor deve expressar antígenos não presentes no doador; (3) O receptor deve ser incapaz de apresentar

uma resposta imune capaz de eliminar as células transplantadas (BILLINGHAM, 1966; GYURKOCZA *et al*, 2010). A DECH geralmente é dividida em formas agudas e crônicas, cada uma afetando sistemas de órgãos específicos e possuindo manifestações clínicas e histológicas distintas.

A DECH aguda ocorre com maior frequência nos 100 primeiros dias após o TCTH. Os principais alvos da alorreatividade neste tipo de DECH são a pele, o trato gastrointestinal e, com menos frequência, o fígado (FERRARA *et al*, 2009; GYURKOCZA *et al*, 2010). A profilaxia mais amplamente utilizada combina um inibidor de calcineurina (CSP ou tacrolimus) com várias doses de metotrexato pós-transplante (STORB *et al*, 1986a, 1986b; GYURKOCZA *et al*, 2010). Outra forma de prevenção da DECH aguda inclui o uso de enxertos com células T depletadas (GYURKOCZA *et al*, 2010).

A DECH crônica exemplifica as duas faces da alorreatividade, pois o desenvolvimento da complicação está associado a menores taxas de recaída e melhor controle de malignidades posteriores (WEIDEN *et al*, 1981; BARON *et al*, 2005; GYURKOCZA *et al*, 2010). O curso da DECH crônica é altamente variável; muitos pacientes têm eventual resolução da complicação e são capazes de interromper todo o tratamento imunossupressor à medida que a tolerância se desenvolve, enquanto outros apresentam manifestações severas e refratárias ao tratamento (STEWART *et al*, 2004; GYURKOCZA *et al*, 2010). A DECH crônica pode afetar quase qualquer sistema do corpo e suas manifestações geralmente se assemelham às de doenças autoimunes clássicas, como lúpus, síndrome de Sjogren e esclerose sistêmica. O tratamento de primeira linha para DECH crônica geralmente inclui corticosteroide (GYURKOCZA *et al*, 2010).

A recaída representa a principal causa de falha no tratamento com o TCTH alogênico e está associada a um prognóstico desfavorável (SCHROEDER *et al*, 2017). Os riscos de recaída e mortalidade relacionados ao tratamento são aumentados em pacientes com doença mais avançada (ANDERSON *et al*, 1993; WARLICK *et al*, 2009; PARMAR & DE LIMA, 2010; CHAMPLIN, 2011).

Marcadores genéticos são utilizados pré-transplante para a distinção, após o procedimento, entre as células do doador e do paciente, e assim determinar se houve a “pega” do enxerto e o grau de quimerismo alcançado (BLUME *et al*, 1980; HASSAN *et al*, 2010). O quimerismo pode ser total (QT) ou misto (QM). No QT, é detectada a presença de células do doador em uma proporção maior que 95%. Já no QM, há uma coexistência entre as duas populações de células. O estudo do QM pós-TCTH alogênico tem por objetivo estabelecer parâmetros precoces que sejam capazes de antecipar a rejeição do enxerto e/ou a

recaída da doença. Determina-se que a rejeição do enxerto ocorre quando menos de 5% das células T têm o padrão do doador (BARON & SANDMAIER, 2006; HASSAN *et al*, 2010).

Diversas técnicas têm sido utilizadas para avaliar o grau de quimerismo pós-transplante. A análise citogenética tem sido amplamente utilizada para demonstrar o grau de quimerismo após o transplante (SPARKES, 1981; VRAZAS *et al*, 1995; CHESON *et al*, 2000; BADER *et al*, 2005; CHESON *et al*, 2006). Os cromossomos sexuais (X e Y) e as análises do cariótipo são utilizadas na avaliação do transplante de medula óssea (SPARKES, 1981; SIMÕES, 2000). Porém, a sensibilidade da citogenética clássica depende da quantidade e qualidade do material disponível. Pelo menos 30 metáfases devem ser analisadas para detectar 10% de quimerismo com um grau de confiança de 95% (MCCANN & LAWLER, 1993; HASSAN *et al*, 2010).

A partir dos anos 80, testes mais sensíveis e específicos foram disponibilizados entre eles o polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição (RFLP) (KNOWLTON *et al*, 1986; YAM *et al*, 1987; BRUNET *et al*, 1989; CASARINO *et al*, 1992; KRÖGER *et al*, 2010), a reação em cadeia da polimerase (PCR), a hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) (PETZ *et al*, 1987; KOGLER *et al*, 1995; SEONG *et al*, 2000; THIELE *et al*, 2003a, 2003b; BIELORAI *et al*, 2004; KRÖGER *et al*, 2010) e a citometria de fluxo (principalmente para detecção de doença residual mínima) (WELLS *et al*, 2003; AANEI *et al*, 2016; BENTO *et al*, 2017).

Considerando-se o potencial curativo do TCTH e que, apesar dos riscos associados, ele pode promover uma melhora na sobrevida global quando comparado a outras terapias, o momento certo de indicação para os pacientes com SMD ainda é tema de discussão (CUTLER *et al*, 2004; ALESSANDRINO *et al*, 2013; DE WITTE *et al*, 2017).

O TCTH alogênico pode ser considerado em pacientes selecionados com SMD de menor risco (IPSS int-1, IPSS-R intermediário) com citopenias graves (GREENBERG *et al*, 2017). Porém, um “atraso” no transplante em paciente de baixo risco está associado à melhor expectativa de vida possível, enquanto que resultados conflitantes são relatados para pacientes com risco int-1 (IPSS). Uma sobrevida superior foi observada quando o TCTH foi adiado em pacientes com IPSS int-1 (CUTLER *et al*, 2004; DE WITTE *et al*, 2017) enquanto outro estudo (ALESSANDRINO *et al*, 2013) mostrou melhor sobrevivência em pacientes com risco intermediário 1 quando o TCTH foi realizado no diagnóstico (DE WITTE *et al*, 2017). Em pacientes com doença de baixo risco, o TCTH pode ser melhor realizado quando a progressão ocorre ao risco intermediário 1 (por IPSS) (ALESSANDRINO *et al*, 2013; CUTLER, 2014; DE WITTE *et al*, 2017). Pacientes classificados como IPSS int-2 e aqueles de alto risco com idade \leq 60 anos tiveram a

expectativa de vida mais longa se transplantados (de irmãos idênticos ao HLA) logo após o diagnóstico (GREENBERG *et al*, 2017).

Com relação aos pacientes pediátricos, não há controvérsias sobre a indicação do TCTH alogênico para aqueles classificados como AREB/AREB-t (YUSUF *et al*, 2004; HAMERSCHLAK *et al*, 2012). O TCTH alogênico está indicado para todos os pacientes pediátricos que apresentem monossomia do cromossomo 7, resultando em sobrevida livre de eventos de 69% em dois anos (TROBAUGH-LOTRARIO *et al*, 2005; HAMERSCHLAK *et al*, 2012). A presença de alterações envolvendo o cromossomo 7, em conjunto com alterações estruturais (cariótipo complexo), implica em pior prognóstico e esses pacientes devem ser submetidos ao TCTH alogênico em fases precoces da doença (HAMERSCHLAK *et al*, 2012).

O primeiro relato do uso do TMO para SMD primária foi publicado em 1984. Desde então, estudos foram realizados mostrando principalmente a sobrevida pós-TCTH alogênico e as taxas de recidiva da doença (NEVILL *et al*, 2008; STORB, 2009; TOBIASSON *et al*, 2010; ARMAND *et al*, 2010; CHAMPLIN *et al*, 2011). A SMD é considerada a terceira maior indicação para o TCTH alogênico (CIBMTR, 2009; CUTLER, 2014). No entanto, poucos estudos foram realizados em crianças com SMD primária, devido a raridade desta neoplasia (STRAHM *et al*, 2011). Uma revisão da literatura mostrou que não existem estudos no Brasil relatando a evolução dos pacientes com SMD primária pós-TCTH alogênico e suas características citogenéticas.

Vários estudos têm demonstrado que a citogenética é um importante fator prognóstico para os pacientes com SMD primária. Entretanto, uma revisão da literatura mostra que existem poucos estudos focando o impacto prognóstico das alterações cromossômicas em pacientes adultos com SMD primária tratados com o TCTH alogênico. Quando se trata dos pacientes pediátricos, uma revisão da literatura mostra, até o momento, que apenas 4 estudos foram realizados por: Muñoz e colaboradores, em um estudo que reuniu 9 centros médicos na Espanha, em 2009; Andolina e colaboradores, no Children's Memorial Hospital (Chicago, IL), em 2011; Smith e colaboradores, na Universidade de Minnesota (Minneapolis, MN), em 2013; e Basquiera e colaboradores, em um estudo que reuniu 6 centros médicos na Argentina, em 2015. Porém, nenhum desses estudos teve como foco as alterações cromossômicas e abordaram, principalmente, os aspectos clínicos desse grupo de pacientes pediátricos. Dado ao crescente número de opções terapêuticas e ao profundo conhecimento da heterogeneidade da SMD primária, determinar as indicações para o TCTH alogênico permanece uma tarefa difícil, principalmente para os pacientes pediátricos no estágio inicial da doença. Portanto, é necessário um maior número de estudos voltados para

a interpretação do valor prognóstico das alterações cromossômicas, em especial do grupo de risco intermediário e o valor prognóstico das alterações cromossômicas raras.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo principal deste estudo foi analisar o padrão cromossômico através da citogenética convencional e molecular (FISH) em pacientes pediátricos com SMD tratados com TCTH alogênico, no sentido de verificarmos a frequência de cariótipos anormais, as principais alterações cromossômicas e o papel da citogenética na indicação e na recidiva da doença.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar análise citogenética de pacientes pediátricos com SMD no pré e pós-TCTH através de um estudo retrospectivo e prospectivo (de 1991 a 2017);
- Aplicar, no diagnóstico e no acompanhamento pós-TCTH, as técnicas de bandeamento GTG (citogenética clássica) e de hibridização *in situ* por fluorescência - FISH (citogenética molecular), essa última, preferencialmente, nos casos sem mitose, ou para confirmar/descartar alguma suspeita de alteração vista pelo bandeamento, utilizando as sondas para alterações nos cromossomos: 5, 7, 8, 11, 17;
- Analisar o papel das escalas prognósticas IPSS e IPSS-R, em relação à citogenética, nos pacientes pediátricos com SMD tratados com o TCTH alogênico;
- Analisar os principais fatores associados com a recidiva da doença pós-TCTH alogênico;
- Correlacionar os seguintes fatores prognósticos: porcentagem de blastos na medula óssea, estágio da doença, citopenias, cariótipo e DECH em relação à mortalidade dos pacientes pediátricos com SMD tratados com o TCTH alogênico.

3 METODOLOGIA

3.1 Pacientes

Foi realizado um estudo retrospectivo e prospectivo, compreendendo o período de 1991 a 2017, em 46 pacientes pediátricos com SMD primária tratados com o transplante de células-tronco hematopoéticas alogênico. Todos os pacientes incluídos no estudo foram provenientes do Centro de Transplante de Medula Óssea (CEMO) do Instituto Nacional de Câncer (INCA).

Foram incluídos nesse estudo pacientes pediátricos com até 18 anos de idade com diagnóstico de SMD primária realizado através da análise morfológica (mielograma e biópsia de medula óssea), imunofenotipagem e citogenética. Foram excluídos os pacientes com idade maior que 18 anos e diagnóstico de SMD secundária (a doenças genéticas, como por exemplo, anemia de Fanconi; à quimioterapia e radioterapia).

A idade média dos pacientes ao diagnóstico foi de 10 anos, variando de 1 a 18 anos. Dos 46 pacientes, 30 (65%) eram do sexo masculino e 16 (35%) do sexo feminino. Os estudos hematológicos e clínicos foram realizados pela equipe médica do CEMO. Foi utilizada a classificação da SMD primária pediátrica segundo Hasle e colaboradores (2003), de maneira que os pacientes foram distribuídos da seguinte forma: 29/46 (63%) pacientes apresentaram CR, 11/46 (24%) foram classificados como AREB e 6/46 (13%), como AREB-t.

Dos 46 pacientes com SMD primária tratados com o TCTH alogênico, 34 (74%) apresentaram doador aparentado e 12 (26%), doador não aparentado. Como fonte de células-tronco hematopoéticas utilizou-se: medula óssea em 38 (83%) pacientes; sangue periférico em 1 (2%) paciente; e sangue de cordão umbilical em 7 (15%) pacientes.

Em relação ao regime de condicionamento pré-TCTH alogênico, o principal regime utilizado foi bussulfan (Bu) + ciclofosfamida (Cy), 28/46 (61%) pacientes o receberam; 18/46 (39%) receberam outras formas de condicionamento.

Foi considerada “pega” do enxerto se a contagem absoluta de neutrófilos estivesse acima de 500/ μ l por dois dias seguidos. Os pacientes que não apresentam essa contagem em 2 dias e aqueles que tiveram uma “pega” inicial, mas posteriormente mostraram queda da contagem de neutrófilos para menos de 500/ μ l, foram considerados como tendo falha na “pega” do enxerto.

Na Tabela 3.1 estão descritas as características clínicas dos pacientes e do procedimento do TCTH alogênico. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Nacional de Câncer (nº 62/10) e todos os procedimentos realizados

seguiram as normas de bioética segundo as resoluções 196/96 e 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (Anexo 1).

Tabela 3.1: Características clínicas dos pacientes pediátricos com SMD e do TCTH alogênico

Características dos pacientes e do TCTH alogênico	Total de pacientes
<i>Idade ao diagnóstico (média/ variação)</i>	10 anos (1-18 anos)
<i>Sexo (frequência)</i>	
Masculino	30 (65%)
Feminino	16 (35%)
<i>Subgrupos de SMD Pediátrica</i>	
CR	29 (63%)
AREB	11 (24%)
AREB-t	6 (13%)
<i>Tipo de doador (frequência)</i>	
Aparentado	34 (74%)
Não aparentado	12 (26%)
<i>Fonte de células-tronco (frequência)</i>	
Sangue periférico	1 (2%)
Medula óssea	38 (83%)
Sangue de cordão umbilical	7 (15%)
<i>Regime de condicionamento (frequência)</i>	
Bu + Cy	28 (61%)
Outros	18 (39%)
<i>Profilaxia contra DECH (frequência)</i>	
CSA/CSP + MTX	37 (80%)
Outros	9 (20%)

CR: citopenia refratária; **AREB:** anemia refratária com excesso de blastos; **AREB-t:** anemia refratária com excesso de blastos em transformação; **Bu:** bussulfan; **Cy:** ciclofosfamida; **DECH:** doença do enxerto contra o hospedeiro; **CSA/CSP:** ciclosporina; **MTX:** metotrexato.

3.2 Análise Citogenética

A análise citogenética, através da citogenética clássica (por bandeamento GTG) e citogenética molecular (por hibridização “in situ” por fluorescência [FISH]) foi realizada no período pré-TCTH alogênico para a caracterização o padrão cromossômico das células de

medula óssea dos pacientes. No pós-transplante, a análise citogenética foi utilizada para o monitoramento do procedimento, de forma a avaliar o grau de quimerismo.

Foi realizada a análise cromossômica no acompanhamento pós-transplante aproximadamente 21 dias após o procedimento, sendo repetida a análise a cada 30 dias até chegar ao dia 120. Após esse período, a análise cromossômica foi realizada a cada 3 meses até completar 1 ano. Em seguida, foi feita anualmente, até completar 5 anos. Depois desse período, a análise citogenética ficou a critério do corpo clínico. As alterações cromossômicas detectadas no pré-transplante foram utilizadas como marcadores citogenéticos no acompanhamento pós-TCTH; nos casos em que os pacientes apresentavam cariótipos normais, utilizamos os cromossomos sexuais como marcador quando paciente e doador apresentavam sexos diferentes. As análises de todos os casos foram feitas em amostras de medula óssea.

3.2.1 Citogenética Clássica

3.2.1.1 Cultura de Células de Medula Óssea

Para a cultura de células de medula óssea, foi utilizada a técnica de Testa e colaboradores (1985) com algumas modificações. Inicialmente, as células de medula óssea foram lavadas com meio de cultura RPMI 1640 (SIGMA). Em seguida, foi feita uma diluição de 1:20 das células em líquido de Thomas (1mL de ácido acético glacial, uma gota de violeta genciana, 100mL de água destilada) para contagem da celularidade em câmara de Neubauer, utilizando o microscópio ótico Olympus (contraste de fase). De acordo com a celularidade encontrada nas amostras de medula óssea, foram incubadas de 5×10^6 a 10×10^6 células/ml em 80% de meio de cultura RPMI 1640 (SIGMA) e 20% de soro fetal bovino (GIBCO), a 37°C, em uma atmosfera de 5% de CO₂, por 24 horas. Duas horas antes do término da cultura, foi adicionado 0,05 µg/ml de colchicina e a cultura foi incubada novamente, nas mesmas condições, pelo período de uma hora.

3.2.1.2 Término das Culturas e Preparação das Lâminas

Nessa etapa, foi utilizado o método de Hungerford (1965) com modificações. Ao final da incubação, o material foi centrifugado a 1500 rpm (Sorvall T 16R, Thermo Scientific, USA) por 6 minutos. O sobrenadante foi desprezado e foi realizado o choque hipotônico (solução KCl 0,075 M). Após 15 minutos de incubação a 37°C, o material foi centrifugado a 1500 rpm (Sorvall T 16R, Thermo Scientific, USA) por 6 minutos com posterior fixação do

material em Solução Carnoy 3:1 (metanol: ácido acético). Após um período de 20 minutos à temperatura ambiente, o material foi centrifugado a 1500 rpm (Sorvall T 16R, Thermo Scientific, USA) por 6 minutos com posterior descarte do sobrenadante. O procedimento foi repetido mais 2 vezes e, após a última fixação, o precipitado foi ressuspenso em fixador, cujo volume variou em função da quantidade de material obtida. As lâminas foram preparadas pingando-se algumas gotas da suspensão celular em uma lâmina limpa; após isso, ocorreu a fixação do material na lâmina através do calor da chama do bico de Bunsen. A lâmina teste (a primeira lâmina obtida), foi corada com corante Giemsa 2% em tampão fosfato (0,102 M NaH_2PO_4 ; 0,098 M Na_2HPO_4 , pH 6.8) com posterior observação em microscópio ótico para a verificação do índice mitótico e da qualidade das metáfases. As demais lâminas foram envelhecidas à temperatura ambiente por um período que variou de um dia a uma semana, para o bandeamento GTG.

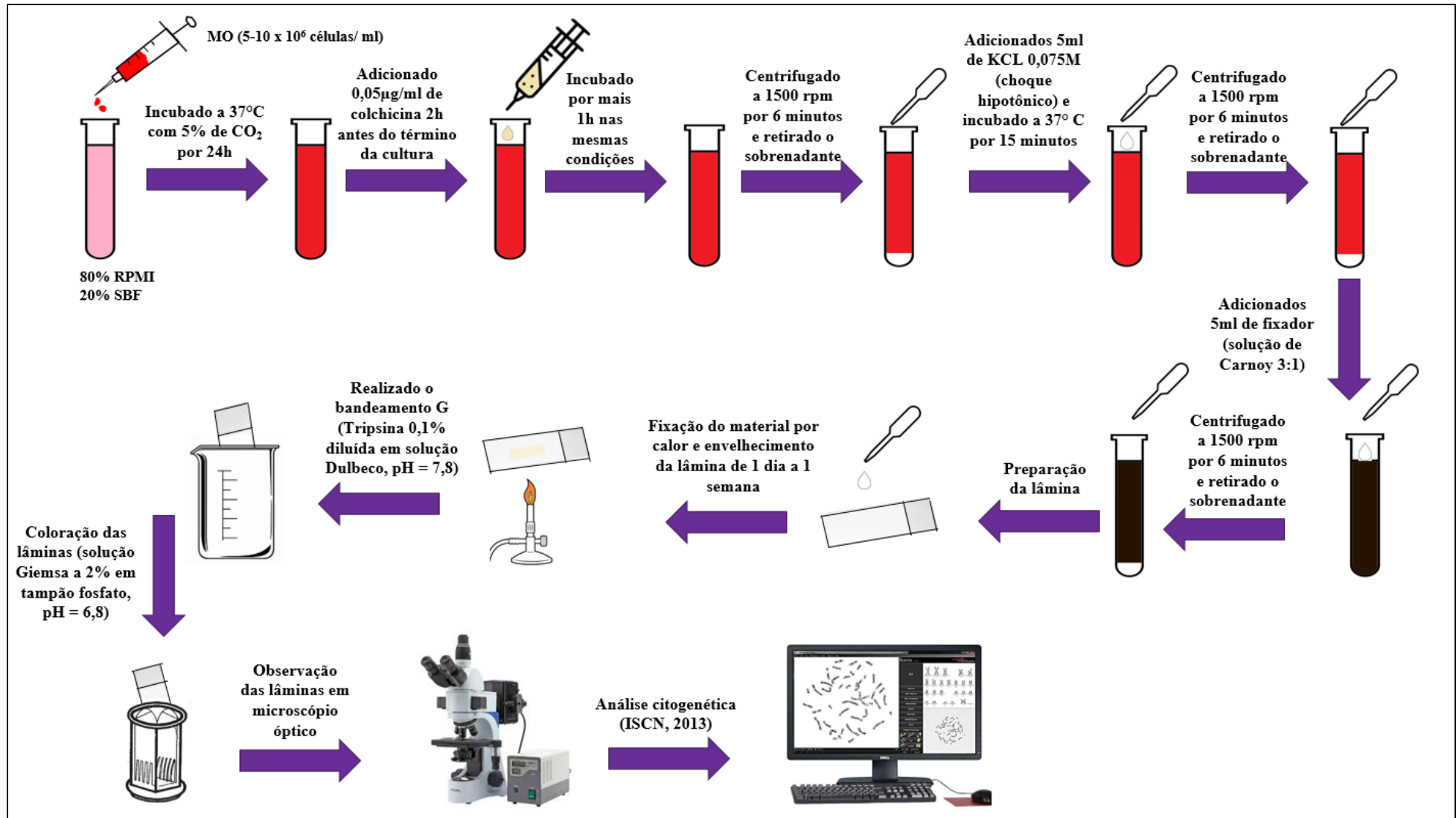
3.2.1.3 Bandeamento GTG

Para obtenção do padrão de bandas cromossômicas, foi utilizada a técnica de Seabright (1971). As lâminas previamente fixadas foram colocadas em um preparado de tripsina 0,1% diluída em solução Dulbeco (0,137 M NaCl ; 0,0027 M KCl ; 0,0015 M KH_2PO_4 ; 0,011 M NaH_2PO_4 ; pH 7.8), em tempos que variavam em função da qualidade do material fixado. Em seguida, as lâminas foram lavadas em soro fisiológico (NaCl 9%) e as mesmas foram coradas em uma solução de Giemsa (Merck) a 2% em tampão fosfato por 15 minutos.

3.2.1.4 Análise Cromossômica

A identificação e classificação dos cromossomos foi feita de acordo com o Sistema Internacional de Nomenclatura de Citogenética Humana de 2013 (SHAFFER *et al.*, 2013). A análise citogenética foi feita em microscópio ótico. Um caso foi considerado anormal quando pelo menos três células apresentaram a mesma alteração cromossômica, seja estrutural ou numérica. Foi utilizado um mínimo de 20 metáfases por paciente. As imagens dos cariótipos anormais foram adquiridas pelo sistema de cariotipagem Ikaros -MetaSystems (Zeiss, Alemanha). A Figura 3.1 mostra a metodologia de citogenética clássica pela técnica de bandeamento GTG.

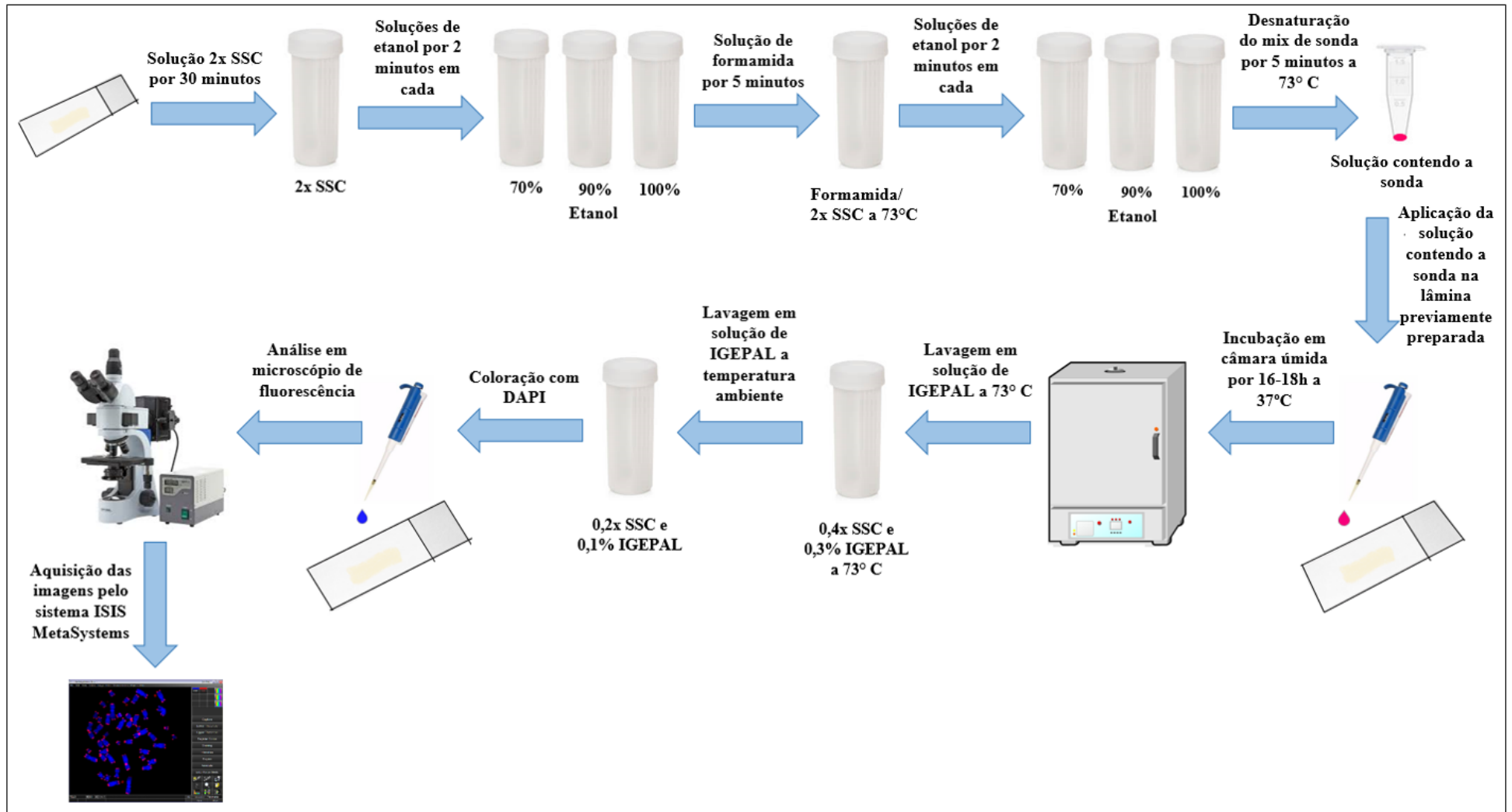
Figura 3.1: Metodologia da análise cromossômica de células de medula óssea através da citogenética clássica por bandeamento GTG.



3.2.2 Citogenética Molecular - Análise por Hibridização “in situ” por Fluorescência (FISH)

Para a técnica de hibridização “in situ” por fluorescência, foi usado o material da preparação da citogenética clássica (metáfases e núcleos interfásicos em fixador). Foram utilizadas sondas da Vysis, Abbott Laboratories, USA, para investigação: da deleção na região q31 do braço longo do cromossomo 5 (LSI EGR1 Spectrum Orange/LSI D5S23, D5S71 Spectrum Green); de alterações envolvendo o cromossomo 7 (LSI D7S486 “Spectrum Orange”/CEP 7 “Spectrum Green”), da trissomia do cromossomo 8 (LSI MYC SpectrumOrange Probe), deleção do gene *MLL*, atualmente denominado *KMT2A*, localizado na região q23 do cromossomo 11 (LSI MLL “dual color break apart rearrangement probe”) e da deleção do gene *TP53*, localizado na região p13 do cromossomo 17 (LSI p53, “spectrum orange”). Foram utilizadas de 2 a 3 gotas da preparação da citogenética clássica para preparação da lâmina para a análise através do FISH. As lâminas foram preparadas e envelhecidas durante 24 horas. Após esse período, as lâminas foram colocadas em uma solução 2x SSC (obtida da diluição da solução 20x SSC: 3,0 M de NaCl e 0,3 M de Citrato de Sódio, pH 7,0), em temperatura ambiente, por 30 minutos. Em seguida, as lâminas foram colocadas em soluções de etanol 70%, 90% e 100%, também à temperatura ambiente, por 2 minutos cada etapa. Em seguida, o material foi colocado em uma solução de 70% formamida/2x SSC, a 73°C por 5 minutos. Na sequência, as lâminas foram colocadas em novas soluções de etanol 70%, 90% e 100%, à temperatura ambiente, por 2 minutos cada etapa. Após esse procedimento, foi aplicada uma solução contendo a sonda em um volume final de 10µL (sendo 2 µL de água MiliQ, 7 µL de tampão e 1 µL de sonda), previamente desnaturada por 5 minutos a uma temperatura de 73°C, em uma área de 25 mm x 25 mm sobre a qual foi colocada uma lamínula de vidro. As lâminas foram seladas com cola de isopor e incubadas de 16 a 18 horas em câmara úmida a 37°C. Após o período de hibridização, as lâminas foram colocadas em uma solução de 0,4x SSC e 0,3% IGEPAL (SIGMA) a 73°C durante 1 minuto e, em seguida, em uma solução 0,2x SSC e 0,1% IGEPAL (SIGMA) pelo mesmo período. Foi adicionado sobre a lâmina um volume de 10 µL de DAPI/Antiphade para corar os cromossomos e núcleos interfásicos; a área foi coberta com uma lamínula de vidro e selada com esmalte incolor. A análise foi realizada em microscópio de fluorescência (OLYMPUS BX51) com filtros apropriados e as imagens, adquiridas pelo sistema de captura ISIS MetaSystems (ZEISS). A Figura 3.2 mostra a metodologia de citogenética molecular, a técnica de hibridização “in situ” por fluorescência (FISH).

FIGURA 3.2: Metodologia da citogenética molecular, técnica de hibridização “in situ” por fluorescência (FISH)



3.3 Análise Estatística

Foram analisados os seguintes fatores prognósticos: idade, sexo, porcentagem de blastos, estágio da doença, citopenias, cariótipo, DECH e recidiva da doença em relação à mortalidade em pacientes pediátricos tratados com TCTH alogênico utilizando o teste de qui-quadrado. Consideramos estatisticamente significativo $p < 0,05$.

3.4 Fluxograma dos Métodos utilizados para a pesquisa “Estudo do Impacto Prognóstico do Padrão Cromossômico em Pacientes Pediátricos com Síndrome Mielodisplásica tratados com Transplante de Células Tronco Hematopoéticas Alogênico”.

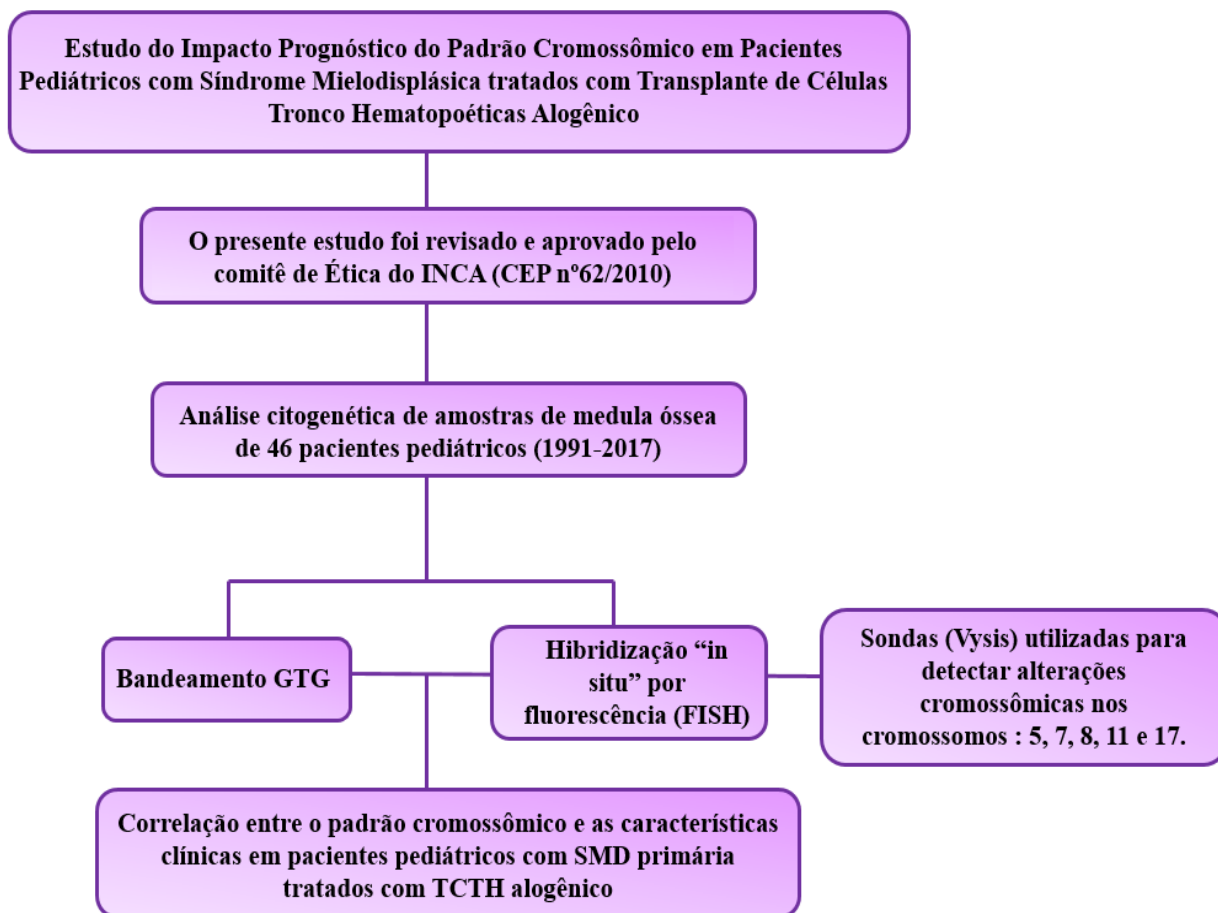


Figura 3.3: Fluxograma do estudo.

4- RESULTADOS

4.1 Análise do Padrão Cromossômico em Pacientes Pediátricos com SMD Primária pré-TCTH alogênico

Neste estudo, foi realizada a análise citogenética em 46 pacientes pediátricos com SMD primária pré-TCTH alogênico. Do total de pacientes analisados, cariótipos anormais foram observados em 33/46 (72%) (Figura 4.1). A análise citogenética e clínica dos 46 pacientes pediátricos com SMD pré-TCTH alogênico pode ser observada no Anexo 2.

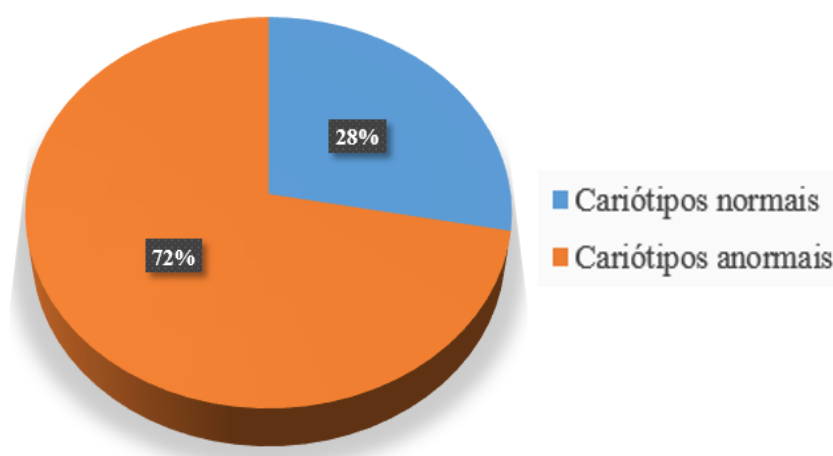


Figura 4.1: Frequência de cariótipos anormais versus cariótipos normais em pacientes pediátricos com SMD primária pré-TCTH alogênico.

A frequência de cariótipos anormais nos diferentes subtipos da SMD (CR, AREB e AREB-t) foi calculada considerando o total de casos por subtipo. Dos 29 pacientes classificados com CR (estágio inicial da doença), 18 (62%) apresentaram cariótipo anormal. Entre os pacientes classificados nos subtipos mais avançados, foram observados cariótipos anormais em 9/11 (82%) dos pacientes com AREB e em 6/6 (100%) dos pacientes com AREB-t (Tabela 4.1).

Tabela 4.1: Distribuição da frequência de cariótipos anormais por subtipo da SMD primária pediátrica

Subtipos	Total de pacientes	Nº de pacientes com cariótipo anormal (%)
CR	29	18 (62%)
AREB	11	9 (82%)
AREB-t	6	6 (100%)
Total	46	33 (72%)

CR: citopenia refratária; **AREB:** anemia refratária com excesso de blastos; **AREB-t:** anemia refratária com excesso de blastos em transformação.

4.2 Frequência das Alterações Cromossômicas em Pacientes Pediátricos com SMD Primária pré-TCTH alogênico

As alterações cromossômicas observadas nos pacientes que apresentaram cariótipo anormal foram: inv(3q) [1/33 (3%)], del(5q) [1/33 (3%)], del(6q) [1/33 (3%)], del(7q), -7 isolada e associada a +20 [5/33 (15,15%)], +8 [1/33 (3%)], alterações envolvendo o cromossomo 9 [del(9p) e i(9q)] [3/33 (9,1%)], del(11q) [5/33 (15,15%)], del(12p) [2/33 (6,1%)], del(17p) [4/33 (12,1%)], +mar [2/33 (6,1%)], quebras cromatídicas [2/33 (6,1%)], alteração biclonal [3/33 (9,1%)], e cariótipo complexo [3/33 (9,1%)] (Figura 4.2). As alterações cromossômicas mais frequentes foram: aquelas envolvendo o cromossomo 7 [del(7q)/ -7/-7, +20], a del(11q) e a del(17p). Podemos observar os cariótipos com as principais alterações cromossômicas encontradas nesse estudo nas figuras 4.3, 4.4 e 4.5.

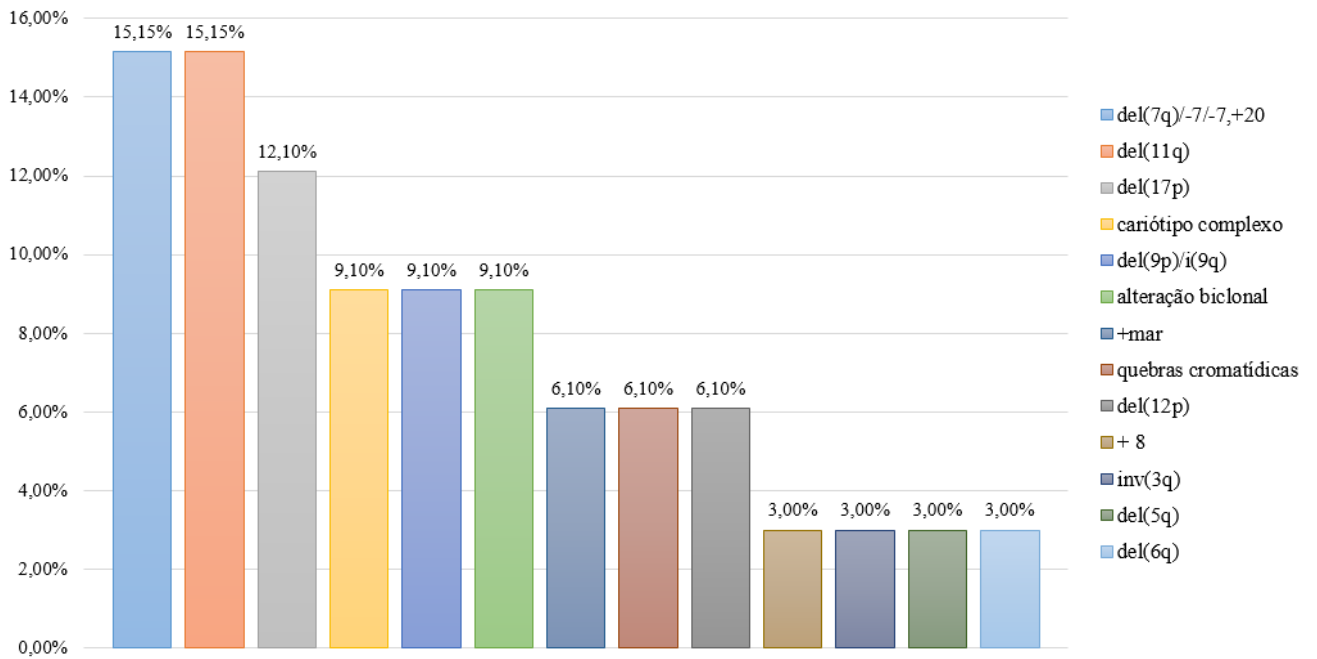


Figura 4.2: Frequência das alterações cromossômicas em pacientes pediátricos com SMD primária pré-TCTH alogênico.

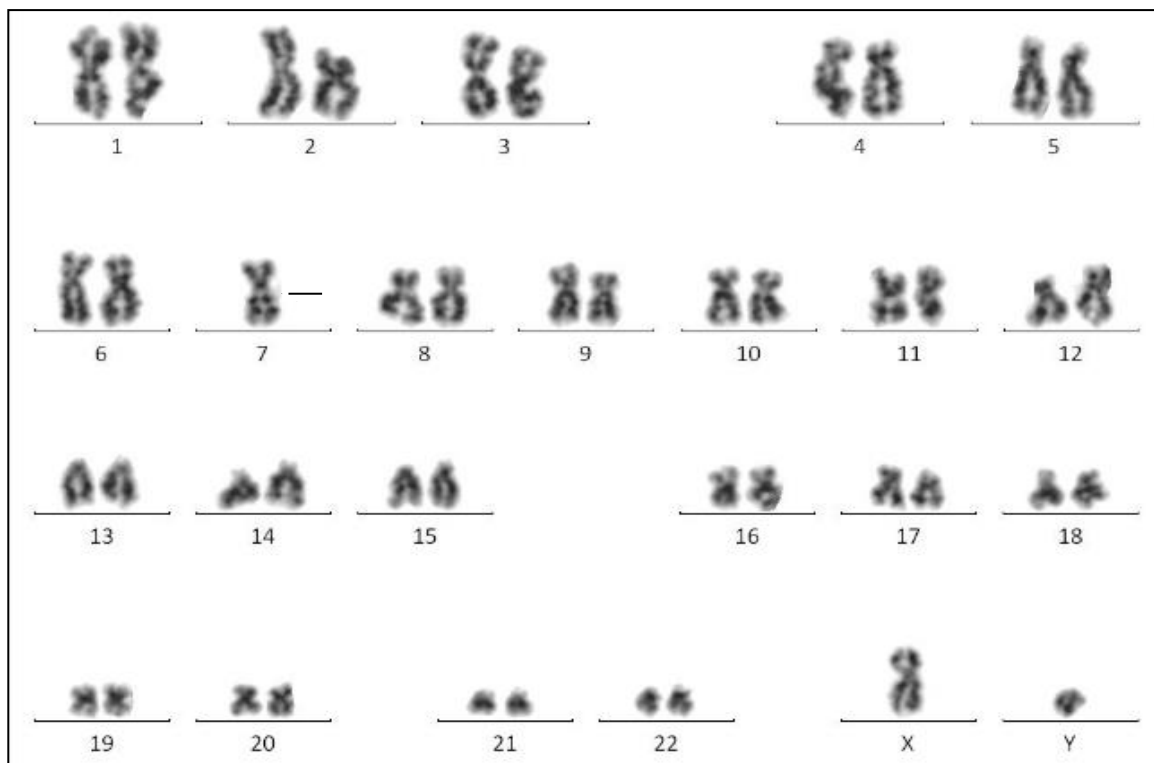


Figura 4.3: Cariótipo: 45,XY,-7; análise por bandejamento GTG.

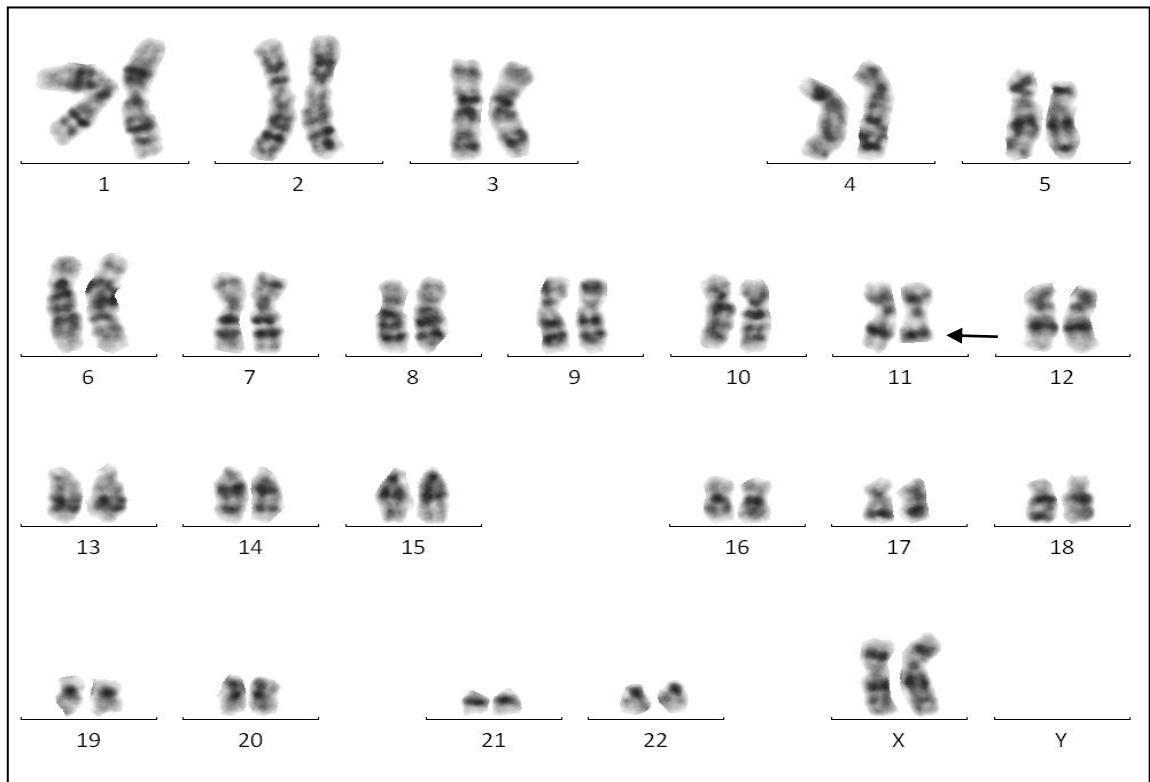


Figura 4.4: Cariótipo: 46,XX,del(11)(q23); análise por bandeamento GTG.

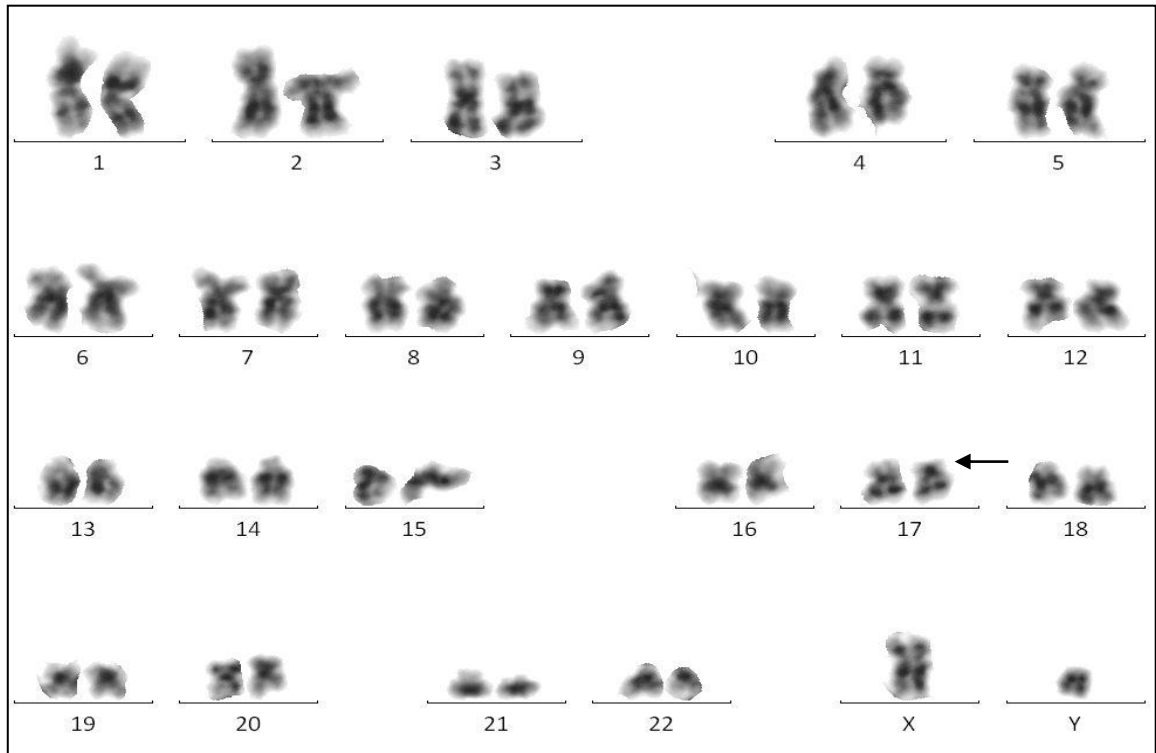


Figura 4.5: Cariótipo: 46,XY,del(17)(p12); análise por bandeamento GTG.

A metodologia de FISH foi utilizada pré-TCTH alogênico para confirmação da presença da deleção do braço longo do cromossomo 11 na região q23, da deleção do braço curto do cromossomo 17, da deleção do braço longo do cromossomo 7 na região q22, e para auxiliar na caracterização do ponto de quebra da del(5q).

A análise por FISH detectou a ausência dos alelos dos genes *MLL* (utilizando a sonda LSI *MLL* “dual color break apart rearrangement probe”) (Figura 4.6) e *TP53* (utilizando a sonda LSI p53, “spectrum orange”) (Figura 4.7). Todos os pacientes foram previamente identificados pelo bandeamento GTG, confirmando a del(11)(q23) e a del(17)(p12). A deleção do braço longo do cromossomo 7 na região q22 foi confirmada utilizando-se a sonda LSI D7S486 “spectrum orange”/CEP 7 “spectrum green”. Esse resultado pode ser visto na Figura 4.8.

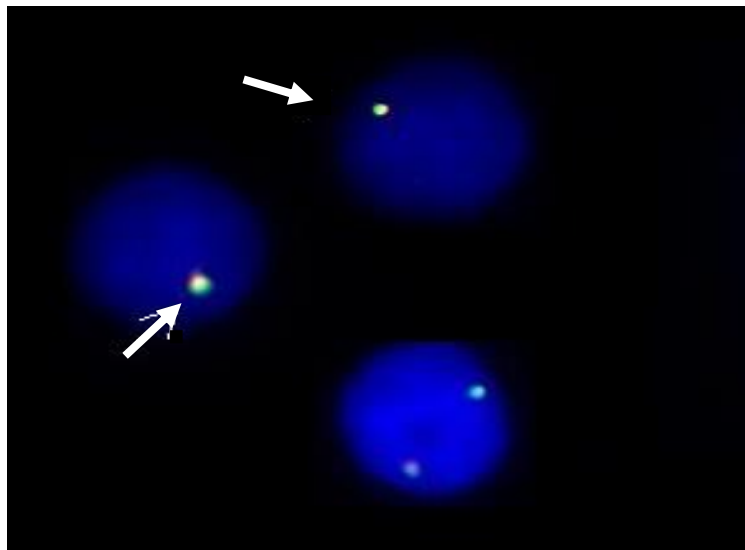


Figura 4.6: Análise pela técnica de FISH usando a sonda LSI *MLL* “dual color break apart rearrangement probe” em núcleos interfásicos. Na imagem pode ser observado um núcleo interfásico normal, com dois sinais do gene *MLL*. As setas mostram a perda de um dos alelos do gene *MLL* nos dois núcleos interfásicos na parte superior da imagem.

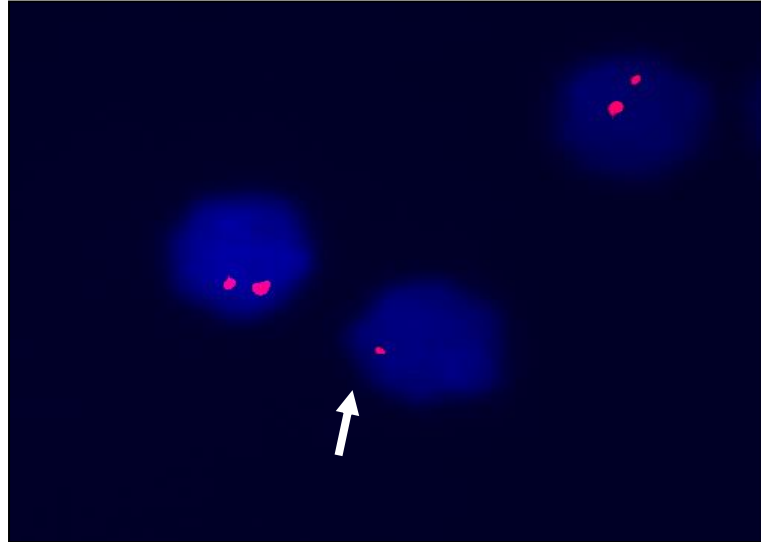


Figura 4.7: Análise pela técnica de FISH usando a sonda LSI p53, “spectrum orange”. Na imagem podem ser observados dois núcleos interfásicos, apresentando dois sinais vermelhos. A seta indica um núcleo interfásico onde há a deleção de um dos alelos do gene *TP53*.

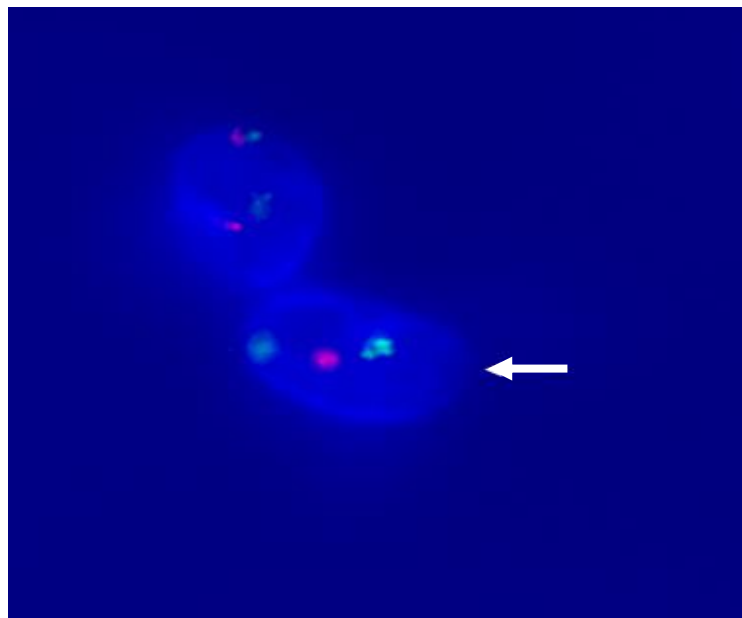


Figura 4.8: Análise pela técnica de FISH usando a sonda LSI D7S486 “spectrum orange” SO/CEP 7 “spectrum green” SG. A cor verde marca o centrômero e cor vermelha, a região q31.1-31.3. Na imagem podem ser observados dois núcleos interfásicos; o núcleo superior apresenta quatro sinais, indicando a presença dos dois alelos do cromossomo. O núcleo na parte inferior apresenta apenas três sinais, evidenciando a deleção do braço longo de um dos alelos (seta).

Devido à raridade da del(5q) na SMD pediátrica, um caso encontrado no estudo chamou a atenção. Essa paciente foi analisada pela técnica de FISH com a utilização da

sonda LSI *CSF1R* SO/LSID5S23:D5S721 SG – Vysis, USA para detecção da deleção do gene *c-fms* localizado na região q33 do cromossomo 5, com resultado positivo para a perda dessa região cromossômica (Figura 4.8). A paciente, inicialmente, desenvolveu tumor de ovário, tratado com ressecção cirúrgica. Cinco anos após esse procedimento, foi evidenciado um quadro de pancitopenia. A análise da biópsia de medula óssea e do mielograma indicaram a presença de SMD hipocelular. A análise citogenética realizada pela técnica de bandeamento GTG mostrou a presença da del(5q), posteriormente confirmada pela técnica de FISH, na qual foram utilizadas células tanto da medula óssea como da biópsia do tumor de ovário. Os resultados mostraram que a del(5q) estava presente apenas nas células da medula, sendo a doença considerada uma nova neoplasia não relacionada ao tumor primário.

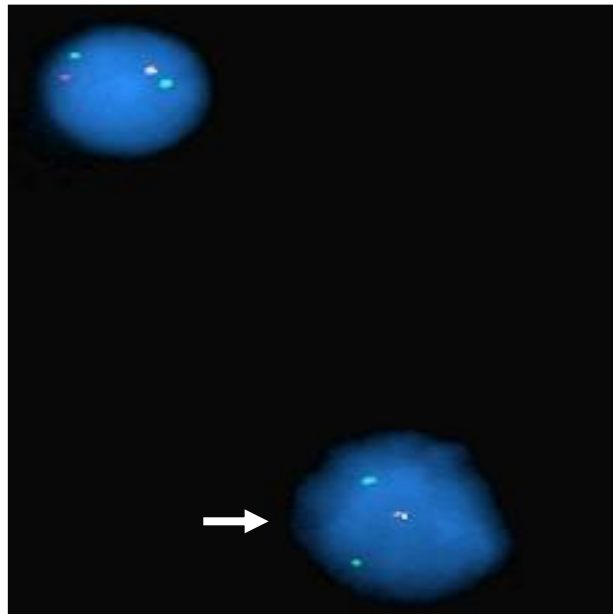


Figura 4.9: Análise por FISH utilizando a sonda de dupla marcação do cromossomo 5. O segmento da sonda de cor verde (SG) marca o braço curto do cromossomo 5 e o de cor vermelha (SO), a região 5q33-q34. Na imagem, pode-se observar dois núcleos interfásicos. O núcleo na parte superior apresenta dois sinais verdes e dois vermelhos, indicando a presença dos dois alelos do cromossomo 5. O núcleo na parte inferior da imagem apresenta apenas três sinais, confirmando a perda da região q33-q34 (seta).

4.3 Distribuição da Frequência do Padrão Cromossômico em Estágio Inicial (CR) e Avançados (AREB/AREB-t) em Pacientes Pediátricos com SMD Primária pré-TCTH alogênico

Na tabela 4.2 observamos a análise da distribuição do padrão cromossômico no estágio inicial e nos estágios avançados da SMD. Analisando a distribuição do padrão cromossômico da SMD primária pediátrica segundo sua classificação, foi verificado que não existe um padrão cariotípico específico por subtipo. Na CR foi observada a presença de cariótipos normais, del(5q), del(6q), -7, del(9p), i(9q), del(11)(q23), quebras cromatídicas, del(12p), del(17p), +mar e cariótipo complexo. Nesse estágio, o padrão cromossômico mais frequente foi o cariótipo normal e a principal alteração citogenética foi a del(17p). Na AREB foi observada a presença de cariótipos normais, inv(3q), del(7q), i(9q), del(11)(q23), +mar e cariótipo complexo. A alteração citogenética mais frequente foi a del(11)(q23). Na AREB-t, o estágio mais avançado da doença, foram observados apenas cariótipos anormais com +8, add(7p), -7, del(11)(q23) e cariótipo complexo. A alteração cromossômica mais frequente foi a -7. Na Figura 4.10 podemos observar a distribuição do padrão cromossômico por subtipo da SMD primária pediátrica.

Tabela 4.2: Distribuição da frequência do padrão cromossômico por subtipo em SMD primária pediátrica

Subtipo	Cariótipo	Total de pacientes (%)
CR (29 pacientes)	cariótipo normal	11 (37,9%)
	del(5q)	1 (3,45%)
	del(6q)	1 (3,45%)
	del(7q)/-7	1 (3,45%)
	-7,+20	1 (3,45%)
	i(9q)	1 (3,45%)
	del(9p)	1 (3,45%)
	del(11q)	1 (3,45%)
	del(12p)	2 (6,9%)
	del(17p)	4 (13,8%)
	del(17p)/del(11q)*	1 (3,45%)
	quebras cromatídicas	2 (6,9%)
	+mar	1(3,45%)
	cariótipo complexo	1(3,45%)
AREB (11 pacientes)	cariótipo normal	2 (18,2%)
	inv(3q)	1 (9,1%)
	del(7q)	1 (9,1%)
	i(9q)	1 (9,1%)
	del(11)(q23)	3 (27,3%)
	+21/+mar*	1 (9,1%)
	+mar	1 (9,1%)
	cariótipo complexo	1(9,1%)
AREB-t (6 pacientes)	-7	2 (33,3%)
	+8	1 (16,7%)
	+X,+8/add(7)(p22)*	1 (16,7%)
	del(11)(q23)	1 (16,7%)
	cariótipo complexo	1 (16,7%)

*alteração cromossômica biclonal.

Analisando o padrão cromossômico dos pacientes com SMD, verifica-se que as alterações citogenéticas mais frequentes envolvem perdas cromossômicas parciais (as deleções) ou totais (as monossomias), bem como o ganho de cromossomos extras (as trissomias). Isso difere do que é encontrado nas leucemias agudas, onde as alterações citogenéticas mais observadas são as translocações cromossômicas. A Figura 4.10 mostra o padrão cromossômico por subtipo da SMD pediátrica primária.

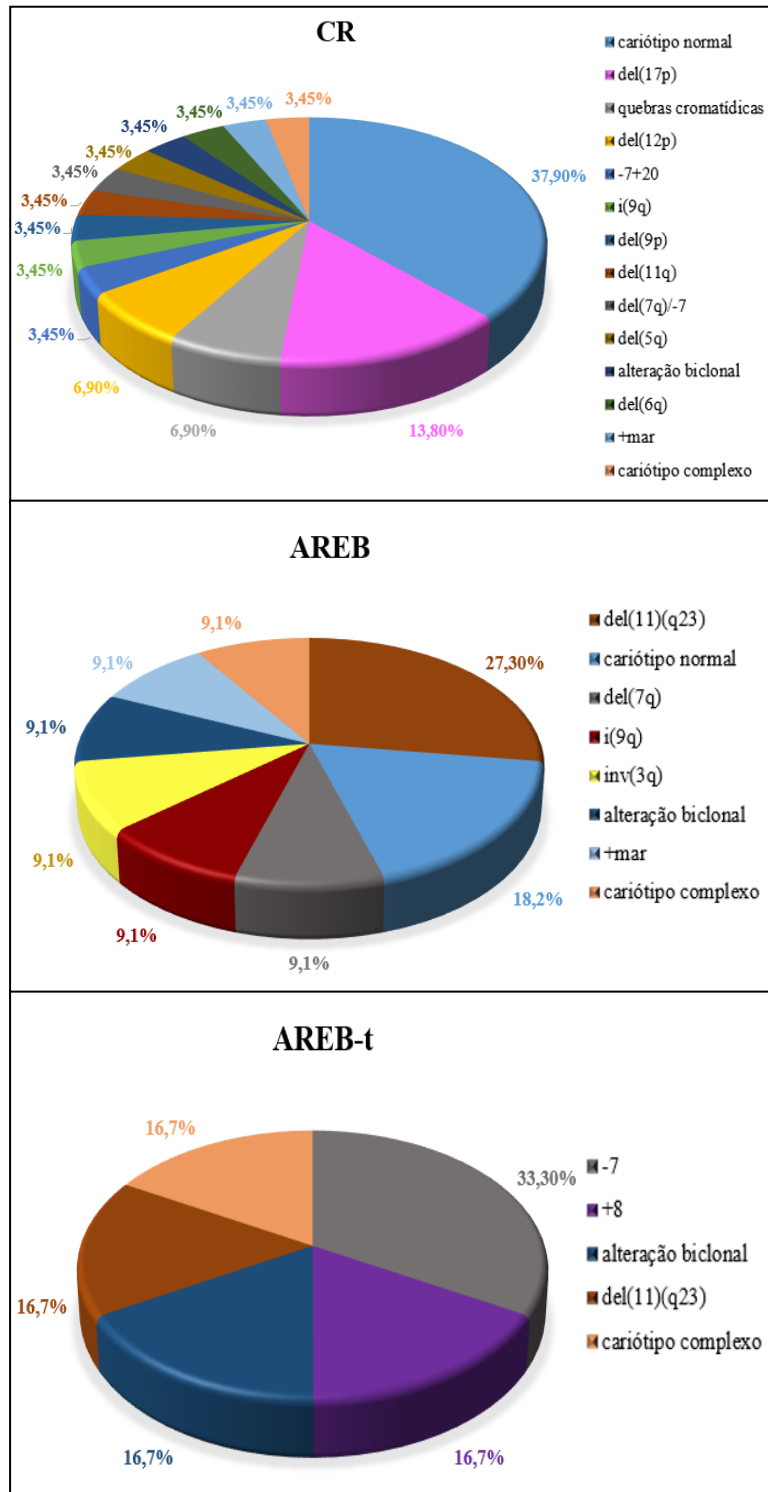


Figura 4.10: Distribuição do padrão cromossômico por subtipo da SMD pediátrica.

4.4. Distribuição dos Pacientes Pediátricos com SMD Primária segundo os Grupos de Risco Citogenéticos estabelecidos pelo IPSS e pelo IPSS-R

De acordo com o prognóstico citogenético segundo o IPSS são considerados três grupos de risco: bom, intermediário e prognóstico desfavorável. Nesse estudo, os pacientes foram distribuídos nos seguintes grupos de risco citogenético: 14/46 (30%) em bom prognóstico, 24/46 (52%) em intermediário e 8/46 (18%) em prognóstico desfavorável (Tabela 4.3).

Tabela 4.3: Distribuição dos pacientes pediátricos com SMD primária nos diferentes grupos de risco citogenéticos de acordo com o IPSS.

Grupos de risco citogenético (IPSS)	Nº de Pacientes	Frequência
Bom	14	30%
Intermediário	24	52%
Desfavorável	8	18%
Total	46	100%

No IPSS-R, são 5 os subgrupos de risco citogenético: muito bom prognóstico, bom prognóstico, prognóstico intermediário, prognóstico desfavorável e prognóstico muito desfavorável. No total de pacientes pediátricos analisados, a distribuição foi, respectivamente: 5/46 (11%), 16/46 (35%), 17/46 (37%), 5/46 (11%) e 3/46 (6%) (Tabela 4.4).

Tabela 4.4: Distribuição dos pacientes pediátricos com SMD primária nos diferentes grupos de risco citogenéticos de acordo com o IPSS-R

Grupos de risco citogenético (IPSS-R)	Nº de Pacientes	Frequência
Muito Bom	5	11%
Bom	16	35%
Intermediário	17	37%
Desfavorável	5	11%
Muito desfavorável	3	6%
Total	46	100%

4.5. Acompanhamento Citogenético e Clínico dos Pacientes Pediátricos com SMD Primária pós-TCTH Alogênico

O acompanhamento citogenético e clínico pós-TCTH alogênico dos 46 pacientes pediátricos com SMD primária no período de 1997 a 2017 permitiu observar que entre os dias D+21 e D+30, 42 (91%) apresentaram a pega do enxerto, com o desaparecimento do clone citogenético anormal caracterizado no pré-TCTH (quimerismo total). Em 4 pacientes (9%), foi observada a falha na pega do enxerto, sendo que todos eles faleceram. O padrão cromossômico pré-TCTH alogênico nesses pacientes foi: cariótipo normal (em 2/4), inv(3q) (em 1/4) e i(9q) (em 1/4).

A recidiva da doença foi observada em 17 (37%) dos 46 pacientes. O tempo médio de recidiva da doença foi de 13 meses após o procedimento, verificada pela análise citogenética e clínica. Dos 17 pacientes que apresentaram recidiva, 7 foram submetidos a um segundo transplante. O total de óbitos após a recidiva foi de 13/17 pacientes (76%); 4/17 (24%) pacientes sobreviveram, encontrando-se atualmente em remissão clínica e citogenética.

No período pós-transplante, a doença enxerto contra o hospedeiro (DECH) foi observada em 24 (52%) dos 46 pacientes. A DECH aguda (DECHa) manifestou-se em 12/24 (50%) pacientes, enquanto que a DECH crônica (DECHc) foi observada em 10/24 (42%). A presença de DECH aguda e crônica foi observada em 2/24 (8%) pacientes. O local mais acometido pela doença foi a pele, observado em 15/24 (62%) pacientes, seguido pelo trato gastrointestinal, em 5/24 (21%) casos.

Quadros infecciosos foram observados em 30 (65%) dos 46 pacientes submetidos ao TCTH alogênico. Desses, 20 (67%) apresentaram infecção bacteriana e 10 (33%) apresentaram infecções virais.

A análise citogenética e clínica durante o acompanhamento pós-transplante dos pacientes pediátricos com SMD primária realizado em um período de 26 anos, mostrou que dos 46 pacientes, 21 (46%) faleceram sendo as principais causas: recidiva, falha na pega do enxerto, DECH e infecção (Tabela 4.5). O tempo médio entre o diagnóstico final e o transplante foi de 18 meses.

Tabela 4.5: Causas de óbito entre os pacientes pediátricos tratados com TCTH alogênico

Causa do óbito	Nº de pacientes (%)
Recidiva	13 (62%)
Falha na pega do enxerto	4 (19%)
DECH	3 (14%)
Infecção	1 (5%)

4.5.1 Análise do Impacto do Padrão Cromossômico em Pacientes Pediátricos com SMD Primária tratados com TCTH Alogênico

A análise do padrão cromossômico em pacientes pediátricos com SMD primária pré-TMO alogênico foi importante para a confirmação do diagnóstico em 26 casos, mostrando a presença de clonalidade, onde os exames morfológicos e imunofenotípicos indicavam a presença de SMD. A presença de cariótipos anormais como a del(17p), cariótipo complexo, alteração cromossômica biclonal, -7 e +20, del(11)(q23) associadas com a história clínica selecionou os pacientes pediátricos no estágio inicial da doença (CR) para o TCTH alogênico.

Analisando alguns fatores pós-transplante associados com a mortalidade, verificamos que a recidiva da doença apresentou uma forte associação com esse desfecho. A análise citogenética dos pacientes que apresentaram recidiva da doença mostrou a presença de cariótipos anormais em 14 pacientes (82%) e a presença de cariótipos normais em 3 pacientes (18%) (Figura 4.11).

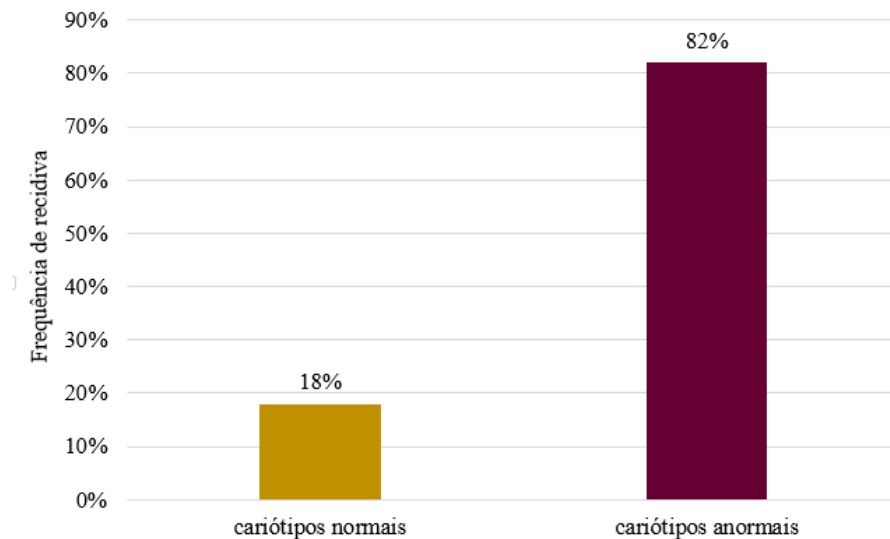


Figura 4.11 Análise do impacto prognóstico da citogenética na recidiva da doença: cariótipos anormais versus cariótipos normais.

Dos 14 pacientes que apresentaram cariótipos anormais, a recidiva da doença esteve associada com as alterações cromossômicas específicas: a del(7q) e - 7 (14%), + 8 (7%), alteração cromossômica biclonal ([+X e +8/add(7p] e [+mar e +21]) (14%), a del(11)(q23) (23%), a del(12p) (7%), a del(17p) (7%), +mar (14%) e a presença de cariótipo complexo (14%) (Figura 4.12). A principal alteração cromossômica associada à recidiva da doença foi a del(11)(q23). A técnica de FISH foi utilizada para confirmação dessa alteração em 3 pacientes no acompanhamento pós-TCTH.

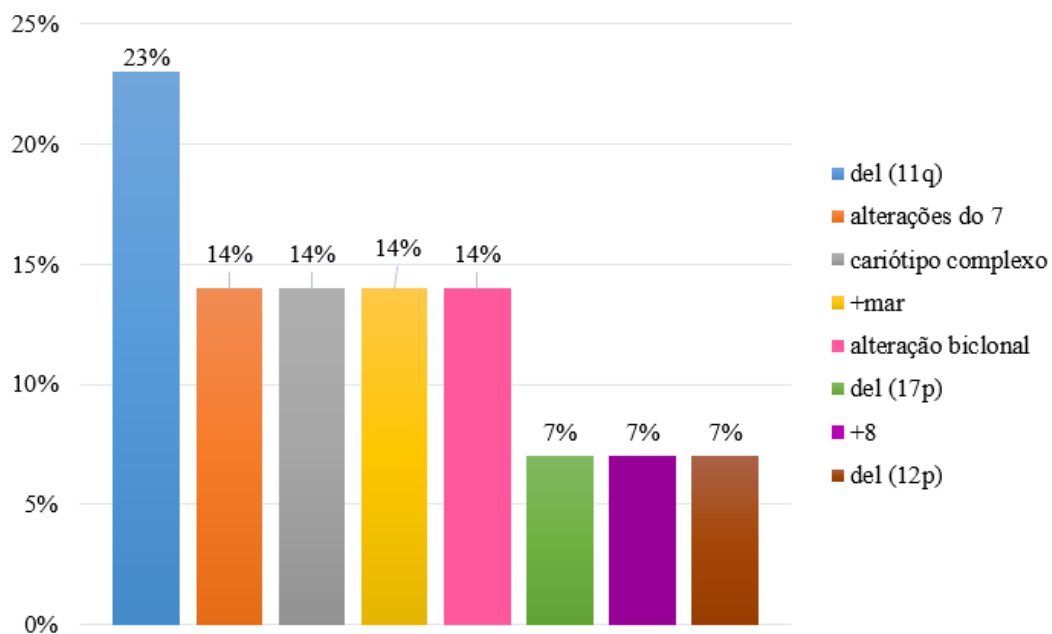


Figura 4.12: Frequência das alterações cromossômicas específicas dos pacientes pediátricos com SMD primária que apresentaram recidiva pós-TCTH alogênico.

A análise citogenética mostrou que dos 14 pacientes com cariótipo anormal com recidiva da doença, apenas 1 apresentou aquisição de uma nova alteração cromossômica, havendo a evolução cariotípica. A Figura 4.13 mostra o cariótipo pré-TCTH alogênico; a Figura 4.14 mostra o cariótipo pós-transplante; e a Figura 4.15 mostra uma imagem de FISH com a +8 pós-TCTH alogênico, uma das alterações cromossômicas presentes nesse cariótipo complexo.

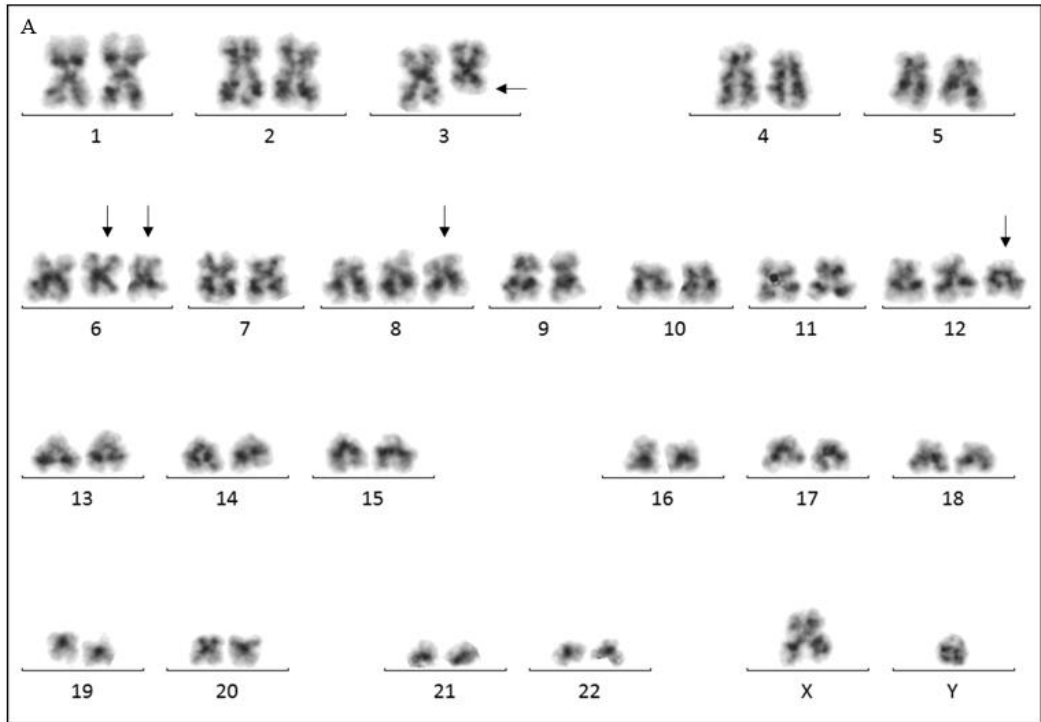


Figura 4.13: Cariótipo complexo por bandeamento GTG pré-TCTH alogênico. As setas indicam as alterações: $\text{del}(3)(q21)$, $\text{del}(6)(q21)$, $+\text{del}(6)(q21)$, $+8$, $+\text{del}(12)(p11)$.

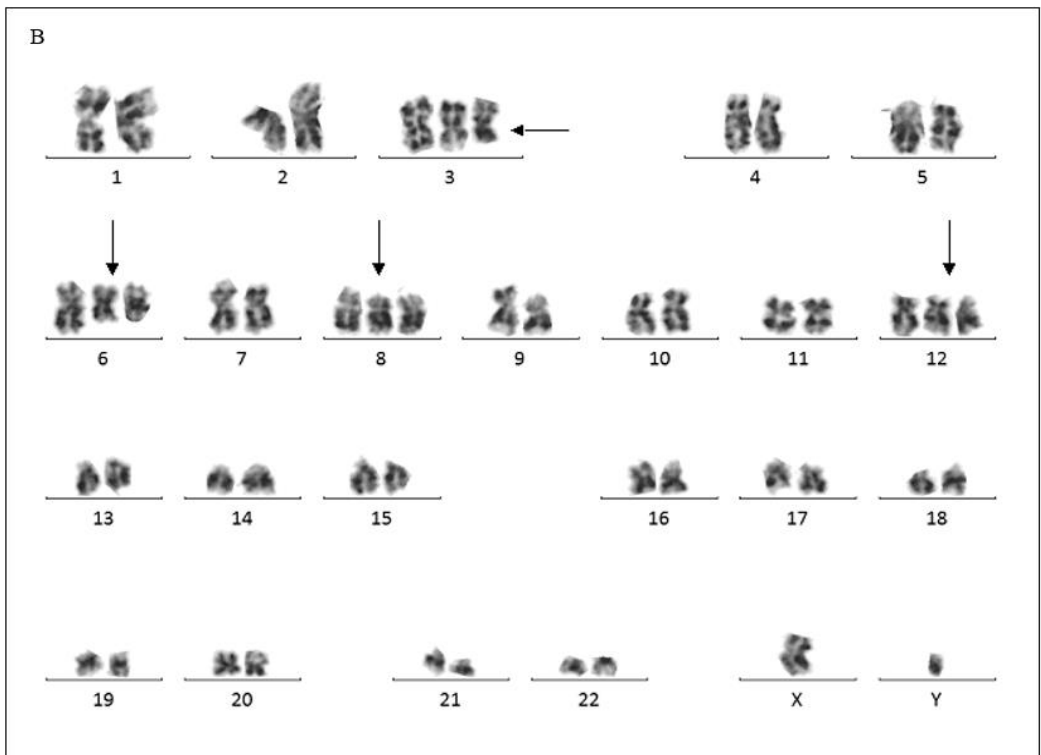


Figura 4.14: Cariótipo complexo observado no acompanhamento pós-TCTH alogênico; As setas indicam as alterações: $\text{del}(3)(q21)$, $+\text{del}(3)(q21)$, $\text{del}(6)(q21)$, $+\text{del}(6)(q21)$, $+8$, $+\text{del}(12)(p11)$. Podemos observar a aquisição de uma nova alteração no cromossomo 3.

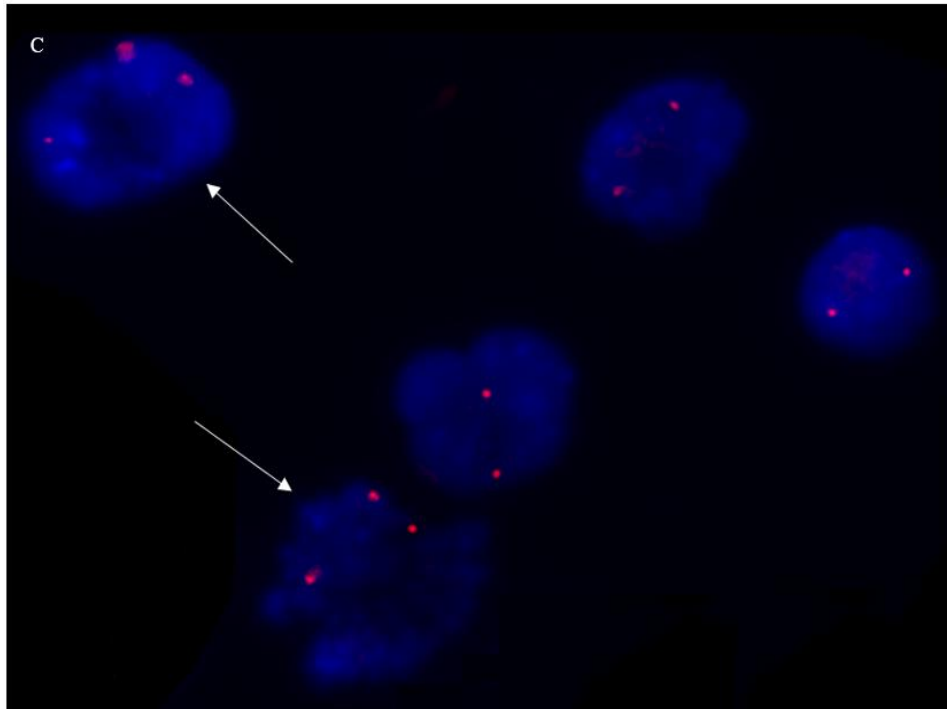


Figura 4.15: FISH mostrando a trissomia do cromossomo 8 utilizando a sonda LSI MYC SpectrumOrange Probe. A seta superior indica um núcleo interfásico e a inferior, uma metáfase com baixa resolução, ambos com três sinais vermelhos comprovando a +8.

4.5.2 Análise dos Grupos de Risco em relação à Citogenética segundo o IPSS e o IPSS-R

Verificamos a distribuição dos pacientes de acordo com o prognóstico citogenético segundo o IPSS e associamos o número de pacientes que apresentaram recidiva da doença, a mortalidade relacionada à recidiva e a mortalidade não relacionada à recidiva. Observamos que os pacientes apresentando os grupos de risco intermediário e alto apresentaram maior frequência de recidiva e mortalidade relacionada à recidiva em relação ao grupo de bom prognóstico (Tabela 4.6).

A mesma análise foi feita utilizando a classificação citogenética segundo o IPSS-R. De acordo com essa análise verificamos que uma alta frequência de pacientes esteve associada à recidiva e mortalidade relacionada à recidiva no grupo de muito bom prognóstico. O grupo de prognóstico muito desfavorável apresentou a maior frequência de recidiva da doença (Tabela 4.7).

Tabela 4.6: Frequência de pacientes com SMD primária nos diferentes grupos de risco citogenéticos segundo o IPSS

Grupos de risco citogenético segundo o IPSS	Nº de pacientes que apresentaram recidiva (%)	Mortalidade relacionada à recidiva (%)	Mortalidade não relacionada à recidiva (%)
Bom	3/14 (21%)	3/14 (21%)	2/14 (14%)
Intermediário	10/24 (42%)	8/24 (33%)	5/24 (21%)
Desfavorável	4/8 (50%)	2/8 (25%)	1/8 (12,5%)
Total	17	13	8

Tabela 4.7: Frequência de pacientes com SMD primária nos diferentes grupos de risco citogenéticos segundo o IPSS-R.

Grupos de risco citogenético segundo o IPSS-R	Nº de pacientes que apresentaram recidiva (%)	Mortalidade relacionada à recidiva (%)	Mortalidade não relacionada à recidiva (%)
Muito bom	3/5 (60%)	3/5 (60%)	-
Bom	4/16 (25%)	3/16 (19%)	2/16 (12,5%)
Intermediário	7/17 (41%)	5/17 (29%)	4/17 (24%)
Desfavorável	1/5 (20%)	1/5 (20%)	2/5 (40%)
Muito desfavorável	2/3 (67%)	1/3 (33%)	-
Total	17	13	8

De acordo com os nossos resultados, realizamos uma análise de distribuição do padrão cromossômico em relação à recidiva e mortalidade considerando a +8 e a del(11)(q23) sendo alterações de prognóstico desfavorável. Verificamos que os pacientes classificados no grupo de risco desfavorável com a citogenética “corrigida” para o IPSS (Tabela 4.8) e para o IPSS-R (Tabela 4.9) apresentaram maior frequência de recidiva e mortalidade relacionada à recidiva em relação aos demais grupos de risco.

Tabela 4.8: Frequência de pacientes com SMD primária nos diferentes grupos de risco citogenético (IPSS) segundo a “citogenética corrigida”.

Grupos de Risco (IPSS) com Citogenética “corrigida”	Nº de pacientes que apresentaram recidiva (%)	Mortalidade relacionada à recidiva (%)	Mortalidade não relacionada à recidiva (%)
Bom	3/14 (21%)	3/14 (21%)	2/14 (14%)
Intermediário	6/18 (33%)	4/18 (22%)	5/18 (28%)
Desfavorável	8/14 (57%)	6/14 (43%)	1/14 (7%)
Total	17	13	8

Tabela 4.9: Frequência de pacientes com SMD primária nos diferentes grupos de risco citogenético (IPSS-R) segundo a “citogenética corrigida”.

Grupos de Risco (IPSS-R) com Citogenética “corrigida”	Nº de pacientes que apresentaram recidiva (%)	Mortalidade relacionada à recidiva (%)	Mortalidade não relacionada à recidiva (%)
Muito bom	-	-	-
Bom	4/16 (25%)	3/16 (19%)	2/16 (12,5%)
Intermediário	6/16 (37,5%)	4/16 (25%)	4/16 (25%)
Desfavorável	5/11 (45%)	5/11 (45%)	2/11 (18%)
Muito desfavorável	2/3 (67%)	1/3 (33%)	-
Total	17	13	8

4.5.3 Análise do Impacto do Estágio da Doença em Pacientes Pediátricos com SMD Primária tratados com TCTH Alogênico

Dos 46 pacientes pediátricos analisados, 29 (63%) foram classificados no estágio inicial da SMD (CR), e 17 (37%) foram classificados nos estágios avançados (AREB e AREB-t) (Figura 4.16). No estágio inicial da doença foi observado 34% (10/29) de mortalidade e nos estágios avançados, 65% (11/17). Analisando a distribuição dos 17 pacientes que apresentaram recidiva da doença e os estágios da SMD pediátrica, foi observado que a recidiva ocorreu em 6 (21%) pacientes classificados no estágio inicial da doença (CR) e em 11 (65%) classificados nos estágios avançados da SMD (AREB e AREB-t).

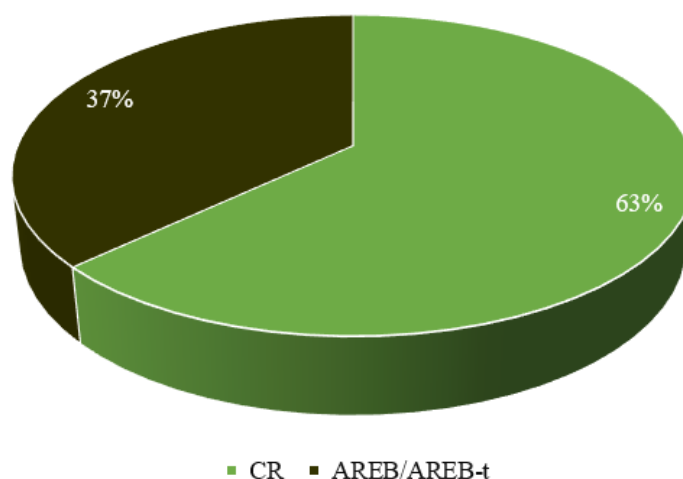


Figura 4.16: Distribuição dos pacientes em relação aos estágios da SMD pediátrica: CR x AREB/AREB-t.

Analisando a mortalidade relacionada à recidiva de acordo com o estágio da doença, considerando estágio inicial (CR) *versus* estágios avançados (AREB/ AREB-t), observamos que houve uma maior porcentagem de pacientes com mortalidade relacionada à recidiva nos estágios avançados (53%) em comparação com o estágio inicial (14%) (Tabela 4.10).

Tabela 4.10: Distribuição da frequência da recidiva da doença em relação aos estágios da SMD primária

Estágio da SMD	Nº de pacientes que apresentaram recidiva (%)	Mortalidade relacionada à recidiva (%)	Mortalidade não relacionada à recidiva (%)
Inicial (CR)	6/29 (21%)	4/29 (14%)	6/29 (21%)
Avançados (AREB/ AREB-t)	11/17 (65%)	9/17 (53%)	2/17 (12%)
Total	17	13	8

CR: citopenia refratária; **AREB:** anemia refratária com excesso de blastos; **AREB-t:** anemia refratária com excesso de blastos em transformação.

4.5.4 Análise do Impacto de Doador Aparentado versus Não Aparentado em Pacientes Pediátricos com SMD Primária tratados com TCTH Alogênico

Dos 46 pacientes analisados, 34 (74%) receberam células-tronco hematopoéticas (CTHs) de doador aparentado e 12 (26%), de doador não aparentado (Figura 4.17). Observamos maior frequência de mortalidade para os pacientes que receberam CTHs de

doadores não aparentados (58%) em relação aos pacientes que receberam CTHs de doadores aparentados (41%).

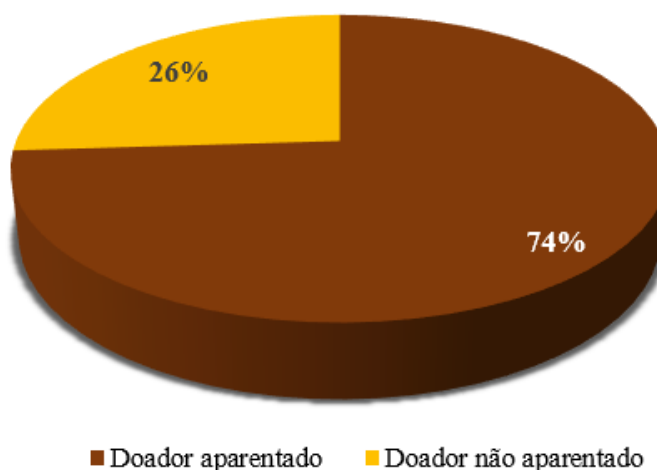


Figura 4.17: Distribuição do tipo de doador em pacientes pediátricos com SMD primária tratados com TCTH alogênico.

A recidiva ocorreu em 11/34 (32%) dos pacientes submetidos a TCTH alogênico com doador aparentado e em 6/12 (50%), em pacientes com doadores não aparentados. Observamos maior frequência de mortalidade relacionada à recidiva para os pacientes que receberam CTHs de doadores não aparentados. A Tabela 4.11 mostra a frequência de doadores aparentados e não aparentados em relação à recidiva da doença.

Tabela 4.11: Frequência de doadores aparentados e não aparentados e sua associação com a recidiva e mortalidade

Tipo de doador	Nº de pacientes que apresentaram recidiva (%)	Mortalidade relacionada à recidiva (%)	Mortalidade não relacionada à recidiva (%)
Aparentado	11/34 (32%)	8/34 (24%)	6/34 (18%)
Não aparentado	6/12 (50%)	5/12 (42%)	2/12 (17%)
Total	17	13	8

4.5.5 Análise do Impacto da Fonte de Células-Tronco nos Pacientes Pediátricos com SMD Primária tratados com TCTH Alogênico

Acerca da fonte de células-tronco, dos 46 pacientes estudados, 38 (83%) receberam células de medula óssea (MO), 1 (2%) recebeu células de sangue periférico (SP) e 7 (15%) receberam células de sangue de cordão umbilical (SCUP) (Figura 4.18).

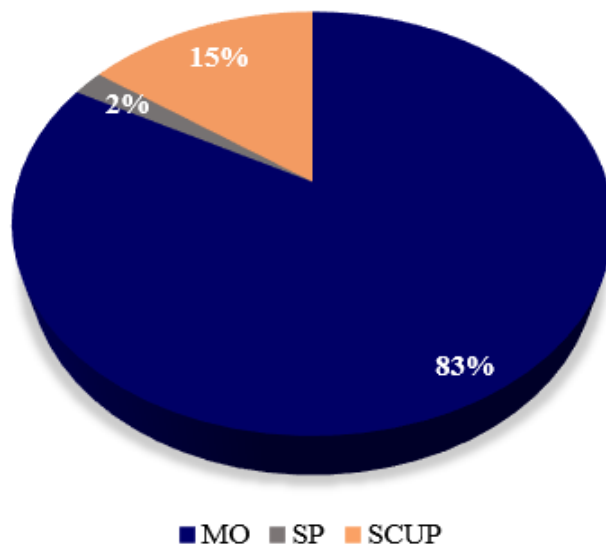


Figura 4.18: Distribuição do tipo de fonte de células tronco usadas em pacientes pediátricos com SMD primária tratados com TCTH alogênico.

A maior frequência de mortalidade ocorreu quando células de sangue periférico foram utilizadas. A única paciente que recebeu CTHs desse tipo de fonte veio a óbito. As frequências de mortalidade para os pacientes que receberam sangue de cordão umbilical e células de medula óssea foram 57% e 42%, respectivamente.

A recidiva foi observada em 13/38 (34%) pacientes que receberam MO, em 1/1 (100%) que recebeu SP e em 3/7 (43%) que receberam SCUP. A Tabela 4.12 mostra a frequência dos pacientes segundo o tipo de fonte de célula-tronco hematopoética e sua associação com a recidiva da doença e mortalidade. Verificamos que a MO apresentou menor frequência de recidiva e de mortalidade relacionada à recidiva em comparação com o SP e o SCUP

Tabela 4.12: Frequência de fontes de células-tronco e sua associação com a recidiva e mortalidade

Fonte de células-tronco	Nº de pacientes que apresentaram recidiva	Mortalidade relacionada à recidiva (%)	Mortalidade não relacionada à recidiva (%)
MO	13/38 (34%)	9/38 (24%)	7/38 (18%)
SP	1/1 (100%)	1/1 (100%)	-
SCUP	3/7 (43%)	3/7 (43%)	1/7 (14%)
Total	17	13	8

MO: medula óssea; **SP:** sangue periférico; **SCUP:** sangue de cordão umbilical

Analisando a recidiva da doença, os fatores que apresentaram maior associação com um desfecho desfavorável foram o estágio da doença (porcentagem de blastos) e a citogenética “corrigida”, que apresentou uma melhor distribuição em relação ao padrão cromossômico, e os grupos de risco de acordo com o que foi observado nesse estudo.

4.6. Análise de Fatores Prognósticos em Pacientes Pediátricos com SMD Primária tratados com TCTH Alogênico

Analisamos os fatores prognósticos: idade, sexo, porcentagem de blastos, estágio da doença (subgrupos CR e AREB /AREB-t), citopenias, grupos de risco citogenético segundo o IPSS e o IPSS-R, citogenética “corrigida” (considerando, de acordo com nossos resultados, a +8 e a del(11)(q23) como alterações de prognóstico desfavorável), DECH e a recidiva e sua associação com a mortalidade e sobrevida (Tabela 4.13). Na categoria idade observamos que dos 33 pacientes com idade inferior a 12 anos a mortalidade foi de 52%, e no grupo com idade superior a 12 anos a mortalidade foi de 31%. Esses resultados não mostraram significância estatística. Em relação a categoria sexo, dos 16 pacientes do sexo feminino, 56% foram a óbito e dos 30 pacientes do sexo masculino, 40% faleceram. Esse resultado também não mostrou significância estatística. A porcentagem de blastos apresentou uma associação com a mortalidade. Pacientes com contagem inferior a 5% apresentaram menor frequência de mortalidade em relação aos pacientes com contagem superior a 5% ($p < 0,05$). Esse resultado está diretamente associado ao estágio da doença, onde os pacientes no estágio inicial, CR apresentaram menor frequência de mortalidade em relação aos estágios mais avançados da doença,

AREB/AREB-t ($p < 0,05$). Em relação a citopenia, não observamos diferença estatisticamente significativa para os pacientes apresentando 1 ou mais de uma citopenia. Em relação aos grupos de risco citogenéticos segundo o IPSS não houve uma significância estatística. O mesmo observado para o IPSS-R. É importante notar que quando re-classificamos as alterações +8 e del(11)(q23) houve uma melhor distribuição dos pacientes de acordo com os grupos de risco. No entanto, também não foi observado diferença estatística entre os grupos. Quando analisamos a DECH, esta também não teve impacto na mortalidade pós transplante. No entanto, a recidiva foi o evento que teve o maior impacto em relação á mortalidade pós-transplante ($p < 0,0017$).

Portanto, verificamos que os eventos associados com maior taxa de mortalidade foram a recidiva da doença ($p < 0,0017$) e o estágio da doença ($p < 0,05$) (porcentagem de blastos). A idade, o sexo, as citopenias, a citogenética segundo o IPSS e o IPSS-R, a citogenética “corrigida” e a DECH não apresentaram uma forte associação com a mortalidade pós transplante. No entanto, em relação a citogenética verificamos uma melhor distribuição em relação aos grupos de risco quando consideramos as alterações +8 e del(11)(q23) de prognóstico desfavorável.

Tabela 4.13: Análise de fatores prognósticos em pacientes pediátricos com SMD primária tratados com TCTH alogênico

Variáveis prognósticas	Grupos	Nº de pacientes	Mortalidade	P
Idade	≤ 12 anos	33	17 (52%)	p<0,2
	> 12 anos	13	4 (31%)	
Sexo	Feminino	16	9 (56%)	p<0,2
	Masculino	30	12 (40%)	
% de blastos	< 5%	29	10 (34%)	p<0,05
	≥ 5%	17	11 (65%)	
Estágio da SMD	Inicial (CR)	29	10 (34%)	p<0,05
	Avançados (AREB/AREB-t)	17	11 (65%)	
Citopenias	0-1	5	2 (40%)	p<0,7
	2-3	41	19 (46%)	
Grupos de risco citogenético (IPSS)	Bom	14	5 (36%)	p<0,4
	Intermediário	24	13 (54%)	
	Desfavorável	8	3 (37,5%)	
Grupos de risco citogenético (IPSS-R)	Muito bom	5	3 (60%)	p<0,6
	Bom	16	5 (31%)	
	Intermediário	17	9 (53%)	
	Desfavorável	5	3 (60%)	
	Muito desfavorável	3	1 (33%)	
Citogenética “corrigida” (IPSS)	Bom	14	5 (36%)	p<0,6
	Intermediário	18	9 (50%)	
	Desfavorável	14	7 (50%)	
Citogenética “corrigida” (IPSS-R)	Muito bom	-	-	p<0,3
	Bom	16	5 (31%)	
	Intermediário	16	8 (50%)	
	Desfavorável	11	7 (64%)	
	Muito desfavorável	3	1 (33%)	
DECH	Sim	24	11 (46%)	p<0,9
	Não	22	10 (45%)	

5 - DISCUSSÃO

A Síndrome mielodisplásica (SMD) compreende um conjunto heterogêneo de patologias clonais de células-tronco hematopoéticas que têm em comum uma hematopoese displásica e ineficaz e risco variável de progressão para leucemia mieloide aguda (LMA). Podem ser *de novo*, quando não há causa conhecida para seu desenvolvimento, ou podem ser resultado de terapias potencialmente mutagênicas (quimio e radioterapia), bem como de exposição a toxinas ambientais (como benzeno) e radiação ionizante. Clinicamente, os pacientes com SMD apresentam redução quantitativa diferenciada na formação de eritrócitos, plaquetas e granulócitos maduros, que também podem estar alterados qualitativamente e, assim, prejudicados em sua função normal. Isso leva aos principais fenômenos clínicos da SMD: anemia, propensão a hemorragias e tendência a infecções (SCHMALZING *et al*, 2017).

A SMD é considerada uma doença rara em crianças (ELGHETANY, 2007; NIEMEYER & BAUMANN, 2008; DE SOUZA *et al*, 2014) o que contribui para a escassez de relatos dessa patologia na literatura pediátrica (MUÑOZ *et al*, 2009). Alterações cromossômicas podem ser encontradas em até 70% dos pacientes com SMD pediátrica (GÖHRING *et al*, 2010; RAU *et al*, 2012; DE SOUZA *et al*, 2014; HASLE, 2016). O transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH) alogênico é a única terapia com potencial curativo para os pacientes com SMD, porém é um procedimento de risco com altas taxas de mortalidade e morbidade envolvida (CHANG *et al*, 2007; GANGAT *et al*, 2015, 2016).

Uma revisão da literatura mostrou que apenas 4 estudos foram realizados envolvendo pacientes pediátricos submetidos ao TCTH alogênico, porém nenhum deles teve como foco principal a citogenética. Em 2009, Muñoz e colaboradores realizaram um estudo no qual foi relatada a experiência do Grupo de Trabalho Espanhol para Transplante de Sangue e Medula em Crianças (GETMON) com o uso de doadores aparentados, não aparentados e sangue de cordão umbilical na SMD da infância (MUÑOZ *et al*, 2009). Em 2011, Andolina e colaboradores desenvolveram um estudo no Children's Memorial Hospital (Chicago, IL) que teve por objetivo analisar fatores de risco (idade ao diagnóstico, idade no transplante, sexo, etnia, porcentagem de blastos na medula, classificação da SMD, contagem de leucócitos, hemoglobina e plaquetas no diagnóstico, citopenias, IPSS, quimioterapia pré-TCTH, tipo de doador, tipo de fonte de células-tronco, citorredução, regime de condicionamento e dosagem de células

transplantadas), desfecho e diferentes regimes de condicionamento para crianças com SMD. Em 2013, Smith e colaboradores investigaram se as características do paciente, da doença ou do tratamento podem prever os resultados pós-TCTH em crianças transplantadas na Universidade de Minnesota, EUA (SMITH *et al*, 2013). Em 2015, Basquiera e colaboradores analisaram retrospectivamente os desfechos do TCTH alogênico em pacientes pediátricos com SMD em um estudo multicêntrico na Argentina e tiveram como principal resultado uma sobrevida global de 55% em 5 anos (BASQUIERA *et al*, 2015).

Muñoz e colaboradores (2009) analisaram 24 pacientes com idades entre 3-18 anos divididos em CR, AREB e AREB-t; no entanto, a ênfase do estudo foi nas fontes de células-tronco utilizadas no transplante (MUÑOZ *et al*, 2009). Andolina e colaboradores analisaram 23 pacientes com idades entre 4-16 anos; além dos pacientes classificados como CR, AREB e AREB-t, também foram incluídos aqueles com SMD secundária (ANDOLINA *et al*, 2011). Smith e colaboradores estudaram 37 pacientes com idades entre 1-21 anos dos grupos CR, AREB e SMD secundária (SMITH *et al*, 2013). Basquiera e colaboradores investigaram 52 pacientes com idades entre 1-16 classificados como CR, AREB e AREB-t e LMMJ (BASQUIERA *et al*, 2015). A inclusão de pacientes acima de 18 anos, considerados jovens adultos, e portadores de leucemias pode levar a um viés de interpretação na análise dos dados obtidos. Nossa pesquisa se baseou na análise cromossômica dos pacientes no pré e pós-transplante, no período de 1991 a 2017. Consideramos para nosso grupo de estudo os pacientes com idade igual e inferior a 18 anos, com SMD primária e distribuídos nos grupos descritos por Hasle *et al* (2003): citopenia refratária (CR), anemia refratária com excesso de blastos (AREB) e anemia refratária com excesso de blastos em transformação (AREB-t). Obtivemos uma amostra total de 46 pacientes, todos provenientes do Centro de Transplante de Medula Óssea (CEMO) do Instituto Nacional de Câncer (INCA).

A média de idade de nossos pacientes foi de 10 anos (variando de 1 a 18 anos), um pouco acima dos 7 anos relatados por alguns trabalhos (JACKSON *et al*, 1993; RAU *et al*, 2012; GLAUBACH *et al*, 2014). Dos 46 pacientes, 30 (65%) eram do sexo masculino e 16 (35%) do sexo feminino, em uma proporção de quase 2:1, o que difere da literatura onde tem sido observado que parece não haver diferença na distribuição da SMD por sexo (JACKSON *et al*, 1993; HASLE *et al*, 1995, 1999; LUNA-FINEMAN *et al*, 1999; SASAKI *et al*, 2001; PASSMORE *et al*, 2003; KARDOS *et al*, 2003; GLAUBACH *et al*, 2014). Em apenas 1 estudo publicado de SMD pediátrica avançada

ou de alto risco, a mediana da idade foi de 10,7 anos, com uma predominância nos meninos de 2: 1 (STRAHM *et al*, 2011). Para verificarmos se existia diferença na evolução pós-transplante em relação à idade, os pacientes foram divididos em: crianças (≤ 12 anos) e adolescentes (> 12 anos), sendo que os adolescentes apresentaram desfecho mais favorável quando comparados às crianças. Göhring e colaboradores (2010), porém, afirmam que adolescentes têm um prognóstico desfavorável.

Em relação à porcentagem de blastos na medula óssea, alguns estudos mostram que crianças com contagens $>5\%$ possuem mortalidade superior quando comparadas àquelas com $<5\%$ de blastos (HASLE *et al*, 2004; HASLE & NIEMEYER, 2011). Em nosso estudo observamos uma frequência de mortalidade dos pacientes com contagem inferior a 5% de blastos de 34%, contra 65% de mortalidade para os pacientes com contagem de blastos igual ou superior a 5%, o que está de acordo com a literatura e permite concluir que a porcentagem de blastos aumentada, assim como o estágio da doença, está fortemente associada a uma maior mortalidade.

O estágio inicial da SMD, o subtipo citopenia refratária (CR), é o mais frequente, ocorrendo em torno de 50% dos pacientes (GLAUBACH *et al*, 2014; WLODARSKI *et al*, 2016). Muñoz e colaboradores não encontraram diferenças na distribuição dos subtipos; Andolina e colaboradores observaram o estágio inicial da SMD pediátrica em 39% de seu grupo de estudo; Basquiera e colaboradores encontraram resultado semelhante ao relatado na literatura (50% dos pacientes com CR). Em nossa amostra, encontramos uma porcentagem superior (63%), assim como Smith e colaboradores (81%).

Hasle e colaboradores, em um estudo de 2004, indicam que as citopenias em 2-3 linhagens não fornecem informações prognósticas. Em nosso estudo também não observamos associação das citopenias com a mortalidade nos pacientes pediátricos pós-TCTH.

Como a análise citogenética é uma ferramenta fundamental tanto para o diagnóstico da SMD como para seu prognóstico e escolha do melhor tratamento (DE SOUZA *et al*, 2014; CIABATTI *et al*, 2017), e ainda são poucos os trabalhos que abordam a citogenética em pacientes pediátricos (HASLE & NIEMEYER, 2011), o presente estudo teve por objetivo analisar o impacto prognóstico do padrão cromossômico em pacientes pediátricos com SMD primária tratados com TCTH alogênico.

Alterações citogenéticas podem ser encontradas em 50-70% dos casos de SMD pediátrica (GÖHRING *et al*, 2010; RAU *et al*, 2012; DE SOUZA *et al*, 2014; HASLE, 2016). Muñoz e colaboradores observaram uma frequência de cariótipos anormais de 62,5%; Andolina e colaboradores e Smith e colaboradores encontraram frequência muito acima do relatado (100% e 92%, respectivamente). Basquiera e colaboradores observaram uma frequência de 39% de cariótipos anormais (41 pacientes), bem abaixo do descrito por outros estudos. Nossos resultados mostraram que, dos 46 pacientes analisados, 72% apresentavam alterações cromossômicas ao diagnóstico, o que está de acordo com a literatura.

De Souza e colaboradores, em estudo de 2014 envolvendo 105 pacientes adultos e pediátricos com SMD primária hipocelular, relataram que a frequência de cariótipos anormais foi significativamente maior nos estágios avançados da doença (AREB e AREB-t) quando comparado ao estágio mais inicial (AR/ CR). Moriwaki e colaboradores, em estudo de 2014 que analisou características citogenéticas e clínicas de 277 pacientes pediátricos (< 16 anos) com SMD, entre outras neoplasias hematológicas, em diversas instituições no Japão também observaram um aumento na frequência de cariótipos anormais nos estágios avançados (AREB e AREB-t) em relação ao estágio inicial (AR/ ARSA). Oliveira e colaboradores, realizaram estudo em 2017 no qual descreveram as características imunofenotípicas de pacientes cadastrados no Grupo Cooperativo Pediátrico Brasileiro de Síndromes Mielodisplásicas (GCB-SMDPED) e compararam as anormalidades observadas com controles pediátricos. Entre outros resultados, observaram uma maior frequência de cariótipos anormais no estágio avançado AREB quando comparado ao estágio inicial (CR). No presente estudo, dos 46 pacientes pediátricos com SMD primária analisados, 62% dos classificadas como CR, 81% dos classificadas como AREB e 100% dos classificadas como AREB-t possuíam alterações cromossômicas. Esse achado está de acordo com descrito pelo trabalho acima citado e permite inferir que a frequência de cariótipos anormais aumenta conforme a SMD evolui.

O padrão cromossômico da SMD se caracteriza por alterações citogenéticas desbalanceadas. De forma mais frequente, podem ser observadas perdas de material genético na forma de monossomias e deleções. O ganho de material genético (as trissomias), são menos frequentes. Em contraste com a LMA, anormalidades estruturais balanceadas como translocações e inversões são raras na SMD (HAASE *et al*, 2007; HAASE, 2008; KAWANKAR & VUNDINTI, 2011; RAU *et al*, 2012, GIAGOUNIDIS

& HAASE, 2013). Alterações envolvendo o cromossomo 7 (principalmente a monossomia 7 ou a deleção 7q) são relatadas em aproximadamente 10% dos casos de SMD primária (HAASE *et al*, 2007; ZAHID *et al*, 2017). Na SMD pediátrica, a monossomia de 7 é a alteração mais frequente, sendo observada em torno de 25% dos casos (GÖHRING, 2010; WLODARSKI *et al*, 2016; HASLE, 2016). Depois da monossomia de 7, as alterações mais frequentes são as trissomia dos cromossomos 8 e 21 (HASLE *et al*, 1995; RAU *et al*, 2012; CHATTERJEE & CHOUDHRY, 2013; HASLE, 2016).

Muñoz e colaboradores (2009) encontraram resultados compatíveis com o relatado na literatura: 33% dos pacientes estudados possuíam monossomia 7 e 8%, a trissomia 8; Andolina e colaboradores (2011) observaram 52% de seus pacientes apresentando monossomia 7 e 13% com trissomia 8; Smith e colaboradores (2013) observaram 57% dos pacientes estudados portando a monossomia 7 e 19%, a trissomia 8; Basquiera e colaboradores (2015) encontraram 21% dos pacientes com monossomia 7 e 6% com +8. Em nosso estudo, as alterações cromossômicas mais frequentes foram: aquelas envolvendo o cromossomo 7 (15%), o que está de acordo com a literatura; no entanto, a segunda anormalidade mais vista foi a del(11)(q23) (15%) seguida pela del(17p)(p12) (12%).

Alterações citogenéticas comuns em adultos, como a del(5q), quase nunca são vistas em crianças (BOULTWOOD *et al*, 1994 a; GÖHRING *et al*, 2010; RAU *et al*, 2012; HASLE, 2016; WLODARSKI *et al*, 2016). Devido à essa raridade, a detecção de uma pacientes em nosso grupo de estudo que possuía a del(5q) chamou a atenção. Trata-se de uma paciente com histórico prévio de câncer de ovário que, 5 anos após tratamento cirúrgico, apresentou pancitopenia e teve diagnóstico de SMD hipoplásica. Após análise por bandeamento GTG foi realizado o FISH (ambos em células da medula óssea e do tumor de ovário) para confirmação da região deletada. Os resultados apontaram que SMD era uma neoplasia nova não relacionada ao tumor inicial. Esse relato de caso foi publicado por nosso grupo em 2010 (DE SOUZA *et al*, 2010). A paciente foi tratada com o TCTH alogênico, encontra-se clinicamente estável e com uma boa qualidade de vida.

Uma análise da distribuição do padrão cromossômico da SMD primária pediátrica pelos grupos da classificação proposta por Hasle e colaboradores (2003) permitiu observar, em nosso estudo, que não foi encontrada uma alteração cromossômica específica associada a determinado subtipo da doença. Como exemplo, podemos citar as

alterações envolvendo o cromossomo 7; elas estão relacionadas a um prognóstico desfavorável, têm indicação para o TCTH alogênico e puderam ser vistas tanto no subtipo inicial (CR) como nos subtipos avançados (AREB e AREB-t). Resultados semelhantes podem ser encontrados em estudo realizado por Moriwaki e colaboradores, publicado em 2014.

Em diversos estudos em pacientes com SMD, a citogenética se mostrou uma das variáveis prognósticas mais importantes (NOWELL *et al*, 1986; GREENBERG *et al*, 1997; SOLÉ *et al*, 2005; HAASE *et al*, 2007; ARMAND *et al*, 2010) e foi incorporada em sistemas de risco visando uma melhor predição do prognóstico individual (HAASE, 2008; DE SOUZA *et al*, 2014). Além disso, várias séries de pacientes submetidos a TCTH alogênico confirmaram que a citogenética mantém sua importância prognóstica após o transplante para pacientes com SMD ou LMA secundária à SMD (NEVILL *et al*, 1998; CHANG *et al*, 2007; ALESSANDRINO *et al*, 2008; ARMAND *et al*, 2010). Os pacientes com SMD também podem ser estratificados em grupos de risco de transformação leucêmica através da pontuação de escalas prognósticas. A mais utilizada é o Sistema Internacional de Pontuação Prognóstica (IPSS) que tem como uma das variáveis utilizadas a citogenética, de modo que são 3 os grupos de risco citogenético: de prognóstico bom, intermediário e desfavorável (GREENBERG *et al*, 1997). Em 2012, o IPSS foi revisado, sendo a principal alteração em relação aos subgrupos de risco citogenético, agora mais refinados e em número de 5: de prognóstico muito bom, bom, intermediário, desfavorável e muito desfavorável (GREENBERG *et al*, 2012). Hasle e colaboradores, em 2004, aplicaram o IPSS à SMD pediátrica e descobriram que ele tem um valor preditivo limitado, provavelmente em função das diferenças biológicas e clínicas entre a SMD pediátrica e dos adultos (HASLE *et al*, 2004; ANDOLINA *et al*, 2011). Muñoz e colaboradores (2009), e Basquiera e colaboradores (2015) não realizaram a classificação dos pacientes pelos grupos de risco do IPSS; Andolina e colaboradores (2011) classificaram seus pacientes pelos critérios do IPSS como: 0% de baixo risco, 26% risco intermediário I, 44% risco intermediário II e 30% alto risco; Smith e colaboradores (2013) também classificaram seus pacientes pelos critérios do IPSS: 3% baixo risco, 41% risco intermediário I e 57% risco intermediário II.

Em nosso estudo, utilizamos apenas a classificação de risco citogenético, tanto em relação ao IPSS como IPSS-R. Em relação à citogenética, a maior parte (70%) dos pacientes analisados por Greenberg e colaboradores na elaboração do IPSS foi classificada no grupo de bom prognóstico, 14% no grupo de prognóstico intermediário e

16% no grupo de prognóstico desfavorável. No IPSS-R, 4% dos pacientes foram considerados de muito bom prognóstico, 72% de bom prognóstico, 13% de prognóstico intermediário, 4% de prognóstico desfavorável, e 7% de prognóstico muito desfavorável. Nas 2 escalas, a maioria dos pacientes foi classificada como sendo de bom prognóstico. Nossos resultados mostraram que, de acordo com os grupos de risco citogenéticos do IPSS, 14% dos pacientes foram classificados no grupo de alterações de bom prognóstico, 24% no grupo de prognóstico intermediário e 8% no grupo de prognóstico desfavorável. Pelos grupos de risco citogenético do IPSS-R, encontramos a seguinte distribuição: 5% dos pacientes como muito bom prognóstico, 16% como bom prognóstico, 17% como prognóstico intermediário, 5% como prognóstico desfavorável e 3% como prognóstico muito desfavorável. Em ambas as escalas prognósticas, a maioria de nossos pacientes foi classificada como sendo de risco intermediário. Uma explicação para isso pode ser o fato de que tanto o IPSS como o IPSS-R terem sido elaborados com base em pacientes adultos cuja doença difere em termos biológico, morfológicos e citogenéticos da SMD pediátrica. Além disso, a SMD pediátrica é uma doença rara existindo ainda poucos estudos citogenéticos nesse grupo de pacientes.

No acompanhamento pós-transplante, diversos estudos apontam que a recidiva da doença é a maior causa de insucesso do TCTH alogênico em pacientes com SMD (DE WITTE *et al*, 2000; YUSUF *et al*, 2004; STARY *et al*, 2005; WOODARD *et al*, 2006; MUÑOZ *et al*, 2009; WOODARD *et al*, 2011; STRAHM *et al*, 2011; DEEG *et al*, 2012; SMITH *et al*, 2013; KATO *et al*, 2014; BHATT & STEENSMA, 2016; DE WITTE *et al*, 2017; YAFOUR *et al*, 2017). A doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) é indicada como sendo a mais significativa complicação pós-transplante (DEEG *et al*, 2006; INGRAM *et al*, 2007; LV & HUANG, 2012; PLATZBECKER, 2012; VAN BESIEN, 2013; COPELAN *et al*, 2017).

Muñoz e colaboradores (2009) encontraram a recidiva em 4 (17%) dos 24 pacientes analisados em um período de 30 a 810 dias após o procedimento; a DECH foi vista em 83% das crianças e a principal causa de óbito foram complicações relacionadas ao transplante, principalmente infecções. Andolina e colaboradores (2011), a recidiva foi observada em 5 (22%) dos 23 pacientes estudados em uma média de tempo de 5 meses após o transplante; a DECH aguda foi encontrada em 35% dos pacientes e a crônica, em 96%. A principal causa de óbito foram infecções após o transplante. Smith e colaboradores (2013), observaram a recidiva em 7 (20%) dos 37 pacientes analisados em um intervalo de 2 anos; a incidência de DECH aguda foi de 57% e de crônica, 19%;

a principal causa de óbito foi a mortalidade relacionada ao tratamento, em 25% dos pacientes. Basquiera e colaboradores (2015), encontraram a recidiva em 11 (21%) dos 52 pacientes da pesquisa, em um período médio de 9 meses após o transplante. A DECH foi observada em 44% dos casos e foi a principal causa de morte. Em nosso estudo, a recidiva foi detectada em 17 (37%) dos 46 pacientes analisados; a DECH foi observada em 52% das crianças e a principal causa de óbito foi a recidiva da doença, o que está de acordo com os estudos de Gyurkocza e colaboradores (2010) e Copelan e colaboradores (2017), realizados em pacientes adultos.

Um dos fatores de risco para a recidiva da doença é a presença de anormalidades citogenéticas ou moleculares nos pacientes (DEEG *et al*, 2012; KANAKRY *et al*, 2014; YAFOUR *et al*, 2017). Muñoz e colaboradores (2009), Andolina e colaboradores (2011), Smith e colaboradores (2013), e Basquiera e colaboradores (2015) não discutem o impacto dos cariótipos anormais na recidiva da SMD. Em nosso estudo, 82% dos pacientes que apresentaram recidiva da doença tinham alterações cromossômicas, o que está de acordo com estudo de Kobbe e colaboradores (2018), realizado em adultos.

No presente estudo, a recidiva da SMD esteve associada às seguintes alterações cromossômicas: del(11)(q23), alterações envolvendo o cromossomo 7, cariótipo complexo, cromossomo marcador, alteração biclonal, del(17)(p12), +8 e del(12)(p12).

A del(11q) vem sendo considerada uma alteração de bom prognóstico (SOLÉ *et al*, 2005). Na região q23 do cromossomo 11 está localizado o gene *KMT2A* que tem um papel importante na regulação da expressão gênica nos estágios iniciais do desenvolvimento e da hematopoese. Nos adultos portadores de SMD, o gene *KMT2A* já foi associado à transformação leucêmica (IBRAHIM *et al.*, 2000). A deleção da região 11q 23 já foi relatada em recaídas de pacientes LMA (HACKL *et al*, 2017), no entanto, seu significado prognóstico ainda não é claro (MA *et al*, 2002; SAROVA *et al*, 2013; MITELMAN *et al*, 2017; HACKL *et al*, 2017). Em nosso grupo de estudo, observamos que a recidiva ocorreu em 3 pacientes com del(11)(q23), com todos eles vindo a óbito. Porém, ainda são poucos os estudos mostrando a associação e o significado do envolvimento do gene *KMT2A* na SMD pediátrica (RODRIGUES *et al.*, 2007; WANG *et al*, 2011).

Alterações do cromossomo 7 estão associadas a um prognóstico mais desfavorável e uma redução da sobrevida global em SMD e outras doenças malignas mieloides (SCHANZ *et al*, 2012; ZAHID *et al*, 2017). A monossomia de 7 está relacionada a citopenias refratárias severas e maior susceptibilidade a infecções

(KAWANKAR & VUNDINTI, 2011). No presente estudo, dois pacientes com alterações do cromossomo 7 apresentaram recidiva; um paciente com del(7q) isolada, que sobreviveu, e um paciente com -7 isolada, que veio a óbito. Obtivemos o caso de um paciente que apresentou clones com a del(7q) e a -7, no entanto, essa criança faleceu um mês após o TCTH alogênico, não sendo possível o acompanhamento pós-transplante.

O cromossomo marcador é um cromossomo com estrutura anormal e cuja identificação não pode ser feita através das técnicas convencionais de bandeamento. Tem origem desconhecida e aparece como um cromossomo adicional no cariótipo podendo estar presente ou não em todas as células (MALUF *et al*, 2011; MCGOWAN-JORDAN *et al*, 2016). Nesses casos, torna-se importante o emprego de técnicas mais avançadas de citogenética molecular, como o multi-color-banding (MCB) na tentativa de caracterizar o cromossomo marcador. Não foi encontrado na literatura algum estudo que tratasse do impacto da presença de cromossomos marcadores no desfecho de pacientes com SMD. Em nossa pesquisa, 2 dos 46 pacientes analisados tinham cariótipo com a presença de cromossomo marcador, sendo que os 2 vieram a óbito.

Clones citogeneticamente não relacionados são raros em doenças hematológicas e sua frequência na SMD é de, aproximadamente 5% (HAN *et al*, 2006; RODRIGUES *et al*, 2007). Ainda não está bem elucidado se os clones que não tem relação citogenética entre si indicam a verdadeira biclonalidade da SMD ou são apenas resultado da evolução clonal de um precursor comum. Rodrigues e colaboradores (2007) e Han e colaboradores (2006) acreditam na origem a partir de um clone maligno comum por meio de alterações moleculares e processos evolutivos submicroscópicos. No presente estudo, foram encontrados 3/46 (7%) pacientes com alteração biclonal. Um deles apresentou o cariótipo 46,XY,del(17)(p12)[9]/46,XYdel(17)(p12),del(12)(p12)[5]/46,XY,del(11)(q23)[3]/46,XY[34] pelo bandeamento GTG. A análise por FISH confirmou a del(11)(q23) e a del(17)(p12). O paciente foi encaminhado para o TCTH alogênico no qual recebeu células de sangue de cordão umbilical; atualmente, encontra-se em remissão completa. Esse caso foi relatado em publicação do nosso grupo em 2007. O segundo paciente foi uma menina de 13 anos que apresentou o cariótipo 47,XX,+21[6]/47,XX,+mar[8]/48,XX,+21,+mar[4]/46,XX[10] pelo bandeamento GTG. O clone principal [47,XX,+mar] adquiriu uma segunda alteração cromossômica [+21], sugerindo uma evolução da doença. Essa paciente foi submetida ao TCTH alogênico

com células mobilizadas de sangue periférico; apresentou recidiva da doença e veio a óbito 82 meses após o procedimento. O terceiro paciente foi um menino de 5 anos que apresentou o cariótipo 48,XY,+X,+8[6]/46,XY,add(7)(p22)[9]/46,XY[9] ao diagnóstico. Essa criança foi encaminhada para o TCTH alogênico, onde recebeu células de sangue de cordão umbilical; apresentou recidiva da doença e faleceu 59 meses após o transplante.

Na deleção 17p, ocorre a perda de um dos alelos do gene *TP53* (SEBAA *et al*, 2012), considerado “guardião do genoma” (ISOBE *et al*, 1986; LEVINE, 1997; ZHANG *et al*, 2017) e de fundamental importância em muitas vias oncogênicas (MULLER & VOUSDEN, 2014; CHANG *et al*, 2017). Em SMD de alto risco e SMD relacionada à terapia, as mutação em *TP53* mostraram ter um impacto prognóstico desfavorável (KANEKO *et al*, 1995; LAI *et al*, 1995; BEJAR *et al*, 2011; WONG *et al*, 2015; DUARTE *et al*, 2017; LEITE *et al*, 2017; HAIDER *et al*, 2017; PICH *et al*, 2017). Alguns estudos têm sugerido a associação da proteína p53 com o fenótipo hematológico da síndrome 5q- e pode ser um potencial alvo terapêutico para esse subgrupo da SMD (LAU *et al*, 2008; SHANGARY & WANG, 2009; DUTT *et al*, 2011; KULASEKARARAJ *et al*, 2013; SCHNEIDER *et al*, 2014; ZHANG *et al*, 2017), porém são poucos os estudos que exploram o papel da p53 nos outros subtipos da SMD que não a síndrome 5q- (MCGRAW *et al*, 2015 a e b; HAIDER *et al*, 2017; ZHANG *et al*, 2017). Em nosso estudo, a presença da del(17)(p12) foi detectada em 4 pacientes, todos classificados como sendo de risco citogenético intermediário tanto pelo IPSS como pelo IPSS-R. Desses 4 pacientes, apenas 1 apresentou a recidiva da doença vindo a óbito em aproximadamente 33 meses.

A trissomia do cromossomo 8 é uma anormalidade citogenética comum; em pacientes adultos, se correlaciona com um risco prognóstico intermediário com sobrevida global mediana de 23 meses (GREENBERG *et al*, 1997; SOLÉ *et al*, 2000; BERNASCONI *et al*, 2007; HAASE *et al*, 2007; PAULSSON & JOHANSSON, 2007; HURET, 2009; SCHANZ *et al*, 2011; GREENBERG *et al*, 2012; BERNASCONI *et al*, 2013; ZAHID *et al*, 2017). Em pacientes pediátricos, a +8 adquirida e + 21 são as anormalidades numéricas mais comuns após a monossomia 7 (CHATTERJEE & CHOUDHRY, 2013; HASLE, 2016). Apesar de a +8 como única alteração seja classificada como subgrupo de risco citogenético intermediário pelo IPSS e IPSS-R, o desfecho dos pacientes é muito variável tanto em termos de sobrevida global como de risco de evolução para LMA (SOLÉ *et al*, 2005; MA *et al*, 2010; CAZZOLA *et al*,

2011; YUE *et al*, 2016). A trissomia 8 como uma única alteração tem valor prognóstico e também influencia aberrações citogenéticas adicionais em SMD primárias (SAUMELL *et al*, 2012; HU *et al*, 2016). Porém, a importância da trissomia isolada 8 (+8) no diagnóstico da SMD ainda não está bem estabelecida (KONUMA *et al*, 2017; PETROVA-DRUS *et al*, 2017). Embora o número de pacientes com SMD portando +8 seja relativamente alto, ainda não haviam sido relatados dados referentes ao desfecho desses pacientes após o TCTH alogênico (KONUMA *et al*, 2017). Um estudo conduzido por Konuma e colaboradores, em 2017, analisou dados de registro japoneses de 381 pacientes adultos com síndrome mielodisplásica com a +8 e tratados com TCTH alogênico entre 1990 e 2013. Como resultado, encontraram 54% de sobrevida global e 22% apresentaram recidiva em 4 anos. Em nosso estudo, a +8 isolada foi associada à recidiva em 1 paciente, que veio a óbito em um período de 2 meses após o TCTH alogênico.

A deleção do braço curto do cromossomo 12 (del(12p)) é uma anormalidade característica, mas rara, em pacientes com SMD, podendo ser uma alteração simples (STREUBEL *et al*, 1998; SOLÉ *et al*, 2000, 2005; HAASE *et al*, 2007; SCHANZ *et al*, 2012; BRAULKE *et al*, 2015) ou uma alteração adicional no contexto da evolução clonal durante o curso da doença (JABBOUR *et al*, 2013; BRAULKE *et al*, 2015). A del(12p) isolada é classificada como uma alteração de prognóstico intermediário, pelo IPSS (GREENBERG *et al*, 1997; BRAULKE *et al*, 2015), e como uma alteração de bom prognóstico, pelo IPSS-R com sobrevida global média de 76 meses (GREENBERG *et al*, 2012; SCHANZ *et al*, 2012; BRAULKE *et al*, 2015); é uma deleção intersticial curta que envolve o gene *ETV6 / TEL* (YAMAMOTO *et al*, 2000). O gene *ETV6 / TEL* codifica um fator de transcrição da família ETS. Estudos de “knockout” genético em camundongos sugerem que esse gene participa da hematopoese, entre outros processos; está envolvido em um grande número de rearranjos cromossômicos associados à leucemia (NIH k, 2018). A del(12p) raramente ocorre nos estágios iniciais da doença, contudo mais frequentemente como um passo secundário no contexto de uma evolução citogenética (BRAULKE *et al*, 2015). Solé e colaboradores, em estudo de 2005 com 968 pacientes com idades de 1 a 94 anos, procuraram identificar anormalidades cromossômicas com um prognóstico bom ou desfavorável não reconhecidas anteriormente pelas escalas prognósticas, a fim de encontrar novos marcadores citogenéticos com valor preditivo. Como resultado, encontraram, entre outras alterações, a del(12p). Os pacientes com del(12p) como

alteração isolada apresentaram sobrevida maior que aqueles com cariótipo normal, mas o risco de evolução leucêmica foi semelhante em ambos. Também observaram que os pacientes com del(12p) como única alteração tiveram prognóstico similar ao dos pacientes no grupo de risco citogenético de bom prognóstico. Brulke e colaboradores, em estudo de 2015, analisaram especificamente a del(12p) em 28 pacientes com SMD, como idades de 16 a 91 anos, e discutiram a escassez de estudos envolvendo essa alteração bem como seu possível caráter subestimado como parte de cariótipos complexos. Não puderam avaliar a sobrevida global dos pacientes com a del(12p) isolada devido ao baixo número de pacientes com a alteração, sugerindo mais estudos a respeito. Em nosso estudo, a recidiva foi detectada em 1 dos 2 pacientes que apresentaram a del(12p) ao diagnóstico. Ambos os pacientes encontram-se vivos e em remissão.

O cariótipo complexo é amplamente considerado desfavorável com altas taxas de transformação leucêmica e uma pequena sobrevida global (GREENBERG *et al*, 1997; HAASE *et al*, 2007; POZDNYAKOVA *et al*, 2008; PATNAIK *et al*, 2011; SCHANZ *et al*, 2012; KELAIDI *et al*, 2014; ZINI *et al*, 2017) sendo o fator de risco mais desfavorável em pacientes com síndrome mielodisplásica (VALCÁRCEL *et al*, 2013). Greenberg e colaboradores, no estudo de 1997 que deu origem ao IPSS, classificaram os cariótipos complexos no grupo de alto risco, com sobrevida média de 3 meses. Haase e colaboradores, em estudo de 2007 com 1981 pacientes com SMD primária, mostraram uma maior frequência de cariótipos complexos nos estágios mais avançados da SMD comparado ao estágio inicial, e uma sobrevida de apenas 9 meses. Hwang e colaboradores, em estudo de 2014 com 243 pacientes tratados com azacitidina (um agente hipometilante), mostraram que os pacientes com cariótipo complexo apresentaram menores taxas de resposta e menor sobrevida global. Em nossa pesquisa, detectamos 3 (7%) pacientes com cariótipos complexos, dos quais 2 apresentaram recidiva da doença e vieram a óbito. A análise citogenética permitiu observar que somente 1/14 paciente com cariótipo anormal e recidiva da doença apresentou evolução clonal; essa criança foi, justamente, um dos pacientes com cariótipo complexo. Esse menino iniciou uma investigação sobre uma trombocitopenia em evolução, no ano de 2016; a análise citogenética nas células de medula óssea por bandeamento GTG mostrou o cariótipo complexo 49,XY,del(3)(q21),del(6)(q21),+del(6)(q21),+8,del(12)(p11) em 100% das células analisadas, e ele recebeu o diagnóstico de AREB. Em poucos meses apresentou evolução da doença (para AREB-t)

e recebeu indicação para o TCTH alogênico. No D+180, a análise citogenética detectou a presença de 1 das 19 células observadas exibindo o cariótipo 50,XY,del(3)(q21),+der(3)del(3)(q21),del(6)(q21),+der(6)(q21),+8,+der(12)(p11)[1]; A análise por FISH confirmou a presença da +8, uma das alterações nesse cariótipo complexo, indicando o início da recidiva da doença. Essa criança veio a óbito 8 meses após o transplante. O caso desse paciente mostra a importância da análise citogenética no acompanhamento pós-TCTH alogênico.

Um fato que também chamou a atenção em nosso estudo foi a frequência de 18% de pacientes que apresentaram recidiva terem cariótipos normais. Esse padrão cromossômico é classificado como sendo de bom prognóstico pelas escalas IPSS e IPSS-R (GREENBERG *et al*, 1997, 2012). A presença de pacientes que possuem cariótipo normal entre aqueles doentes que apresentaram recidiva da doença sugere que possam haver microdeleções ou alterações a nível molecular que exercem influência nesse desfecho (BOULTWOOD & WAINSCOAT, 2007; BEJAR *et al*, 2011; CIABATTI *et al*, 2017; UDAYAKUMAR *et al*, 2017; OUAHCHI *et al*, 2018). Mohamedali e colaboradores, em estudo publicado em 2007 com 119 pacientes adultos com SMD, detectaram 10% de deleções crípticas e 8% de ganhos cromossômicos por análises de “SNP array” em pacientes considerados de baixo risco, que possuem uma frequência em torno de 50% de cariótipos normais (HAASE *et al*, 2007; YEUNG *et al*, 2017). Volkert e colaboradores, em estudo de 2016, analisaram 520 pacientes com idades entre 8 e 90 anos, cariótipo normal e diversos subtipos de SMD por array CGH. Nesse estudo foi possível observar que pacientes com deleções submicroscópicas apresentaram pior prognóstico em relação aos que não possuem.

A citogenética de alto risco de acordo com IPSS ou IPSS-R influencia significativamente o risco de recidiva (ONIDA *et al*, 2014; KOENECKE *et al*, 2015; DE WITTE *et al*, 2017; KRÖGER, 2017).

Muñoz e colaboradores (2009) e Basquiera e colaboradores (2015) não discutem os grupos de risco citogenético do IPSS. No estudo de Andolina e colaboradores (2011), a pontuação do IPSS, entre outras variáveis, não teve impacto na sobrevida livre de recidiva nem na sobrevida global. Em nosso estudo, 50% dos pacientes classificados, pelos grupos de risco citogenético de acordo com o IPSS, como sendo de prognóstico desfavorável apresentaram recidiva da doença, seguido por 42% dos pacientes de prognóstico intermediário; a mortalidade relacionada à recidiva, no entanto foi maior nos pacientes do grupo de prognóstico intermediário (33%). Pelos grupos de risco

citogenético de acordo com o IPSS-R, a recidiva foi observada em 67% dos pacientes considerados de prognóstico muito desfavorável; um fato que chamou bastante a atenção foi que 60% dos pacientes considerados de muito bom prognóstico também apresentaram recidiva. No entanto, quando fizemos a “correção” da citogenética, considerando a del(11)(q23) e a +8 como alterações de prognóstico desfavorável, houve uma melhor distribuição nos grupos de risco citogenético. Pelo IPSS, a distribuição ficou mais homogênea, com 57% dos pacientes de prognóstico desfavorável apresentando recidiva, seguido pelo grupo de prognóstico intermediário (33%) e o grupo de bom prognóstico (21%). No IPSS-R houve uma grande mudança, que refletiu melhor o desfecho dos pacientes; não foram encontrados pacientes considerados de muito bom prognóstico. A recidiva foi detectada em 67% dos pacientes de prognóstico muito desfavorável, seguido por 45% dos pacientes de prognóstico desfavorável, 37% dos pacientes de prognóstico intermediário e 25% dos pacientes de bom prognóstico.

A recaída tem sido um dos principais fatores associados com a mortalidade em pacientes pediátricos, com uma taxa de recaída estatisticamente significativa maior nos casos de AREB e AREB-t em comparação com CR (KARDOS *et al*, 2003). Entre os estudos que limitam a SMD para incluir AR /ARSA (anemia refratária com sideroblastos em anel), AREB e AREB-t de acordo com a FAB ou a classificação modificada da OMS, as estimativas de sobrevida livre de doença variam de 38 a 60,9% aos 10 meses a 8 anos (GUINAN *et al*, 1989; ROCHA *et al*, 2009; PARIKH *et al*, 2009; WOODARD *et al*, 2011). Alguns trabalhos apontam que o desfecho após o TCTH alogênico é similar para os pacientes pediátricos classificados em AREB e em AREB-t, mas significativamente menor em pacientes que evoluem para LMA (STRAHM *et al*, 2011; HASLE, 2016). Um estudo publicado por Robin e colaboradores em 2017 analisou retrospectivamente 246 pacientes com SMD e encontrou, entre outros resultados, que uma alta porcentagem de blastos é um fator prognóstico desfavorável para a sobrevida global de 3 anos como evidenciado pelas contagens de blastos no transplante (blastos de medula <5%: 60% vs 6-10%: 47%) ou com base na classificação da doença FAB (AREB: 47% vs outros grupos FAB: 73%).

No estudo de Muñoz e colaboradores (2009), nenhuma correlação foi observada entre a taxa de recaída e a classificação FAB. Andolina e colaboradores (2011) discutem os estágios da SMD em função da porcentagem de blastos (<5% de blastos [AR], 5-19% de blastos [AREB] e 20-29% de blastos [AREB-t]). Ao contrário de estudos anteriores que mostram aumento da recidiva com o aumento da porcentagem de blastos na medula

óssea no momento do diagnóstico (PASSMORE *et al*, 1995; HASLE *et al*, 1999; YUSUF *et al*, 2004), o grupo não observou qualquer correlação entre a porcentagem de blastos e o desfecho. Smith e colaboradores (2013) mostraram que os resultados de sobrevida global, sobrevida livre de doença e enxertia tiveram melhora após 1999. No estudo de Basquiera e colaboradores (2015), com um seguimento mediano de 22,1 meses (intervalo: 6,5-187 meses), a sobrevida livre de doença de 5 anos e a sobrevida global de 5 anos para todos os doentes foram de 50% e de 55% (IC95%) 40-67%) respectivamente; para CCR, 64% e 68% respectivamente; e para SMD avançada, 30% e 33% (IC95% 13–54%), respectivamente.

Em nosso estudo, 35% dos pacientes classificados em CR (o estágio inicial) e 65% daqueles classificados em AREB e AREB-t (os estágios avançados) apresentaram recidiva da doença, o que está de acordo com o relatado na literatura, onde é observado que as taxas de recidiva em AREB e AREB-t são superiores em relação à CR.

Muñoz e colaboradores, em estudo de 2009, relataram a experiência do Grupo de Trabalho Espanhol para Transplante de Sangue e Medula na Criança (GETMON) com o uso de TCTH alogênico com doadores aparentados e não aparentados e sangue do cordão umbilical na SMD pediátrica. Foram analisados 24 pacientes, com média de idade de 10 anos. Desses, 20 pacientes receberam células-tronco de medula óssea (12 de doador aparentado e 8 de doador não aparentado) e 4 receberam sangue de cordão umbilical não aparentado. A sobrevida livre de doença em pacientes que receberam células-tronco de doadores aparentado foi de 50%. A utilização de doadores não aparentados foi associada a uma maior incidência de DECH aguda e crônica, mortalidade relacionada ao transplante mais elevada e uma taxa de sobrevida livre de doença de cerca de 29%.

Smith e colaboradores (2013), utilizaram como fontes de células-tronco medula óssea de doador aparentado, medula óssea de doador não aparentado, e sangue de cordão umbilical não aparentado e mostraram que o tipo de doadores não teve impacto significativo na sobrevida livre de doença de 3 anos, em uma análise multivariada.

No estudo de Basquiera e colaboradores (2015), foram encontrados 59% pacientes com doadores aparentados e 41% de pacientes com doadores não aparentados. A análise univariada identificou que o tipo de doador é um dos fatores que impactam significativamente a sobrevida livre de doença.

Em nosso estudo, a recidiva foi observada em 32% dos pacientes submetidos ao TCTH alogênico com doador aparentado e em 50% daqueles com doador não

aparentado; a mortalidade relacionada à recidiva também foi superior entre as crianças com doador não aparentado (42% contra 23%). Esses achados estão de acordo os resultados encontrados por Muñoz e colaboradores, que indicam menor taxa de recidiva para os pacientes que receberam células-tronco de doadores aparentados.

No estudo de Muñoz e colaboradores (2009), 20 pacientes receberam enxerto de medula óssea (12 eram aparentados e 8, não aparentados), e 4 pacientes receberam células de sangue de cordão umbilical não aparentado. A recidiva da doença foi observada em 4 pacientes, sendo 1 (25%) paciente que recebeu medula óssea de doador aparentado, 2 (50%) pacientes que receberam medula óssea de doador não aparentado e 1 (25%) paciente que recebeu sangue de cordão umbilical não aparentado. No estudo de Andolina e colaboradores (2011), foram identificados 13 (57%) pacientes que receberam células mobilizadas de sangue periférico, 7 (30%) pacientes que receberam sangue de cordão umbilical e 3 (13%) pacientes que receberam enxerto de medula óssea. O grupo não encontrou nenhuma associação entre a sobrevida livre de recidiva ou a sobrevida global com a fonte de células-tronco, entre outros fatores. Smith e colaboradores (2013), em sua análise multivariada, encontraram que a fonte de células-tronco não teve impacto significativo na sobrevida livre de doença de 3 anos. No estudo de Basquiera e colaboradores (2015), 63% dos pacientes receberam enxerto de medula óssea, 26% receberam células mobilizadas de sangue periférico e 11% receberam sangue de cordão umbilical. A análise univariada detectou a fonte de células-tronco hematopoéticas como um dos fatores que impactam a sobrevida livre de doença e a sobrevida global. Na análise multivariada, o uso de cordão umbilical foi uma das variáveis associadas a menor sobrevida global.

Em nosso estudo, a recidiva da doença foi detectada em 13 dos pacientes que receberam células de medula óssea, em 3 dos pacientes que receberam células de sangue de cordão umbilical, e no único paciente que recebeu células mobilizadas de sangue periférico. A mortalidade relacionada à recidiva também foi maior quando células mobilizadas de sangue periférico foram utilizadas, seguido pelo sangue de cordão e medula óssea. Portanto, nossos resultados sugerem que a melhor fonte de célula-tronco para os pacientes pediátricos submetidos ao TCTH alogênico é medula óssea.

A Tabela 5.1 mostra alguns achados de estudos com pacientes pediátricos com SMD tratados com TCTH alogênico, incluindo os nossos resultados.

Tabela 5.1: Estudos em pacientes pediátricos com SMD tratados com TCTH alogênico

Ano do estudo	Grupo responsável	Objetivo do estudo	Nº de pacientes estudados	Idade média dos pacientes em anos (variação)	Classificação da doença	Principal causa de insucesso do TCTH alogênico
2009	Muñoz <i>et al</i> (Espanha)	Comparação entre o uso de doadores aparentados, não aparentados e sangue de cordão umbilical na SMD da infância.	24	10 (3-18)	CR AREB AREB-t	Infecções
2011	Andolina <i>et al</i> (Estados Unidos)	Analisar fatores de risco, desfecho e diferentes regimes de condicionamento para crianças com SMD.	23	9 (4-17)	AR AREB AREB-t SMD-t	Infecções
2013	Smith <i>et al</i> (Estados Unidos)	Investigar se as características do paciente, da doença ou do tratamento podem prever os resultados pós-TCTH em crianças com SMD.	37	11 (1-21)	CR AREB SMD secundária	Tempo de espera para o TCTH \geq 140 dias
2015	Basquiera <i>et al</i> (Argentina)	Analisar retrospectivamente os desfechos do TCTH alogênico em pacientes pediátricos com SMD.	52	8 (1-16)	CR AREB AREB-t LMMJ	DECH
2018	Kós <i>et al</i> (Brasil)	Analisar o impacto prognóstico do padrão cromossômico em pacientes pediátricos com SMD primária tratados com TCTH alogênico	46	10 (1-18)	CR AREB AREB-t	Recidiva

SMD: síndrome mielodisplásica; **TCTH:** transplante de células-tronco hematopoéticas; **CR:** citopenia refratária; **AREB:** anemia refratária com excesso de blastos; **AREB-t:** anemia refratária com excesso de blastos em transformação; **SMD-t:** síndrome mielodisplásica relacionada à terapia; **LMMJ:** leucemia mielomonocítica juvenil

É interessante notar que a maioria dos estudos em transplante em SMD primária, os resultados de citogenética não estão disponíveis e diferentes métodos foram utilizados para categorizar os cariótipos em grupos de risco (APPELBAUM *et al.*, 1990; LONGMORE *et al.*, 1990; O'DONNELL *et al.*, 1995; SUTTON *et al.*, 1996; BOULAD *et al.*, 1996; ANDERSON *et al.*, 1996; VALERA *et al.*, 2004; ARMAND *et al.*, 2007; ARMAND *et al.*, 2008; NEVILL *et al.*, 2009; ATALLAH *et al.*, 2010), principalmente em relação aos pacientes pediátricos (ANDOLINA *et al.*, 2011).

O primeiro estudo de transplante de medula óssea em pacientes com SMD primária utilizando grupos de risco citogenéticos segundo o IPSS foi descrito por Nevill e colaboradores (1998). Neste estudo, envolvendo apenas pacientes adultos, foi observado que mesmo com o transplante os pacientes com cariótipos associados a mau prognóstico apresentaram uma evolução pós-transplante desfavorável. Todavia, os resultados em relação ao transplante têm melhorado nas últimas décadas, devido a diversos fatores como diminuição do tempo entre o diagnóstico e o transplante, regimes de condicionamento menos agressivos para pacientes com idade mais avançada e avanços na terapia de suporte, o que têm contribuído para uma melhor sobrevida livre de doença (CUTLER *et al.*, 2004; NEVILL *et al.*, 2009). A utilização de terapias antivirais e o desenvolvimento de novos agentes anti-fúngicos apresentaram impacto na mortalidade não relacionada à recidiva nas últimas décadas, além disso o aperfeiçoamento na tipagem HLA levou a uma redução na incidência de DECH pós-TCTH alogênico (NEVILL *et al.*, 2009).

Estudos mostraram que o grupo de alto risco segundo o IPSS (SIERRA *et al.*, 2002; NEVILL *et al.*, 2009) e, mais especificamente, a citogenética de alto risco (DEEG *et al.*, 2002; NEVILL *et al.*, 2009) são fatores altamente preditivos de recidiva pós-TCTH, levando a uma sobrevida livre de doença menos favorável. O TCTH alogênico é a única forma de tratamento associada com um aumento na sobrevida livre de doença a longo prazo em pacientes com SMD primária. Em nosso estudo, a porcentagem de blastos e a citogenética foram fortes preditores da recidiva e sobrevivência pós-TCTH alogênico.

Avanços no campo do transplante, como a possibilidade de utilização de células de sangue de cordão umbilical, o desenvolvimento dos transplantes haploidênticos, a utilização de regimes de condicionamento de intensidade reduzida, vêm permitindo que um número cada vez maior de pacientes seja tratado com o TCTH alogênico. Os principais fatores prognóstico que influenciam o resultado do transplante de pacientes

com SMD são: o número de blastos na medula óssea, citopenias no sangue periférico, fibrose da medula, citogenética e citogenética molecular (KRÖGER *et al*, 2011; VAN GELDER *et al*, 2013; BEJAR *et al*, 2014; ONIDA *et al*, 2014; GAUTHIER *et al*, 2015; KOENECKE *et al*, 2015; CHRISTOPEIT *et al*, 2016; DELLA PORTA *et al*, 2016; SHAFFER *et al*, 2016; KRÖGER, 2017). Nossos resultados corroboram estudos prévios acerca da importância da citogenética para diagnóstico, prognóstico e escolha da terapia para pacientes com SMD.

Em razão da extrema heterogeneidade da SMD, seu variado curso clínico e, também, devido aos riscos envolvidos no TCTH alogênico, faz-se necessário determinar com relativa precisão quem são os pacientes que podem obter significativa melhora na qualidade de vida se submetidos a tal tratamento. Avanços nos tipos de regimes de condicionamento e antibióticos têm melhorado as taxas de mortalidade não relacionada à recidiva. O desenvolvimento de novas modalidades de intervenção pode ajudar a diminuir as recidivas, maior causa de insucesso do TCTH alogênico. O presente trabalho é pioneiro no Brasil em estudar o impacto do padrão cromossômico em pacientes pediátricos tratados com TCTH alogênico.

Em nosso estudo, o fato de alguns pacientes com alterações consideradas de prognóstico favorável ou mesmo intermediário (cariótipos normais, del(11)(q23) e +8) terem apresentado recidiva sugere que, no caso dos cariótipos normais, alterações a nível molecular podem estar atuando para esse evento. No caso das alterações cromossômicas del(11)(q23) e +8, estudos envolvendo um número maior de pacientes são necessários para avaliar o valor prognóstico dessas alterações. Nossos resultados também mostraram a importância da citogenética na seleção e na indicação dos pacientes pediátricos para o TCTH alogênico no estágio inicial da SMD (CR), aumentando a sobrevida dessas crianças e possibilitando a cura da doença. Também acreditamos que o alto índice de pacientes classificados no risco citogenético de prognóstico intermediário se deva ao fato de que existem alterações cromossômicas classificadas nesse subgrupo que ainda possuem valor prognóstico controverso, necessitando um maior número de estudos para avaliá-las.

6 – CONCLUSÕES

Após a análise dos resultados encontrados no presente estudo, foi possível chegar às seguintes conclusões:

- Cariótipos anormais foram encontrados em 72% do total de 46 pacientes pediátricos com SMD pré-TCTH alogênico;
- As principais alterações cromossômicas encontradas foram: -7, del(11)(q23) e del(17)(p12);
- A frequência de cariótipos anormais aumenta conforme a doença evolui do estágio inicial [CR (62%)] para os estágios mais avançados [AREB (82%) e AREB-t (100%)];
- Não foi encontrada uma alteração cromossômica específica associada a um determinado subtipo da SMD pediátrica. Alterações envolvendo o cromossomo 7, por exemplo, que estão associadas a um mau prognóstico, puderam ser vistas tanto no subtipo inicial (CR) como nos mais avançados (AREB e AREB-t), mostrando a importância da citogenética selecionando esses pacientes para o TCTH alogênico;
- O padrão cromossômico na SMD pediátrica é caracterizado, principalmente, por perdas parciais e completas de cromossomos (as deleções e monossomias), assim como pelo ganho cromossômico (as trissomias);
- A presença de cariótipos anormais teve um grande impacto na recidiva da SMD pós – TCTH alogênico;
- As principais alterações cromossômicas associadas com a recidiva da doença foram: a del(7q) e - 7, + 8, alteração cromossômica biclonal, del(11)(q23), del(12p), del(17p), +mar e cariótipo complexo;
- O IPSS, em relação ao risco citogenético, mostrou ser um sistema mais eficaz para avaliar a recidiva e a mortalidade relacionada à recidiva em comparação

ao IPSS-R uma vez que, em nosso estudo, a del(11)(q23) esteve associada com a recidiva e óbito e o IPSS-R considera essa alteração como sendo de muito bom prognóstico;

- Quando utilizada a citogenética "corrigida" (considerando a del(11)(q23) e a +8 como alterações de prognóstico desfavorável), os grupos de risco citogenético pelo IPSS e IPSS-R puderam prever com mais precisão a recidiva e a mortalidade relacionada à recidiva;
- Pacientes em estágios avançados da SMD apresentaram maior taxa de recidiva do que aqueles classificados no estágio inicial, mostrando o impacto do estágio da doença na recaída desses pacientes;
- Nossos resultados sugerem que o padrão cromossômico desempenha um importante papel na indicação dos pacientes pediátricos para o TCTH alogênico, principalmente selecionando os pacientes com alterações cromossômicas específicas para esse tratamento na fase inicial da doença (CR);

7 – REFERÊNCIAS

AANEI CM, PICOT T, TAVERNIER E, *et al.* **Diagnostic Utility of Flow Cytometry in Myelodysplastic Syndromes.** *Front Oncol.* 2016 Jun 27; 6:161.

ABTO - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TRANSPLANTE DE ÓRGÃO. **Manual de informações ao paciente de TMO.** Disponível em: <<http://www.abto.org.br/abtov03/default.aspx?c=933>>. Acesso em: 15 out. 2017

ALESSANDRINO EP, PORTA MG, MALCOVATI L, *et al.* GRUPPO ITALIANO TRAPIANTO DI MIDOLLO OSSEO (GITMO). **Optimal timing of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with myelodysplastic syndrome.** *Am J Hematol.* 2013;88:581-588.

ALLARD M, OGER R, BENLALAM H, *et al.* **Soluble HLA-I/peptide monomers mediate antigen-specific CD8 T cell activation through passive peptide exchange with cell-bound HLA-I molecules.** *J Immunol.* 2014 192:5090–7.

ALTER BP, GIRI N, SAVAGE SA, *et al.* **Malignancies and survival patterns in the National Cancer Institute inherited bone marrow failure syndromes cohort study.** *Br J Haematol.* 2010;150: 179-188.

ANDERSON JE, APPELBAUM FR, FISHER LD *et al.* **Allogeneic bone marrow transplantation for 93 patients with myelodysplastic syndrome.** *Blood.* 1993;82:677–681.

ANDERSON JE, APPELBAUM FR, SCHOCH G, *et al.* **Allogeneic marrow transplantation for myelodysplastic syndrome with advanced disease morphology: A phase II study of busulfan, cyclophosphamide, and total-body irradiation and analysis of prognostic factors.** *J Clin Oncol* 14:220, 1996

ANDOLINA JR, KLETZEL M, TSE WT, *et al.* **Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in pediatric myelodysplastic syndromes: improved outcomes for de novo disease.** *Pediatr Transplant.* 2011;15:334-43.

APPELBAUM FR, BARRALL J, STORB R, *et al.* **Bone marrow transplantation for patients with myelodysplasia. Pretreatment variables and outcome.** Ann Intern Med. 1990;112:590-7

ARCIONI F, RONCADORI A, DI BATTISTA V, *et al.* **Lenalidomide treatment of Myelodysplastic Syndromes with chromosome 5q deletion. Results from the National Registry of the Italian Drug Agency.** Eur J Haematol. 2018

ARMAND P, DEEG HJ, KIM HT, *et al.* **Multicenter validation study of a transplantation-specific cytogenetics grouping scheme for patients with myelodysplastic syndromes.** Bone Marrow Transplant. 2010;45:877-85.

ARMAND P, KIM HT, CUTLER CS. **A prognostic score for patients with acute leukemia or myelodysplastic syndromes undergoing allogeneic stem cell transplantation.** Biology and Blood Marrow Transplantation 2008; 14:28-35. 2008.

ARMAND P, KIM HT, DE ANGELO DJ, *et al.* **Impact of cytogenetics on outcome of de novo and therapy-related AML and MDS after allogeneic transplantation.** Biology and Blood Marrow Transplantation 2007:655-64.

ARRUDA JA, BORDIN BM, MIRANDA LCB, *et al.* **Proteína P53 e o câncer: controvérsias e esperanças.** Estudos, Goiânia, v. 35, n. 1/2, p. 123-141. 2008.

ATALLAH E, ABRAMS J, AYASH L, *et al.* **Long term follow-up of allogeneic stem cell transplantation in patients with myelodysplastic syndromes using busulfan, cytosine arabinoside, and cyclophosphamide.** Am J Hematol. 2010;85:579-83.

AUER PL, TEUMER A, SCHICK U, *et al.* **Rare and low-frequency coding variants in CXCR2 and other genes are associated with hematological traits.** Nat Genet 46: 629-34, 2014.

AUL C, BOWEN DT, YOSHIDA Y. **Pathogenesis, etiology and epidemiology of myelodysplastic syndromes.** Haematologica. 1998. 83:71-86.

AUL C, GATTERMAN N, HEYLL A, GERMING U. **Primary myelodysplastic syndromes: Analysis of prognostic factors in 235 patients and proposals for an improved scoring system.** *Leukemia* 6:52, 1992.

AUL C, GATTERMANN N, SCHNEIDER W. **Epidemiological and etiological aspects of myelodysplastic syndromes.** *Leuk Lymphoma.* 1995;16:247-62.

AZEVEDO W, RIBEIRO MCC. **Fontes de células-tronco hematopoéticas para transplantes.** *Medicina, Ribeirão Preto,* 33: 381-389, 2000.

BACHER U, HAFERLACH T, SCHNITTGER S, *et al.* **Investigation of 305 patients with myelodysplastic syndromes and 20q deletion for associated cytogenetic and molecular genetic lesions and their prognostic impact.** *Br J Haematol.* 2014;164:822-833.

BACHER U, SCHNITTGER S, KERN W, *et al.* **Distribution of cytogenetic abnormalities in myelodysplastic syndromes, Philadelphia negative myeloproliferative neoplasms, and the overlap MDS/MPN category.** *Ann Hematol.* 2009;88:1207-1213.

BADER P, NIETHAMMER D, WILLASCH A, *et al.* **How and when should we monitor chimerism after allogeneic stem cell transplantation?** *Bone Marrow Transplant.* 2005;35:107-19.

BAEK HJ, KOOK H, HAN DK, *et al.* **Hematopoietic stem cell transplantation in children with leukemia: a single institution experience with respect to donors.** *J Korean Med Sci.* 2011;26:1548-55.

BARKER JN, KREPSKI TP, DEFOR TE, *et al.* **Searching for unrelated donor hematopoietic stem cells: availability and speed of umbilical cord blood versus bone marrow.** *Biol Blood Marrow Transplant.* 2002;8:257-260.

BARKER JN, SCARADAVOU A, STEVENS CE. **Combined effect of total nucleated cell dose and HLA match on transplantation outcome in 1061 cord blood recipients with hematologic malignancies.** *Blood.* 2010;115:1843-9.

BARON F, MARIS MB, SANDMAIER BM, *et al.* **Graft-versus-tumor effects after allogeneic hematopoietic cell transplantation with nonmyeloablative conditioning.** *J. Clin. Oncol.* 2005;23:1993–2003.

BARON F, SANDMAIER BM. **Chimerism and outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation following nonmyeloablative conditioning.** *Leukemia* 2006; 20:1690-700.

BARRETT D, FISH JD, GRUPP SA. **Autologous and allogeneic cellular therapies for high-risk pediatric solid tumors.** *Pediatr Clin North Am.* 2010;57:47–66.

BASQUIERA AL, PIZZI S, CORREAS AG, *et al.* **Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in pediatric myelodysplastic syndromes: a multicenter experience from Argentina.** *Pediatr Blood Cancer.* 2015;62:153-7.

BAUMANN I, NIEMEYER CMBJ, SHANNON K. **WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues.** Lyon, France: IARC Press; 2008:104-107.

BEJAR R, STEVENSON K, ABDEL-WAHAB O, *et al.* **Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes.** *N Engl J Med.* 2011;364:2496-2506.

BEJAR R, STEVENSON KE, CAUGHEY B, *et al.* **Somatic mutations predict poor outcome in patients with myelodysplastic syndrome after hematopoietic stem cell transplantation.** *J Clin Oncol.* 2014;32:2691-2698.

BENCH AJ, NACHEVA EP, HOOD TL, *et al.* **Chromosome 20 deletions in myeloid malignancies: reduction of the common deleted region, generation of a PAC/BAC contig and identification of candidate genes.** UK Cancer Cytogenetics Group (UKCCG). *Oncogene.* 2000;19:3902-13.

BENNETT JM, CATOVSKY D, DANIEL MT, *et al.* **Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes.** Br J Haematol. 1982;51:189-99.

BENSINGER WI, MARTIN PJ, STORER B, *et al.* **Transplantation of bone marrow as compared with peripheral-blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematologic cancers.** N Engl J Med. 2001. 18;344:175-81.

BENTO LC, CORREIA RP, PITANGUEIRAS MANGUEIRA CL, *et al.* **The Use of Flow Cytometry in Myelodysplastic Syndromes: A Review.** Front Oncol. 2017;7:270.

BERNASCONI P, CAVIGLIANO PM, BONI M, *et al.* **Is FISH a relevant prognostic tool in myelodysplastic syndromes with a normal chromosome pattern on conventional cytogenetics? A study on 57 patients.** Leukemia. 2003; 17:2107–12.

BERNASCONI P, KLERSY C, BONI M, *et al.* **Validation of the new comprehensive cytogenetic scoring system (NCCSS) on 630 consecutive de novo MDS patients from a single institution.** American journal of hematology. 2013;88:120-9.

BERNASCONI P, KLERSY C, BONI M, *et al.* **World Health Organization classification in combination with cytogenetic markers improves the prognostic stratification of patients with de novo primary myelodysplastic syndromes.** British journal of haematology. 2007;137:193-205.

BHATT VR, STEENSMA DP. **Hematopoietic Cell Transplantation for Myelodysplastic Syndromes.** J Oncol Pract. 2016;12:786-92.

BIELORAI B, TRAKHTENBROT L, AMARIGLIO N, *et al.* **Multilineage hematopoietic engraftment after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation without conditioning in SCID patients.** Bone Marrow Transplant. 2004;34:317-320.

BILHOU-NABERA C. **Del(20q) in myeloid malignancies.** Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol 2000. Disponível em:

<<http://atlasgeneticsoncology.org/Anomalies/del20qID1040.html>> Acesso em: 03 dez. 2017.

BILLINGHAM RE. **The biology of graft-versus-host reactions.** The Harvey Lectures. Academic Press; NY, USA: 1966. pp. 21–78.

BLEAKLEY M, RIDDELL SR. **Molecules and mechanisms of the graft-versus-leukaemia effect.** *Nat Rev Cancer.* 2004;4:371-80.

BLUME KG, BEUTLER E, BROSS KJ, *et al.* **Genetic markers in human bone marrow transplantation.** *Am J Hum Genet.* 1980;32:414-9.

BOLANOS-MEADE J, SMITH BD, GORE SD, *et al.* **5-Azacytidine as salvage treatment in relapsed myeloid tumors after allogeneic bone marrow transplantation.** *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011;17:754–758.

BOULAD F, CASTRO-MALASPINA H, PAPADOPOULOS E, *et al.* **Monosomy 7 predicts a poor outcome after allogeneic bone marrow transplantation (BMT).** *Blood* 88:617a, 1996.

BOULTWOOD J, FIDLER C, LEWIS S, *et al.* **Molecular mapping of uncharacteristically small 5q deletions in two patients with the 5q- syndrome: delineation of the critical region on 5q and identification of a 5q- breakpoint.** *Genomics.* 1994; 19:425–32.

BOULTWOOD J, FIDLER C, STRICKSON AJ, *et al.* **Narrowing and genomic annotation of the commonly deleted region of the 5q- syndrome.** *Blood.* 2002; 99:4638–41.

BOULTWOOD J, LEWIS S, WAINSCOT JS **a. The 5q-syndrome.** *Blood.* 1994; 84:3253–60.

BOULTWOOD J, PELLAGATTI A, CATTAN H, *et al.* **Gene expression profiling of CD34+ cells in patients with the 5q- syndrome.** *Br J Haematol.* 2007; 139:578–89.

BOULTWOOD J, WAINSCOAT JS. **Gene silencing by DNA methylation in haematological malignancies.** Br J Haematol. 2007;138:3–11.

BRAULKE F, MÜLLER-THOMAS C, GÖTZE K, *et al.* **Frequency of del(12p) is commonly underestimated in myelodysplastic syndromes: Results from a German diagnostic study in comparison with an international control group.** Genes Chromosomes Cancer. 2015;54:809-17.

BRAUN T, DE BOTTON S, TAKSIN AL, *et al.* **Characteristics and outcome of myelodysplastic syndromes (MDS) with isolated 20q deletion: a report on 62 cases.** Leuk Res. 2011;35:863-867.

BREZINOVA J, ZEMANOVA Z, RANSDORFOVA S, *et al.* **Prognostic significance of del(20q) in patients with hematological malignancies.** Cancer Genet Cytogenet. 2005;160:188-192.

BRUNET S, CASALS T, MADOZ P, *et al.* **DNA polymorphisms as implant markers in allogeneic bone marrow transplantation.** Preliminary evaluation. Med Clin (Barc). 1989;93:765-771.

BRUNSTEIN CG, EAPEN M, AHN KW, *et al.* **Reduced-intensity conditioning transplantation in acute leukemia: the effect of source of unrelated donor stem cells on outcomes.** Blood. 2012;119:5591-5598.

BRUNSTEIN CG, GUTMAN JA, WEISDORF DJ, *et al.* **Allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematologic malignancy: relative risks and benefits of double umbilical cord blood.** Blood. 2010;116:4693-4699.

CABRERO M, WEI Y, YANG H, *et al.* **Down-regulation of EZH2 expression in myelodysplastic syndromes.** Leuk Res. 2016 May; 44:1-7.

CASARINO L, CARBONE C, CAPUCCI MA, *et al.* **Analysis of chimerism after bone marrow transplantation using specific oligonucleotide probes.** *Bone Marrow Transplant.* 1992; 10:165-170.

CAZZOLA M, DELLA PORTA MG, *et al.* **Classification and prognostic evaluation of myelodysplastic syndromes.** *Semin Oncol* 2011;38:627–634.

CAZZOLA M, DELLA PORTA MG, MALCOVATI L. **The genetic basis of myelodysplasia and its clinical relevance.** *Blood.* 2013;122:4021-34.

CELGENE CORPORATION. Vidaza (Azacitidine) [Prescribing information] Summit (NJ): January 2014.

CHAMPLIN R. **Hematopoietic stem cell transplantation for treatment of myelodysplastic syndromes.** *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011;17:S6-8.

CHAN GC, WANG WC, RAIMONDI SC, *et al.* **Myelodysplastic syndrome in children: differentiation from acute myeloid leukemia with a low blast count.** *Leukemia.* 1997;11:206-11.

CHAN RJ, COOPER T, KRATZ CP, *et al.* **Juvenile myelomonocytic leukemia: a report from the 2nd International JMML Symposium.** *Leuk Res.* 2009;33:355-62.

CHANG C, STORER BE, SCOTT BL, *et al.* **Hematopoietic cell transplantation in patients with myelodysplastic syndrome or acute myeloid leukemia arising from myelodysplastic syndrome: similar outcomes in patients with de novo disease and disease following prior therapy or antecedent hematologic disorders.** *Blood.* 2007; 110:1379–1387.

CHANG CK, ZHAO YS, XU F, *et al.* **TP53 mutations predict decitabine-induced complete responses in patients with myelodysplastic syndromes.** *Br J Haematol.* 2017;176:600-608.

CHATTERJEE T, CHOUDHRY VP. **Childhood myelodysplastic syndrome.** Indian J Pediatr. 2013;80:764-71.

CHEN YB, ALDRIDGE J, KIM HT, *et al.* **Reduced-intensity conditioning stem cell transplantation: comparison of double umbilical cord blood and unrelated donor grafts.** Biol Blood Marrow Transplant. 2012;18:805-812.

CHEONG JK, VIRSHUP DM. **Casein kinase 1: Complexity in the family.** Int J Biochem Cell Biol. 2011; 43:465–9.

CHESON BD, BENNETT JM, KANTARJIAN H, *et al.* **Report of an international working group to standardize response criteria for myelodysplastic syndromes.** Blood 2000; 96:3671–3674.

CHESON BD, GREENBERG PL, BENNETT JM, *et al.* **Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia.** Blood 2006;108:419–425.

CHRISTIANSEN DH, ANDERSEN MK, PEDERSEN-BJERGAARD J. **Mutations with loss of heterozygosity of p53 are common in therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia after exposure to alkylating agents and significantly associated with deletion or loss of 5q, a complex karyotype and a poor prognosis.** J Clin Oncol 19: 1405-1413, 2001.

CHRISTOPEIT M, BADBARAN A, Alawi M, *et al.* **Correlation of somatic mutations with outcome after FLAMSA-busulfan sequential conditioning and allogeneic stem cell transplantation in patients with myelodysplastic syndromes.** Eur J Haematol. 2016;97:288-296.

CIABATTI E, VALETTO A, BERTINI V, *et al.* **Myelodysplastic syndromes: advantages of a combined cytogenetic and molecular diagnostic workup.** Oncotarget. 2017;8:79188-79200.

CIBMTR - CENTER FOR INTERNATIONAL BLOOD & MARROW TRANSPLANT RESEARCH. **Report on state of the art in blood and marrow transplantation: Slide 9.** <http://www.cibmtr.org/ReferenceCenter/SlidesReports/SummarySlides/index.html>. 2009.

CLIMENT MN. **Incidence, characterization and prognostic significance of chromosomal abnormalities in 640 patients with primary myelodysplastic syndromes.** Br J Haematol. 2000;108:346-56.

COPELAN EA, GRUNWALD MR, SANIKOMMU SR, *et al.* **Recent advances in hematopoietic cell transplantation in myelodysplastic syndrome.** Discov Med. 2017;24:51-57.

COPELAN EA. **Hematopoietic stem-cell transplantation.** N Engl J Med. 2006;354:1813-26.

COURVILLE EL, SINGH C, YOHE S, *et al.* **Patients With a History of Chemotherapy and Isolated del(20q) With Minimal Myelodysplasia Have an Indolent Course.** Am J Clin Pathol. 2016;145:459-66.

CRADDOCK C, JILANI N, SIDDIQUE S, *et al.* **Tolerability and clinical activity of post-transplantation azacitidine in patients allografted for acute myeloid leukemia treated on the RICAZA trial.** Biol Blood Marrow Transplant. 2016;22:385–390.

CRUX NB, ELAHI S. **Human Leukocyte Antigen (HLA) and Immune Regulation: How Do Classical and Non-Classical HLA Alleles Modulate Immune Response to Human Immunodeficiency Virus and Hepatitis C Virus Infections?** Front Immunol. 2017 Jul 18;8:832.

CUTLER C. **Timing of allogeneic stem cell transplantation for myelodysplastic syndromes and aplastic anemia.** Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2014; 2014:77-81.

CUTLER CS, LEE SJ, GREENBERG P, *et al.* **A decision analysis of allogeneic bone marrow transplantation for the myelodysplastic syndromes: delayed transplantation for low-risk myelodysplasia is associated with improved outcome.** *Blood.* 2004;104:579-585.

DA SILVA JUNIOR FC, ODONGO FCA, DULLEY FL. **Células-tronco hematopoéticas: utilidades e perspectivas.** *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 2009;31:53-58.

DAHLBERG A, DELANEY C, BERNSTEIN ID. **Ex vivo expansion of human hematopoietic stem and progenitor cells.** *Blood.* 2011;117:6083-6090.

DAO KT. **Myelodysplastic Syndromes: Updates and Nuances.** *Med Clin North Am.* 2017;101:333-350.

DE LIMA M, GIRALT S, THALL P, *et al.* **Maintenance therapy with low-dose azacitidine after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for recurrent acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndrome: a dose and schedule finding study.** *Cancer.* 2010;116:5420–5431.

DE SOUZA DC, FERNANDEZ C S, CAMARGO A, *et al.* **Cytogenetic as an important tool for diagnosis and prognosis for patients with hypocellular primary myelodysplastic syndrome.** *Biomed Res Int.* 2014;2014:542395.

DE SOUZA DC, OTERO L, TAVARES R C, *et al.* **An uncommon case of a child with del(5q) and hypocellular myelodysplastic syndrome.** *Pediatr Blood Cancer.* 2010;55:767.

DE SWART L, SMITH A, HAASE D, *et al.* **Prognostic impact of a suboptimal number of analyzed metaphases in normal karyotype lower-risk MDS.** *Leuk Res.* 2018; 67:21-26.

DE WITTE T, BOWEN D, ROBIN M, *et al.* **Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for MDS and CMML: recommendations from an international expert panel.** *Blood.* 2017;129:1753-1762.

DE WITTE T, HERMANS J, VOSSEN J, *et al.* **Haematopoietic stem cell transplantation for patients with myelo-dysplastic syndromes and secondary acute myeloid leukaemias: a report on behalf of the Chronic Leukaemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT).** *Br J Haematol.* 2000;110:620-630.

DEEG HJ, JIANG PY, HOLMBERG LA, *et al.* **Hematologic responses of patients with MDS to antithymocyte globulin plus etanercept correlate with improved flow scores of marrow cells.** *Leuk Res* 2004;28:1177–1180.

DEEG HJ, SCOTT BL, FANG M, *et al.* **Five-group cytogenetic risk classification, monosomal karyotype, and outcome after hematopoietic cell transplantation for MDS or acute leukemia evolving from MDS.** *Blood.* 2012;120: 1398-1408.

DEEG HJ, STORER BE, BOECKH M, *et al.* **Reduced incidence of acute and chronic graft-versus-host disease with the addition of thymoglobulin to a targeted busulfan/cyclophosphamide regimen.** *Biol Blood Marrow Transplant.* 2006;12:573-84.

DEEG HJ. **Hematopoietic cell transplantation for myelodysplastic syndrome.** *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2015:e375-80.

DEEG, H.J., STORER, B., SLATTERY, J.T. **Conditioning with targeted busulfan and cyclophosphamide for hemopoietic stem cell transplantation from related and unrelated donors in patients with myelodysplastic syndrome.** *Blood* 2002;100:1201-1207.

DEININGER MWN, TYNER JW, SOLARY E. **Turning the tide in myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms.** *Nat Rev Cancer.* 2017;17:425-440.

DELLA PORTA MG, GALLÌ A, BACIGALUPO A, *et al.* **Clinical effects of driver somatic mutations on the outcomes of patients with myelodysplastic syndromes treated with allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation.** J Clin Oncol. 2016.

DELLA PORTA MG, MALCOVATI L, STRUPP C, *et al.* **Risk stratification based on both disease status and extra-hematologic comorbidities in patients with myelodysplastic syndrome.** Haematologica. 2011;96:441-9.

DELLA PORTA MG, PICONE C. **Diagnostic Utility of Flow Cytometry in Myelodysplastic Syndromes.** Mediterr J Hematol Infect Dis. 2017;9:e2017017.

DELLA PORTA MG, TUECHLER H, MALCOVATI L, *et al.* **Validation of WHO classification-based Prognostic Scoring System (WPSS) for myelodysplastic syndromes and comparison with the revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R). A study of the International Working Group for Prognosis in Myelodysplasia (IWG-PM).** Leukemia. 2015;29:1502-13.

DI IANNI M, FALZETTI F, CAROTTI A, *et al.* **Immunoselection and clinical use of T regulatory cells in HLA-haploidentical stem cell transplantation.** Best Pract Res Clin Haematol. 2011;24:459-66.

DISPERATI P, ICHIM CV, TKACHUK D, *et al.* **Progression of myelodysplasia to acute lymphoblastic leukaemia: implications for disease biology.** Leuk Res. 2006;30:233-9.

DOUET-GUILBERT N, BASINKO A, MOREL F, *et al.* **Chromosome 20 deletions in myelodysplastic syndromes and Philadelphia-chromosome-negative myeloproliferative disorders: characterization by molecular cytogenetics of commonly deleted and retained regions.** Ann Hematol. 2008;87:537-544.

DUARTE FB, LEMES RPG, DOS SANTOS TEJ, *et al.* **Presence of new mutations in the TP53 gene in patients with low-risk myelodysplastic syndrome: two case reports.** J Med Case Rep. 2017;11:143.

DUTT S, NARLA A, LIN K, *et al.* **Haploinsufficiency for ribosomal protein genes causes selective activation of p53 in human erythroid progenitor cells.** *Blood.* 2011;117:2567–2576.

EBERT BL, PRETZ J, BOSCO J, *et al.* **Identification of RPS14 as a 5q- syndrome gene by RNA interference screen.** *Nature.* 2008; 451:335–9.

ELGHETANY MT. **Myelodysplastic syndromes in children: a critical review of issues in the diagnosis and classification of 887 cases from 13 published series.** *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, vol. 131, no. 7, pp. 1110–1116, 2007.

FENAUX P, GIAGOUNIDIS A, SELLESLAG D, *et al.* **A randomized phase 3 study of lenalidomide versus placebo in RBC transfusion-dependent patients with low-/intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes with del5q.** *Blood* 2011;118:3765–3776.

FERNANDEZ TS, ORNELLAS MH, CARVALHO LO, *et al.* **Chromosomal alterations associated with evolution from myelodysplastic syndrome to acute myeloid leukemia.** *Leukemia Research* 2000; 24:839-848.

FERRARA JLM, LEVINE JE, REDDY P, *et al.* **Graft-versus-Host Disease.** *Lancet.* 2009; 373: 1550–1561.

FERREIRA JÚNIOR MA, IVO ML, *et al.* **Sobrevida e evolução leucêmica de portadores de síndromes mielodisplásicas.** *Cad. Saúde Colet.* 2013, Rio de Janeiro, 21: 154-9.

GANGAT N, PATNAIK MM, BEGNA K, *et al.* **Primary Myelodysplastic Syndromes: The Mayo Clinic Experience With 1000 Patients.** *Mayo Clin Proc.* 2015;90:1623-38.

GANGAT N, PATNAIK MM, TEFFERI A. **Myelodysplastic syndromes: Contemporary review and how we treat.** *Am J Hematol.* 2016;91:76-89.

GANSTER C, KÄMPFE D, JUNG K, *et al.* **New data shed light on Y-loss-related pathogenesis in myelodysplastic syndromes.** *Genes Chromosomes Cancer.* 2015;54:717-24.

GARCIA-MANERO G. **Myelodysplastic syndromes 2012 update on diagnosis, risk stratification and management.** *American J Hematol.* 87: 693-701, 2012.

GARG R, FADERL S, GARCIA-MANERO G, *et al.* **Phase II study of rabbit anti-thymocyte globulin, cyclosporine and granulocyte colony-stimulating factor in patients with aplastic anemia and myelodysplastic syndrome.** *Leukemia* 2009;23:1297–1302.

GAUTHIER J, DAMAJ G, LANGLOIS C, *et al.* **Contribution of revised International Prognostic Scoring System cytogenetics to predict outcome after allogeneic stem cell transplantation for myelodysplastic syndromes: a study from the French Society of Bone Marrow Transplantation and Cellular Therapy.** *Transplantation.* 2015;99:1672-1680.

GERDS AT, WOO AHN K, HU ZH, *et al.* **Outcomes after Umbilical Cord Blood Transplantation for Myelodysplastic Syndromes.** *Biol Blood Marrow Transplant.* 2017;23:971-979.

GHAURI RI, NAVEED M, MANNAN J. **Congenital amegakaryocytic thrombocytopenic purpura (CAMT).** *J Coll Physicians Surg Pak* 24: 285-7, 2014.

GIAGOUNIDIS A, HAASE D. **Morphology, cytogenetics and classification of MDS.** *Best Pract Res Clin Haematol.* 2013;26:337-53.

GLAUBACH T, ROBINSON LJ, COREY SJ. **Pediatric myelodysplastic syndromes: they do exist!** *J Pediatr Hematol Oncol.* 2014;36:1-7.

GODLEY LA, LARSON R, BENNETT JM. **The syndrome of therapy-related myelodysplasia and myeloid leukemia.** *The Myelodysplastic Syndromes:*

Pathobiology and Clinical Management; New York: Marcel Dekker Inc.; 2002 pp. 136–176.

GÖHRING G, MICHALOVA K, BEVERLOO HB *et al.* **Complex Karyotype newly defined: the strongest prognostic factor in advanced childhood myelodysplastic syndrome.** *Blood.* 2010;116:3766-9.

GRATWOHL A. **Principles of conditioning.** In: **The EBMT handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation.** 5th ed. 2008. P. 128-145.

GREENBERG P, COX C, LEBEAU MM, *et al.* **International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes.** *Blood.* 1997;89:2079–88.

GREENBERG P, TAYLOR K, LARSON R, KOEFFLER P, NEGRIN R, *et al.* **Phase III randomized multicenter trial of G-CSF vs. observation for myelodysplastic syndromes.** *Blood* 82:196a, 1993.

GREENBERG P. **The myelodysplastic syndromes.** In: **Hoffman R, Benz E, Shattil S, et al, eds. Hematology: Basic Principles and Practice,** 3rd ed. New York, NY: Churchill Livingstone; 2000;1106–1129.

GREENBERG PL, STONE RM, AL-KALI A, *et al.* **Myelodysplastic Syndromes, Version 2.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology.** *J Natl Compr Canc Netw.* 2017;15:60-87.

GREENBERG PL, TUECHLER H, SCHANZ J, *et al.* **Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes.** *Blood.* 2012;120:2454-65.

GUINAN EC, TARBELL NJ, TANTRAVAHU R, *et al.* **Bone marrow transplantation for children with myelodysplastic syndromes.** *Blood.* 1989; 73:619–622.

GYURKOCZA B, REZVANI A, STORB RF. **Allogeneic hematopoietic cell transplantation: the state of the art.** *Expert Rev Hematol.* 2010;3:285-99.

HAASE D, GERMING U, SCHANZ J, *et al.* **New insights into the prognostic impact of the karyotype in MDS and correlation with subtypes: evidence from a core dataset of 2124 patients.** Blood. 2007;110:4385–95.

HAASE D. **Cytogenetic features in myelodysplastic syndromes.** Annals of Hematology, vol. 87, no. 7, pp. 515–526, 2008.

HACKL H, ASTANINA K, WIESER R. **Molecular and genetic alterations associated with therapy resistance and relapse of acute myeloid leukemia.** J Hematol Oncol. 2017;10:51.

HADDAD A, MACIEJEWSKI JP, KALAYCIO M. **Clinical Significance of Cytogenetics in Myelodysplastic Syndromes.** LABMEDICINE. June 2008. Volume 39 Number 6.

HAIDER M, DUNCAVAGE EJ, AFANEH KF, *et al.* **New Insight Into the Biology, Risk Stratification, and Targeted Treatment of Myelodysplastic Syndromes.** Am Soc Clin Oncol Educ Book. 2017;37:480-494.

HAMERSCHLAK N, BOUZAS LFS, SEBER A, *et al.* **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Transplante de Medula Óssea 2012.** II Reunião de Diretrizes da Sociedade Brasileira de Transplante de Medula Óssea Angra dos Reis (RJ), 4 a 6 de maio de 2012.

HAMERSCHLAK N. **Haploidentical transplantation of hematopoietic stem cells.** Rev Assoc Med Bras (1992). 2016;62 Suppl 1:29-33.

HAN JY, THEIL KS, HOELTGE G. **Frequencies and characterization of cytogenetically unrelated clones in various hematologic malignancies: seven years of experiences in a single institution.** Cancer Genet Cytogenet 2006;164:128-32.

HAREL S, CHERAIT A, BERTHON C, *et al.* **Outcome of patients with high risk Myelodysplastic Syndrome (MDS) and advanced Chronic Myelomonocytic**

Leukemia (CMML) treated with decitabine after azacitidina failure. Leuk Res. 2015 May;39(5):501-4.

HARRIS NL, JAFFE ES, DIEBOLD J, *et al.* **The World Health Organization classification of hematological malignancies report of the Clinical Advisory Committee Meeting, Airlie House, Virginia, November 1997.** Mod Pathol 2000; 13: 193-207.

HASLE H, ARICO M, BASSO G, *et al.* **b Myelodysplastic syndrome, juvenile myelomonocytic leukemia, and acute myeloid leukemia associated with complete or partial monosomy 7.** European Working Group on MDS in Childhood (EWOG-MDS). Leukemia 1999; 13: 376–385.

HASLE H, BAUMANN I, BERGSTRASSER E, *et al.* **The International Prognostic Scoring System (IPSS) for childhood myelodysplastic syndrome (MDS) and juvenile myelomonocytic leukemia (JMML).** Leukemia 2004;18:2008-2014.

HASLE H, CLAUSEN N, PEDERSEN B, *et al.* **a Myelodysplastic syndrome in a child with constitutional trisomy 8 mosaicism and normal phenotype.** Cancer Genet Cytogenet. 1995;79:79-81.

HASLE H, KERNDRUP G, JACOBSEN BB. **b Childhood myelodysplastic syndrome in Denmark: incidence and predisposing conditions.** Leukemia. 1995;9:1569–1572.

HASLE H, NIEMEYER CM, CHESSELLS JM, *et al.* **A pediatric approach to the WHO classification of myelodysplastic and myeloproliferative diseases.** Leukemia. 2003;17:277-82.

HASLE H, NIEMEYER CM. **Advances in the prognostication and management of advanced MDS in children.** Br J Haematol. 2011;154: 185-195.

HASLE H. **Myelodysplastic and myeloproliferative disorders of childhood.** Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2016;2016:598-604.

HASSAN R, BONAMINO MH, ZALCBERG IR. **Monitoramento do Quimerismo Linfo-hematopoético após Transplante de Células-tronco Hematopoéticas**. IN: VOLTARELLI JC, PASQUINI R, ORTEGA E. *Transplante de células-tronco hematopoéticas*. 1º ed. São Paulo: Atheneu, 2010.

HOFFBRAND AV, MOSS PAH. **Fundamento de Hematologia**. 6. Ed. Porto Alegre, Artmed, 2013.

HU Q, CHU Y, SONG Q, *et al.* **The prevalence of chromosomal aberrations associated with myelodysplastic syndromes in China**. *Ann Hematol*. 2016;95:1241-8.
HUDSON LE, ALLEN RL. **Leukocyte Ig-Like Receptors – A Model for MHC Class I Disease Associations**. *Front Immunol*. 2016;7:281.

HURET J. **+8 or trisomy 8**. *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol*. 2009;13:75–77.

HWANG KL, SONG MK, SHIN HJ, *et al.* **Monosomal and complex karyotypes as prognostic parameters in patients with International Prognostic Scoring System higher risk myelodysplastic syndrome treated with azacitidine**. *Blood Res*. 2014;49:234-40.

IBRAHIM S, ESTEY EH, PIERCE S, *et al.* **11q23 abnormalities in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome as detected by molecular and cytogenetic analyses**. *Am J Clin Pathol*. 2000;114:793-7.

INGRAM W, LIM ZY, MUFTI GJ. **Allogeneic transplantation for myelodysplastic syndrome (MDS)**. *Blood Rev*. 2007;21:61-71.

ISOBE M, EMANUEL BS, GIVOL D, *et al.* **Localization of gene for human p53 tumor antigen to band 17p13**. *Nature*. 1986;320:84–85.

JABBOUR E, TAKAHASHI K, WANG X, *et al.* **Acquisition of cytogenetic abnormalities in patients with IPSS defined lower-risk myelodysplastic syndrome**

is associated with poor prognosis and transformation to acute myelogenous leukemia. *Am J Hematol.* 2013. 88:831–837.

JACKSON GH, CAREY PJ, CANT AJ, *et al.* **Myelodysplastic syndromes in children.** *Br J Haematol.* 1993;84:185-186.

JÄDERSTEN, M., HELLSTRÖM-LINDBERG, E. **Myelodysplastic syndromes: biology and treatment.** *Journal of Internal Medicine,* 265:307-328. 2009.

JAJU RJ, BOULTWOOD J, OLIVER FJ, *et al.* **Molecular cytogenetic delineation of the critical deleted region in the 5q- syndrome.** *Genes Chromosomes Cancer.* 1998; 22:251–6.

JOBE EM, MCQUATE AL, ZHAO X. **Crosstalk among Epigenetic Pathways Regulates Neurogenesis.** *Front Neurosci.* 2012. 8;6:59.

KALOUTSI V, KOHLMEYER U, MASCHEK H, *et al.* **Comparison of bone marrow and hematologic findings in patients with human immunodeficiency virus infection and those with myelodysplastic syndromes and infectious diseases.** *Am J Clin Pathol* 1994;101:123–129.

KANAKRY CG, TSAI HL, BOLAÑOS-MEADE J, *et al.* **Single-agent GVHD prophylaxis with posttransplantation cyclophosphamide after myeloablative, HLA-matched BMT for AML, ALL, and MDS.** *Blood.* 2014;124:3817-27.

KANEKO H, MISAWA S, HORIIKE S, *et al.* **TP53 mutations emerge at early phase of myelodysplastic syndrome and are associated with complex chromosomal abnormalities.** *Blood* 85: 2189-2193, 1995.

KANTARJIAN H, ISSA JP, ROSENFELD CS, *et al.* **Decitabine improves patient outcomes in myelodysplastic syndromes: results of a phase III randomized study.** *Cancer.* 2006 Apr 15;106(8):1794-803.

KANTARJIAN HM, THOMAS XG, DMOSZYNSKA A, *et al.* **Multicenter, randomized, open-label, phase III trial of decitabine versus patient choice, with physician advice, of either supportive care or low-dose cytarabine for the treatment of older patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia.** J Clin Oncol. 2012 Jul 20;30(21):2670-7.

KARDOS G, BAUMANN I, PASSMORE SJ, *et al.* **Refractory anemia in childhood: a retrospective analysis of 67 patients with particular reference to monosomy 7.** Blood. 2003;102:1997–2003.

KATO M, YOSHIDA N, INAGAKI J, *et al.* **Salvage allogeneic stem cell transplantation in patients with pediatric myelodysplastic syndrome and myeloproliferative neoplasms.** Pediatr Blood Cancer. 2014;61:1860-6.

KAWANKAR N, JIJINA F, GHOSH K, *et al.* **Cytogenetic and comparative genomic hybridization study of Indian myelodysplastic syndromes.** Cancer Epidemiol. 2011;35:e1-5.

KAWANKAR N, VUNDINTI BR. **Cytogenetic abnormalities in myelodysplastic syndrome: an overview.** Hematology. 2011;16:131-8.

KEKRE N, ANTIN JH. **Hematopoietic stem cell transplantation donor sources in the 21st century: choosing the ideal donor when a perfect match does not exist.** Blood. 2014;124:334-43.

KELAIDI C, TZANNOU I, BALTADAKIS I, *et al.* **Specific abnormalities versus number of abnormalities and cytogenetic scoring systems for outcome prediction after allogeneic hematopoietic SCT for myelodysplastic syndromes.** 2014. Bone Marrow Transplant 49:1022– 1028.

KNAPP RH, DEWALD GW, PIERRE RV. **Cytogenetic studies in 174 consecutive patients with preleukemic or myelodysplastic syndromes.** Mayo Clin Proc. 1985. 60:507–516.

KNOWLTON RG, BROWN VA, BRAMAN JC, *et al.* **Use of highly polymorphic DNA probes for genotypic analysis following bone marrow transplantation.** *Blood.* 1986;68:378-385.

KOBBE G, SCHROEDER T, HAAS R, *et al.* **The current and future role of stem cells in myelodysplastic syndrome therapies.** *Expert Rev Hematol.* 2018:1-12.

KOENECKE C, GÖHRING G, DE WREEDE LC, *et al.*; MDS Subcommittee of the Chronic Malignancies Working Party of the EBMT. **Impact of the revised International Prognostic Scoring System cytogenetics and monosomal karyotype on outcome after allogeneic stem cell transplantation for myelodysplastic syndromes and secondary acute myeloid leukemia evolving from myelodysplastic syndromes: a retrospective multicenter study of the European Society of Blood and Marrow Transplantation.** *Haematologica.* 2015;100:400-408.

KOGLER G, WOLF HH, HEYLL A, *et al.* **Detection of mixed chimerism and leukemic relapse after allogeneic bone marrow transplantation in subpopulations of leucocytes by fluorescent in situ hybridization in combination with the simultaneous immunophenotypic analysis of interphase cells.** *Bone Marrow Transplant.* 1995;15:41-48.

KOLINS JA, ZBYLUT C, MCCOLLOM S, *et al.* **Hematopoietic stem cell transplantation in children.** *Crit Care Nurs Clin North Am.* 2011;23:349-76.

KONUMA T, MIYAZAKI Y, UCHIDA N, *et al.* **Outcomes of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Adult Patients with Myelodysplastic Syndrome Harboring Trisomy 8.** *Biol Blood Marrow Transplant.* 2017;23:75-80.

KRIVTSOV AV, ARMSTRONG SA. **MLL translocations, histone modifications and leukaemia stem-cell development.** *Nat Rev Cancer.* 2007;7:823-33.

KRÖGER N, BACHER U, BADER P, *et al.* **NCI First International Workshop on the Biology, Prevention, and Treatment of Relapse after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: report from the Committee on Disease-Specific**

Methods and Strategies for Monitoring Relapse following Allogeneic Stem Cell Transplantation. Part I: Methods, acute leukemias, and myelodysplastic syndromes. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2010;16:1187-211.

KRÖGER N, ZABELINA T, VAN BIEZEN A, *et al*; MDS Subcommittee of the Chronic Leukemia Working Party (CLWP) of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). **Allogeneic stem cell transplantation for myelodysplastic syndromes with bone marrow fibrosis.** *Haematologica.* 2011;96:291-297.

KRÖGER N. **Maximizing the benefit of allogeneic stem cell transplantation in myelodysplastic syndromes.** *Semin Hematol.* 2017;54:154-158.

KRONKE J, FINK EC, HOLLENBACH PW, *et al.* **Lenalidomide induces ubiquitination and degradation of CK1alpha in del(5q) MDS.** *Nature* 2015;523:1832188.

KULASEKARARAJ AG, SMITH AE, MIAN AS, *et al.* **TP53 mutations in myelodysplastic syndrome are strongly correlated with aberrations of chromosome 5, and correlate with adverse prognosis.** *Br J Haematol.* 2013;160:660-72.

LAI JL, PREUDHOMME C, ZANDECKI M, *et al.* **Myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia with 17p deletion. An entity characterized by specific dysgranulopoïesis and a high incidence of P53 mutations.** *Leukemia* 9: 370-381, 1995.

LAU LM, NUGENT JK, ZHAO X, *et al.* **HDM2 antagonist Nutlin-3 disrupts p73-HDM2 binding and enhances p73 function.** *Oncogene.* 2008;27:997–1003.

LE BEAU MM, ESPINOSA R, DAVIS EM, *et al.* **Cytogenetic and molecular delineation of a region of chromosome 7 commonly deleted in malignant myeloid diseases.** *Blood* 88:1930- 1935, 1996.

LEDDON SA, SANT AJ. **Generation of MHC class II-peptide ligands for CD4 T-cell allorecognition of MHC class II molecules.** *Curr Opin Organ Transplant.* 2010 1:505–11.

LEITE C, DELMONICO L, ALVES G, *et al.* **Screening of mutations in the additional sex combs like 1, transcriptional regulator, tumor protein p53, and KRAS proto-oncogene, GTPase/NRAS proto-oncogene, GTPase genes of patients with myelodysplastic syndrome.** *Biomed Rep.* 2017;7:343-348.

LETENDRE L, LEVITT R, PIERRE RV, *et al.* **Myelodysplastic syndrome treatment with danazol and cis-retinoic acid.** *Am J Hematol* 1995;48: 2332236.

LEVINE AJ. **p53, the cellular gatekeeper for growth and division.** *Cell.* 1997;88:323–331.

LI J, BENCH AJ, VASSILIOU GS, *et al.* **Imprinting of the human L3MBTL gene, a polycomb family member located in a region of chromosome 20 deleted in human myeloid malignancies.** *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:7341-6.

LIEW E, OWEN C. **Familial myelodysplastic syndromes: a review of the literature.** *Haematologica* 96: 1536-42, 2011.

LIM JH, JANG S, PARK CJ, *et al.* **FISH analysis of MLL gene rearrangements: detection of the concurrent loss or gain of the 3' signal and its prognostic significance.** *Int J Lab Hematol.* 2014;36:571-9.

LIST A, DEWALD G, BENNETT J, *et al.* **Lenalidomide in the myelodysplastic syndrome with chromosome 5q deletion.** *N Engl J Med* 2006;355:1456– 1465.

LIST A, KURTIN S, ROE DJ, *et al.* **Efficacy of lenalidomide in myelodysplastic syndromes.** *N Engl J Med* 2005;352:549–557.

LOCATELLI F, STRAHM B. **How I treat myelodysplastic syndromes of childhood.** *Blood.* 2018: blood-2017-09-765214.

LONGMORE G, GUINAN EC, WEINSTEIN HJ, *et al.* **Bone marrow transplantation for myelodysplasia and secondary acute nonlymphoblastic leukemia.** J Clin Oncol. 1990;8:1707-14.

LRF – LYMPHOMA RESEARCH FOUNDATION. **Understanding the Stem Cell Transplantation Process: A Guide for Patients, Caregivers and Loved Ones.** © 2016 Lymphoma Research Foundation.

LUDWIG LS, GAZDA HT, ENG JC, *et al.*: **Altered translation of GATA1 in Diamond-Blackfan anemia.** Nat Med 20: 748-53, 2014.

LUNA-FINEMAN S, SHANNON KM, ATWATER SK, *et al.* **Myelodysplastic and myeloproliferative disorders of childhood: A study of 167 patients.** Blood 93:459-466, 1999.

LV M, HUANG XJ.. **Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in China: where we are and where to go.** J Hematol Oncol. 2012; 5: 10.

MA S, WAN T, AU W, *et al.* **Chromosome 11q deletion in myeloid malignancies.** Leukemia. 2002;16:953–5.

MA X. **Epidemiology of myelodysplastic syndromes.** Am J Med. 2012; 125:S2–5.

MA Y, WANG X, XU X, *et al.* **Prognostic value of trisomy 8 in primary myelodysplastic syndrome.** Intern Med J 2010;40:697–703.

MAGALHÃES SMM, LORAND-METZE I. **Síndromes mielodisplásicas - protocolo de exclusão.** Rev Bras Hematol Hemoter. 2004;26:263-7.

MALCOVATI L, GERMING U, KUENDGEN A, *et al.* **Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes.** Journal of Clinical Oncology 2007; 25: 3503-3510.

MALUF SW, RIEGEL M, *et al.* **Citogenética humana.** Porto Alegre: Artmed, 2011. 336p.

MAPLES KT, SABO RT, MCCARTY JM, *et al.* **Maintenance azacitidine after myeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation for myeloid malignancies.** *Leuk Lymphoma.* 2018 Apr 4:1-6.

MCCANN SR, LAWLER M. **Mixed chimaerism: detection and significance following BMT.** *Bone Marrow Transplant* 1993;11:91-4.

MCGOWAN-JORDAN J, SIMONS A, SCHMID M. **ISCN: an international system for human cytogenomic nomenclature.** 2016. New York: Karger.

MCGRAW KL, CLUZEAU T, SALLMAN DA, *et al.* **a TP53 and MDM2 single nucleotide polymorphisms influence survival in non-del(5q) myelodysplastic syndromes.** *Oncotarget.* 2015;6:34437–34445.

MCGRAW KL, ZHANG LM, ROLLISON DE, *et al.* **b The relationship of TP53 R72P polymorphism to disease outcome and TP53 mutation in myelodysplastic syndromes.** *Blood Cancer J.* 2015;5:e291.

MCQUILTEN ZK, SUNDARARAJAN V, ANDRIANOPOULOS N, *et al.* **Monosomal karyotype predicts inferior survival independently of a complex karyotype in patients with myelodysplastic syndromes.** *Cancer.* 2015;121:2892-9.

MENDES ML, BITTENCOURT HNS. **Fontes de células no transplante de células-tronco hematopoéticas.** *Rev. Bras. Anal. Clin;* 42:3-7, 2010.

MHAWECH P, SALEEM A. **Myelodysplastic syndrome: review of the cytogenetic and molecular data.** *Crit Rev Oncol Hematol.* 2001;40:229-38.

MILTENYI BIOTEC. **Overview of the process for allogeneic stem cell transplantation.** Disponível em:

<<https://www.google.com.br/imgres?imgurl=http%3A%2F%2Fwww.miltenyibiotec.co>

m%2F~%2Fmedia%2FImages%2FNavigation%2FClinical-Applications%2FCD34%2FPatients%2FCaption%2Fallogeic_stem_cell_transplantation_570px_003.ashx&imgrefurl=http%3A%2F%2Fwww.miltenyibiotec.com%2Fen%2Fclinical-applications%2Fclinimacs-cd34-reagent-system-fda-approved%2Fpatientspage%2Fabout-allogenic-stem-cell-transplantation.aspx&docid=dqoiWZx6HoTXDM&tbnid=Aw99cxrtGJx9DM%3A&vet=10ahUKEwiR28736ebXAhWEhZAKHWgCBrsQMwizASgXMBc.i&w=570&h=599&hl=en&bih=759&biw=1536&q=hematopoietic%20stem%20cell%20transplantation&ved=0ahUKEwiR28736ebXAhWEhZAKHWgCBrsQMwizASgXMBc&iact=mrc&uact=8>. Acesso em: 30 nov. 2017

MITELMAN F, JOHANSSON B MERTENS F. **Mitelman Database of chromosome aberration and gene fusions in cancer.** <<http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>> 2017

MOHAMEDALI A, GÄKEN J, TWINE NA, *et al.* **Prevalence and prognostic significance of allelic imbalance by single-nucleotide polymorphism analysis in low-risk myelodysplastic syndromes.** *Blood.* 2007;110:3365–75.

MOLLDREM JJ, CAPLES M, MAVROUDIS D, *et al.* **Antithymocyte globulin for patients with myelodysplastic syndrome.** *Br J Haematol* 1997;99:699–705.

MONTALBAN-BRAVO G, GARCIA-MANERO G. **Myelodysplastic syndromes: 2018 update on diagnosis, risk-stratification and management.** *Am J Hematol.* 2018;93:129-147.

MORAES ACR, LICÍNIO MA, PAGNUSSAT L, *et al.* **Síndromes mielodisplásicas: aspectos moleculares, laboratoriais e a classificação OMS 2008.** *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2009;31:463-70.

MOREL P, HEBBAR M, LAI JL, DUHAMEL A. **Cytogenetic analysis has strong prognostic value in de novo myelodysplastic syndromes and can be incorporated in a new scoring system: A report on 408 cases.** *Leukemia* 7:1315, 1993.

MORI N, MOROSETTI R, HOFLEHNER E, *et al.* **Allelic loss in the progression of myelodysplastic syndrome.** *Cancer Res.* 2000;60:3039-42.

MORIWAKI K, MANABE A, TAKETANI T, *et al.* **Cytogenetics and clinical features of pediatric myelodysplastic syndrome in Japan.** *Int J Hematol.* 2014;100:478-84.

MUFTI GJ, STEVENS JR, OSCIER DG, *et al.* **Myelodysplastic syndromes: A scoring system with prognostic significance.** *Br J Haematol* 59:425, 1985.

MULLER PA, VOUSDEN KH. **Mutant p53 in cancer: new functions and therapeutic opportunities.** *Cancer Cell.* 2014 Mar 17;25(3):304-17.

MUÑOZ A, DÍAZ-HEREDIA C, BADELL I, *et al.* **Allogeneic stem cell transplantation for myelodysplastic syndromes in children: a report from the Spanish Working Party for Blood and Marrow Transplantation in Children (GETMON).** *Pediatr Hematol Oncol.* 2009;26:345-55.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH) a. **GLRA1 gene.** Disponível em <<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/GLRA1>> Acesso em: 04 dez. 2017.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH) b. **ACHE acetylcholinesterase (Cartwright blood group) [*Homo sapiens* (human)].** Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/43>>. Acesso em: 04 dez. 2017.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH) c. **CUX1 cut like homeobox 1 [*Homo sapiens*(human)].** Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1523>> Acesso em: 04 dez. 2017.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH) d. **RASA4 RAS p21 protein activator 4 [*Homo sapiens* (human)].** Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/10156>> Acesso em: 04 dez. 2017.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH) e. **EPO erythropoietin [*Homo sapiens (human)*]**. Disponível em < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2056>> Acesso em: 04 dez. 2017.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH) f. **FBXL13 F-box and leucine rich repeat protein 13 [*Homo sapiens (human)*]**. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/222235>> Acesso em: 04 dez. 2017.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH) g. **EZH2 gene**. Disponível em <<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/EZH2>> Acesso em: 04 dez. 2017.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH) h. **MYC proto-oncogene, bHLH transcription factor**. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4609>> Acesso em: 04 dez. 2017.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH) i. **KMT2A lysine methyltransferase 2A [*Homo sapiens (human)*]**. Disponível em <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4297>>. Acesso em: 13 out. 2017.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH) j. **ATM serine/threonine kinase**. Disponível em <<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/ATM>>. Acesso em: 13 out. 2017.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH) k. **ETV6 - ETS variant 6 [*Homo sapiens (human)*]**. Disponível em < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2120>> Acesso em: 30 mar. 2018.

NEVILL TJ, FUNG HC, SHEPHERD JD, *et al.* **Cytogenetic Abnormalities in Primary Myelodysplastic Syndrome Are Highly Predictive of Outcome After Allogeneic Bone Marrow Transplantation**. Blood 2008; 92, p. 1910-1917.

NEVILL TJ, FUNG HC, SHEPHERD JD, *et al.* **Cytogenetic abnormalities in primary myelodysplastic syndrome are highly predictive of outcome after allogeneic bone marrow transplantation**. Blood. 1998;92:1910-7.

NEVILL TJ, FUNG HC, SHEPHERD JD, *et al.* **Cytogenetic abnormalities in primary myelodysplastic syndrome are highly predictive of outcome after allogeneic bone marrow transplantation.** *Blood.* 1998;92:1910-7.

NEVILL TJ, SHEPHERD JD, SUTHERLAND HJ, *et al.* **IPSS poor-risk karyotype as a predictor of outcome for patients with myelodysplastic syndrome following myeloablative stem cell transplantation.** *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15: 205-213.

NIEMEYER CM, BAUMANN I. **Classification of childhood aplastic anemia and myelodysplastic syndrome.** *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2011;2011:84-89.

NIEMEYER CM, BAUMANN I. **Myelodysplastic syndrome in children and adolescents.** *Semin Hematol.* 2008; 45:60-70.

NIEMEYER CM, KRATZ CP. **Paediatric myelodysplastic syndromes and juvenile myelomonocytic leukaemia: molecular classification and treatment options.** *British Journal of Haematology* 2008; 140, 610–624.

NILSSON L, ÅSTRAND-GRUNDSTRÖM I, ANDERSON K, *et al.* **Involvement and functional impairment of the CD34+ CD38- Thy-1+ hematopoietic stem cell pool in myelodysplastic syndromes with trisomy 8.** *Blood.* 2002;100:259-67.

NIMER SD. **Clinical management of myelodysplastic syndromes with interstitial deletion of chromosome 5q.** *J Clin Oncol* 2006;24:2576–2582.

NOWELL PC, BESA EC, STELMACH T, *et al.* **Chromosome studies in preleukemic states. V. Prognostic significance of single versus multiple abnormalities.** *Cancer.* 1986; 58:2571–2575.

NYBAKKEN GE, BAGG A. **The genetic basis and expanding role of molecular analysis in the diagnosis, prognosis, and therapeutic design for myelodysplastic syndromes.** *J Mol Diagn.* 2014;16:145–58.

ODENIKE O, ANASTASI J, LE BEAU MM. **Myelodysplastic Syndromes**. Clin Lab Med. 2011; 31: 763–784.

O'DONNELL MR, LONG GD, PARKER PM, *et al.* **Busulfan/cyclophosphamide as conditioning regimen for allogeneic bone marrow transplantation for myelodysplasia**. J Clin Oncol. 1995;13:2973-9.

OLIVEIRA AF, TANSINI A, VIDAL DO, *et al.* **Characteristics of the phenotypic abnormalities of bone marrow cells in childhood myelodysplastic syndromes and juvenile myelomonocytic leukemia**. Pediatr Blood Cancer. 2017;64.

OLNEY HJ, LE BEAU MM. **Evaluation of recurring cytogenetic abnormalities in the treatment of myelodysplastic syndromes**. Leuk Res 2007;31:427-434.

ONIDA F, BRAND R, VAN BIEZEN A, *et al.* MDS subcommittee of the EBMT-CMWP. **Impact of the International Prognostic Scoring System cytogenetic risk groups on the outcome of patients with primary myelodysplastic syndromes undergoing allogeneic stem cell transplantation from human leukocyte antigen-identical siblings: a retrospective analysis of the European Society for Blood and Marrow Transplantation-Chronic Malignancies Working Party**. Haematologica. 2014;99:1582-1590.

OSCIER D. **Myelodysplastic syndromes**. Ballieres Clin Haematol 1:389, 1987.

OUAHCHI I, ZHANG L, BENITEZ BRITO R, *et al.* **Microarray-based comparative genomic hybridisation reveals additional recurrent aberrations in adult patients evaluated for myelodysplastic syndrome with normal karyotype**. Br J Haematol. 2018.

OWEN C, BARNETT M, FITZGIBBON J. **Familial myelodysplasia and acute myeloid leukaemia--a review**. Br J Haematol 140: 123-32, 2008.

PAN J, WU C, XUE Y, *et al.* **The characteristics and prognostic analysis in 213 myeloid malignancy patients with del(20q): a report of a single-center case series.** *Cancer Genet.* 2014; 207:51-56.

PAPAEMMANUIL E, GERSTUNG M, MALCOVATI L, *et al.* **Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes.** *Chronic Myeloid Disorders Working Group of the International Cancer Genome Consortium.* *Blood.* 2013;122:3616–3627.

PARIKH S, MENDIZABAL A, MARTIN P, *et al.* **Unrelated donor umbilical cord blood transplantation in pediatric myelodysplastic syndrome: a single-center experience.** *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009; 15:948–955.

PARMAR S, DE LIMA M. **Hematopoietic stem cell transplantation for myelodysplastic syndrome.** *Biol Blood Marrow Transplant.* 2010;16:S37–S44.

PASSMORE SJ, CHESSELLS JM, KEMPSKI H, *et al.* **Pediatric myelodysplastic syndromes and juvenile myelomonocytic leukaemia in the UK: A population-based study of incidence and survival.** *Br J Haematol* 121:758-767, 2003.

PASSMORE SJ, HANN IM, STILLER CA, *et al.* **Pediatric myelodysplasia: A study of 68 children and a new prognostic scoring system.** *Blood* 1995; 85: 1742–1750.

PASSWEG JR, GIAGOUNIDIS AA, SIMCOCK M, *et al.* **Immunosuppressive therapy for patients with myelodysplastic syndrome: a prospective randomized multicenter phase III trial comparing antithymocyte globulin plus cyclosporine with best supportive care—SAKK 33/99.** *J Clin Oncol* 2011;29:303–309.

PATNAIK MM, HANSON CA, HODNEFIELD JM, *et al.* **Monosomal karyotype in myelodysplastic syndromes, with or without monosomy 7 or 5, is prognostically worse than an otherwise complex karyotype.** *Leukemia.* 2011;25:266-70.

PAULSSON K, JOHANSSON B. **Trisomy 8 as the sole chromosomal aberration in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes.** *Pathol Biol (Paris)*. 2007;55:37–48.

PDQ-NCI – PDQ Pediatric Treatment Editorial Board. **Childhood Acute Myeloid Leukemia/Other Myeloid Malignancies Treatment (PDQ®): Health Professional Version.** PDQ Cancer Information Summaries [Internet]. Bethesda (MD): National Cancer Institute (US); 2002- 2017.

PELLAGATTI A, BOULTWOOD J. **Recent Advances in the 5q-Syndrome.** *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2015;7:e2015037.

PETROVA-DRUS K, HASSERJIAN R, POZDNYAKOVA O, *et al.* **Clinicopathologic evaluation of cytopenic patients with isolated trisomy 8: a detailed comparison between idiopathic cytopenia of unknown significance and low-grade myelodysplastic syndrome.** *Leuk Lymphoma*. 2017;58:569-577.

PETZ LD, YAM P, WALLACE RB, *et al.* **Mixed hematopoietic chimerism following bone marrow transplantation for hematologic malignancies.** *Blood*. 1987;70:1331-1337.

PICH A, GODIO L, DAVICO BONINO L. **p53 protein expression in patients with myelodysplasia treated with allogeneic bone marrow transplantation.** *Mol Clin Oncol*. 2017;6:876-880.

PLATZBECKER U. **Allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with myelodysplastic syndromes.** *Semin Hematol*. 2012;49:342-9.

POLYCHRONOPOULOU S, PANAGIOTOU JP, KOSSIVA L, *et al.* **Clinical and morphological features of paediatric myelodysplastic syndromes: a review of 34 cases.** *Acta Paediatr*. 2004;93:1015-23.

POZDNYAKOVA O, MIRON PM, TANG G, *et al.* **Cytogenetic abnormalities in a series of 1,029 patients with primary myelodysplastic syndromes: a report from**

the US with a focus on some undefined single chromosomal abnormalities. Cancer 2008; 113: 3331–3340.

RAIOLA AM, DOMINIETTO A, DI GRAZIA C, *et al.* **Unmanipulated haploidentical transplants compared with other alternative donors and matched sibling grafts.** Biol Blood Marrow Transplant. 2014;20:1573-9.

RAU AT, SHREEDHARA AK, KUMAR S. **Myelodysplastic syndromes in children: where are we today?** Ochsner J. 2012;12:216-20.

REDOME - REGISTRO NACIONAL DE DOADORES VOLUNTÁRIOS DE MEDULA ÓSSEA. **Tipos de Transplante.** Disponível em: <<http://redome.inca.gov.br/medula-ossea/tipos-de-transplante/>> Acesso em: 15 out. 2017.

RIBEIRO HL JR, MAIA ARS, DE OLIVEIRA RTG, *et al.* **DNA repair gene expressions are related to bone marrow cellularity in myelodysplastic syndrome.** J Clin Pathol. 2017;70:970-980.

ROBIN M, PORCHER R, ZINKE-CERWENKA W, *et al.* **Allogeneic haematopoietic stem cell transplant in patients with lower risk myelodysplastic syndrome: a retrospective analysis on behalf of the Chronic Malignancy Working Party of the EBMT.** Bone Marrow Transplant. 2017;52:209-215.

ROCHA V, KABBARA N, IONESCU I, *et al.* **Pediatric related and unrelated cord blood transplantation for malignant diseases.** Bone Marrow Transplant. 2009; 44:653–659.

RODRIGUES EF, DE SOUZA DC, CAMARGO A, *et al.* **Cytogenetic bichlonality in a child with hypocellular primary myelodysplastic syndrome.** Cancer Genet Cytogenet. 2007;178:70-2.

ROLLISON DE, HOWLADER N, SMITH MT, *et al.* **Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United**

States, 2001-2004, using data from the NAACCR and SEER programs. Blood. 2008;112:45-52.

ROMEO M, CHAUFFAILLE ML, SILVA MR, et al. Comparison of cytogenetics with FISH in 40 myelodysplastic syndrome patients. Leuk Res. 2002;26:993–96.

ROSENBERG PS, HUANG Y, ALTER BP. Individualized risks of first adverse events in patients with Fanconi anemia. Blood 104: 350-5, 2004.

ROSENFELD C, LIST A. A hypothesis for the pathogenesis of myelodysplastic syndromes: implications for new therapies. Leukemia. 2000;14:2-8.

SABER W, HOROWITZ MM. Transplantation for myelodysplastic syndromes: who, when, and which conditioning regimens. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2016;2016:478-484.

SANTINI V. Treatment of low-risk myelodysplastic syndromes. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2016;2016:462-469.

SANZ GF, SANZ MA, VALLESPI T, et al. Two regression models and a scoring system for predicting survival and planning treatment in myelodysplastic syndromes: A multivariate analysis of prognostic factors in 370 patients. Blood 74:395, 1989.

SAROVA I, BREZINOVA J, ZEMANOVA Z, et al. Characterization of chromosome 11 breakpoints and the areas of deletion and amplification in patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia. Genes Chromosomes Cancer. 2013;52:619–35.

SASAKI H, MANABE A, KOJIMA S, et al. Myelodysplastic syndrome in childhood: A retrospective study of 189 patients in Japan. Leukemia 15:1713-1720, 2001.

SAUMELL S, FLORENSA L, LUÑO E, *et al.* **Prognostic value of trisomy 8 as a single anomaly and the influence of additional cytogenetic aberrations in primary myelodysplastic syndromes.** *Br J Haematol* 2012. 159:311–321.

SCARADAVOU A, BRUNSTEIN CG, EAPEN M, *et al.* **Double unit grafts successfully extend the application of umbilical cord blood transplantation in adults with acute leukemia.** *Blood*. 2013;121:752-758.

SCHANZ J, STEIDL C, FONATSCH C, *et al.* **Coalesced multicentric analysis of 2,351 patients with myelodysplastic syndromes indicates an underestimation of poor-risk cytogenetics of myelodysplastic syndromes in the international prognostic scoring system.** *JJClinOncol*. 2011;29:1963-70.

SCHANZ J, TUCHLER H, SOLE F, *et al.* **New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international database merge.** *J. Clin. Oncol*. 2012; 30: 820–829.

SCHMALZING M, ARINGER M, BORNHÄUSER M, *et al.* **Myelodysplastic syndrome, acute leukemia and stem cell transplantation.** *Z Rheumatol*. 2017 Oct;76(Suppl 2):26-32.

SCHNEIDER RK, ADEMA V, HECKL D, *et al.* **Role of casein kinase 1A1 in the biology and targeted therapy of del(5q) MDS.** *Cancer Cell*. 2014;26:509–20.

SCHROEDER T, CZIBERE A, PLATZBECKER U, *et al.* **Azacitidine and donor lymphocyte infusions as first salvage therapy for relapse of AML or MDS after allogeneic stem cell transplantation.** *Leukemia*. 2013;27: 1229–1235.

SCHROEDER T, RAUTENBERG C, HAAS R, *et al.* **Hypomethylating agents for treatment and prevention of relapse after allogeneic blood stem cell transplantation.** *Int J Hematol*. 2017.

SEBAA A, ADES L, BARAN-MARZACK F, *et al.* **Incidence of 17p deletions and TP53 mutation in myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia with 5q deletion.** *Genes Chromosomes Cancer.* 2012;51:1086-92.

SÉBERT M, KOMROKJI RS, SEKERES MA, *et al.* **Impact of baseline cytogenetic findings and cytogenetic response on outcome of high-risk myelodysplastic syndromes and low blast count AML treated with azacitidine.** *Leuk Res.* 2017;63:72-77.

SEONG CM, GIRALT S, KANTARJIAN H, *et al.* **Early detection of relapse by hypermetaphase fluorescence in situ hybridization after allogeneic bone marrow transplantation for chronic myeloid leukemia.** *J Clin Oncol.* 2000;18:1831-1836.

SHAFFER BC, AHN KW, HU ZH, *et al.* **Scoring system prognostic of outcome in patients undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation for myelodysplastic syndrome.** *J Clin Oncol.* 2016;34:1864-1871.

SHANGARY S, WANG S. **Small-molecule inhibitors of the MDM2-p53 protein-protein interaction to reactivate p53 function: a novel approach for cancer therapy.** *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2009;49:223–241.

SHIINA T, HOSOMICHI K, INOKO H, KULSKI JK. **The HLA genomic loci map: expression, interaction, diversity and disease.** *J Hum Genet.* 2009 54:15–39.

SIERRA J, PÉREZ WS, ROZMAN C, *et al.* **Bone marrow transplantation from HLA-identical siblings as treatment for myelodysplasia.** *Blood.* 2002;100:1997-2004.

SIMÕES BP. **Avaliação de doença residual mínima pós-transplante de medula óssea.** *Medicina, Ribeirão Preto,* 33: 433-442; 2000.

SINGH AK, MCGUIRK JP. **Allogeneic Stem Cell Transplantation: A Historical and Scientific Overview.** *Cancer Res.* 2016;76:6445-6451.

SLOAND EM, PFANNES L, CHEN G, *et al.* **CD34 cells from patients with trisomy 8 myelodysplastic syndrome (MDS) express early apoptotic markers but avoid programmed cell death by up-regulation of antiapoptotic proteins.** *Blood.* 2007;109:2399-405.

SLOVAK ML, KOPECKY KJ, CASSILETH PA, *et al.* **Karyotypic analysis predicts outcome of preresmission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study.** *Blood* 2000;96:4075-4083.

SMITH AR, CHRISTIANSEN EC, WAGNER JE, *et al.* **Early hematopoietic stem cell transplant is associated with favorable outcomes in children with MDS.** *Pediatr Blood Cancer.* 2013;60:705-10.

SOLÉ F, ESPINET B, SANZ GF, *et al.* **Incidence, characterization and prognostic significance of chromosomal abnormalities in 640 patients with primary myelodysplastic syndromes. Grupo Cooperativo Español de Citogenética Hematológica.** *Br J Haematol.* 2000;108:346-56.

SOLÉ F, LUÑO E, SANZO C, *et al.* **Identification of novel cytogenetic markers with prognostic significance in a series of 968 patients with primary myelodysplastic syndromes.** *Haematologica.* 2005;90:1168-78.

SOLÉ F, PRIETO F, BADIA L, *et al.* **Cytogenetic studies in 112 cases of untreated myelodysplastic syndromes.** *Cancer Genet Cytogenet* 1992;64:12-20.

SPARKES RS. **Cytogenetic analysis in human bone marrow transplantation.** *Cancer Genet Cytogenet.* 1981;4:345-52.

SPERLING AS, GIBSON CJ, EBERT BL. **The genetics of myelodysplastic syndrome: from clonal haematopoiesis to secondary leukaemia.** *Nat Rev Cancer.* 2017;17:5-19.

STARY J, LOCATELLI F, NIEMEYER CM. **Stem cell transplantation for aplastic anemia and myelodysplastic syndrome.** Bone Marrow Transplant. 2005; 35:S13–S16.

STEWART BL, STORER B, STOREK J, *et al.* **Duration of immunosuppressive treatment for chronic graft-versus-host disease.** Blood. 2004;104:3501–3506.

STINTZING S, KEMMERLING R, KIESSLICH T, *et al.* **Myelodysplastic syndrome and histone deacetylase inhibitors: “to be or not to be acetylated”?** J Biomed Biotechnol. 2011; 2011:214143.

STMO – SERVIÇO DE TRANSPLANTAÇÃO DE MEDULA ÓSSEA. **Quimioterapia em altas doses e seus efeitos.** Disponível em <<http://www.stmo.com.pt/pt/apoio-ao-doente/informacao-ao-doente/acolhimento-no-internamento/quimioterapia.html>> Acesso em: 26 de fev de 2018.

STORB R, DEEG HJ, FAREWELL V, *et al.* **b. Marrow transplantation for severe aplastic anemia: methotrexate alone compared with a combination of methotrexate and cyclosporine for prevention of acute graft-versus-host disease.** Blood. 1986;68:119–125.

STORB R, DEEG HJ, WHITEHEAD J, *et al.* **a. Methotrexate and cyclosporine compared with cyclosporine alone for prophylaxis of acute graft versus host disease after marrow transplantation for leukemia.** N. Engl. J. Med. 1986;314:729–735.

STORB R. **Reduced-intensity conditioning transplantation in myeloid malignancies.** Curr Opin Oncol. 2009 Jun;21 Suppl 1:S3-5.

STRAHM B, NOLLKE P, ZECCA M, *et al.* EWOG-MDS study group. **Hematopoietic stem cell transplantation for advanced myelodysplastic syndrome in children: results of the EWOG-MDS 98 study.** Leukemia. 2011;25:455-462.

STREUBEL B, SAUERLAND C, HEIL G, *et al.* **Correlation of cytogenetic, molecular cytogenetic, and clinical findings in 59 patients with ANLL or MDS and**

abnormalities of the short arm of chromosome 12. Br J Haematol. 1998. 100:521–533.

SUTTON L, CHASTANG C, RIBAUD P, *et al.* **Factors influencing outcome in de novo myelodysplastic syndromes treated by allogeneic bone marrow transplantation: A long-term study of 71 patients.** Blood 88:358, 1996.

TALATI C, SALLMAN D, LIST A. **Lenalidomide: Myelodysplastic syndromes with del(5q) and beyond.** Semin Hematol. 2017;54:159-166.

TAMARY H, NISHRI D, YACOBOVICH J, *ET AL.* **Frequency and natural history of inherited bone marrow failure syndromes: the Israeli Inherited Bone Marrow Failure Registry.** Haematologica. 2010;95:1300-7.

THIELE J, WICKENHAUSER C, KVASNICKA HM, *et al a.* **Mixed chimerism of erythro- and megakaryopoiesis following allogeneic bone marrow transplantation.** Acta Haematol. 2003;109: 176-183.

THIELE J, WICKENHAUSER C, KVASNICKA HM, *et al b.* **Dynamics of lineage-restricted mixed chimerism following sex-mismatched allogeneic bone marrow transplantation.** Histol Histopathol. 2003;18:557-574.

TOBIASSON M, OLSSON R, HELLSTRÖM-LINDBERG E, *et al.* **Early detection of relapse in patients with myelodysplastic syndrome after allo-SCT.** Bone Marrow Transplant. 2010.

TOYAMA K, OHYASHIKI K, YOSHIDA Y, ABE T. **Clinical implications of chromosomal abnormalities in 401 patients with MDS: A multicentric study in Japan.** Leukemia 7:499, 1993.

TROBAUGH-LOTRARIO AD, KLETZEL M, QUINONES RR, *et al.* **Monosomy 7 associated with pediatric acute myeloid leukemia (AML) and myelodysplastic syndrome (MDS): successful management by allogeneic hematopoietic stem cell transplant (HSCT).** Bone Marrow Transplant. 2005;35:143-9.

UDAYAKUMAR AM, FAWAZ N, PATHARE A, *et al.* **First Cytogenetic Profile of Omani Patients with de novo Myelodysplastic Syndromes: Comparison with data from Asia, Africa, Europe and North and South America.** Sultan Qaboos Univ Med J. 2017;17:e286-e292.

VALCÁRCEL D, ADEMÀ V, SOLÉ F, *et al.* **Complex, not monosomal, karyotype is the cytogenetic marker of poorest prognosis in patients with primary myelodysplastic syndrome.** J Clin Oncol. 2013;31:916-22.

VALENT P, HORNY HP, BENNETT JM, *et al.* **Definitions and standards in the diagnosis and treatment of the myelodysplastic syndromes: consensus statements and report from a working conference.** Leuk Res. 2007;31:727– 736.

VALERA ET, LATORRE MRD, MANDES WL, *et al.* **Treatment of pediatric myelodysplastic syndromes and juvenile myelomonocytic leukemia: the Brazilian experience in the past decade.** Leuk Res. 2004; 28: 933-939.

VAN BESIEN K. **Allogeneic transplantation for AML and MDS: GVL versus GVHD and disease recurrence.** Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2013;2013:56-62.

VAN GELDER M, DE WREEDE LC, SCHETELIG J, *et al*; EBMT Chronic Malignancies Working Party. **Monosomal karyotype predicts poor survival after allogeneic stem cell transplantation in chromosome 7 abnormal myelodysplastic syndrome and secondary acute myeloid leukemia.** Leukemia. 2013;27:879-888.

VASILATOU D, PAPAGEORGIOU SG, DIMITRIADIS G, *et al.* **Epigenetic alterations and microRNAs: New players in the pathogenesis of myelodysplastic syndromes.** Epigenetics. 2013; 8: 561–570.

VIDAL DO, LOPES LF, VALERA ET. **Drug resistance and methylation in myelodysplastic syndrome.** Curr Pharm Biotechnol. 2007;8:77-81.

VINH DC, PATEL SY, UZEL G, *et al.* **Autosomal dominant and sporadic monocytopenia with susceptibility to mycobacteria, fungi, papillomaviruses, and myelodysplasia.** *Blood* 115: 1519-29, 2010.

VIRE E, BRENNER C, DEPLUS R, *et al.* **The Polycomb group protein EZH2 directly controls DNA methylation.** *Nature*. 2006. 439: 871–874.

VOLKERT S, HAFERLACH T, HOLZWARTH J, *et al.* **Array CGH identifies copy number changes in 11% of 520 MDS patients with normal karyotype and uncovers prognostically relevant deletions.** *Leukemia*. 2016;30:257-60.

VRAZAS V, OOMS LM, RUDDUCK C, *et al.* **Application of interphase cytogenetics to monitor bone marrow transplants.** *Am J Hematol*. 1995;49:15-20.

WANG PW, EISENBART JD, CORDES SP *et al.* **Human KRML (MAFB): cDNA cloning, genomic structure, and evaluation as a candidate tumor suppressor gene in myeloid leukemias.** *Genomics*. 1999 Aug 1;59(3):275-81.

WANG SA, ABRUZZO LV, HASSERJIAN RP, *et al.* **Myelodysplastic syndromes with deletions of chromosome 11q lack cryptic MLL rearrangement and exhibit characteristic clinicopathologic features.** *Leuk Res*. 2011;35:351-7.

WANG SA. **Diagnosis of Myelodysplastic Syndromes in Cytopenic Patients.** *Surg Pathol Clin*. 2010;3:1127-52.

WARLICK ED, CIOC A, DEFOR T, *et al.* **Allogeneic stem cell transplantation for adults with myelodysplastic syndromes: importance of pretransplant disease burden.** *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009;15:30–38.

WEIDEN PL, FLOURNOY N, SANDERS JE, SULLIVAN KM, THOMAS ED. **Antileukemic effect of graft-versus-host disease contributes to improved survival after allogeneic marrow transplantation.** *Transplant Proc*. 1981;13:248–251.

WELLS DA, BENESCH M, LOKEN MR, *et al.* **Myeloid and monocytic dyspoiesis as determined by flow cytometric scoring in myelodysplastic syndrome correlates with the IPSS and with outcome after hematopoietic stem cell transplantation.** Blood. (2003) 102:394–403.10.1182/blood-2002-09-2768.

WIKTOR A, RYBICKI BA, PIAO ZS, *et al.* **Clinical significance of Y chromosome loss in hematologic disease.** Genes Chromosomes Cancer. 2000. 27: 11–16.

WLODARSKI MW, HIRABAYASHI S, PASTOR V, *et al.* **Prevalence, clinical characteristics, and prognosis of GATA2-related myelodysplastic syndromes in children and adolescents.** Blood. 2016;127:1387-97.

WONG TN, RAMSINGH G, YOUNG AL, *et al.* **Role of TP53 mutations in the origin and evolution of therapy-related acute myeloid leukaemia.** Nature. 2015 Feb 26;518:552-555.

WOODARD P, BARFIELD R, HALE G, *et al.* **Outcome of hematopoietic stem cell transplantation for pediatric patients with therapy-related acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndrome.** Pediatr Blood Cancer. 2006; 47:931–935.

WOODARD P, CARPENTER P, DAVIES S, *et al.* **Unrelated donor bone marrow transplantation for myelodysplastic syndrome in children.** Biol Blood Marrow Transplant. 2011; 17:723–728.

XIE M, JIANG Q, XIE Y. **Comparison between decitabine and azacitidine for the treatment of myelodysplastic syndrome: a meta-analysis with 1,392 participants.** Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2015;15:22-8.

YAFOUR N, BECKERICH F, BULABOIS CE, *et al.* **How to prevent relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with acute leukemia and myelodysplastic syndrome.** Curr Res Transl Med. 2017;65:65-69.

YAM PY, PETZ LD, KNOWLTON RG, *et al.* **Use of DNA restriction fragment length polymorphisms to document marrow engraftment and mixed hematopoietic**

chimerism following bone marrow transplantation. *Transplantation.* 1987;43:399-407.

YAMAMOTO K, NAGATA K, YAGASAKI F, *et al.* **Interstitial deletion of the short arm of chromosome 12 during clonal evolution in myelodysplastic syndrome with t(5;12)(q13;p13) involving the ETV6 gene.** *Cancer Genet Cytogenet.* 2000; 119:113-7.

YUE QF, CHEN L, SHE XM, *et al.* **Clinical Prognostic Factors in 86 Chinese Patients with Primary Myelodysplastic Syndromes and Trisomy 8: A Single Institution Experience.** *Yonsei Med J.* 2016;57:358-64.

YUSUF U, FRANGOUL HA, GOOLEY TA, *et al.* **Allogeneic bone marrow transplantation in children with myelodysplastic syndrome or juvenile myelomonocytic leukemia: The Seattle experience.** *Bone Marrow Transplant* 2004; 33: 805–814.

ZAHID MF, MALIK UA, SOHAIL M, *et al.* **Cytogenetic Abnormalities in Myelodysplastic Syndromes: An Overview.** *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res.* 2017;11:231-239.

ZEIDAN AM, LINHARES Y, GORE SD. **Current therapy of myelodysplastic syndromes.** *Blood Rev.* 2013;27:243-59.

ZHANG L, MCGRAW KL, SALLMAN DA, *et al.* **The role of p53 in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia: molecular aspects and clinical implications.** *Leuk Lymphoma.* 2017;58:1777-1790.

ZHOU J, ORAZI A, CZADER MB. **Myelodysplastic syndromes.** *Semin Diagn Pathol* (2011) 28:258–72.

ZINI G. **Diagnostics and Prognostication of Myelodysplastic Syndromes.** *Ann Lab Med.* 2017;37:465-474.

ZOI K, CROSS NC. **Molecular pathogenesis of atypical CML, CMML and MDS/MPN-unclassifiable.** Int J Hematol. 2015;101:229-42.

Anexo 1



A(o): Dra. Teresa de Souza Fernandez Seixas
Pesquisador(a) Principal

Rio de Janeiro, 3 de maio de 2011.

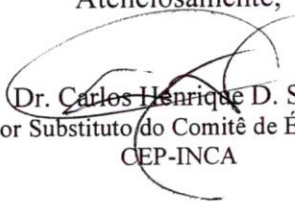
Registro CEP nº 62/10 (Este nº. deve ser citado nas correspondências referentes a este estudo)
Título do Estudo: Estudo das Alterações Citogenéticas e Moleculares em Pacientes Adultos e Pediátricos com Síndrome Mielodisplásica Primária no Estado do Rio de Janeiro: Investigação de Biomarcadores de Diagnóstico e de Prognóstico

Prezado(a) Pesquisador(a),

Informo a composição do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Nacional de Câncer que analisou e aprovou o estudo acima especificado.

<i>Adriana Scheliga</i>	<i>Médica Oncologista Clínica HC I – Coordenadora</i>
<i>Alessandra Oliveira Marins</i>	<i>Enfermeira do Serv. de Pesq. Clínica - CGTC</i>
<i>Ana Lúcia Amaral Eisenberg</i>	<i>Médica Patologista – DIPAT</i>
<i>Ana Valéria Paranhos Miceli</i>	<i>Psicóloga do Serviço de Psicologia - HC I</i>
<i>André Marcelo Machado Soares</i>	<i>Teólogo / Filósofo Extra INCA</i>
<i>Carlos Henrique D Silva</i>	<i>Médico HC IV – Coordenador Substituto</i>
<i>Célia Helena Fernandes Costa</i>	<i>Enfermeira da Oncologia – HC I</i>
<i>Cláudio Gustavo Stefanoff</i>	<i>Coordenador do Laboratório do BNT - CGTC</i>
<i>Cristiano Guedes Duque</i>	<i>Médico Oncologista - HCI</i>
<i>Danielle Nogueira Ramos</i>	<i>Doutora em Epidemiologia e Bioestatística - CONPREV</i>
<i>Eliana Teixeira Maranhão</i>	<i>Fisioterapeuta do Serviço de Fisioterapia – HC I</i>
<i>Héilton Spindola Antunes</i>	<i>Dentista do Serviço de Pesquisa Clínica - CGTC</i>
<i>Ivan da Costa Marques</i>	<i>Matemático Extra INCA</i>
<i>Maria de Fátima Batalha de Menezes</i>	<i>Enfermeira da Divisão de Enfermagem – HC I</i>
<i>Michele Quarti</i>	<i>Enfermeira - Extra INCA</i>
<i>Paulo Alexandre Mora</i>	<i>Médico Oncologista - HCII</i>
<i>Rosane Vianna Jorge</i>	<i>Doutora em Química Biológica da Divisão de Farmacologia - CGTC</i>
<i>Urquilei dos Santos Pinheiro</i>	<i>Representante de Usuários – CES/RJ</i>
<i>Walter Esteves Piñeiro</i>	<i>Advogado Extra INCA</i>
<i>Wilza Barbosa Felipe</i>	<i>Enfermeira da Comissão de Infecção Hospitalar - HC III</i>

Atenciosamente,


Dr. Carlos Henrique D. Silva
Coordenador Substituto do Comitê de Ética em Pesquisa
CEP-INCA

Anexo 2

Tabela 8.1: Características citogenéticas e clínicas dos pacientes pediátricos com SMD tratados com TCTH alogênico

Nº do paciente	Idade/sexo	Subtipo	Cariótipo pré-TCTH alogênico	IPSS citogenético	IPSS-R citogenético	Acompanhamento pós TCTH alogênico	DECH	Sobrevida global (meses)/ óbito
1	14 / M	CR	46,XY[32].	Bom	Bom	Remissão completa	DECH a	156/ Não
2	18 / M	CR	46,XY,del(17)(p12)[4]/46,XY[25]	Intermediário	Intermediário	Remissão completa	DECH c	140/ Não
3	12 / M	CR	46,XY,del(17)(p12)[5]/46,XY[20]	Intermediário	Intermediário	Recidiva	Não	192/ Não
4	11 / F	CR	46,XX[20]	Bom	Bom	Remissão completa	Não	240/ Não
5	3 / M	CR	46,XY[20]	Bom	Bom	Remissão completa	DECH c	112/ Não
6	18 / F	CR	46,XX,del(6)(q21)[3]/46,XX[35]	Intermediário	Intermediário	Remissão completa	DECH c	226/ Não
7	16 / F	CR	51,XX,+4,+6,+8,+14,+20[3]/46,XX[41]	Desfavorável	Muito desfavorável	Remissão completa	DECH c	158/ Não
8	18 / M	CR	46,XY,cbs[6]/46,XY[20]	Intermediário	Intermediário	Remissão completa	Não	238/ Não
9	9 / M	CR	46,XY,del(17)(p12)[5]/46,XY[16]	Intermediário	Intermediário	Remissão completa	DECH c	33/ Sim
10	12 / F	CR	46,XX[49]	Bom	Bom	Remissão completa	Não	168/ Não
11	17 / F	CR	46,XX[29]	Bom	Bom	Falha na pega do enxerto	Não	1/ Sim
12	8 / F	CR	46,XX[32]	Bom	Bom	Falha na pega do enxerto	Não	16 dias/ Sim
13	7 / M	CR	46,XY[35]	Bom	Bom	Recidiva	DECH a	23/ Sim
14	15 / M	CR	46,XY[25]	Bom	Bom	Remissão completa	DECH c	192/ Não
15	16 / F	CR	47,XX,+mar[3]/46,XX[27]	Intermediário	Intermediário	Recidiva	Não	2/ Sim
16	9 / F	CR	46,XX,i(9)(q10)[3]/46,XX[18]	Intermediário	Intermediário	Remissão completa	DECH a	2/ Sim
17	12 / M	CR	46,XY,del(17)(p12)[9]/46,XYdel(17)(p12),del(12)(p12)[5]/46,XY,del(11)(q23)[3]/46,XY[34].	Intermediário	Intermediário	Remissão completa	DECH a c	143/ Não
18	14 / M	CR	46,XY,del(12)(p12)[3]/46,XY[17]	Intermediário	Bom	Remissão completa	Não	244/ Não
19	11 / M	CR	46,XY [20]	Bom	Bom	Remissão completa	DECH a c	29/ Não

Tabela 8.1: Características citogenéticas e clínicas dos pacientes pediátricos com SMD tratados com TCTH alogênico (continuação)

Nº do paciente	Idade/sexo	Subtipo	Cariótipo pré-TCTH alogênico	IPSS citogenético	IPSS-R citogenético	Acompanhamento pós TCTH alogênico	DECH	Sobrevida global (meses)/ óbito
20	5 / F	CR	46,XX,cbs[8]/46,XX[31]	Intermediário	Intermediário	Remissão completa	Não	140/ Não
21	9 / M	CR	46,XY,del(17)(p12)[3]/46,XY[36]	Intermediário	Intermediário	Remissão completa	Não	138/ Não
22	7 / M	CR	46,XY,del(12)(p12)[6]/46,XY[37]	Intermediário	Bom	Recidiva	Não	167/ Não
23	11 / F	CR	46,XX,del(5)(q15q35)[15]/46,XX[28]	Bom	Bom	Remissão completa	Não	93/ Não
24	7 / F	CR	46,XX,del(9)(p21)[3]/46,XX[19]	Intermediário	Intermediário	Remissão completa	DECH a	2/ Sim
25	7 / M	CR	46,XY,del(11)(q23)[4]/46,XY[48]	Intermediário	Muito bom	Recidiva	DECH a	5/ Sim
26	10 / M	CR	46,XY,-7,+20[13]/46,XY[17]	Desfavorável	Desfavorável	Remissão completa	Não	165/ Não
27	4 / M	CR	46,XY[21]	Bom	Bom	Recidiva	DECH a	7/ Sim
28	13/ M	CR	46,XY[22]	Bom	Bom	Remissão completa	DECH c	71/ Não
29	1/M	CR	46,XY,del(7)(q22)[5]/45,XY,-7[15].	Desfavorável	Desfavorável	NA	Não	1/ Sim
30	13 / F	AREB	47,XX,+21[6]/47,XX,+mar[8]/48,XX,+21,+mar[4]/46,XX[10]	Intermediário	Intermediário	Recidiva	DECH a	82/ Sim
31	5/ F	AREB	46,XY[30]	Bom	Bom	Recidiva	DECH a	17/ Sim
32	2 / F	AREB	46,XX,del(11)(q23)[6]/46,XX[19]	Intermediário	Muito bom	Remissão completa	Não	86/ Não
33	14 / M	AREB	46,XY[25]	Bom	Bom	Remissão completa	DECH c	178/ Não
34	18 / M	AREB	46,XY,inv(3)(q21q26)[3]/46,XY[17]	Intermediário	Desfavorável	Falha na pega do enxerto	Não	1/ Sim
35	8 / M	AREB	46,XY,del(11)(q23)[4]/46,XY[20];	Intermediário	Muito bom	Recidiva	DECH c	51/ Sim
36	8/ M	AREB	46,XY,del(7)(q31)[5]/46,XY[15]	Desfavorável	Intermediário	Recidiva	DECH a	35/ Não
37	4 / M	AREB	46,XY,del(11)(q23)[6]/46,XY[16]	Intermediário	Muito bom	Remissão completa	DECH a	76/ Não
38	6 / F	AREB	46,XX,i(9)(q10)[15]/46,XX[7]	Intermediário	Intermediário	Falha na pega do enxerto	DECH a	1/ Sim

Tabela 8.1: Características citogenéticas e clínicas dos pacientes pediátricos com SMD tratados com TCTH alogênico (continuação)

Nº do paciente	Idade/sexo	Subtipo	Cariótipo pré-TCTH alogênico	IPSS citogenético	IPSS-R citogenético	Acompanhamento pós TCTH alogênico	DECH	Sobrevida global (meses)/ óbito
30	3/ M	AREB	49,XY,del(3)(q21),del(6)(q21),+del(6)(q21),+8,+del(12)(p11)[21]	Desfavorável	Muito desfavorável	Recidiva	Não	8/ Sim
40	5/ M	AREB	47,XY,+mar[3]/46,XY[37]	Intermediário	Intermediário	Recidiva	Não	7/ Sim
41	9/ F	AREB-t	47,XX,+8[20]	Intermediário	Intermediário	Recidiva	DECH a	2/ Sim
42	5 / M	AREB-t	48,XY,+X,+8[6]/46,XY,add(7)(p22)[9]/46,XY[9]	Intermediário	Intermediário	Recidiva	Não	59/ Sim
43	7 / M	AREB-t	45,XY,-7[35]/46,XY[4].	Desfavorável	Desfavorável	Recidiva	Não	9/ Sim
44	12 / M	AREB-t	46,XY,-8,del(11)(q23),der(21)t(21;?)(p11;?),+mar[20]/46,XY[4].	Desfavorável	Muito desfavorável	Recidiva	DECH c	103/ Não
45	12 / M	AREB-t	45,XY,-7[18]/46,XY[4]	Desfavorável	Desfavorável	Remissão completa	Não	265/ Não
46	4/ M	AREB-t	46,XY,del(11)(q23)[3]/46,XY[17]	Intermediário	Muito bom	Recidiva	Não	9/ Sim

