



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Tatiana Fonseca Alvarenga

Estudo do papel dos genes *SALL4* e *CHFR* em síndrome mielodisplásica primária e sua correlação com as características morfológicas, citogenéticas e clínicas

Rio de Janeiro

2022

Tatiana Fonseca Alvarenga

Estudo do papel dos genes *SALL4* e *CHFR* em síndrome mielodisplásica primária e sua correlação com as características morfológicas, citogenéticas e clínicas

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

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

Coorientadora: Prof^ª. Dra. Cecília de Souza Fernandez

Rio de Janeiro

2022

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

A473 Alvarenga, Tatiana Fonseca.
Estudo do papel dos genes SALL4 e CHFR em síndrome mielodisplásica primária e sua correlação com as características morfológicas, citogenéticas e clínicas / Tatiana Fonseca Alvarenga – 2022.
182f.

Orientadora: Prof.^a Dra. Teresa de Souza Fernandez Seixas
Coorientadora: Prof.^a Dra. Cecília de Souza Fernandez

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Ciências Médicas.

1. Medula óssea – Doenças - Teses. 2. Síndromes Mielodisplásicas. 3. Análise Citogenética. 4. Biomarcadores - Teses. I. Seixas, Teresa de Souza Fernandez. II. Fernandez, Cecília de Souza. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 616.71-008.46

Bibliotecária: Ana Rachel Fonseca de Oliveira
CRB7/6382

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Tatiana Fonseca Alvarenga

Estudo do papel dos genes *SALL4* e *CHFR* em síndrome mielodisplásica primária e sua correlação com as características morfológicas, citogenéticas e clínicas

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 26 de julho de 2022.

Coorientadora: Prof^ª. Dra. Cecília de Souza Fernandez
Universidade Federal Fluminense

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Teresa de Souza Fernandez Seixas (Orientadora)
Instituto Nacional de Câncer

Prof.^a Dra. Maria Christina Paixão Maioli
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof.^a Dra. Márcia Mattos Gonçalves Pimentel
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Dr. Cesar de Souza Bastos Junior
Marinha do Brasil

Dr. Mario Lucio Cordeiro Araújo Junior
Instituto Nacional do Câncer

Rio de Janeiro

2022

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu pequenininho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família pelo apoio, pela dedicação e pelas horas furtadas, principalmente minha mãe Fatima, irmão André e a Ana;

Agradeço à Prof.^a Dra. Teresa e à Prof.^a Dra. Cecilia pelo belo trabalho e pela orientação;

Agradeço à minha equipe de pesquisa do CEMO-INCA pelo acolhimento durante todos esses anos;

Agradeço aos amigos do DIPAT-INCA, em especial a Dra. Veronica Goulart e a Priscila Valverde;

Agradeço aos amigos da Anatomia Patológica da UERJ pelos ensinamentos, principalmente a Prof.^a Daurita;

Agradeço à Dra. Vera Lobo e à Dra. Luciana Wernersbach pelas vivências em hematopatologia;

Agradeço à toda a equipe da PGCM-UERJ pela minha formação acadêmica e científica;

Agradeço aos órgãos de fomento CNPq e FAPERJ;

Agradeço a Deus pela oportunidade.

Somos o que pensamos. Tudo que somos surge de nossos pensamentos. Com os nossos
pensamentos, fazemos o nosso mundo.

Buda

RESUMO

ALVARENGA, Tatiana Fonseca. *Estudo do papel dos genes SALL4 e CHFR em síndrome mielodisplásica primária e sua correlação com as características morfológicas, citogenéticas e clínicas*. 2022. 182 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

Introdução e objetivo: A síndrome mielodisplásica primária (SMD) compreende um grupo de doenças clonais de célula tronco hematopoética, caracterizada por hematopoese ineficaz, apoptose intramedular aumentada, displasias na medula óssea e citopenias no sangue periférico. As características morfológicas e as alterações cromossômicas específicas têm refletido diferentes questões biológicas. A história natural da SMD é altamente variável, podendo apresentar formas iniciais da doença com sobrevivência alta ou formas mais avançadas que podem evoluir rapidamente para leucemia mieloide aguda (LMA). O objetivo deste trabalho foi estudar as associações dos achados morfológicos, citogenéticos e moleculares com as características clínicas dos pacientes para caracterizar o papel dos genes *SALL4* e *CHFR* no desenvolvimento da SMD e sua evolução para LMA. **Metodologia:** A análise morfológica foi realizada em biópsias de medula óssea e pelo mielograma. A análise citogenética foi realizada em células de medula óssea através da técnica de bandeamento GTG e hibridização in situ por fluorescência (FISH). Foi analisado o padrão de expressão dos genes *SALL4* e *CHFR* através de PCR em tempo real e pelo estudo imuno-histoquímico. A análise estatística foi considerada significativa quando $p < 0,05$. **Resultados:** Os pacientes foram classificados de acordo com a OMS em estágios iniciais: SMD-CRDU (25 pacientes), SMD-CRDM (44 pacientes), SMD-SA (2 pacientes); estágios avançados: SMD-EB-1 (14 pacientes), SMD-EB-2 (12 pacientes) e LMA secundária à SMD (3 pacientes). Anormalidades cromossômicas foram detectadas em 39 pacientes (39%). As anormalidades mais frequentes foram: cariótipos complexos, +8, -7/del(7q), del(17p)/i(17q) e del(11q). Pacientes com doença avançada apresentaram maior incidência de medula óssea hiperclular ($p < 0,006$), de aumento da relação mieloide:eritroide ($p < 0,001$), de perda arquitetural medular ($p < 0,001$), de megacariócitos com hipolobulação nuclear ($p < 0,011$) e de ALIP ($p < 0,001$). Em relação à evolução da doença, aqueles com pior prognóstico pelo IPSS e IPSS-R apresentaram maior risco de transformação para LMA ($p < 0,001$). Anormalidades cromossômicas foram detectadas em todos os pacientes com expressão de *SALL4*. Esses pacientes encontravam-se com doença avançada. Pacientes com expressão de *SALL4* tiveram menor sobrevida ($p < 0,0014$). Todos os pacientes com expressão aumentada de *SALL4* apresentaram evolução leucêmica ($p < 0,02$). Cariótipos anormais e os grupos de risco citogenéticos intermediário e desfavorável pelo IPSS e IPSS-R estiveram associados com níveis de expressão mais baixos de *CHFR*, sugerindo associação com a presença de aneuploidias. **Conclusão:** A biópsia de medula óssea é um método auxiliar no diagnóstico de SMD e tem valor prognóstico, assim como o estudo citogenético. Nossos resultados sugerem que a alta expressão de *SALL4* e a baixa expressão de *CHFR* apresentam um papel importante no desenvolvimento da SMD e sua evolução para LMA, estando associados com prognóstico desfavorável, sendo potenciais biomarcadores de evolução da doença.

Palavras-chave: Síndrome Mielodisplásica Primária. Alterações citogenéticas. Displasias. *SALL4*. *CHFR*. Biomarcadores de diagnóstico e prognóstico.

ABSTRACT

ALVARENGA, Tatiana. Fonseca. *Study of the role of SALL4 and CHFR genes in primary myelodysplastic syndrome and their correlation with morphological, cytogenetic and clinical characteristics*. 2022. 182 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

Introduction and objective: Primary myelodysplastic syndrome (MDS) comprises a group of clonal hematopoietic stem cell diseases, characterized by ineffective hematopoiesis, increased intramedullary apoptosis, bone marrow dysplasias and peripheral blood cytopenias. Morphological characteristics and specific chromosomal alterations have reflected different biological issues. The natural history of MDS is highly variable, and may present with early forms of the disease with high survival or more advanced forms that can rapidly progress to acute myeloid leukemia (AML). The objective of this work was to study the associations of morphological, cytogenetic and molecular findings with the clinical characteristics of patients to characterize the role of *SALL4* and *CHFR* genes in the development of MDS and its evolution to AML. **Methodology:** Morphological analysis was performed on bone marrow biopsies and myelogram. Cytogenetic analysis was performed on bone marrow cells using the GTG banding technique and fluorescence in situ hybridization (FISH). The expression pattern of *SALL4* and *CHFR* genes was analyzed by quantitative real-time PCR and by immunohistochemical study. Statistical analysis was considered significant when $p < 0,05$. **Results:** Patients were classified according to the WHO in early stages: MDS-SLD (25 patients), MDS-MLD (44 patients), MDS-RS (2 patients); advanced stages: MDS-EB-1 (14 patients), MDS-EB-2 (12 patients) and AML secondary to MDS (3 patients). Chromosomal abnormalities were detected in 39 patients (39%). The most frequent abnormalities were: complex karyotypes, +8, -7/del(7q), del(11q) and del(17p)/i(17q). Patients with advanced disease had a higher incidence of hypercellular bone marrow ($p < 0,006$), increased myeloid:erythroid ratio ($p < 0,001$), medullary architectural loss ($p < 0,001$), megakaryocytes with nuclear hypolobulation ($p < 0,011$) and of ALIP ($p < 0,001$). Regarding progression to leukemia, those with a worse prognosis by the IPSS and IPSS-R had a higher risk of transformation to AML ($p < 0,001$). Chromosomal abnormalities were detected in all patients with *SALL4* expression. These patients had advanced disease. Patients with higher *SALL4* expression had lower survival ($p < 0,0014$). All patients with increased expression of *SALL4* had leukemic evolution ($p < 0,02$). Abnormal karyotypes and intermediate and unfavorable cytogenetic risk groups by IPSS and IPSS-R were associated with lower *CHFR* expression levels, suggesting an association with the presence of aneuploidies. **Conclusion:** Bone marrow biopsy is an auxiliary method in the diagnosis of MDS and has prognostic value, as well as the cytogenetic study. Our results suggest that high expression of *SALL4* and low expression of *CHFR* play an important role in the development of MDS and its evolution to AML, being associated with unfavorable prognosis, and they are potential biomarkers of disease evolution.

Keywords: Primary Myelodysplastic Syndrome. Cytogenetic. Dysplasias. *SALL4*. *CHFR*.

Diagnostic and prognostic biomarkers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Coleta do material para análise de medula óssea: Biópsia e Mielograma	27
Figura 2 – Topografia normal de cada linhagem celular na medula óssea.....	27
Figura 3 – Corte histológico de medula óssea em coloração Hematoxilina e Eosina.....	30
Figura 4 – Displasia na linhagem eritroide.....	31
Figura 5 – Displasia na linhagem granulocítica	32
Figura 6 – Displasia na linhagem megacariocítica.....	32
Figura 7 – Blastos tipo I, II e III no mielograma.....	33
Figura 8 – Expressão de <i>SALL4</i> em neoplasias hematológicas e tumores sólidos.....	46
Figura 9 – <i>SALL-4</i> e seu Papel na Regulação de Células-tronco Hematopoéticas.....	48
Figura 10 – <i>CHFR</i> e o Controle do Ciclo Celular da fase G2 para mitose	49
Figura 11 – Curva de Kaplan-Meier de acordo com os subgrupos da OMS ($p < 0,0001$).....	63
Figura 12 – Exemplos de celularidade da medula óssea	65
Figura 13 – Curva de Kaplan-Meier de acordo com celularidade em biópsia de medula óssea classificada em hiper celular (Hiper), normocelular (Normo) e hipocelular (Hipo) ($p = 0,29$).....	66
Figura 14 – Medula óssea de paciente com AREB-2 apresentando precursores mieloides imaturos no espaço trabecular agrupados (ALIP delimitado por—), outros isolados (identificado com ♦) e células da linhagem eritroide sem delimitar grupamentos (→).....	67
Figura 15 – Curva de Kaplan-Meier de acordo com perda de orientação arquitetural avaliada em biópsia de medula óssea considerada como importante, moderada e discreta e ausente ($p < 0,0001$).....	68
Figura 16 – Grupamento de células CD34 positivas (ALIP) e outras células isoladas marcadas pela imuno-histoquímica em medula óssea de paciente com AREB-2.....	69
Figura 17 – Curva de Kaplan-Meier de acordo com a presença de ALIP considerada como importante, moderado e discreto e a sua ausência na biópsia de medula óssea ($p = 0,041$).....	69
Figura 18 – Células CD34 positivas isoladas em medula óssea hiper celular em paciente classificado como CRDM e com cariótipo complexo (44,XY,del(4)(q31),-5,-7,t(12;19)(p12;q11),add(17)(p13),-18,+mar)	70

Figura 19 – Curva de Kaplan-Meier de acordo com a presença de ALIP e de porcentagem de células CD34 positivas isoladas ($p = 0,007$).....	71
Figura 20 – Hiperplasia eritróide com numeroso megaloblastos em medula óssea hiperclular de paciente masculino, 52 anos com anemia e plaquetopenia, classificado como ARSA e apresentando displasia em três linhagens. Presença de 1% blasto no mielograma.	72
Figura 21 – Curva de Kaplan-Meier de acordo com a presença de megaloblastos ($p = 0,95$).73	
Figura 22 – Curva de Kaplan-Meier de acordo com relação mielóide:eritróide pela avaliação da biópsia de medula óssea distribuídos em aumentada (alto), normal e reduzida (baixo) ($p < 0,0028$).....	74
Figura 23 – Medula óssea hiperclular de paciente, masculino, de 21 anos, classificado como AREB-2. Presença de ninhos eritróides e de numerosos megacariócitos juntos as trabéculas ósseas. Há acentuada hipolobulação nuclear de megacariócitos e micromegacariócitos.....	75
Figura 24 – Curva de Kaplan-Meier de acordo com a quantificação de megacariócitos pela biópsia de medula óssea agrupada em aumentada, normal e reduzida ($p = 0,46$).76	
Figura 25 – Paciente AREB-2 com cariótipo normal apresentando medula óssea hiperclular com micromegacariócito (→) e megacariócitos com hipolobulação nuclear (●). Observa-se ectasia sinusoidal (linha)	77
Figura 26 – Curva de Kaplan-Meier de acordo com hipolobulação nuclear megacariocítica observada em biópsia de medula óssea em importante, moderada e discreta e ausente ($p = 0,0011$)	78
Figura 27 – Curva de Kaplan-Meier de acordo com a presença de alterações estromais em biópsia de medula óssea ($p = 0,73$).....	79
Figura 28 – Fibrose medular grau 2 em paciente AREB-2 (coloração reticulina).....	80
Figura 29 – Curva de Kaplan-Meier de acordo com a presença de fibrose medular grau I, II, II e ausente, grau 0, em biópsia de medula óssea ($p = 0,13$).....	81
Figura 30 – Distribuição da frequência de cariótipos normais e anormais em pacientes com SMD.....	84
Figura 31 – Análise por bandeamento G, cariótipo: 47,XY,+8.....	85
Figura 32 – FISH em núcleos interfásicos mostrando 3 sinais vermelhos utilizando a sonda LSI MYC Spectrum Orange (Vysis, Abbott Laboratories) indicando a trissomia do cromossomo 8.....	86
Figura 33 – Análise por bandeamento G, cariótipo: 46,XX,del(17)(p11).....	86

Figura 34 – FISH em núcleos interfásicos mostrando 1 sinal vermelho utilizando a sonda LSI p53, Spectrum Orange (Vysis, Abbott Laboratories) indicando a del(17p).....	87
Figura 35 – Frequência das alterações cromossômicas em SMD primária.	87
Figura 36 – Distribuição do padrão cromossômico nos estágios iniciais e avançados de SMD primária.....	89
Figura 37 – Curva de Kaplan-Meier de acordo com prognóstico citogenético pelo IPSS (p<0,0001).	90
Figura 38 – Curva de Kaplan-Meier de acordo com prognóstico citogenético pelo IPSS-R (p = 0,0047).	91
Figura 39 – Distribuição dos pacientes com SMD primária de acordo com o IPSS. Número de pacientes com evolução leucêmica e óbitos por grupo de risco	106
Figura 40 – Distribuição dos pacientes com SMD primária de acordo com o IPSS-R. Número de pacientes com evolução leucêmica e óbitos por grupo de risco.	106
Figura 41 – Curva de Kaplan-Meier de acordo com o prognóstico pelo IPSS (p<0,0001) ...	107
Figura 42 – Curva de Kaplan-Meier de acordo com o prognóstico pelo IPSS-R (p<0,0001)	107
Figura 43 – Análise dos níveis relativos de expressão do gene <i>SALL4</i> em pacientes com SMD primária em relação aos controles (doadores de medula óssea).....	108
Figura 44 – Análise dos níveis relativos de expressão do gene <i>SALL4</i> em pacientes com SMD primária em relação à celularidade da medula óssea.....	109
Figura 45 – Análise dos níveis relativos de expressão do gene <i>SALL4</i> em pacientes com SMD primária em relação à ausência e presença de ALIP	110
Figura 46 – Análise dos níveis relativos de expressão do gene <i>SALL4</i> em pacientes com SMD primária em relação à ausência e presença de porcentagem de células CD34 positivas	110
Figura 47 – Análise dos níveis relativos de expressão do gene <i>SALL4</i> em pacientes com SMD primária em relação ao padrão cromossômico: cariótipo normal versus cariótipo anormal.....	111
Figura 48 – Análise dos níveis relativos de expressão do gene <i>SALL4</i> em pacientes com SMD primária em relação ao grupo de risco citogenético segundo o IPSS: bom prognóstico, intermediário (Int) e prognóstico desfavorável (A) e segundo o IPSS-R: muito bom e bom, intermediário (Int) e desfavorável	112
Figura 49 – Análise dos níveis relativos de expressão de <i>SALL4</i> em pacientes com SMD primária: estágios iniciais da doença (CRDU/CRDM) e avançados (AREB1/AREB2) com os controles	112

Figura 50 – Análise dos níveis relativos de expressão do gene <i>SALL4</i> em pacientes com SMD primária em relação à evolução da SMD para LMA.....	113
Figura 51 – Imuno-histoquímica pelo anticorpo SALL4 (400x). Presença de imunopositividade de padrão de marcação nuclear (coloração castanha) nas células com expressão de SALL4. Setas evidenciam algumas dessas células com imunopositividade.	114
Figura 52 – Curva de Kaplan-Meier evidenciando sobrevida global dos pacientes com SMD. Aqueles pacientes que apresentaram imunopositividade para SALL4 apresentaram menor sobrevida, independente da fase da doença.	115
Figura 53 – Curva de Kaplan-Meier evidenciando que os pacientes do grupo avançado pela OMS com expressão de SALL4 tiveram menor sobrevida do que os pacientes com doença avançada sem expressão de SALL4 e do que os pacientes com doença na fase inicial. Não houve pacientes na fase inicial da doença com expressão imuno-histoquímica de SALL4 ($p < 0,0001$).....	115
Figura 54 – Análise dos níveis relativos de expressão do gene <i>CHFR</i> em pacientes com SMD primária em relação aos controles (doadores de medula óssea).....	116
Figura 55 – Análise dos níveis relativos de expressão do gene <i>CHFR</i> em pacientes com SMD primária em relação à celularidade da medula óssea.....	117
Figura 56 – Análise dos níveis relativos de expressão do gene <i>CHFR</i> em pacientes com SMD primária em relação à ausência e presença de ALIP	117
Figura 57 – Análise dos níveis relativos de expressão do gene <i>CHFR</i> em pacientes com SMD primária em relação à quantidade de células CD34 <1% e igual ou >1%	118
Figura 58 – Análise dos níveis relativos de expressão do gene <i>CHFR</i> em pacientes com SMD primária em relação ao padrão cromossômico: cariótipo normal versus cariótipo anormal	118
Figura 59 – Análise dos níveis relativos de expressão do gene <i>CHFR</i> em pacientes com SMD primária em relação ao grupo de risco citogenético segundo o IPSS: bom prognóstico, intermediário (Int) e prognóstico desfavorável (A) e segundo o IPSS-R: muito bom e bom, intermediário (Int) e desfavorável.....	119
Figura 60 – Análise dos níveis relativos de expressão de <i>CHFR</i> em pacientes com SMD primária: estágios iniciais da doença (CRDU/CRDM) e avançados (AREB1/AREB2) com os controles.....	120
Figura 61 – Análise dos níveis relativos de expressão do gene <i>CHFR</i> em pacientes com SMD primária em relação à evolução da SMD para LMA	120

- Figura 62 – Paciente CRDU, com cariótipo complexo que evoluiu para LMA. Medula óssea hipercelular e com células blásticas, apresentando cerca de 5% de células hematopoéticas positivas pelo CHFR, mostrando a baixa expressão (<10% de células positivas para CHFR) 121
- Figura 63 – Paciente CRDU apresentando del(11)(q23) como alteração citogenético e ALIP na biópsia de medula óssea. O estudo da expressão do CHFR foi positivo em cerca de 40% das células medulares hematopoéticas 121
- Figura 64 – Paciente com CRDU, apresentando cariótipo normal (46,XX) e expressão aumentada (cerca de 80% de células positivas) de CHFR pelo estudo imunohistoquímico, mostrando a alta expressão (> 50% de células positivas) 122

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Diferenças entre SMD primária em pacientes pediátricos e adultos	24
Tabela 2 – Classificação da Síndrome Mielodisplásica segundo os critérios propostos pelo Grupo FAB em 1982	38
Tabela 3 – Cariótipo sugestivo de SMD em citopenia idiopática de significado indeterminado (OMS, 2008)	40
Tabela 4 – Classificação da Síndrome Mielodisplásica segundo a proposta OMS em 2016...	41
Tabela 5 – Pontuação segundo os Parâmetros Críticos do IPSS em Síndrome Mielodisplásica (1997).....	42
Tabela 6 – Pontuação Prognóstica segundo os critérios do IPSS-R.....	43
Tabela 7 – Grupos de risco citogenéticos segundo os Parâmetros do IPSS-R em Síndrome Mielodisplásica (2012)	43
Tabela 8 – Mutações em genes relacionados ao prognóstico desfavorável em SMD primária	44
Tabela 9 – Oligonucleotídeos e condições de ciclagem utilizados para a análise de expressão dos Genes <i>SALL4</i> e <i>CHFR</i> em pacientes com síndrome mielodisplásica primária .	59
Tabela 10 – Comparação da celularidade medular e da relação mieloide:eritroide de pacientes com síndrome mielodisplásica primária analisados pelo mielograma e pela biópsia de medula óssea	82
Tabela 11 – Comparação da presença de megaloblastos em pacientes com síndromes mielodisplásicas primária analisados pelo mielograma e pela biópsia de medula óssea	82
Tabela 12 – Comparação entre a presença de ALIP e células CD34 pela biópsia de medula óssea e a porcentagem de blastos analisados pelo mielograma em pacientes com síndromes mielodisplásicas primária	83
Tabela 13 – Comparação das análises qualitativas e quantitativas da linhagem megacariocítica de pacientes com síndromes mielodisplásicas primária analisados pelo mielograma e pela biópsia de medula óssea	84
Tabela 14 – Classificação dos pacientes e a distribuição de cariótipos anormais.....	88
Tabela 15 – Distribuição dos pacientes de acordo com grupo de risco citogenético segundo o IPSS e sua associação com a evolução da doença.....	90
Tabela 16 – Distribuição dos pacientes segundo o risco citogenético do IPSS-R e sua associação com a evolução para LMA	91

Tabela 17 – Celularidade Medular de Pacientes com Síndrome Mielodisplásica Primária Estratificados pelo Prognóstico Citogenético segundo o IPSS.....	92
Tabela 18 – Celularidade Medular de Pacientes com Síndrome Mielodisplásica Primária Estratificados pelo Prognóstico Citogenético segundo o IPSS-R.....	93
Tabela 19 – Relação Mieloide:Eritroide em Pacientes com Síndrome Mielodisplásica Primária Avaliada pelo Prognóstico Citogenético segundo o IPSS.....	94
Tabela 20 – Relação Mieloide:Eritroide de Pacientes com Síndrome Mielodisplásica Primária Estratificados pelo Prognóstico Citogenético segundo o IPSS-R	94
Tabela 21 – Relação da Quantidade de Megacariócitos em Pacientes com Síndrome Mielodisplásica Primária de Acordo com o Prognóstico Citogenético segundo o IPSS	95
Tabela 22 – Relação da Quantidade de Megacariócitos em Pacientes com Síndrome Mielodisplásica Primária de Acordo com o Prognóstico Citogenético segundo o IPSS-R)	96
Tabela 23 – Alterações Qualitativas em Megacariócitos (Micromegacariócitos) em Pacientes com Síndrome Mielodisplásica Primária de Acordo com o Prognóstico Citogenético segundo o IPSS.....	96
Tabela 24 – Alterações Qualitativas em Megacariócitos (Micromegacariócitos) em Pacientes com Síndrome Mielodisplásica Primária de Acordo com o Prognóstico Citogenético segundo o IPSS-R	97
Tabela 25 – Alterações Qualitativas em Megacariócitos (Hipolobulação Nuclear) em Pacientes com Síndrome Mielodisplásica Primária de Acordo com o Prognóstico Citogenético segundo o IPSS	98
Tabela 26 – Alterações Qualitativas em Megacariócitos (Hipolobulação Nuclear) em Pacientes com Síndrome Mielodisplásica Primária de Acordo com o Prognóstico Citogenético segundo o IPSS-R.....	98
Tabela 27 – Perda Arquitetural em Pacientes com Síndrome Mielodisplásica Primária Estratificados de Acordo com o Prognóstico Citogenético segundo o IPSS	99
Tabela 28 – Perda Arquitetural em pacientes com Síndrome Mielodisplásica Primária de Acordo com o Prognóstico Citogenético segundo o IPSS-R.....	100
Tabela 29 – ALIP e Células CD34 em Pacientes com Síndrome Mielodisplásica Primária Avaliada pelo Prognóstico Citogenético segundo o IPSS.....	100
Tabela 30 – ALIP e Células CD34 em Pacientes com Síndrome Mielodisplásica Primária Avaliada pelo Prognóstico Citogenético segundo o IPSS-R.....	101

Tabela 31 – Megaloblastos em Pacientes com Síndrome Mielodisplásica Primária de Acordo com o Prognóstico Citogenético segundo o IPSS	102
Tabela 32 – Megaloblastos em Pacientes com Síndrome Mielodisplásica Primária de Acordo com o Prognóstico Citogenético segundo o IPSS-R	102
Tabela 33 – Análise da Alteração Estromal em Pacientes com Síndrome Mielodisplásica Primária de Acordo com Prognóstico Citogenético segundo o IPSS	103
Tabela 34 – Análise da Alteração Estromal em Pacientes com Síndrome Mielodisplásica Primária de acordo com o Prognóstico Citogenético segundo o IPSS-R.....	103
Tabela 35 – Fibrose Medular em Pacientes com Síndrome Mielodisplásica Primária e sua associação com o Prognóstico Citogenético segundo o IPSS	104
Tabela 36 – Fibrose medular em Pacientes com Síndrome Mielodisplásica Primária e sua associação com o Prognóstico Citogenético segundo o IPSS-R	104
Tabela 37 – Associação entre a expressão de CHFR e a presença de cariótipos anormais....	122
Tabela 38 – Associação entre o tipo de alteração citogenética e o padrão de expressão do CHFR	123

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DNA	Ácido Desoxirribonucleico
AR	Anemia Refratária
AREB	Anemia Refratária com Excesso de Blastos
AREB-t	Anemia Refratária com Excesso de Blastos em Transformação
ARSA	Anemia Refratária com Sideroblastos em Anel
ESCs	Células-Tronco Embrionárias
CTH	Células-tronco hematopoéticas
CHFR	<i>Checkpoint with Forkhead and Ring Finger Domain</i>
CRDM	Citopenia Refratária com Displasia em Multilinhagem
CRDU	Citopenia Refratária com Displasia em uma Linhagem
ARA-C	Citosina Arabinosídeo
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
ANC	Contagem Neutrofílica Absoluta
Del	Deleção
DIPAT-INCA	Divisão de Patologia do Instituto Nacional do Câncer
DECH	Doença De Enxerto x Hospedeiro
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
FCM	Faculdade de Ciências Médicas
FAB	Grupo Franco-Americano-Britânico
FISH	Hibridização “in situ” por fluorescência
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
IHQ	Imuno-Histoquímica
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
INCA	Instituto Nacional do Câncer
ICC	Insuficiência cardíaca congestiva
Inv	Inversão
LLA-B	Leucemia Linfoide Aguda de células B
LLA	Leucemia Linfoide Aguda
LMA	Leucemia Mieloide Aguda
LMC	Leucemia Mieloide Crônica
LMMC	Leucemia Mielomonocítica Crônica

M.O.	Medula óssea
OMS	Organização Mundial da Saúde
ALIP	Precursos imaturos de Localização Anormal
M:E	Relação mieloide:eritroide
rpm	Rotações por minuto
qRT-PCR	RT-PCR em tempo real quantitativo
SP	Sangue periférico
SMD-EB	Síndrome Mielodisplásica com Excesso de Blastos
SMD-F	Síndrome Mielodisplásica Com Fibrose
SMD-U	Síndrome Mielodisplásica não classificável
SMD	Síndrome Mielodisplásica
IPSS	Sistema Internacional de Escala Prognostica
IPSS-R	Sistema Internacional de Escala Prognóstica Revisado
ISCN	Sistema Internacional para Nomenclatura de Citogenética <u>Humana</u>
TCTH	Transplante de Células Tronco Hematopoéticas
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro

LISTA DE SÍMBOLOS

p	Braço Curto do Cromossomo
q	Braço Longo do Cromossomo
KCl	Cloreto de Potássio
dL	Decilitro
CO ₂	Dióxido de Carbono
NaH ₂ PO ₄	Fosfato monossódico
Mg	Micrograma
mL	Miligrama
μL	Microlitro
M	Mol
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
pH	Potencial Hidrogênico
t	Translocação

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	22
1	ASPECTOS GERAIS DA SÍNDROME MIELODISPLÁSICA PRIMÁRIA ..	23
1.1	Características Morfológicas de Biópsia de Medula Óssea em Pacientes com SMD Primária	26
1.1.1	<u>Biópsia de Medula Óssea de Pacientes com SMD Primária</u>	27
1.1.2	<u>Características Morfológicas de Aspirado de Medula Óssea: Mielograma em Pacientes com SMD Primária</u>	30
1.2	Alterações Citogenéticas em SMD Primária	33
1.3	Classificação e Escala Prognóstica em SMD Primária	36
1.3.1	<u>Classificação da Síndrome Mielodisplásica segundo os critérios propostos pela FAB e pela Organização Mundial da Saúde</u>	36
1.3.2	<u>Escalas Prognósticas em Síndrome Mielodisplásica: IPSS e IPSS-R</u>	42
1.4	Alterações Moleculares em SMD Primária	44
1.4.1	<u>Gene <i>SALL4</i></u>	46
1.4.2	<u>Gene <i>CHFR</i></u>	48
2	OBJETIVOS	51
3	MATERIAIS E MÉTODOS	52
3.1	Pacientes	52
3.2	Estudo Clínico	52
3.3	Estudo das Características Morfológicas de Medula Óssea	53
3.3.1	<u>Análise de Biópsia de Medula Óssea</u>	53
3.3.2	<u>Análise do aspirado de medula óssea: Mielograma</u>	54
3.4	Análise Citogenética	55
3.4.1	<u>Citogenética Convencional: Bandeamento GTG</u>	55
3.4.2	<u>Citogenética Molecular: Hibridização “in situ” por fluorescência (FISH)</u>	56
3.5	Estudo Molecular: Análise do Padrão de Expressão dos Genes <i>SALL4</i> e <i>CHFR</i>	57
3.5.1	<u>Análise do padrão da expressão dos genes <i>SALL4</i> e <i>CHFR</i> por qRT-PCR em tempo real quantitativo</u>	57
3.5.1.1	Extração de RNA	57
3.5.1.2	Obtenção de cDNA	58

3.5.1.3	Reação em cadeia da polimerase da transcriptase reversa em tempo real quantitativa (qRT-PCR)	59
3.5.2	Análise do Padrão da Expressão de <i>SALL4</i> e <i>CHFR</i> e Avaliação de Células CD34+ por Imuno-histoquímica.....	59
3.6	Análise estatística	60
4	RESULTADOS	62
4.1	Análise das Características Clínicas dos Pacientes com SMD Primária	62
4.2	Análise das Características Morfológicas através da Biópsia de Medula Óssea em Pacientes com SMD Primária	63
4.2.1	<u>Estudo da Celularidade da Medula Óssea</u>	64
4.2.2	<u>Avaliação da Arquitetura Medular em SMD Primária</u>	66
4.2.3	<u>Análise das Características da Linhagem Mieloide</u>	68
4.2.4	<u>Análise das Características da Linhagem Eritroide</u>	71
4.2.5	<u>Avaliação da Relação Mieloide: Eritroide</u>	73
4.2.6	<u>Análise das Características da Linhagem megacariocítica</u>	74
4.2.7	<u>Análise do Componente Estromal</u>	78
4.2.8	<u>Avaliação de Fibrose Medular</u>	79
4.3	Análise Morfológica Comparativa entre Biópsia de Medula Óssea e Mielograma	81
4.4	Análise Citogenética em Pacientes com SMD Primária	84
4.4.1	<u>Distribuição das Alterações Cromossômicas nos Subtipos de SMD segundo a Classificação OMS</u>	87
4.4.2	<u>Distribuição dos Pacientes com SMD nos Subgrupos de Risco Citogenéticos de acordo com IPSS e IPSS-R</u>	89
4.5	Associação entre as Características Morfológicas e Citogenéticas	92
4.6	Distribuição dos Pacientes com SMD Primária segundo o IPSS e IPSS-R e seu Impacto na Sobrevida	105
4.7	Estudo Molecular	108
4.7.1	<u>Estudo do Padrão de Expressão de <i>SALL4</i> em Pacientes com SMD Primária</u>	108
4.7.1.1	Análise do Padrão de Expressão do gene <i>SALL4</i> por qRT-PCR.....	108
4.7.1.2	Análise de Expressão de <i>SALL4</i> por Imuno-histoquímica.....	113
4.7.2	<u>Estudo do Padrão de Expressão de <i>CHFR</i> em Pacientes com SMD Primária</u>	116
4.7.2.1	Análise do Padrão de Expressão do gene <i>CHFR</i> por qRT-PCR.....	116

4.7.2.2	Análise Expressão de CHFR por Imunohistoquímica.....	120
5	DISCUSSÃO	124
	CONCLUSÃO	132
	REFERÊNCIAS	134
	APÊNDICE A – Ficha de Identificação do Paciente.....	146
	APÊNDICE B – Avaliação dos achados morfológicos em biópsia de medula óssea em síndrome mielodisplásica primária.....	148
	APÊNDICE C – Produção Científica I	150
	APÊNDICE D – Produção Científica II	156
	APÊNDICE E – Produção Científica III	165
	ANEXO A - Carta do comitê de ética do HUPE	175
	ANEXO B - Carta do comitê de ética do INCA.....	176

INTRODUÇÃO

A síndrome mielodisplásica (SMD) primária compreende um grupo de neoplasias hematológicas de natureza clonal de célula tronco pluripotente, que se caracteriza por uma hematopoesse ineficaz, presença de displasias na medula óssea, citopenias no sangue periférico em uma ou mais linhagens e risco de transformação para leucemia mieloide aguda (LMA). Dentre as citopenias periféricas, nos adultos, a anemia é a mais comum, seguida de neutropenia e de trombocitopenia. Nas crianças, as citopenias mais comuns são neutropenia e trombocitopenia. As displasias apresentam-se como alterações morfológicas decorrentes de defeitos no programa de diferenciação celular. Estas alterações podem acometer as linhagens eritroide, granulocítica, monocítica e megacariocítica (SWART et al., 2017).

A SMD é uma doença heterogênea em relação aos aspectos clínicos, citogenéticos e moleculares em pacientes pediátricos e adultos, o que torna, em muitas vezes, seu diagnóstico difícil assim como a definição de fatores prognósticos. A principal característica da SMD é a presença de displasias. Portanto, a análise histopatológica caracterizando a arquitetura da medula óssea é fundamental para esses pacientes. Entretanto, poucos estudos foram realizados associando as características morfológicas com as alterações citogenéticas e moleculares em pacientes com SMD.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, S. et al. *Heterogeneity of mesenchymal stromal cells in myelodysplastic syndrome with multilineage dysplasia (mds-mld)*. Indian J Hematol Blood Transfus, v. 35, n. 2, p.223–232, 2019.
- ACAR, H. et al. *Hyperdiploid karyotype in a childhood mds patient*. Clin. Lab. Haematol., v. 23, n. 4, p. 255–258, 2001.
- AGUILA, J. R. et al. *Sall4 is a robust stimulator for the expansion of hematopoietic stem cells*. Blood, v. 118, n. 3, p. 576-585, 2011.
- ANGELOVA, S. *Amplification of c-MYC and MLL Genes as a Marker of Clonal Cell Progression in Patients with Myeloid Malignancy and Trisomy of Chromosomes 8 or 11*. Balkan Journal of Medical Genetics, v. 14, n. 2, p. 17-24, 2011.
- ARBER, D. A. et al. *The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia*. Blood, v. 127, n. 20, p. 2391–2405, maio 2016.
- ATALLAH, E.; KANTARJIAN, H.; GARCIA-MANERO, G. *The role of decitabine in the treatment of myelodysplastic syndromes*. Expert Opinion on Pharmacotherapy, v. 8, p. 65–73, 2007.
- AUL, C.; BOWEN, D. T.; YOSHIDA, Y. *Pathogenesis, etiology and epidemiology of myelodysplastic syndromes*. Haematologica, v. 83, n. 1, p. 76–86, 1998.
- AYED, W. et al. *Trisomie 21 et cancers*. Morfologia, v. 96, n. 314, p. 57–66, 2012.
- BACHER, U. et al. *Investigation of 305 patients with myelodysplastic syndromes and 20q deletion for associated cytogenetic and molecular genetic lesions and their prognostic impact*. British Journal of Haematology, v. 164, n. 6, p. 822–833, 2014.
- BANERJEE, T. et al. *Flamming and fanning: The spectrum of inflammatory influences in myelodysplastic syndromes*. Blood Rev, v. 36, p. 57–69, 2019.
- BARZI, A.; SEKERES, M. A. *Myelodysplastic syndromes: a practical approach to diagnosis and treatment*. Cleveland Clinic Journal of Medicine, v. 77, n. 1, p. 37–44, Jan. 2010.
- BAUR, A. S. et al. *Cd34/qbend10 immunostaining in bone marrow biopsies: an additional parameter for the diagnosis and classification of myelodysplastic syndromes*. European Journal of Haematology, v. 64, n. 2, p. 71–79, 2000.
- BEJAR, R. *Prognostic models in myelodysplastic syndromes*. Hematology. American Society of Hematology. Education Program., v. 2013, p. 504–510, 2013.
- BENNETT, J. M. *Changes in the updated 2016: WHO classification of the myelodysplastic syndromes and related myeloid neoplasms*. Clin Lymphoma Myeloma Leuk, v. 16, n. 11, p.607–609, 2016.

BENNETT, J. M. et al. *Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes*. British Journal of Haematology, v. 51, n. 2, p. 189–199, Jun 1982.

BERNASCONI, P et al. *Does cytogenetic evolution have any prognostic relevance in myelodysplastic syndromes? A study on 153 patients from a single institution*. Annals of Hematology, v. 89, n.6, p. 545-551, 2010.

BOULTWOOD, J. 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, v. 19, n. 3, p. 425–432, 1994.

BRACKEN, A. P. et al. *Genome-wide mapping of Polycomb target genes unravels their roles in cell fate transitions*. Genes Dev., v. 20, n. 9, p. 1123 – 1136, 2006.

BRUNNING, R. et al. *Myelodysplastic syndromes*. 4. ed. France: IARC Press, 2008. v. 2.

BUESCHE, G. et al. *Marrow fibrosis predicts early fatal marrow failure in patients with myelodysplastic syndromes*. Leukemia, v. 22, n. 2, p. 313-322, 2008.

CABRERO, M. et al. *Down-regulation of ezh2 expression in myelodysplastic syndromes*. Leukemia Research, v. 44, p. 1–7, 2016.

CAO, R.; ZHANG, Y. *The functions of E(Z)/EZHZ-mediated methylation of lysine 27 in histone H3*. Current Opinion in Genetics & Development, v. 14, n. 2, p. 155-164, 2004.

CHA, C.-H. et al. *Cd34 and p53 immunohistochemical stains differentiate hypocellular myelodysplastic syndrome (hmds) from aplastic anemia and a cd34 immunohistochemical stain provides useful survival information for hmds*. Annals of Laboratory Medicine, Korean Society for Laboratory Medicine, v. 34, n. 6, p. 426–432, Nov 2014.

CLARKSON, D. B.; FAN, Y. an; JOE, H. *A remark on algorithm 643: Fexact: an algorithm for performing fisher's exact test in r x c contingency tables*. ACM Transactions on Mathematical Software, v. 19, n. 4, p. 484–88, 1993.

COLLER, H. A. et al. *Expression analysis with oligonucleotide microarrays reveals that MYC regulates genes involved in growth, cell cycle, signaling, and adhesion*. Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 97, n. 7, p. 3260–3265, 2000. Disponível em: www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.97.7.3260.

COTELINGAM, J. D. *Bone marrow biopsy: interpretive guidelines for the surgical pathologist*. Adv. Anat. Pathol., v. 10, n. 1, p. 8–26, 2003.

CUI, W. et al. *Differential expression of the novel oncogene, sall4, in lymphoma, plasma cell myeloma, and acute lymphoblastic leukemia*. Mod. Pathol., v. 19, n. 12, p. 1585–1592, 2006.

DAI, D. et al. *CHFR promoter hypermethylation is associated with gastric cancer and plays a protective role in gastric cancer process*. J Cancer, Ivyspring International Publisher, v. 10, p. 949–956, 2019.

DALGAARD, P. *R Development Core Team (2010): R: A language and environment for statistical computing.* 2010.

DERKS, S. et al. *Emerging evidence for CHFR as a cancer biomarker: from tumor biology to precision medicine.* *Cancer Metastasis Rev.*, v. 33, n. 1, p. 161–171, 2014.

DREVON, L. et al. *Myelodysplastic syndrome (mds) with isolated trisomy 8: a type of mds frequently associated with myeloproliferative features: a report by the groupe francophone des myélodysplasies.* *British Journal of Haematology*, v. 182, n. 6, p. 843–850, 2018.

DREXLER, B. et al. *Blast counts are lower in the aspirate as compared to trephine biopsy in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome expressing cd56.* *International Journal of Laboratory Hematology*, John Wiley & Sons, Ltd, v. 43, n. 5, p. 1078–1084, Out 2021.

DUNPHY, C. H. et al.; *Analysis of Immunohistochemical Markers in Bone Marrow Sections to Evaluate for Myelodysplastic Syndromes and Acute Myeloid Leukemias.* *Appl Immunohistochem Mol Morphol.*, v.15, n. 2, p. 154-159, 2007.

EWALT, M. D.; GRATZINGER, D. *Selective quantitation of microvessel density reveals sinusoidal expansion in myelodysplastic syndromes.* *Leukemia & Lymphoma*, Taylor Francis, v. 57, n. 12, p. 2923–2926, 2016.

FENG, G. et al. *A systematic classification of megakaryocytic dysplasia and its impact on prognosis for patients with myelodysplastic syndromes.* *Experimental Hematology & Oncology*, v. 5, n. 1, p. 12, Abr 2016.

FERNANDEZ, T. D. S. et al. *Chromosomal alterations associated with evolution from myelodysplastic syndrome to acute myeloid leukemia.* *Leuk. Res.*, v. 24, p. 839–848, 2000.

FERNANDEZ, T. D. S. et al. *Hyperdiploid karyotype in a child with hypocellular primary myelodysplastic syndrome.* *Eur. J. Haematol.*, v. 71, n. 5, 2003.

FERNANDEZ, T. D. S. et al. *Aberrant Expression of EZH2 in pediatric patients with myelodysplastic syndrome: A potential biomarker of leukemic evolution.* *BioMed Research International*, v. 2019, 2009

FERNANDEZ, T. D. S. et al. *Aberrant Expression of EZH2 in Pediatric Patients with Myelodysplastic Syndrome: A Potential Biomarker of leukemic evolution.* *BioMed Research International*, v. 2019, id. 3176565, 2019.

FLORENSA, L. et al. *The importance of adequate recognition of normal and dysplastic myelopoiesis for the diagnosis of myelodysplastic syndromes.* *Histol. Histopathol.*, v. 34, n. 8, p. 857–873, Fev 2019.

FONT, P. et al. *Interobserver variance in myelodysplastic syndromes with less than 5 % bone marrow blasts: unilineage vs. multilineage dysplasia and reproducibility of the threshold of 2% blasts.* *Annals of Hematology*, v. 94, n. 4, p. 565–573, Abr 2015.

FORMAN, S. *Myelodysplastic syndrome.* *Opinion in Hematol.*, v. 3, n. 4, p. 297–302, 1996.

- FU, B. et al. *Bone marrow fibrosis in patients with primary myelodysplastic syndromes has prognostic value using current therapies and new risk stratification systems*. *Mod. Pathol.*, v. 27, p. 681-689, 2014.
- GAO, C.; KONG, N. R.; CHAI, L. *The role of stem cell factor *sall4* in leukemogenesis*. *Crit. Rev. Oncog.*, v. 16, n. 1-2, p. 117–127, 2011.
- GAO, L. et al. *CHFR hypermethylation, a frequent event in acute myeloid leukemia, is independently associated with an adverse outcome*. *Genes Chromosomes Cancer*, v. 55 n. 2 p. 158-68, 2016.
- GARANDEAU, C. et al. *Myelodysplastic syndromes*. In: *Annales de Biologie Clinique (Paris)*. v. 58, p. 405–416, 2000.
- GARCIA-MANERO, G. *Myelodysplastic syndromes: 2014 update on diagnosis, risk-stratification, and management*. *Am. J. Hematol.*, v. 89, n. 1, p. 97–108, 2014.
- GEORGGI, A. *Impact of histopathology on diagnosis, clinics and outcome of myelodysplastic syndromes*. *Leuk. Res.*, v. 21, n. 1, 1997.
- GERMING, U. et al. *Myelodysplastic syndromes: diagnosis, prognosis, and treatment*. *Dtsch Arztebl Int.*, v. 110, n. 46, p. 783–790, 2013.
- GILES, F. J. et al. *Su5416, a small molecule tyrosine kinase receptor inhibitor, has biologic activity in patients with refractory acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndromes*. *Blood*, v. 102, n. 3, p. 795–801, 2003.
- GIRALT, S. *Bone marrow transplant in myelodysplastic syndromes: new technologies, same questions*. *Curr Hematol Rep*, v. 4, n. 3, p. 200–207, 2005.
- GIRODON, F. et al. *Minor dysplastic changes are frequently observed in the bone marrow aspirate in elderly patients without haematological disease*. *Clin Lab Haem.*, v. 23, p. 297-300, 2001.
- GREENBERG, P. et al. *International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes*. *Blood*, v. 89, p. 2079–2088, 1997.
- GREENBERG, P. L. et al. *Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes*. *Blood*, v. 120, n. 12, p. 2454–2465, 2012.
- GUR, H. D. et al. *Clinical significance of isolated *del(7p)* in myeloid neoplasms*. *Leuk. Res.*, v. 55, p. 18-22, 2017
- HAASE, D. *Cytogenetic features in myelodysplastic syndromes*. *Ann. Hematol.*, v. 87, n. 7, p. 515–526, 2008.
- HAASE, D. 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*, v. 110, n. 13, p. 4385–4395, Dec 2007.

HARRIS, N. L. et al. *The world health organization classification of hematological malignancies report of the clinical advisory committee meeting, airlie house, virginia, november 1997*. Modern Pathology, v. 13, n. 2, p. 193–207, 2000.

HASLE, H. *Myelodysplastic and myeloproliferative disorders of childhood*. Hematology, v. 2016, n. 1, p. 598–604, 12 2016.

HASLE, H. et al. *A pediatric approach to the who classification of myelodysplastic and myeloproliferative diseases*. Leukemia, v. 17, p. 277–282, 2003.

HORNY, H.-P.; SOTLAR, K.; VALENT, P. *Diagnostic value of histology and immunohistochemistry in myelodysplastic syndromes*. Leukemia Research, v. 31, n. 12, p. 1609–1616, 2007.

HUANG, T. C. et al. *Comparison of hypoplastic myelodysplastic syndrome (MDS) with normo-/hyper cellular MDS by International Prognostic Scoring System, cytogenetic and genetic studies*. Leukemia, v. 22, p. 544–550, 2008.

HUANG, J. et al. *Cd41 immune staining of micromegakaryocytes improves the diagnosis of myelodysplastic syndrome and differentiation from pancytopenia*. Leukemia Research, v. 66, p. 15–19, Mar 2018.

IBGE. *Censo demográfico 2010*. disponível em www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/populacao/9662-censo-demografico2010.html?edicao=10503t=destaques, 2010.

ICSN. *An International System for Human Cytogenetic Nomenclature*. 2016.

IBRAHEEM, F. M. et al. *Sall4 gene expression in acute myeloid leukemia*. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, v. 20, n. 10, p. 3121–3127, 2019.

JAIN, A. G. et al. *Myelodysplastic Syndromes with Bone Marrow Fibrosis: An Update*. Ann. Lab. Med., v. 42, n. 3, p. 299–305, 2022.

JHANWAR, S. C. *Genetic and epigenetic pathways in myelodysplastic syndromes: A brief overview*. Adv. Biol. Regul., v. 58, p.28–37, 2015.

KAYANO, H. *Histopathology in the diagnosis of high-risk myelodysplastic syndromes*. Journal of Clinical and Experimental Hematopathology, v. 58, n. 2, p. 51–60, 2018.

KEEL, S. B. et al. *Genetic features of myelodysplastic syndrome and aplastic anemia in pediatric and young adult patients*. Haematologica, v. 101, n. 11, p. 1343–1350, 2016.

KITAGAWA, M. et al. *Localization of fas and fas ligand in bone marrow cells demonstrating myelodysplasia*. Leukemia, v. 12, n. 4, p. 486–492, 1998.

KOBAYASHI, T. et al. *A nationwide survey of hypoplastic myelodysplastic syndrome (a multicenter retrospective study)*. American Journal of Hematology, John Wiley & Sons, Ltd, v. 92, n. 12, p. 1324–1332, Dez 2017.

- KOH, Y. R. et al. *A rare case of transformation of childhood myelodysplastic syndrome to acute lymphoblastic leukemia*. *Ann. Lab. Med.*, v. 33, n. 2, p. 130–135, 2013.
- KONUMA, T.; OGURO, H.; IWAMA, A. *Role of the polycomb group proteins in hematopoietic stem cells*. *Development, Growth & Differentiation*, v. 52, n. 6, p. 505–516, 2010.
- KOUIDES, P. A.; BENNETT, J. M. *Morphology and classification of myelodysplastic syndromes*. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, v. 6, p. 485–499, Jun 1992.
- KURZROCK, R et al. *Phase II study of R115777, a farnesyl transferase inhibitor, in myelodysplastic syndrome*. *Journal of Clin. Onc.*, v. 22, n. 7, p. 1287-1292, 2004.
- LI, A. J.; CALVI, L. M. *The microenvironment in myelodysplastic syndromes: Niche-mediated disease initiation and progression*. *Exp Hematol.*, v. 55, p. 3–18, 2017.
- LI, B. et al. *Bone marrow fibrosis grade is an independent risk factor for overall survival in patients with primary myelofibrosis*. *Blood Cancer Journal*, v. 6, n. 12, p. e505–e505, Dez 2016.
- LIMA-COSTA, M. F.; VERAS, R. *Aging and public health*. *Cad Saúde Pública*, v. 19, n. 3, p. 700–701, 2003.
- LIN, J. et al. *Aberrant hypomethylation of *sall4* gene in patients with myelodysplastic syndrome*. *Leuk. Res.*, v. 37, n. 1, p. 71–75, 2013.
- LIN, Y.-S. et al. *Identification of novel DNA methylation inhibitors via a two-component reporter gene system*. *J Biomed Sci*, v. 18, n. 3, 2011.
- LIST, A. F. et al. *Myelodysplastic syndromes*. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, p. 297–317, Jan 2004.
- LIU, D. et al. *The significance of bone marrow cell morphology and its correlation with cytogenetic features in the diagnosis of mds-ra patients*. *Leukemia Research*, v. 33, n. 8, p. 1029–1038, 2009.
- LORAND-METZE, I. *Síndromes mielodisplásicas. conceito e classificação. diagnóstico. evolução e complicações. hematologia: Fundamentos e práticas*. Ed. Atheneu. p. 519–536, 2005.
- LORAND-METZE, I. et al. *Factors influencing survival in myelodysplastic syndromes in a Brazilian population: comparison of fab and who classifications*. *Leukemia Research*, v. 28, n. 6, p. 587–594, Jun 2004.
- LOVATEL, V. L. et al. *An uncommon *t(9,11)(p24;q22)* with monoallelic loss of *ATM* and *KMT2A* genes in a child with myelodysplastic syndrome/ acute myeloid leukemia who evolved from Fanconi anemia*. *Molecular, Cytogenetics*, v. 11, 2018.

LOVATEL, V. L. et al. *Clinical and Prognostic Features in a Young Adult Patient with de novo Myelodysplastic Syndrome Presenting t(11;16)(q23;q24)*. *Mediterr J Hematol Infect Dis.*, v. 14, n. 1, p. e2022013, 2022.

MA, J.-c. et al. *Aberrant hypomethylation of sall4 gene is associated with intermediate and poor karyotypes in acute myeloid leukemia*. *Clinical Biochemistry*, v. 46, n. 4, p. 304–307, Mar 2013.

MA, Y. et al. *Sall4, a novel oncogene, is constitutively expressed in human acute myeloid leukemia (aml) and induces aml in transgenic mice*. *Blood*, v. 108, n. 8, p. 2726–2735, 2006.

MASHIMA, K. et al. *Comparison of blast percentage calculated based on bone marrow all nucleated cells and non-erythroid cells in myelodysplastic syndromes with erythroid hyperplasia*. *Annals of Hematology*, v. 98, n. 5, p. 1127–1133, Maio 2019.

MATSUDA, A. et al. *Interobserver concordance of assessments of dysplasia and blast counts for the diagnosis of patients with cytopenia: From the Japanese central review study*. *Leukemia Research*, v. 74, p. 137–143, Nov 2018.

MAXWELL, A. E. *Comparing the classification of subjects by two independent judges*. *Br J Psychiatry*, v. 116, n. 535, p. 651–5, 1970.

MEDINGER, M.; FISCHER, N.; TZANKOV, A. *Vascular Endothelial Growth Factor-Related Pathways in Hemato-Lymphoid Malignancies*. *Journal of Oncology*, v. 2010, 729725, 2010.

MELODY, M. et al. *Decoding Bone Marrow Fibrosis in Myelodysplastic Syndromes*. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.*, v. 20, n. 5, p. 324–328, 2020.

MEYER, C. et al. *The MLL recombinome of acute leukemias in 2013*. *Leukemia*, v. 27, p. 2165–2176, 2013.

MHAWECH, P.; SALEEM, A. *Myelodysplastic syndrome: review of the cytogenetic and molecular data*. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, v. 40, p. 229–238, 2001.

MOHAMMAD, A. A. *Myelodysplastic syndrome from theoretical review to clinical application view*. *Oncol. Rev.*, v. 2, n. 2, p. 397, Jul 2018.

MUSTO, P. *Thalidomide therapy for myelodysplastic syndromes: current status and future perspectives*. *Leuk. Res.*, v. 28, n. 4, p. 325–332, 2004.

NAEMI, K. et al. *Benign lymphoid aggregates in the bone marrow: distribution patterns of b and t lymphocytes*. *Human Pathology*, v. 44, n. 4, p. 512–520, 2013.

NIERO-MELO, L. et al. *Diretrizes para diagnóstico morfológico em síndromes mielodisplásicas*. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.*, v. 28, n. 3, p. 167–174, 2006.

NISHINO, H. T.; CHANG, C.-C. *Myelodysplastic syndromes: clinicopathologic features, pathobiology, and molecular pathogenesis*. *Arch Pathol Lab Med.*, v. 129, n. 10, p. 1299–1310, 2005.

NOLTE, F.; HOFMANN, W.-K. *Myelodysplastic syndromes: molecular pathogenesis and genomic changes*. Ann. Hematol., v. 87, p. 777–795, 2008.

NOMDEDEU, M. et al. *Prognostic impact of chromosomal translocations in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukemia patients. a study by the spanish group of myelodysplastic syndromes*. Genes Chromosomes Cancer., v. 55, n. 4, p. 322–327, 2016.

OGURO, H. et al. *Differential impact of Ink4a and Arf on hematopoietic stem cells and their bone marrow microenvironment in Bmi1-deficient mice*. Journal of Experimental Medicine, v. 203, n. 10, p. 2247–2253, Set 2006.

ONLEY, H. J.; BEAU, M. M. L. *Myelodysplastic Syndrome*. In: Cancer cytogenetics. Wiley-Blackwell (ed.), 2009. p. 141–207, 2009.

ORAZI, A. *Histopathology in the diagnosis and classification of acute myeloid leukemia, myelodysplastic syndromes, and myelodysplastic/ myeloproliferative diseases*. Pathobiology, v. 74, n. 2, p. 97–114, 2007.

PANANI, A. D.; ROUSSOS, C. *Cytogenetic aspects of adult primary myelodysplastic syndromes: Clinical implications*. Cancer Letters, v. 235, n. 2, p. 177–190, 2006.

PETERSON, J. et al. *KMT2A (MLL) rearrangements observed in pediatric/young adult T-lymphoblastic leukemia/lymphoma: A 10-year review from a single cytogenetic laboratory*. Genes, Chromosomes and Cancer, v. 57, n. 11, p. 541–546, Nov 2018.

PICCOLOMO, A et al. *Immunomodulatory Drugs in Acute Myeloid Leukemia Treatment*. Cancers, v. 12, n. 9, p. 2528, 2020.

DELLA PORTA, M. et al. *Minimal morphological criteria for defining bone marrow dysplasia: a basis for clinical implementation of who classification of myelodysplastic syndromes*. Leukemia, v. 29, n. 1, p. 66-75, Jan 2015.

DELLA PORTA, M. et al. *Clinical relevance of bone marrow fibrosis and cd34-positive cell clusters in primary myelodysplastic syndromes*. J. Clin. Oncol., v. 27, n. 5, p. 754–762, 2009.

PRIVETTE, L. M.; PETTY, E. M. *Chfr: A novel mitotic checkpoint protein and regulator of tumorigenesis*. Translational Oncology, v. 1, n. 2, p. 57–64, 2008.

PRUNERI, G. et al. *Angiogenesis in myelodysplastic syndromes*. Br J Cancer, v. 81, n. 8, p. 1398–1401, 1999.

QUINN, E.; NICHOLS, K. E. *Cancer predisposition syndromes associated with myeloid malignancy*. Semin. Hematol., v. 54, n. 2, p. 115–122, 2017.

RAJASEKHAR, V. K.; BEGEMANN, M. *Concise review: Roles of polycomb group proteins in development and disease: A stem cell perspective*. STEM CELLS, v. 25, n. 10, p. 2498–2510, 2007.

- RAMOS, F. et al. *Bone marrow fibrosis in myelodysplastic syndromes: a prospective evaluation including mutational analysis*. *Oncotarget*, Impact Journals, LLC, v. 7, n. 21, p. 30492–30503, 2016.
- REDDY, V. V. *Topics in bone marrow biopsy pathology: role of marrow topography in myelodysplastic syndromes and evaluation of post-treatment and post-bone marrow transplant biopsies*. *Ann. Diagn. Pathol.*, v. 5, n. 2, p. 110–120, 2001.
- ROMEO, M. et al. *Myelodysplastic syndromes: histopathology as prognostic factor*. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.*, v. 23, n. 2, p. 63–68, 2001.
- ROSENFELD, C.; LIST, A. *A hypothesis for the pathogenesis of myelodysplastic syndromes: implications for new therapies*. *Leukemia*, Springer Science and Business Media LLC, v. 14, n. 1, p. 2–8, 2000.
- SABER, W.; HOROWITZ, M. M. *Transplantation for myelodysplastic syndromes: who, when, and which conditioning regimens*. *Hematology*, v. 2016, n. 1, p. 478–484, 12 2016.
- SAKUMA, T. et al. *Histological and cytogenetic characterization of bone marrow in relation to prognosis and diagnosis of myelodysplastic syndromes*. *Pathology International*, v. 56, n. 4, p. 191–99, 2006.
- SANBHNANI, S.; YEONG, F. M. *CHFR: a key checkpoint component implicated in a wide range of cancers*. *Cell. Mol. Life Sci.*, v. 69, n. 10, p. 1669–1687, 2012.
- SAUMELL, S. et al. *Trisomy 8, a cytogenetic abnormality in myelodysplastic syndromes, is constitutional or not?* *PLOS ONE*, Public Library of Science, v. 10, n. 6, Jun 2015.
- SAUVAGEAU, M.; SAUVAGEAU, G. *Polycomb group proteins: Multi-faceted regulators of somatic stem cells and cancer*. *Cell Stem Cell*, v. 7, n. 3, p. 299–313, 2010.
- SCHEMENAU, J. et al. *Cellularity, characteristics of hematopoietic parameters and prognosis in myelodysplastic syndromes*. *Eur. J. Haematol.*, v. 95, n. 3, p. 181–189, 2015.
- SCHROEDER, T. et al. *Mesenchymal stromal cells in myeloid malignancies*. *Blood Res.*, v. 51, n. 4, p. 225–232, 2016.
- SCHURINGA, J. J.; VELLENGA, E. *Role of the polycomb group gene *bmi1* in normal and leukemic hematopoietic stem and progenitor cells*. *Current Opinion in Hematology*, v. 17, n. 4, p. 294–299, 2010.
- SEKERES, M. A. *The epidemiology of myelodysplastic syndromes*. *Hematol Oncol Clin North Am*, v. 24, n. 2, p. 287–94, 2010.
- SENN, J. S. et al. *Peripheral blood blast cell progenitors in human preleukemia*. *Blood*, v. 59, n. 1, p. 106–9, 1982.
- SHAHRABI, S. et al. *Genetics and epigenetics of myelodysplastic syndromes and response to drug therapy: new insights*. *Oncology Reviews*, v. 10, n. 2, 2016.

- SHIMAZAKI, K. et al. *Evaluation of apoptosis as a prognostic factor in myelodysplastic syndromes*. Br J Haematol., v. 110, n. 3, p. 584-590, 2000.
- SHROUT, P. E.; FLEISS, J. L. *Intraclass correlations: Uses in assessing rater reliability*. Psychological Bulletin, v. 86, n. 2, p. 420–28, 1979.
- SHUAI, X. et al. *Overexpression of the novel oncogene SALL4 and activation of the Wnt/ β -catenin pathway in myelodysplastic syndromes*. Cancer Genetics and Cytogenetics, v. 194, n. 2, p. 119-124, 2009.
- SILVA-COELHO, P. da et al. *Clonal evolution in myelodysplastic syndromes*. Nat Commun, v. 21, n. 8, p. 15099, 2017.
- SILVERMAN, L. R.; MUFTI, G. J. *Methylation inhibitor therapy in the treatment of myelodysplastic syndrome*. Nat Clin Pract Oncol., n. 2, p. 12–23, 2005.
- SKRTIC, A. et al. *Neoangiogenesis and microvascular density in myelodysplastic syndrome – a single center experience*. Molecular and Experimental Biology in Medicine, v. 2 n. 2, 2019.
- SLOAND E. *Hypocellular myelodysplasia*. Hematol Oncol Clin N Am., v. 23, p. 347-360, 2009.
- SOLÉ, F. 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, v. 108, n. 2, p. 346–356, 2000.
- SONG, A. et al. *Aberrant expression of the CHFR prophase checkpoint gene in human b-cell non-hodgkin lymphoma*. Leukemia Research, v. 39, n. 5, p. 536–543, 2015.
- SOUZA, D. C. de et al. *Cytogenetic as an important tool for diagnosis and prognosis for patients with hypocellular primary myelodysplastic syndrome*. Biomed. Res. Int., v. 2014, p. 542395, 2014.
- SOUZA, D. C. de et al. *An uncommon case of a child with del(5q) and hypocellular myelodysplastic syndrome*. Pediatric Blood & Cancer, v. 55, n. 4, p. 767–767, 2010.
- SOUZA, D. C. de et al. *Apoptosis in myelodysplasia: Association with patient age, bone marrow cellularity and karyotypes*. Brazilian Journal of Health and Biomedical Sciences, v. 21, n.1, 2022.
- STEENSMA, D. P. et al. *Myelodysplasia with fibrosis: a distinct entity?* Leuk. Res., v. 25, n. 10, p. 829–38, 2001.
- STREINER, D. L.; NORMAN, G. R. *Health measurement scales: A practical guide to their development and use*. Health, v. 5, n. 3a, 2003.
- STUART, A. *A test for homogeneity of the marginal distributions in a two-way classification*. Biometrika, v. 42, n. 3-4, p. 412–6, 1955.

- SUN, Z. et al. *The diagnostic and prognostic value of chfr hypermethylation in colorectal cancer, a meta-analysis and literature review*. *Oncotarget*, Impact Journals, LLC, v. 8, n. 51, p. 89142–8, 2017.
- TANAKA, M. et al. *Association of CHFR promoter methylation with disease recurrence in locally advanced colon cancer*. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, v. 17, n. 13, p. 4531–4540, Jul 2011.
- TATETSU, H. et al. *Oncofetal protein sall4 is highly expressed in myelodysplastic syndrome alongside with nat10 and p53*. *Blood*, v. 136, n. Supplement 1, p. 34, Nov 2020.
- THIELE, J. et al. *European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity*. *Haematologica*, v. 90, n. 8, p. 1128–1132, 2005.
- TIEN, H. F. et al. *Methylation of the p15(ink4b) gene in myelodysplastic syndrome: it can be detected early at diagnosis or during disease progression and is highly associated with leukaemic transformation*. *Br. J. Haematol.*, v. 112, n. 1, p. 148–54, 2001.
- VALENT, P. et al. *Standards and impact of hematopathology in myelodysplastic syndromes (mds)*. *Oncotarget*, v. 1, n. 7, 2010 2010.
- VERBURGH, E. et al. *Additional prognostic value of bone marrow histology in patients subclassified according to the international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes*. *J. Clin. Oncol.*, v. 21, n. 2, p. 273–82, 2003.
- VIRÉ, E. et al. *The polycomb group protein ezh2 directly controls DNA methylation*. *Nature*, v. 439, n. 7078, p. 871–4, 2006.
- WANG, C. et al. *Clinicopathological significance of CHFR methylation in non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis*. *Oncotarget*, Impact Journals, LLC, v. 8, n. 65, p. 109732–109739, 2017.
- WANG, F. et al. *Leukemic survival factor sall4 contributes to defective DNA damage repair*. *Oncogene*, v. 35, p. 6087–6095, 2016.
- WANG, F. et al. *Stem cell factor sall4, a potential prognostic marker for myelodysplastic syndromes*. *J Hematol. Oncol.*, v. 6, n. 1, 2013.
- WANG, F. et al. *The next new target in leukemia: The embryonic stem cell gene sall4*. *Mol. Cell. Oncol.*, v. 1, n. 4, 2014.
- WANG, H. et al. *Cytogenetic evolution correlates with poor prognosis in myelodysplastic syndrome*. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, v. 196, n. 2, p. 159–166, 2010.
- WANG, N. et al. *Patients of myelodysplastic syndrome with mild/moderate myelofibrosis and a monosomal karyotype are independently associated with an adverse prognosis: Long-term follow-up data*. *Cancer Management and Research*, v. 12, p. 5881–5891, 2020.
- WINTERS, A.; BERNT K. *MLL-Rearranged Leukemias—An Update on Science and Clinical Approaches*. *Front. Pediatr.*, 5 v., 2017.

- DE WOLF-PEETERS C.; PITTALUGA S.; VERHOEF G. *Histological characteristic of bone marrow trephines in myelodysplastic syndromes*. *Current Diagnostic Pathology*, v.1, n. 4, p. 189-193, 1994.
- DE WOLF-PEETERS C. *Bone marrow trephine interpretation: diagnostic utility and potential pitfalls*. *Histopathology*, v. 18, n. 6, p. 489-493, 1991.
- WONG K. F.; SO C. C. *Hypoplastic myelodysplastic syndrome-a clinical, morphologic, or genetic diagnosis?* *Cancer Genet Cytogenet.*, v. 138, n. 1, p. 85-88, 2002.
- XAVIER, A. C.; KUTNY, M.; COSTA, L. J. *Incidence and outcomes of paediatric myelodysplastic syndrome in the United States*. *British Journal of Haematology*, v. 180, n. 6, p. 898–901, 2017.
- XIA, B. et al. *C-MYC plays part in drug resistance mediated by bone marrow stromal cells in acute myeloid leukemia*. *Leukemia Research*, v. 39, n. 1, p. 92–99, 2015.
- XIONG, B. et al. *Prognostic evaluation of ALIP and CD34 immunostaining in IPSS-R subgroups of myelodysplastic syndromes*. *Pathology*, v. 49, n. 5, p. 526–533, 2017.
- YANG, J. *SALL4 as a transcriptional and epigenetic regulator in normal and leukemic hematopoiesis*. *Biomarker Research*, v. 6, n. 1, p. 1, Jan 2018.
- YAO, C.-Y. et al. *Distinct mutation profile and prognostic relevance in patients with hypoplastic myelodysplastic syndromes (h-mds)*. *Oncotarget, Impact Journals, LLC*, v. 7, n. 39, p. 63177–63188, 2016.
- YE, L. et al. *Decitabine priming prior to low-dose chemotherapy improves patient outcomes in myelodysplastic syndromes-raeb: a retrospective analysis vs. chemotherapy alone*. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 2017.
- YIN, C. C.; MEDEIROS, L. J.; BUESO-RAMOS, C. E. *Recent advances in the diagnosis and classification of myeloid neoplasms – comments on the 2008 WHO classification*. *International Journal of Laboratory Hematology*, v. 32, n. 5, p. 461–476, 2010.
- YUE, G. et al. *Hypocellularity in myelodysplastic syndrome is an independent factor which predicts a favorable outcome*. *Leukemia research*, v. 32, n. 4, p. 553-558, Apr 2008.
- ZAHID, M. F. et al. *Cytogenetic abnormalities in myelodysplastic syndromes: An overview*. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res.*, v. 11, n. 3, p. 231–239., Jul 2017.
- ZENG, Q. et al. *Apoptosis in human myelodysplastic syndrome cd34+ cells is modulated by the upregulation of tlr8 and histone h4 acetylation via a -arrestin 1 dependent mechanism*. *Exp. Cell. Res.*, v. 340, n. 1, p. 22–31, 2016.
- ZHOU, J.-D. et al. *Epigenetic dysregulation of id4 predicts disease progression and treatment outcome in myeloid malignancies*. *J. Cell. Mol. Med.*, v. 21, n. 8, p. 1468–1481, 2017.