



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA
MÉDICA

ROSE LADY DUTRA FILGUEIRAS

DOENÇA HEMATOLÓGICA FAMILIAR: Características clínicas,
laboratoriais, história familiar e a análise dos genes *RUNX1* e *GATA2*

RIO DE JANEIRO

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA MÉDICA

Rose Lady Dutra Filgueiras

DOENÇA HEMATOLÓGICA FAMILIAR: Características clínicas,
laboratoriais, heredogramas e a análise dos genes *RUNX1* e *GATA2*

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Clínica Médica, Faculdade de
Medicina, Universidade Federal do Rio
de Janeiro, como requisito parcial à
obtenção do título de Mestre em
Ciências.

Orientadores: Prof. Dr. Marcelo Gerardin Poirot Land

Prof^a. Dr^a. Maria Cecília Menks Ribeiro

Prof. Dr. Miguel Ângelo Moreira Martins

RIO DE JANEIRO

2023

CIP - Catalogação na Publicação

F481d Filgueiras, Rose Lady Dutra
Doença Hematológica Familiar: Características
clínicas, laboratoriais, história familiar e a
análise dos genes RUNX1 e GATA2 / Rose Lady Dutra
Filgueiras. -- Rio de Janeiro, 2023.
208 f.

Orientador: Marcelo Gerardin Poirot Land.
Coorientador: Maria Cecília Menks Ribeiro.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do
Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Programa de
Pós-Graduação em Clínica Médica, 2023.

1. Doença Hematológica Familiar. 2.
Mielodisplasia. 3. Neoplasia Hematológica. 4. Gene
RUNX1. 5. Gene GATA2. I. Land, Marcelo Gerardin
Poirot, orient. II. Ribeiro, Maria Cecília Menks ,
coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Miguel Romeu Amorim Neto - CRB-7/6283.

Rose Lady Dutra Filgueiras

DOENÇA HEMATOLÓGICA FAMILIAR: Características clínicas, laboratoriais, heredogramas e a análise dos genes *RUNX1* e *GATA2*

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovada em 23 de agosto de 2023.

Prof. Dr. Marcelo Gerardin Poirot Land
Doutor em Saúde Coletiva pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Professor Titular da Universidade Federal do Rio de Janeiro
Orientador

Prof^a. Dr^a. Maria Cecília Menks Ribeiro
Doutora em Ciências Biológicas pela Universidade de São Paulo
Professora Associada da Universidade Federal do Rio de Janeiro
Orientadora

Prof. Dr. Miguel Ângelo Moreira Martins
Doutor em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Rio de Janeiro
Pesquisador Titular do Instituto Nacional do Câncer
Orientador

Dr^a. Márcia Gonçalves Ribeiro
Doutora em Genética pela Universidade Federal do Rio de Janeiro
Professora Titular da Universidade Federal do Rio de Janeiro

Dr^a. Amanda Faria de Figueiredo Rodrigues da Silva
Doutora em Oncologia pelo Instituto Nacional do Câncer
Médica da Universidade Federal do Rio de Janeiro

Dr^a. Danielle Tavares Vianna
Doutora em Oncologia pelo Instituto Nacional do Câncer
Médica Hematologista da Universidade Federal do Rio de Janeiro

Dedicatória

À Roni

AGRADECIMENTOS

A minha mãe Roni que me deu régua e esquadro para caminhar na vida, e mostrou com suas ações cotidianas que é necessário e urgente ter força de vontade.

À Clara, Pedro, Hector, Café e a minha família vocês são o sal da vida.

Aos amigos Aline Tolosa, André Lipman, Vanessa Bitencourt, Vincent Bonnet, e Kátia por serem o presente da vida e a vida presente.

À Divisão de Genética do INCA onde encontrei pessoas que tiveram a rara paciência e por que não dizer coragem de me ensinar os processos delicados de bancada que possibilitaram ser capaz de transitar no laboratório com segurança. Carolina e Luiza, com trabalho diligente de padronização, sequenciamento das amostras e bom humor vocês são a tradução da generosidade.

Meus orientadores Maria Cecília Menks, Elaine Sobral, Marcelo Land e Miguel Moreira pela atenção, incentivo, dedicação e paciência. A vocês o meu agradecimento infinito.

Ao Serviço de Hematologia do Hospital Federal da Lagoa, à Ana Carolina Araújo, Fernanda Simmer, Lilian Goveia, Soraia Rouxinol, Amanda Suhett Fonte e ao Serviço de Hematologia Pediátrica do IPPMG que no seu fazer diário manifestam o que há de mais honrado, profundo e humano na medicina.

Professora Cristiane Bedran Milito muito obrigada pela revisão da patologia e incentivo. Ao Professor José Carlos Moraes (*in memoriam*) que há vinte anos quando estava na residência de hematologia ensinou de forma genuína e desprendida como construir o raciocínio integrado entre a clínica e a patologia. Felizes aqueles que puderam conviver com você, Zé.

Professor Luis Alfredo Vidal que tantas vezes apontou para o túnel no fim da luz, obrigada pelos alertas certos.

Às amigas de Fiocruz Clarice, Eliane, Carla, Elisa, Elvira e Amanda e aos amigxs da ASCLIN - BioManguinhos com quem dividi o sonho de fortalecer o Sistema Único de Saúde.

Aos pacientes e às suas famílias que gentilmente participaram do trabalho meu mais profundo agradecimento.

Epígrafe

Atena replicou: “Não penses que os deuses reservaram
à tua linhagem um porvir inglório.”
Homero – *Ilíada*

“O tempo é um tecido invisível em que se pode bordar tudo,
uma flor, um pássaro, uma dama, um castelo, um túmulo.
Também se pode bordar nada. Nada em cima do invisível
é a mais sutil obra deste mundo, acaso do outro.”
Machado de Assis – *Esaú e Jacó*

RESUMO

FILGUEIRAS, Rose Lady Dutra. **Doença Hematológica Familiar:** Características clínicas, laboratoriais, história familiar e a análise dos genes *RUNX1* e *GATA2*. Rio de Janeiro, 2023. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

As Neoplasias Mieloides com predisposição germinativa têm a participação do fator hereditário na sua fisiopatologia. O tratamento curativo da Leucemia Mieloide Aguda (LMA) e Síndrome Mielodisplásica (SMD) de alto risco baseia-se na realização de transplante de medula óssea (TMO) alogênico de doador aparentado. As mutações envolvidas nas doenças hematológicas familiares (DHF) podem estar presentes em parentes assintomáticos potenciais doadores. É necessário identificar famílias susceptíveis, tratar síndromes clínicas, desenvolver estratégias de prevenção e seguimento dos portadores, fornecer aconselhamento genético, caracterizar marcadores biomoleculares e estabelecer tratamentos específicos. A LMA e a SMD são doenças com resultados limitados de sobrevida global. O Brasil é um país com riscos epidemiológicos específicos para a ocorrência de mielodisplasias e outros tipos de cânceres. Desta maneira, pesquisar a existência de DHF em pacientes do SUS no Brasil pode fornecer dados que otimizem a assistência de pacientes e familiares, o seguimento, vigilância e prevenção de agravos. A avaliação de mutações germinativas contribuirá para conhecermos o padrão de penetrância, expressividade e epidemiologia da DHF no Brasil. A agenda de pesquisa consistiu em identificar famílias, genes e variantes que conferem predisposição, data de início de sintomas e características clínicas. Existem casos não identificados de DHF em dois hospitais terciários do SUS. Objetivos: a) detectar DHF em familiares de pacientes atendidos no Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira e Hospital Federal da Lagoa b) descrever características de pacientes com critérios de DHF c) avaliar a frequência das variantes patogênicas nos genes *RUNX1* e *GATA2*. Trata-se de um estudo ambidirecional que visa pesquisar a presença de variáveis genéticas nos genes *RUNX1* e *GATA2* em famílias com critérios clínicos de DHF. A seleção das famílias será feita ao aplicar formulários com informações da história familiar aos pacientes do serviço de hematologia do HFL e IPPMG. Construir o heredograma, coletar amostras DNA para sequenciar os genes *RUNX1*, *GATA2* e avaliar mutações. Foram selecionadas 22 famílias e 23 probandos (incluindo um casal de gêmeos univitelinos) com critérios de DHF. A idade de início dos sintomas variou de 4 meses a 83 anos. A mediana da idade de diagnóstico foi de 16 anos. O diagnóstico mais frequente dos

probandos foi SMD (52%). Havia perfil hemorrágico em 52% dos probandos. Identificou-se uma VUS no gene *RUNX1* em um paciente filho de pais consanguíneos não descrita nas bases de dados e as demais variantes foram benignas. Noventa e um por cento dos pacientes permaneceram vivos e houve 2 óbitos durante o período de observação. Um paciente foi submetido a TMO alogênico aparentado e permanece vivo. Foram identificadas 22 famílias com critérios de DHF, tornando visível este aspecto da doença onco-hematológica, o que suscitou a investigação de pacientes com citopenias discretas com o estabelecimento, em alguns casos, do diagnóstico de SMD. Uma família foi encaminhada para avaliação genética.

Palavras-chave: doença hematológica familiar; mielodisplasia; leucemia aguda; neoplasia hematológica; gene *GATA2*, gene *RUNX1*

ABSTRACT

FILGUEIRAS, Rose Lady Dutra. **Familial hematologic disorder:** Clinical and Laboratory Characteristics, Family History and Analysis of the *RUNX1* and *GATA2* Genes. Rio de Janeiro, 2023. Dissertation (Master of Science - Graduate Program in Clinical Medicine) - School of Medicine, Federal University of Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2023.

Introduction: Hereditary factors play a role in the pathophysiology of myeloid neoplasms with germline predisposition. Curative treatment of high-risk AML and MDS is based on allogeneic bone marrow transplant (BMT) from a matched donor. The mutations involved in familial hematologic disorders (FHD) may be carried by asymptomatic potential donor relatives. Identification of susceptible families, management of clinical syndromes, development of preventive and follow-up strategies for carriers, genetic counseling, characterization of biomolecular markers, and establishment of specific therapies are needed. Rationale: AML and MDS are diseases with limited results in terms of overall survival. Brazil presents specific epidemiological risks with regard to occurrence of myelodysplasia and other cancers. Investigations into the occurrence of FHD in SUS patients will yield data for optimizing patient and family care, follow-up, monitoring and disease prevention. An assessment of germline mutations will contribute to our knowledge of FHD-related penetrance patterns, expressivity, and epidemiology in Brazil. The research program consists of identifying families, genes and variants that confer predisposition, timing of symptom onset and its clinical features. Hypothesis: There are unidentified cases of FHD in two SUS tertiary hospitals. Objectives: a) To detect FHD in family members of patients treated at IPPMG and at HF da Lagoa b) To describe the characteristics of those patients that meet FHD criteria c) To estimate the frequency of pathogenic variants in the *RUNX1* and *GATA2* genes. Methodology: Identification of families having two members and an index patient with hematologic diseases, where one of the members is an MDS/LMA carrier 1) Application of family history questionnaires to patients of the Hematology Services at HFL and at IPPMG 2) Drawing a genogram 3) Collection of DNA samples for *RUNX1* and *GATA2* gene sequencing and for mutation evaluation. Results: 22 families and 23 probands (including one monozygotic twin pair) meeting FHD criteria were selected. The age of onset ranged from 4 months to 83 years. The median age at diagnosis was sixteen years. MDS was the most common diagnosis (at 52%). In 52% of the probands a bleeding profile was present. One proband, the male offspring of consanguineous parents, was found to have a VUS in the *RUNX1* gene that has not yet been reported in databases. The other variants were benign. Ninety-one percent of the patients were still alive throughout the follow-

up period while two patients died. One patient underwent matched allogeneic BMT and is alive. Conclusions: This study identified families meeting FHD criteria and brought this aspect of onco-hematologic disease to the forefront. It prompted the evaluation of patients with mild cytopenia who had previously been overlooked, leading to a diagnosis of MDS in some cases and referral of specific cases for genetic evaluation.

Keywords: familial hematologic disease; myelodysplasia; acute leukemia; hematologic neoplasm; *GATA2* gene, *RUNX1* gene

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 – Subtipos de Neoplasias Mieloides associadas com predisposição germinativa.....	24
Quadro 2 – Iniciadores para amplificação das regiões alvo dos genes <i>GATA2</i> e <i>RUNX1</i>	54
Quadro 3 – Polimerases utilizadas para PCR e condições para amplificação das regiões alvo dos genes <i>GATA2</i> e <i>RUNX1</i>	54
Quadro 4 – Descrição das condições de amplificação do gene <i>GATA2</i>	55
Quadro 5 – Descrição das condições de amplificação do gene <i>RUNX1</i>	55
Figura 1 – Heredograma da família do probando 1.	69
Figura 2 – Eletroferograma do probando 1.	70
Figura 3 – Eletroferograma do probando 1.	71
Figura 4 – Heredograma da família do probando 3.	75
Figura 5 – Eletroferograma do probando3.	76
Figura 6 – Eletroferograma do probando 3.	77
Figura 7 – Heredograma da família do probando 5.	81
Figura 8 – Eletroferograma do probando 5.	82
Figura 9 – Heredograma da família do probando 7.	85
Figura 10 – Eletroferograma do probando 7.	86
Figura 11 – Heredograma da família dos probandos 4 e 8.	89
Figura 12 – Eletroferograma do probando 4.	90
Figura 13 – Eletroferograma do probando 4.	90
Figura 14 – Eletroferograma do probando 8.	91
Figura 15 – Eletroferograma do probando 8.	92
Figura 16 – Heredograma da família do probando 9.	94
Figura 17 – Eletroferograma do probando 9.....	95
Figura 18 – Eletroferograma do probando 9.....	96
Figura 19 – Eletroferograma do probando 9.....	97
Figura 20 – Heredograma da família do probando 12.	100
Figura 21 – Eletroferograma do probando 12.	101
Figura 22 – Heredograma da família do probando 13.	103
Figura 23 – Eletroferograma do probando 13.	104
Figura 24 – Heredograma da família do probando 14.	106
Figura 25 – Heredograma da família do probando 15:	108
Figura 26 – Eletroferograma do probando 15.	109

Figura 27 – Heredograma da família do probando 17.	112
Figura 28 – Eletroferograma do probando 17.	113
Figura 29 – Heredograma da família do probando 18.	117
Figura 30 – Heredograma da família do probando 20.	119
Figura 31 – Eletroferograma do probando 20.	120
Figura 32 – Heredograma da família do probando 22.	123
Figura 33 – Eletroferograma do probando 22.	124
Figura 34 – Heredograma da família do probando 23.	127
Figura 35 – Eletroferograma do probando 23.	128
Figura 36 – Heredograma da família do probando 2.	131
Figura 37 – Eletroferograma do probando 2.	132
Figura 38 – Eletroferograma do probando 2.	133
Figura 39 – Heredograma da família do probando 6.	135
Figura 40 – Eletroferograma do probando 6.	136
Figura 41 – Eletroferograma do probando 6.	137
Figura 42 – Heredograma da família do probando 10.	140
Figura 43 – Eletroferograma do probando 10.	141
Figura 44 – Eletroferograma do probando 10.	142
Figura 45 – Eletroferograma do probando 10.	143
Figura 46 – Heredograma da família do probando 16.	145
Figura 47 – Eletroferograma do probando 16.	146
Figura 48 – Heredograma da família do probando 19.	148
Figura 49 – Eletroferograma do probando 19.	149
Figura 50 – Heredograma da família do probando 21.	151
Figura 51 – Eletroferograma do probando 21.	152
Figura 52 – Heredograma da família do probando 11.	155
Figura 53 – Eletroferograma do probando 11.	156

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais síndromes de predisposição a neoplasias mieloide:.....	31
Tabela 2 – Características clínicas e laboratoriais (mediana, limite inferior e superior) dos probandos.....	58
Tabela 3 – Características clínicas, diagnósticos hematológicos, diagnósticos sindrômicos e características laboratoriais dos probandos.....	59
Tabela 4 – Características clínicas, morfologia da medula óssea e citogenética dos probandos com critérios de DHF.....	61
Tabela 5 – Características clínicas e variantes identificadas nos probandos com critério para DHF.....	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS:

ANKD26	<i>Ankyrin Repeat Domain Containing 26</i>
ASXL1	<i>Additional sex combs-like 1</i>
BBA	<i>Binding buffer</i>
BCOR	<i>BCL6 Corepressor</i>
BRCA1	<i>Breast Cancer1</i>
CBL	<i>Casitas B-lineage Lymphoma</i>
CD4	<i>Cluster of Differentiation</i>
CEBPA	<i>CCAAT Enhancer Binding Protein Alpha</i>
CLD	<i>Cell Lysis Buffer</i>
CNS	Conselho Nacional de Saúde
CPq-INCA	Centro de Pesquisa Instituto Nacional de Câncer
CWS:	<i>Column Wash Solution</i>
DDX41	<i>DEAD-Box Helicase 41</i>
DHF	Doença Hematológica Familiar
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DNMT3A	<i>DNA metiltransferase 3A</i>
ELANE	<i>Elastase, Neutrophil Expressed</i>
ETV6	<i>ETS Variant Transcription Factor 6</i>
FA	Anemia de Fanconi
FAB	<i>French, American, British</i>
FLT3	<i>FMS-related tyrosine kinase 3</i>
FPD	<i>Familial Platelet Disorder</i>
GATA2	<i>GATA2- biding protein</i>
HFL	Hospital Federal da Lagoa
IDH1	Isocitrato Dehidrogenase 1
IDH2	Isocitrato Dehidrogenase 2
IPPMG	Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira
LLA	Leucemia Linfocítica Aguda
LLC	Leucemia Linfocítica Crônica
LMA	Leucemia Mielóide Aguda
LMC	Leucemia Mielóide Crônica

LMMC	Leucemia Mielomonocítica Crônica
LMMJ	Leucemia Mielomonocítica Juvenil
LNH	Linfoma não <i>Hodgkin</i>
MLL-PTD	<i>Mixed-lineage Leucemia Partial Tandem Duplications</i>
MONOMAC	<i>Monocytopenia and Mycobacterial Infection</i>
MS	Ministério da Saúde
NBS1	Nibrina
NGS	<i>Next Gene Sequencing</i>
NK	<i>Natural Killer</i>
P53	<i>Proteína p53</i>
PBS	<i>Phosphate-buffered saline</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PTI	Púrpura Trombocitopênica Trombótica
PTPN11	Proteína Tirosina Fosfatase
qPCR	PCR quantitativo
RB1	Retinoblastoma 1
RECQL3	<i>Recq Protein –Like 3</i>
RNA	Ácido Ribonucleico
RUNX1	<i>Runt Related Transcription Factor 1</i>
SAMD9	<i>Sterile Alpha Motif Domain – Containing Protein 9</i>
SAMD9L	<i>Sterile Alpha Motif Domain – Containing Protein 9 Like</i>
SCL/TAL	<i>Stem Cell Leukemia/T-cell Acute Leukemia</i>
SD	Síndrome de Down
SETBP1	<i>Set Binding protein 1</i>
SF3B2	<i>Splicing Factor 3B, Subunit 2</i>
SHP2	<i>Src Homology Phosphotyrosyl Phosphatase 2</i>
SMD	Síndrome Mielodisplásica
SNV	<i>Single Nucleotide Variant</i>
SRSF2	<i>Serine and Arginine Rich Splicing Factor 2</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
T2	Trombocitopenia Tipo 2
TALE	Termo de Assentimento Livre e Esclarecido
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERC	Telomerase RNA Component
TERT	Telomerase Reverse Transcriptase
TET	<i>Ten-Eleven Translocation</i>
TMO	Transplante de Medula Óssea
TP53	Tumor Supressor p53
WHO	<i>World Health Organization</i>
WRN	<i>Werner Syndrome</i>
WT1	<i>Gene Tumor de Wilms Tipo 1</i>
ZF	<i>Zinc Finger</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	23
2.1. SÍNDROMES MIELODISPLÁSICAS:.....	23
2.2. SÍNDROMES MIELODISPLÁSICAS HEREDITÁRIAS	23
2.3. DESCRIÇÃO DOS SUBTIPOS DAS NEOPLASIAS MIELOIDES COM PREDISPOSIÇÃO GERMINATIVA	25
2.4. A SMD/LMA FAMILIAR NO BRASIL.....	34
2.4.1. <i>Principais genes afetados por alterações germinativas ligadas a DHF: enfoque em GATA2 E RUNX1</i> 34	
2.4.1.1. <i>O gene GATA2</i>	34
2.4.1.2. <i>O gene RUNX1</i>	38
3. JUSTIFICATIVA.....	44
4. OBJETIVOS	46
4.1. OBJETIVO GERAL:	46
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	46
5. MATERIAIS E MÉTODOS	47
5.1. DESENHO DO ESTUDO	47
5.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	47
5.3. A AMOSTRA	48
5.4. COLETA DE DADOS DE CLÍNICOS E LABORATORIAIS DOS FAMILIARES.....	49
5.5. MÉTODOS ESTATÍSTICOS	49
5.6. MATERIAL COLETADO PARA EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO	49
5.7. COLETA DE MATERIAL PARA EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO:.....	50
6. RESULTADOS	56
6.1. CARACTERIZAÇÃO DOS PROBANDOS INCLUÍDOS:	56
6.1.1. <i>Grupo A</i>	67
6.1.2. <i>Grupo B</i>	129
7. DISCUSSÃO	157
8. CONCLUSÃO.....	166
9. BIBLIOGRAFIA:	168
APÊNDICE A - FORMULÁRIO 1	176
APÊNDICE B - FORMULÁRIO 2	177
APÊNDICE C – TCLE E TALE	179
APÊNDICE D – ARTIGO	198
ANEXO A – APROVAÇÃO CEP UFRJ /IPPMG	206
ANEXO B – APROVAÇÃO CEP – INCA.....	208

1. INTRODUÇÃO

A Revisão da Classificação das Neoplasias Mieloides e Leucemia Aguda realizada pela Organização Mundial de Saúde em 2016 adicionou uma nova categoria de Neoplasias Mieloides com predisposição germinativa consolidando a participação do fator hereditário na fisiopatologia das doenças onco-hematológicas, não apenas na população pediátrica, mas também em adultos (ver tabela 1 no capítulo de revisão bibliográfica) (ARBER, ORAZI, *et al.*, 2016).

As síndromes genéticas associadas a tumores sólidos como no tumor de mama, ovário e intestino são bem caracterizadas (CHURPEK, ONEL, *et al.*, 2010). A participação do fator hereditário na predisposição para algumas doenças hematológicas no grupo pediátrico é estabelecida, como síndromes de falência medular (anemia de Fanconi, síndrome de Down, Schwarchmann-Diamond e disceratose congênita). Porém, só recentemente a associação a fatores hereditários foi comprovada para a população de adultos e adultos-jovens, com observações de agregação familiar de doenças hematológicas (YOKOTE, CHANPRASERT, *et al.*, 2017)

Os primeiros relatos remontam a 1920, quando foram descritos casos familiares de Leucemia Linfocítica Crônica (LLC) sugerindo a existência de uma base hereditária subjacente que determinaria a fisiopatologia da doença (DAMESHEK, 1929). Também foram relatadas agregação familiar para o mieloma múltiplo, a síndrome mielodisplásica (SMD), a macroglobulinemia de Waldenstrom e linfoma linfoplasmacítico (KRISTINSSON, BJÖRKHOLM, *et al.*, 2008).

Em 1999, identifica-se pela primeira vez a base genética de uma doença hematológica familiar: a mutação em gene *RUNX1* responsável pela Doença Plaquetária Familiar/Leucemia Mieloide Aguda. A partir de então, a detecção de mutações genéticas em familiares de portadores de doenças hematológicas aumentou (SONG, SULLIVAN, *et al.*, 1999).

No final do século XX, a identificação tardia de marcadores biomoleculares específicos relacionados ao diagnóstico das doenças hematológicas hereditárias em adultos, somados ao pensamento tradicional - que assumia a existência do componente hereditário na fisiopatologia destas doenças apenas em crianças - postergou a identificação de famílias com susceptibilidade genética ao desenvolvimento de doenças hematológicas na vida adulta (UNIVERSITY OF CHICAGO HEMATOPOIETIC MALIGNANCIES CANCER RISK TEAM, 2016).

Apesar da ampliação do conhecimento acerca das doenças hematológicas familiares (DHF), sua frequência ainda não foi definida. Em estudo realizado em amostras de pacientes submetidos a transplante de medula entre 1990 e 2012 no *Fred Hutchinson Cancer Research Center* mostrou que 13,6 % dos pacientes portadores de SMD com menos de 45 anos apresentavam variantes em genes com predisposição germinativa (KEEL, SCOTT, *et al.*, 2016).

Um fator que dificulta a suspeita da presença de DHF é que algumas famílias não apresentam antecedentes mórbidos sugestivos. Isso pode ocorrer devido a uma série de fatores: os familiares afetados podem não ter alcançado a idade para manifestar a doença, a alteração genética de base pode exigir a associação de um segundo evento para desencadear a doença, ou a presença de algumas variantes germinativas podem surgir *de novo*, como se verifica nas síndromes relacionadas ao *TP53*, *GATA2* e *SAMD9* (GONZALEZ, BUZIN, *et al.*, 2009; MCREYNOLDS, CALVO, *et al.*, 2018; DAVIDSSON, PUSCHMANN, *et al.*, 2018). Nestes últimos casos, os probandos podem transmitir as variantes germinativas para a progênie, apesar de as gerações anteriores não portarem essas variantes, além do que inúmeras DHF não apresentam penetrância completa, não se manifestando em gerações contíguas.

Outro obstáculo para a identificação das DHF é a necessidade de minuciosa coleta de informações clínicas do paciente, dos familiares, com tipo de câncer, idade ao diagnóstico, intercorrências durante o tratamento, construção de heredograma, o que demanda um esforço por parte da equipe assistente. Porém, é a partir de uma adequada coleta de história clínica e familiar que se identificam os indícios de DHF. Por exemplo, com respeito ao tipo de câncer, existem mutações em genes tais como *TP53*, *BRCA1* e as telomeropatias, que acarretam tumores sólidos bem como neoplasias hematológicas. Isso evidencia que as vias moleculares desencadeadoras de neoplasias sólidas não são inerentemente diferentes da leucemogênese. Até os dias de hoje, na visão tradicional a testagem diagnóstica e aconselhamento genético são realizados de acordo com o órgão acometido não fornecendo a visão global que permitiria interpretar tumores em diferentes órgãos e sistemas como fazendo parte de um mesmo processo fisiopatológico (TROTIER, GODLEY, 2021).

A incorporação da categoria provisória de diagnóstico das doenças hematológicas familiares pela classificação da WHO de 2016 e definitivo estabelecimento como entidade clínica, vinculou-se à definição de marcadores biomoleculares específicos. Permitiu visibilidade a um fenômeno observado, mas até então subestimado, implicou na mudança da

observação clínica, tratamento, vigilância em longo prazo de portadores e criação de estratégias de acompanhamento dos pacientes portadores de síndromes clínicas.

Desta forma, tornou-se possível explicar aos pacientes e seus familiares a razão para o seu quadro clínico, evitar a realização de procedimentos desnecessários - como esplenectomia em pacientes erroneamente diagnosticados com PTI, que são portadores de doenças hematológicas que cursam com plaquetopenia – ou a utilização de protocolos mieloablativos de transplante de medula óssea (TMO) extremamente lesivos nesta população (UNIVERSITY OF CHICAGO HEMATOPOIETIC MALIGNANCIES CANCER RISK TEAM, 2016).

Mais recentemente surgiu como uma ferramenta diagnóstica de grande utilidade, o sequenciamento gênico de nova geração - do inglês *Next generation sequencing* (NGS), que possibilita a identificação de novas variantes germinativas; além disso os estudos funcionais podem auxiliar a determinar a sua patogenicidade. O resultado disso é a descrição de número cada vez maior de novas síndromes clínicas relacionadas às mutações germinativas que são cruciais para o diagnóstico bem como no tratamento (TROTIER, GODLEY, et al., 2021).

O tratamento curativo das leucemias agudas e SMD de alto risco baseia-se na realização de TMO alogênico de doador aparentado. As mutações envolvidas nas doenças hematológicas familiares, muitas vezes com alta penetrância, podem estar presentes em parentes assintomáticos que são potenciais doadores. A utilização inadvertida de indivíduos portadores assintomáticos como doadores de células tronco apresenta risco pela possibilidade de estar presente a mesma mutação que desencadeou a leucemia no paciente. Quando isso ocorre, os desfechos são inadequados, com demora de fixação da enxertia, recaída precoce, falência de enxerto e baixa mobilização de células tronco hematopoiéticas (LIEW, OWEN, et al., 2011).

Os portadores assintomáticos com mutações predisponentes ao desenvolvimento de DHF devem ser referenciados para aconselhamento genético, orientando sobre o risco reprodutivo, acompanhamento clínico para vigilância de disfunção orgânica e de risco hematológico. Propõe-se que o seguimento em longo prazo seja implementado nos pacientes e familiares com síndrome familiar de predisposição à SMD/LMA mesmo sem base molecular definida. Essa abordagem permitirá criar estratégias preventivas baseadas em evidências clínicas (CHURPEK, PYRTEL, et al., 2015).

O estudo das DHF também contribui para compreender a fisiopatologia da leucemogênese, desde a mutação fundadora até os eventos subsequentes que desencadeiam a leucemia, as vias genéticas e moleculares relacionadas à progressão da doença, pois mutações

em genes implicados no desenvolvimento das doenças familiares com predisposição à malignidade, como por exemplo *GATA2*, *RUNX1* e *CEBPA*, estão presentes na doença esporádica (WEST, GODLEY, *et al.*, 2014).

Por estas razões, o presente estudo se propôs a identificar casos de DHF, descrever suas características clínicas, laboratoriais, heredogramas e a análise dos genes *RUNX1* e *GATA2*.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. SÍNDROMES MIELODISPLÁSICAS:

A SMD é uma doença hematológica clonal caracterizada por hematopoese ineficaz, citopenias e alto risco de transformação leucêmica (ARBER, ORAZI, *et al.*, 2016).

A SMD primária acomete principalmente a população idosa, com idade média de 70 anos e a fisiopatologia abrange mutações na maquinaria genética que prejudicam o funcionamento das proteínas do *spliceossoma*, de vias de reparo de DNA, da metilação do DNA, alteração no funcionamento da população de células tronco, perda da integridade do complexo telomerase, desregulação das citocinas inflamatórias, dentre outras (BEJAR, LEVINE, *et al.*, 2011; HEIBL, STAUDER, *et al.*, 2021).

A partir de observações extraídas dos registros de câncer dos Estados Unidos da América, entre 2001 e 2003 foi possível identificar taxas de incidência de SMD de 3,3 por 100.000 pessoas (ROLLISON, HOWLADER, *et al.*, 2008). As análises de registros de SMD entre 2007-2011 mostraram aumento da incidência para 4,9 por 100.000 provavelmente em função do crescente interesse do estudo sobre a doença. Essas taxas tendem a aumentar com a idade, sendo 7,14 em pacientes com 60 anos e 35,49 em pacientes com mais de 80 anos (COGLE, 2015).

A SMD secundária observada na população pediátrica e adultos jovens vincula-se sobretudo à exposição a agentes citotóxicos (quimioterápicos ou ambientais), às síndromes de falência medular, aplasias congênitas e síndromes hereditárias com alta predisposição ao câncer. Nos últimos anos ganharam importância as síndromes familiares de predisposição à SMD/LMA (LOPES, 2006; BABUSHOK, BESSLER, *et al.*, 2015).

2.2. SÍNDROMES MIELODISPLÁSICAS HEREDITÁRIAS

Dentre os pacientes com doenças hematológicas encaminhados para testagem genética, estima-se que 12% a 19% apresentem alguma variante germinativa (DINARDO, ROUTBORT, *et al.*, 2018).

Com relação às síndromes hereditárias com predisposição à SMD/LMA descritas, destacam-se as seguintes associações com mutações germinativas: LMA familiar associada à mutação em *CEBPA*, SMD/LMA associada à mutação em *DDX41*, FPD/LMA associada à mutação em *RUNX1*, SMD/LMA associada à mutação em *ANKRD6* e à doença do encurtamento dos telômeros. (KHOURY, 2022). Quando se verifica a agregação de casos familiares, os pacientes

afetados podem se apresentar com síndrome mielodisplásica ou haver a associação de um espectro clínico que está detalhado a seguir no Quadro 1 (KHOURY, SOLARY, *et al.*, 2022).

Quadro 1 – Subtipos de Neoplasias Mieloides associadas com predisposição germinativa

Neoplasias mieloides com predisposição germinativa sem desordem plaquetária ou disfunção orgânica pré-existente
LMA com mutação germinativa de <i>CEBPA</i> P/LP (CEBPA-associado com LMA familiar)
Variante germinativa <i>DDX41</i> P/PL
Variante germinativa <i>TP53</i> P/PL (Síndrome de Li Fraumeni)
Neoplasias mieloides com predisposição germinativa e desordem plaquetária pré-existente
Variante germinativa de <i>RUNX1</i> P/LP (desordem plaquetária familiar com malignidade mieloide associada, FPD-MM)
Variante germinativa de <i>ANKRD26</i> P/LP (Trombocitopenia tipo 2)
Variante germinativa de <i>ETV6</i> P/LP (Trombocitopenia tipo 5)
Neoplasias mieloides com predisposição germinativa e potencial de disfunção orgânica
Variante germinativa de <i>GATA2</i> P/LP (Deficiência de GATA2)
Síndromes de falência medular
. Neutropenia congênita grave
. Síndrome de Shwachman-Diamond (SSD)
. Anemia de Fanconi (FA)
Desordens da biologia de telômeros
RASopatias (Neurofibromatose tipo 1, síndrome CBL, síndrome de Noonan ou desordens síndrome Noonan-like)
Síndrome de Down
Variante Germinativa <i>SAMD9</i> P/LP (Síndrome MIRAGE)
Variante Germinativa <i>SAMD9L</i> P/LP (Síndrome Ataxia Pancitopenia relacionada a <i>SAMD9L</i>)
Variante germinativa bialélica <i>BLM</i> P/LP (Síndrome de Bloom)

Fonte: Adaptado de KHOURY, SOLARY, *et al.*, 2022.

2.3. DESCRIÇÃO DOS SUBTIPOS DAS NEOPLASIAS MIELOIDES COM PREDISPOSIÇÃO GERMINATIVA

A LMA familiar com mutação germinativa em *CEBPA* é uma condição autossômica dominante com penetrância quase completa, que ocorre em crianças ou adultos. Não há nada na história clínica, exame físico ou laboratorial que alerte para o desenvolvimento da doença, seja um componente displásico ou citopenias prévias (TAWANA, WANG, *et al.*, 2015). Como a mutação germinativa de *CEBPA* tem alta penetrância, é fundamental rastrear a família para a detecção de portadores assintomáticos com risco de desenvolvimento de leucemia aguda (WEST, GODLEY, *et al.*, 2014). A LMA esporádica com mutação em *CEBPA* e sua correlata familiar com mutação germinativa tem características semelhantes: os pacientes alcançam a indução de remissão com o protocolo “7+3” e tem bom prognóstico; este protocolo consiste em sete dias de infusão de citarabina e três dias de daunorrubicina. Quando a mutação é bialélica tem como características a citogenética normal, presença de bastonetes de Auer e o tipo predominante é o FAB M1-M2 (OWEN, BARNETT, *et al.*, 2008).

O gene *DDX41* codifica o *Dead-box-RNA-helicase* que participa da hematopoiese normal e desenvolvimento da resposta imune inata. A mutação germinativa de *DDX41* está associada a doenças hematológicas familiares bem como Doença de Hodgkin, Leucemia Mieloide Crônica, Linfoma Não Hodgkin e SMD/LMA (LEWINSOHN, BROWN, *et al.*, 2016).

Os pacientes apresentam inicialmente fase mielodisplásica, com citopenias, medula hipocelular, anormalidades nos precursores eritroides, cariótipo normal e desenvolvem LMA-M6. A mutação em *DDX41* predispõe a doenças hematológicas e doenças autoimunes, o que indica a interseção de mecanismos comuns na fisiopatologia da LMA e da função imune (LEWINSOHN, BROWN, *et al.*, 2016).

O gene *RUNX1* codifica fator de transcrição que participa da regulação da hematopoiese normal. A mutação em *RUNX1* induz o desenvolvimento de doença plaquetária familiar com propensão à malignidade mieloide. Trata-se de síndrome rara, com herança autossômica dominante, em que pode haver trombocitopenia ou contagem plaquetária normal e ocorre o fenômeno da antecipação. A incidência de FPD/LMA em famílias com esta mutação é de 40% (CHURPEK, ONEL, *et al.*, 2010).

As mutações no gene *ANKRD26* acarretam trombocitopenia tipo 2 (T2) (PIPPUCCI, SAVOIA, *et al.*, 2011). É uma doença autossômica dominante, com níveis elevados de hemoglobina, sangramentos espontâneos e elevada incidência de LMA. A T2 é uma forma comum de trombocitopenia, não há macrocitose no sangue periférico, a medula óssea apresenta dismegacariocitopoiese, a agregação plaquetária é normal *in vitro* (NORIS, PERROTTA, *et al.*, 2011).

A função do gene *ETV6* relaciona-se à maturação da linhagem megacariocítica e suporte para a sobrevivência das células tronco. A mutação em *ETV6* predispõe à trombocitopenia leve a moderada, LMA, LLA, tumor de cólon e doenças autoimunes. Pacientes com *ETV6* mutado devem ser seguidos em longo prazo pelo risco de desenvolvimento de doenças mieloproliferativas, linfoproliferativas e tumores sólidos (SONGDEJ, RAO, *et al.*, 2017).

O gene *GATA 2* participa de processos de diferenciação eritroide e há indícios que seja o responsável por manter estável o pool de células tronco hematopoiéticas. As mutações germinativas de *GATA2* estão associadas a amplo espectro clínico de neoplasias mieloides e de deficiência do sistema autoimune: Síndrome Monomac, deficiência linfoide, de células dendríticas e monócitos, Síndrome de Emberger, neutropenia pediátrica e SMD/LMA familiar. A idade de início dos sintomas varia de 10-48 anos, sendo que nas apresentações sindrômicas pode ocorrer em idade mais precoce. A leucemia associada à mutação germinativa de *GATA2* tem mau prognóstico, sendo indicada a realização de TMO alogênico (MIR, KOCHUPARAMBIL, *et al.*, 2015).

Telômeros são porções terminais não codificantes dos cromossomos, responsáveis pela manutenção das extremidades, essenciais para manutenção da integridade dos cromossomos. As telomerasas são enzimas responsáveis por manter constante o tamanho dos telômeros impedindo que diminuam nas sucessivas divisões celulares. As telomerasas consistem em um complexo de RNApolimerases, e as principais são TERC e TERT. A mutação em TERC e TERT acarretam a diminuição dos telômeros e consiste no elemento central da fisiopatologia desta SMD/LMA familiar. Trata-se de condição de herança autossômica dominante, sem achados patognomônicos no exame físico, que se inicia com alterações displásicas e pode apresentar o fenômeno da antecipação, i.e., o desenvolvimento mais precoce da doença em familiares das gerações recentes. O reconhecimento da antecipação nas doenças associadas ao encurtamento dos telômeros tem impacto na vigilância a longo prazo dos indivíduos portadores de mutação (LIEW, OWEN, *et al.* 2011; KIRWAN, DOKAL, *et al.*, 2009).

A Neutropenia Congênita Grave desenvolve-se a partir de mutação no gene *ELANE* responsável pela síntese da elastase do neutrófilo. Leva à parada maturativa da linhagem mieloide em estágio de promielócito. Trata-se de síndrome autossômica dominante que ocorre em crianças ou adultos jovens que apresentam neutropenia não-cíclica, infecções bacterianas de repetição e lesões aftosas recorrentes. Há risco de 21-40% de evolução para SMD/LMA em 10 anos a partir de estabelecido o diagnóstico (BABUSHOK, BESSLER, et al., 2015).

A Anemia de Diamond-Blackfan é uma ribossomopatia e define-se pela falência medular acompanhada por anomalias cardíacas, geniturinárias, esqueléticas, de ossos da face, anemia macrocítica, aplasia eritroide, elevado risco de câncer, mielodisplasia e leucemia aguda. Aproximadamente 45% dos casos são de origem familiar, com 25% dos pacientes apresentando mutação no gene *RPS19*. Apresenta herança autossômica dominante com incidência de 5-10:1000.000 indivíduos.

A Anemia de Fanconi corresponde a uma síndrome de falência medular de herança autossômica recessiva que ocorre em 1:100.000 indivíduos. Os afetados podem apresentar anormalidades esqueléticas do rádio e polegar, aumenta a chance de desenvolvimento de tumores sólidos, falência ovariana precoce, doenças endocrinológicas, manchas café com leite e baixa estatura. Apesar de ser diagnosticada predominantemente na infância, há pacientes adultos que não apresentam malformações, o que resulta em diagnóstico tardio. Nos pacientes com diagnóstico tardio, a síndrome de falência medular é a manifestação mais comum na abertura do quadro. A Anemia de Fanconi agrega risco de 50% ao desenvolvimento de SMD e LMA e 75% dos pacientes aos 50 anos podem apresentar algum tumor sólido

A trombocitopenia amegacariocítica é síndrome de falência medular rara, autossômica recessiva, causada por mutação do gene codificador do receptor da trombopoietina: o C-MPL. Acomete crianças com menos de 1 ano, que apresentam trombocitopenia grave, na ausência de anormalidades congênitas fenotípicas definidoras ou que antecipem o diagnóstico. Progressivamente, há a exaustão da população de células tronco, alterações mielodisplásicas e pode desenvolver leucemia aguda

A Síndrome de Shwachman-Diamond é doença de herança autossômica recessiva, com incidência 1:70000–200000 indivíduos e ocorre devido à mutação no gene *SBDS*, acarreta distúrbios cognitivos, alterações ósseas, insuficiência pancreática exócrina e pancitopenia. Há casos que ocorrem em adultos jovens os quais são diagnosticados inicialmente com mielodisplasia hipoplásica e leucemia aguda.

A Disceratose Congênita compreende um espectro das telomeropatias, que é o resultado de mutações que podem ocorrer em pelo menos um dos 11 genes diferentes envolvidos (SAVAGE, NIEWISCH, et al., 2009). A herança pode ser autossômica dominante, autossômica recessiva ou ligada ao X. A incidência é de 1 por milhão e acomete predominantemente o sexo masculino. Faz parte da tríade clássica: leucoplaquia, anormalidades ungueais e pigmentação anômala de pele. Além disso, há retardo de crescimento intrauterino, microcefalia, hipoplasia cerebelar, atraso no crescimento, dificuldade de desenvolvimento cognitivo, aplasia de medula e imunodeficiência. Há casos de apresentação na idade adulta em que estão presentes fibrose pulmonar, alterações cutâneas e pancitopenia. O risco cumulativo de desenvolvimento de SMD alcança 33% aos 40 anos de idade (BABUSHOK, BESSLER, *et al.*, 2015).

A síndrome de Noonan caracteriza-se por fácies característica, defeitos cardíacos congênitos, formato anômalo de tórax e pescoço alado. Naqueles que apresentam a variante patogênica germinativa do gene *PTPN11* há tendência a Leucemia Mielomonocítica Juvenil (LMMJ) e leucemia (ALLANSON, 2016).

A síndrome Noonan-like com ou sem LMMJ juvenil é causada por mutações germinativas no gene *CBL*, um importante supressor tumoral. Provoca déficit de aprendizado, alterações morfológicas cardíacas, baixa estatura, malformações musculares e esqueléticas, manchas café com leite e predisposição a doenças mieloproliferativas (MARTINELLI, DE LUCA, *et al.*, 2010).

A neoplasia mieloide associada à Síndrome de Down (SD) caracteriza-se por proliferação mieloide clonal transitória de megacarioblastos. Ocorre em aproximadamente 4-10% dos neonatos com SD ou em pacientes portadores de mosaicismo T21 e todos apresentam mutações no gene *GATA1*. A maioria dos neonatos terão remissão espontânea permanente, porém 20-30% dos pacientes evoluirão para LMA em 5 anos. Durante este período serão adquiridos novos eventos genéticos/epigenéticos que desencadearão a leucemogênese (ROY, ROBERTS, *et al.*, 2012).

O gene *SRP72* codifica um complexo proteico que sinaliza proteínas recém-fabricadas e as direciona para o retículo endoplasmático. Kirwan *et al.*, (2012) identificaram mutações em heterozigose em *SRP72* em família com membros que apresentavam anemia aplástica, mielodisplasia e associados a surdez congênita. A mutação em *SRP72* impede a movimentação adequada das proteínas no interior da célula (KIRWAN, WALNE, *et al.*, 2012).

A mutação germinativa de novo em heterozigose no gene *SAMD* (7q.21) está associado a uma síndrome com herança autossômica dominante que apresenta amplo espectro de alterações clínicas: endocrinopatias (hipoplasia adrenal, hipogonadismo), cardiovasculares, abdominais (diarreia crônica, enteropatias), hematológicas (mielodisplasia, citopenias de diversos graus, aplasia de medula), tendência a infecções (bacterianas, fúngicas e virais) manifestações pré-natais (parto pré-termo e retardo do crescimento intra-uterino) tendo em comum mutações que conferem ganho de função da proteína (NARUMI, AMANO, *et al.*, 2016).

A síndrome ataxia-pancitopenia é decorrente de mutações heterozigotas *missense* do gene *SAMD9L* (7q.21) que atua como supressor tumoral e impede proliferação celular. Tem herança autossômica dominante com penetrância variável. Acarreta alterações hematológicas (mielodisplasia, citopenias, risco aumentado de LMA) e neurológicas (atrofia cerebelar, ataxia, nistagmo, disartria, dismetria, alterações de marcha). A perda do cromossomo 7 induziu o desenvolvimento de mielodisplasia. Em alguns pacientes a presença de mosaïcismo pode reverter o quadro hematológico e minimizar o quadro clínico (TESI, DAVIDSSON, *et al.*, 2017).

A Síndrome de Bloom é condição causada por mutação em homozigose no gene *BLM* que codifica a DNA-helicase RECQL3, localizado no cromossomo 15q26. Apresenta herança autossômica recessiva. A função da proteína normal é manter a integridade e estabilidade genômica. As proteínas anormais promovem alta taxa de recombinação, mutações e instabilidade, sendo patognomônico o aumento de troca entre cromátides irmãs. A frequência de mutações germinativa é elevada em judeus asquenaze da Polônia. E os principais achados clínicos são a presença de lesões cutâneas (*rash* solar, manchas café com leite, máculas hipopigmentadas), resistência insulínica, imunodeficiência, tendência a infecções oportunistas, restrição de crescimento intrauterino, infertilidade masculina, menopausa precoce, má formação cardíaca, dificuldade de alimentação, dismorfia facial e déficit cognitivo. Há risco aumentado de mielodisplasia, linfoma, leucemia, câncer de mama, cólon, pele e hipersensibilidade à quimioterapia (POPPE, VAN LIMBERGEN, *et al.*, 2001).

A Síndrome de Nijmegen é provocada por mutação do gene *NBS1* localizado no cromossomo 8q21. Apresenta padrão de herança autossômica recessiva. O gene *NBS1* codifica a proteína nibrina que participa do complexo de reparo de DNA que ao sofrer mutação promove instabilidade cromossômica espontânea e rearranjos especialmente no cromossomo 7 e 14. O quadro clínico caracteriza-se por imunodeficiência, dismorfia facial, microcefalia, hipersensibilidade a radiação ionizante e agentes alquilantes, déficit cognitivo, alterações

abdominais e menopausa precoce. Há predisposição para desenvolverem doenças hematológicas sobretudo LNH, Linfoma de Hodgkin, LLA, LMA, Linfoma de Burkitt, aplasia de medula, além de tumores sólidos em idade precoce como sarcomas e tumores cerebrais (CHRZANOWSKA, GREGOREK, *et al.*, 2012). Apresenta distribuição mundial e foram identificados pacientes na Nova Zelândia, América do Norte e do Sul, mas sobretudo em países eslavos, Europa Central e do Leste, República Tcheca, Rússia e Ucrânia. Tradicionalmente, os protocolos de tratamento quimioterápico em doenças genéticas com instabilidade cromossômica implicam na diminuição das doses de fármacos ou mesmo omitir medicações para tentar minimizar a toxicidade. Na Síndrome de Nijmegen tem se mostrado possível administração de doses de medicações anticâncer próximas das doses tradicionais no tratamento ((DEMBOWSKA-BAGINSKA, PEREK, *et al.*, 2009). O transplante de medula óssea em portadores de síndrome de Nijmegen com linfoma recaído apresenta-se como opção possível de tratamento (ALBERT, GENNERY, *et al.*, 2010).

A síndrome de Werner deve-se à mutação em homozigose de gene *WRN* localizado no cromossomo 8p11-12. Apresenta padrão de herança autossômica recessiva. O gene *WRN* codifica proteína RecQ helicase que participa de mecanismos de reparo de DNA, manutenção da integridade, estabilidade dos telômeros, proteção contra o stress oxidativo de células com baixo índice replicativo (CRABBE, JAUCH, *et al.*, 2007). O funcionamento anormal da proteína helicase promove a instabilidade genômica e torna o telômero susceptível ao encurtamento. Os pacientes evoluem a partir da primeira década de vida com sinais de envelhecimento precoce, embranquecimento e/ou queda de cabelos, alterações dermatológicas escleroderma-like, catarata bilateral, arteriosclerose, osteosclerose de mãos, hipogonadismo e diabetes. A síndrome de Werner está associada ao desenvolvimento de amplo espectro de neoplasias, dentre as quais 16,1% correspondem a neoplasias de tireoide, 10,1 % a sarcoma de partes moles, 9,3% a neoplasias hematológicas (LMA M1-M5, M6-M7, mielodisplasia, mielofibrose, leucemia T, plasmocitoma), 13,3% a melanoma, 10,9% a meningioma e 7,7% a osteossarcoma (LAUPER, KRAUSE, *et al.*, 2013). A prevalência da síndrome de Werner pode variar a depender da presença de consanguinidade na população analisada. Na Sardenha a frequência estimada é de 1:50.000 pela presença de mutação fundadora e na população japonesa a frequência é de 1:20.000 a 1:40.000 (YOKOTE, CHANPRASERT, *et al.*, 2017).

Tabela 1– Principais síndromes de predisposição a neoplasias mieloide:

Doença	Gene	Localização	Padrão de Herança	Fisiopatologia	Neoplasia/manifestação hematológica	fenótipo	Alteração Citogenética/molecular adicional
Plaquetopenia familiar com propensão a neoplasia mieloide	<i>RUNX1</i>	21q	AD	Fator de transcrição	Plaquetopenia/ Disfunção plaquetária SMD LMA LLA-T Linfoproliferações	Outras anormalidades em geral associadas à deleção de outros genes adjacentes	-
Trombocitopenia 2	<i>ANKRD26</i>	10p12.1	AD	Fator de transcrição	Plaquetopenia Disfunção plaquetária LMA SMD	Não apresenta	-
Trombocitopenia 5	<i>ETV6</i>	12p13.2	AD	Fator de transcrição	Plaquetopenia LLA-B SMD/LMA	Não apresenta	-
Mutação do <i>CEBPA</i>	<i>CEBPA</i>	19q13.1	AD	Regulação de transcrição	LMA	Não apresenta	Normal Mutação adquirida em alelo selvagem
SMD/LMA associada à mutação <i>DDX41</i>	<i>DDX41</i>	5q35	AD	DEADH-BOX helicase "Slicing" RNAm	SMD Diseritropoiese Eritroleucemia Plaquetopenia	Não apresenta	-
Mutação germinativa <i>GATA2</i>	<i>GATA2</i>	3q21.3	AD	Fator de transcrição	SMD SMD hipocelular LMA	Linfedema Surdez neurosensorial Micobacteriose atípica Proteinose alveolar Verrugas	Monossomia 7

Tabela 1 - Continuação

Doença	Gene	Localização	Padrão de Herança	Fisiopatologia	Neoplasia/manifestação hematológica	fenótipo	Alteração Citogenética/molecular adicional
Anemia de Fanconi	<i>FANCA, FANCB, FANCC, FANCD1, FANCD2, FANCD3, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FANCM, FANCN, FANCO, FANCP, FANCO, FANCR, FANCS, FANCT, FANCU, FANCV</i>	16q24.3, Xp22.2, 9q22.32, 13q13.1, 3p25.3, 6p21.31, 11p14.3, 9p13.3, 15q26.1, 17q23.2, 14q21.2, 16p12.2, 17q22, 16p13.3, 16p13.12, 15q15.1, 17q21.31, 1q32.1, 7q36.1, 1p36.22	AR Exceto FANCB(LX) e FANCR (AD)	Reparo de DNA	Insuficiência medular SMD LMA	Baixa estatura, alteração de pigmentação de pele, alterações renais, microcefalia, alterações ósseas	trissomia 1q, trissomia 3q, trissomia 8, monossomia 7
Neutropenia congênita Grave	<i>ELANE, GFI1, HAX1, G6PC3, WAS</i>	19p13.3, 1p22.1, 1q21.3, 17q21.31, Xp11.23	AD (ELANE, GFI1), AR (HAX1, G6PC3) LX (WAS)	Aumento de apoptose (ELANE), modificador de histonas e repressor de transcrição (GFI1),	SMD LMA	Neutropenia grave desde infância	-
Schwachman-Diamond	<i>SBDS, DNAJC21</i>	7q11.21, 5p13.2	AR	Biologia dos ribossomos	Neutropenia, trombocitopenia, anemia aplástica	Baixa estatura, dosostose metafásica, insuficiência pancreática exócrina	i(7q), monossomia 7 ou der(7)
Diamond Blackfan	<i>RPS19, RPS17, RPS24, RPL35A, RPL5, RPL11, RPS7, RPS26, RPS10, RPL15, RPL23, RPL27, RPL31, RPL36, RPS15, RPS27, RPS27A, RPS28, RPS29, GATA1, TSR2</i>	19q13.3, 15q25, 10q22-23, 3q29-qter, 1p22.1, p26.1-35, 2p25.3, 12q13.2, 6p21.31, 3p24.2, 17q12, 17q21.31, 2q11.2, 19p13.3, 1q21.3, 2p16.1, 19p13.2, 14q21.3, Xp11.23, Xp11.22	AD exceto GATA1 e TSR2 (LX)	Biologia dos ribossomos, fator de transcrição (GATA1), via de apoptose NFkB(TSR2)	aplasia pura de série vermelha	Fascies típica, alteração e polegar, cardiopatia, alterações do trato genito-urineário	-
Insuficiência medular associada à biologia dos telômeros	<i>TERC, TERT, TINF2, RTEL1, NOP10, NHP2, WRAP53, CTC1, DKC1, ACD, PARN, NAF1, STN1</i>	3q26.3, 5p15.53, 14q11.2, 20q13.33, 15q14-q15, 5q35.5, 5q35.3, 17p13.1, 17p13.1, Xq28, 16q22.1, 16p13.12, 4q32.2, 10q24.33	AD (TERC, TERC, TINF2, RTEL1, AR(NOP10, NHP2, WRAP53, RTEL1, TERT, CTC1) DKC1 (LX)	Biologia dos telômeros	SMD, LMA, insuficiência medular, telonero curto	Distrofia ungueal, fibrose pulmonar e/ou hepática, leucoplasia	-

Tabela 1 - Continuação

Doença	Gene	Localização	Padrão de Herança	Fisiopatologia	Neoplasia/manifestação hematológica	fenótipo	Alteração Citogenética/molecular adicional
I MMJ associada a neurofibromatose ou síndrome de Noonan	<i>NF1, PTPN11, CBL</i>	17q11.2, 12q24.13, 11q23.3	AD	Alteração da via RAS	LMMJ, síndrome mieloproliferativa da síndrome de Noonan (na maior das vezes transitória)	NF1: neurofibromas, manchas café com leite, tumores do nervo óptico Noonan: cardiopatia congênita	Monossomia 7 iso (11q) (CBL)
Neoplasia mieloide associada à síndrome de Down	<i>trissomia cromossomo 21</i>	trissomia 21	-	Aquisição somática de mutação GATA1, aumento da proliferação de progenitores megacariocíticos e eritroides no fígado fetal	doença mieloproliferativa transitória SMD/LMA	Fácies típica, hipotonia muscular na infância, déficit cognitivo, cardiopatia congênita	trissomia 8/ GATA1
SAMD9/SAMD9L	<i>SAMD9/SAMD9L</i>	7q	AD	Controle de proliferação celular. Endossomos	SMD	MIRAGE (infecções, restrição de crescimento, hipoplasia adrenal malformações genitais, enteropatia)/ Síndrome de ataxia e pancitopenia com ataxia cerebelar	Monossomia 7
Aplasia e mielodisplasia familiar associada à mutação SRP72	<i>SRP72</i>	4q12	AD	Processamento proteico	Anemia aplástica SMD	Surdez congênita	-
ATG2B/GSKIP	<i>ATG2B/GSKIP</i>	14q32	AD	Aumento de expressão leva a maior sensibilidade de megacariócitos à trombopoetina	NMPC LMA	-	<i>JAK2, MPL, CALR</i>
MECOM	<i>MECOM</i>	3q26.2	AD	Fator de transcrição, Regulação da renovação de células tronco hematopoieticas	trombocitopenia amegacariocítica, insuficiência medular	sinostose radio-ulnar, surdez neurosensorial, malformação óssea em mãos, cardiopatia	

AD: autossômico dominante, LX: Ligado ao X, AR: autossômico recessivo; NMPC: neoplasia mieloproliferativa crônica

(Adaptado de SILVA, 2019)

2.4. A SMD/LMA FAMILIAR NO BRASIL

O Brasil tem participado do esforço mundial para definir síndromes clínicas e as variantes genéticas que participam da fisiopatologia das DHF. Silva (2019) avaliou 322 pacientes no ambulatório de citopenias do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, e identificou 30 pacientes (9,3%) que apresentavam quadro sugestivo de doença hematológica familiar. Foram analisados 17 pacientes e 24 familiares de primeiro e segundo graus de 14 famílias. Em 7 famílias foram identificados genes relacionados com o fenótipo de DHF. Havia 2 casos com mutação de *RUNX1* e do gene *ANKD26* em um caso, 3 casos de mutação do gene *GATA2* e 1 caso compatível com síndrome de deleção 22q. A autora constatou que 83% (cinco de seis pacientes) dos pacientes apresentaram evolução clonal molecular. Enquanto foi verificada evolução clonal citogenética em 4 pacientes (um com mutação do gene *ANKD26* e plaquetopenia e 3 com provável síndrome de deficiência de *GATA2* (BABUSHOK, BESSLER, 2015; SILVA, 2019).

Bueno (2023) analisou variáveis preditoras para diagnóstico baseadas em estudo descritivo clínico, morfológico, histopatológico, imunofenotípico e citogenético de pacientes com suspeita de síndrome mielodisplásica no Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Este estudo encontrou 15% de casos (13/84) com critérios para neoplasia mielóide germinativa (BUENO, 2023).

2.4.1. Principais genes afetados por alterações germinativas ligadas a DHF: enfoque em *GATA2* E *RUNX1*

Os principais genes que classicamente participam da fisiopatologia das DHF são *CEBPA*, *DDX41*, *TP53*, *RUNX1*, *ANKD26*, *ETV6*, *GATA2*, e mais recentemente associados *SAMD9* e *SAMD9L*. Os genes que serão analisados do ponto de vista mutacional serão *GATA2* e *RUNX1*, descritos de forma mais aprofundada abaixo (BABUSHOK, BESSLER, 2015).

2.4.1.1. O gene *GATA2*

O gene *GATA2* localiza-se no cromossomo 3q21 codifica um fator de transcrição que se apresenta sob a forma de dois *zinc finger* (ZF). A função do primeiro ZF é participar da interação da proteína com a região promotora de genes-alvo, enquanto o segundo ZF realiza uma complexa transcrição proteica apoiada em outros fatores de transcrição como *RUNX1*, *FLI1*, *SPI1*, *LMO*, *TAL1* e *CEBPA* (HIRABAYASHI, WLODARSKI, *et al.*, 2017;

OSTERGAARD, SIMPSON, *et al.*, 2011; MCREYNOLDS, CALVO, *et al.*, 2018, MCREYNOLDS, YANG, *et al.*, 2019.

O gene *GATA2* atua na geração, desenvolvimento, proliferação e sobrevivência das *stem cells*. Na vida embrionária realiza a transição do endotélio hemogênico para *stem cells*. O gene *GATA2* regula vários fatores de transcrição que orientarão o destino dos precursores hematopoiéticos para a definitiva diferenciação celular (HIRABAYASHI, WLODARSKI, *et al.*, 2017; MIR, KOCHUPARAMBIL, *et al.*, 2015).

As cobaias *knockout* homozigotas para *GATA2* morrem de anemia na vida embrionária enquanto cobaias com *knockout* em heterozigose tem menor número de *stem cells*, e estas apresentam baixa capacidade de multiplicação, além de menor número de progenitores granulócitos-macrófagos, monócitos, linfócitos T e B. Assim, a deficiência de *GATA2* reduz qualitativa e quantitativamente a população de células tronco ao nascimento, que apresentará menor tolerância às agressões infecciosas, tornando os progenitores susceptíveis à hematopoiese clonal, mielodisplasia e ao processo de transformação leucêmica (HSU, MCREYNOLDS, *et al.*, 2015).

GATA2 participa no desenvolvimento de vários sistemas e órgãos como pulmonar, hematopoiético e vascular. Assim, a mutação em heterozigose promove o desenvolvimento de fenótipos diferentes em crianças e adultos cujo denominador comum é a imunodeficiência e elevado risco para SMD e progressão para leucemia aguda. A mutação de *GATA2* obedece ao padrão autossômico dominante de herança (MCREYNOLDS, YANG, *et al.*, 2019).

Estudos mutacionais identificaram regiões regulatórias principais de *GATA2*: *upstream* e intrônica. As mutações de *GATA2* são: (1) mutações truncadas que levam à perda do segundo ZF, (2) mutações *missense* no segundo ZF, (3) mutações que levam a erros na maquinaria do *splicing* de mRNA, (4) mutações não codificadoras na região amplificadora transcripcional +9,5 Kb no íntron 4. Esta última atinge regiões de ligação de fatores de transcrição e por consequência à diminuição da expressão dos transcritos do alelo mutado. Todas causam haploinsuficiência (WLODARSKI, HIRABAYASHI, *et al.*, 2016).

O espectro fenotípico das mutações de *GATA2* estão unificados pelo termo “Síndrome de deficiência de *GATA2*” que classicamente são: (1) Síndrome MonoMAC, (2) Síndrome de Emberger, (3) Síndrome de Deficiência de Células Dendríticas, Monocitopenia, Linfocitopenia B e NK, (4) SMD/LMA familiar (BRESNICK, JUNG, *et al.*, 2020).

Há outros fenótipos associados às mutações germinativas de *GATA2* como neutropenia crônica, aplasia de medula, Leucemia Mielomonocítica crônica/Leucemia mielomonocítica Juvenil e SMD pediátrica (MCREYNOLDS, CALVO, *et al.*, 2018).

a) Síndrome Monomac: corresponde à associação de infecção pelo Complexo *Mycobacterium avium* e monocitopenia. Pode ocorrer infecção pelo papilomavírus humano, infecções fúngicas (aspergilose), meningite criptocócica, histoplasmoses, parasitárias e proteinose alveolar pulmonar (devido à disfunção macrofágica no ambiente pulmonar) (PASQUET, CHANTELOT, 2015).

A mutação de *GATA2* desencadeia deficiência de células NK e linfócitos CD4. Podem desenvolver SMD/Leucemia aguda, que em 50% dos casos, estão associados à monossomia do cromossomo 7 e trissomia do 8. A análise de pedigrees de famílias portadoras de Monomac identificou mutações *frameshift*, deleções que abrangem os dois ZF, *missense* no segundo ZF (BRESNICK, KATSUMURA, *et al.*, 2012).

b) Síndrome de Emberger ocorre devido a mutações *nonsense* e deleções de *GATA2* na posição Arg361Leu e a Cys373Arg que conferem perda de função da proteína como fator transcricional. Caracteriza-se pela associação de surdez, tendência a graves infecções virais, verrugas cutâneas, mielodisplasia/leucemia aguda e linfedema primário (SPINNER, SANCHEZ, *et al.*, 2014).

c) A Síndrome de Deficiência de Células Dendríticas, Monocitopenia, Linfocitopenia B e NK (DCML) caracteriza-se por linfocitopenia, devido à diminuição acentuada de células *natural killer*, e predisposição às infecções virais (CRISPINO, HORWITZ, 2017; BIGLEY, HANIFFA, *et al.*, 2011). As mutações que se verificam na DCML são *frameshift*, deleções que abrangem os dois ZF porção C-terminal, mutação *missense* em T354Met e R398W (BIGLEY, HANIFFA, *et al.*, 2011).

d) SMD/LMA familiar secundária à haploinsuficiência de *GATA2* tem forte agregação familiar com mais de uma geração acometida, compatível com o padrão autossômico dominante (HSU, MCREYNOLDS, *et al.*, 2015).

Os pacientes são mais jovens que os pacientes com doença *de novo* e os sintomas iniciais são infecções virais em 60% dos casos. As mutações ocorrem no segundo ZF e são do tipo T354Met e T355del (HSU, MCREYNOLDS, *et al.*, 2015).

Independentemente do padrão fenotípico, o sangue periférico destes pacientes apresenta monocitopenia, diminuição de linfócitos *natural killer*, diminuição de linfócitos B, aumento da circulação de células CD34+, aumento de ligante sérico de FLT3, o que indica depleção do estoque de *stem cell* intramedular e progressão clonal (HSU, MCREYNOLDS, *et al.*, 2015).

Os achados histopatológicos na medula óssea consistem em aumento da trama reticulina, hipocelularidade global, série mieloide hipogranular, assincronia de maturação, diseritropoiese, ponte internuclear, deformidade nuclear, células binucleadas e núcleo digitiforme. Há dismegacariocitopoiese com a presença de micromegacariócitos, que podem ser hipolobulados, hipogranulados e com núcleos pequenos e separados (WEINBERG, KUO, *et al.*, 2019; KANAGAL-SHAMANNA, *et al.*, 2021).

A citometria de fluxo revela redução da população de células CD34+, inversão da relação entre linfócitos T (CD3+) TCD4+: TCD8+, atipias nas populações de plasmócitos (CD38+++ / CD138+) e ausência de hematogônias (células B progenitoras (CD19+ / CD34+ / CD10+ / CD20+)). Há diminuição de células NK (CD3- / CD56+), de células dendríticas (HLA-DR++ / CD123++), dos monócitos (CD14+ / CD64+) (CRISPINO, HORWITZ, 2017; KANAGAL-SHAMANNA, 2021).

As anormalidades citogenéticas mais comuns são monossomia do cromossoma 7, trissomia do 8 e trissomia do 21 (KHOURY, SOLARY, *et al.*, 2022).

A associação da mutação somática do gene *ASXL1* com a mutação germinativa do gene *GATA2* prenuncia a transformação leucêmica (HSU, MCREYNOLDS, *et al.*, 2015). Estudos funcionais destacam que a mutação no gene *SETBP1* em pacientes com SMD com *ASXL1* mutado concorre para a evolução clonal leucêmica. As mutações somáticas de *ASXL1* e *SETBP1* estão associadas à monossomia do cromossomo 7, sobretudo na população pediátrica (INOUE, KITAURA, *et al.*, 2015).

Em 1994, Orkin mostrou a participação crucial do gene *GATA2* para a hematopoiese, para o destino das células tronco e das populações de progenitores hematopoiéticos. (TSAI *et al.*, 1994). As mutações do gene *GATA2* predisõem a diferentes tipos de doenças onco-hematológica em pacientes pediátricos e adultos, que podem vir acompanhadas ou não de uma miríade de manifestações fenotípicas devido à ação pleiotrófica do gene (BRESNICK, JUNG, *et al.*, 2020).

Atualmente, um dos principais desafios consiste em compreender os mecanismos que levam à variação da penetrância do gene e o que motivaria às apresentações clínicas tão diferentes entre si (BRESNICK, JUNG, *et al.*, 2020).

Especula-se que a associação de mutações somáticas em genes como *RUNX1*, *ETV6*, *SETBP1* à mutação germinativa de *GATA2* influenciariam na patogenia das síndromes de haploinsuficiência de *GATA2*. Outra hipótese é que eventos infecciosos e ambientais seriam disparadores da evolução leucêmica, pois são potentes estressores do *pool* de *stem cell*, que é sensível às agressões externas quando submetidas à ação das mutações do gene *GATA2* (BRESNICK, JUNG, *et al.*, 2020).

Do ponto de vista terapêutico, o transplante de medula óssea alogênico apresenta-se como a única estratégia potencialmente curativa para os portadores de leucemia aguda devido à mutação germinativa do gene *GATA2*. Porém, está associado a alto risco de toxicidade relacionada ao procedimento, elevada mortalidade e maior incidência de doença enxerto versus hospedeiro (HOFMANN, 2020; PARTA, SHAH, *et al.*, 2018; JØRGENSEN, BUECHNER, *et al.*, 2022).

O gene *GATA2* atua em inúmeras vias moleculares e a sua mutação gera aberrações em diversos sistemas celulares. O denominador comum entre as diferentes mutações é o desequilíbrio de uma complexa rede molecular. Os efeitos desta rede molecular atingida pelas mutações de *GATA2* necessita ser elucidada para proporcionar uma estratégia terapêutica de medicina de precisão eficaz no tratamento dos pacientes e adequada aos diferentes perfis fenotípicos (BRESNICK, JUNG, *et al.*, 2020).

2.4.1.2. O gene *RUNX1*

O gene *RUNX1* (*Runt-related factor 1*) codifica um fator de transcrição que participa da regulação da hematopoiese normal. O gene *RUNX1* localiza-se no braço longo do cromossomo 21q22.12 e é composto por 9 éxons (NICKELS, SOODALTER, *et al.*, 2013; MEVEL, DRAPER, *et al.*, 2019).

Os principais domínios funcionais da proteína *RUNX1* consistem em uma sequência específica para ligação do DNA, o domínio *Runt*, e o domínio de transativação (localizado na região c-terminal) (LIAU, NGOC, *et al.*, 2017; DE BRUIJN, DZIERZAK, *et al.*, 2017). O domínio *Runt* é o local onde o DNA se liga e onde o CBF β se acopla para iniciar a transcrição. O domínio *Runt* é o local privilegiado para a ocorrência de mutações em doenças hematológicas

como a *Familial platelet disorder with associated myeloid malignancy* (FPD-MM) (OMIM 601399), LMA *de novo* e leucemia mielomonocítica crônica (LMMC) (MANGAN, SPECK, 2011). A função do cofator CBF β é aumentar a ligação entre *RUNX1* e o DNA e com isso manter estável a conformação espacial do complexo *RUNX1*-DNA. O domínio de transativação é o local onde se ligam proteínas de ação ativadora e inibitória. Essa região torna-se então, responsável pela modulação da expressão do gene *RUNX1* (SOOD, KAMIKUBO, *et al.*, 2017). O gene *RUNX1* possui uma região amplificadora que regula a expressão genômica no endotélio hemogênico bem como nas *stem cells*. A região amplificadora age em conjunto com outros fatores de transcrição como *GATA2*, *PU.1* e *TAL/SCL*. Esta região amplificadora, onde vários fatores de transcrição atuam simultaneamente, denomina-se região super-amplificadora (LIAU, NGOC, *et al.*, 2017).

A célula tronco hematopoiética se origina na vida embrionária na região aorta-gônada-mesonefros, saco vitelino, grandes vasos extraembrionários e placenta. Os estudos funcionais evidenciam que a integridade do gene *RUNX1* é necessária para que os precursores hematopoiéticos embrionários realizem a especificação das diferentes linhagens das células tronco. Para que ocorra a transição do endotélio hemogênico embrionário para as células tronco é necessária a participação do fator de transcrição *RUNX1* (LIAKHOVITSKAIA, RYBTSOV, *et al.*, 2014).

As cobaias *knockout* com deleção em homozigose do gene *RUNX1* não desenvolvem os progenitores eritróide-mielóide e morrem de anemia grave no D12,5 de vida embrionária. As *stem cells* e os progenitores hematopoiéticos são fortemente impactadas na sua operacionalidade pela perda de função da proteína *RUNX1*. Elas não conseguem realizar a diferenciação granulocítica, ocorrem defeitos na gênese dos megacariócitos, dos linfócitos B e dos linfócitos T. As mutações em *RUNX1* que causam haploinsuficiência ou perda de função na proteína levam ao acúmulo de progenitores dos megacariócitos e granulócitos numa situação facilitadora ao desenvolvimento de doenças mieloproliferativas. As cobaias com mutação em haploinsuficiência no gene *RUNX1* apresentam células tronco com alta capacidade replicativa (MANGAN, SPECK, *et al.*, 2011; DE BRUIJN, DZIERZAK, *et al.*, 2017).

A participação do fator de transcrição *RUNX1* é essencial para o desenvolvimento e a maturação das células tronco durante a vida embrionária e encaminhá-las para a diferenciação das diferentes linhagens hematológicas. Porém, durante a hematopoese da vida adulta a ação de *RUNX1* se restringe à maturação dos megacariócitos e dos linfócitos. O gene *RUNX1* não atua em momentos posteriores na manutenção tardia das células tronco durante a vida adulta.

O gene *RUNX1*, mesmo em haploinsuficiência, não afeta o desenvolvimento das células tronco hematopoiéticas de longo prazo (YOKOTA, HUO, *et al.*, 2020).

Além de regular o ciclo celular e a diferenciação hematopoiética, outra função de *RUNX1* é promover a transcrição de genes alvos da síntese de ribossomos das *stemcells*. Estas mutações promovem a redução da biossíntese de ribossomos, diminuição da produção de r-RNA e de proteínas codificadas pelo m-RNA. A redução da produção de ribossomos nas *stemcells* deficientes de *RUNX1* leva a uma menor resposta da via de p53 a baixas taxas *unfolded protein* e tem como consequência a diminuição do apoptose (CAI, GAO, *et al.*, 2015; YOKOTA, HUO, *et al.*, 2020 ; HETZ, 2012).

Estas células tornam-se mais resistentes, por exemplo, à ação de agentes alquilantes. Estas características permitem que as células tronco haploinsuficientes de *RUNX1*, desenvolvam vantagens proliferativas, a terem menor taxa de apoptose e consigam expandir-se na medula óssea competindo com as células tronco normais. A célula tronco pode assim manter-se por mais tempo estável, formando um clone capaz de acumular-se no microambiente medular ao longo do tempo (CAI, GAO, *et al.*, 2015).

Fisiologicamente, o gene *RUNX1* estimula a atividade de p53 quando há dano ao DNA. As mutações de *RUNX1* implicam, então, na desregulação das vias de reparo do DNA, controle e regulação do ciclo celular e, em termos finais, na leucemogênese (WU, OZAKI, *et al.*, 2013).

A maioria dos heredogramas de doença plaquetária familiar com propensão à malignidade mieloide secundária à mutação em *RUNX1* apresentam mutações em duas posições do gene: (1) no domínio *Runt* e (2) no domínio de transativação (localizado na região c-terminal).

As mutações em *RUNX1* tem efeito de perda de função ou efeito dominante negativo que levam ao fenótipo FPD/MM (YOKOTA, HUO, *et al.*, 2020).

Essas mutações são duplicações, deleções intragênicas, mutações pontuais que resultam em alterações *missense*, *frameshift* e *nonsense*. As mutações *frameshift* e as grandes deleções levam à perda da função da proteína. As mutações *missense* e *nonsense* desencadeiam a formação de proteínas com ação dominante negativa.

As mutações germinativas com perda de função de *RUNX1* nas doenças hematológicas familiares são eventos precoces em que há o desenvolvimento de células-tronco pré-leucêmicas capazes de expandir-se no microambiente medular. Estas células com haploinsuficiência de

RUNX1 angariam propriedades de crescimento, multiplicação mais lenta, baixas taxas de apoptose, resistência ao *stress* oxidativo endógeno e à quimioterápicos. Este comportamento de quimioresistência é semelhante ao encontrado nas leucemias agudas *de novo* com o gene *RUNX1* mutado com perda de função ou haploinsuficiência (MILL, FISKUS, *et al.*, 2019).

As mutações dominantes–negativas são as que apresentam maior risco de desenvolverem neoplasias hematológicas (LATGER-CANNARD, PHILIPPE, *et al.*, 2016)

O mecanismo para a evolução da leucemogênese é complexo e no caso da FPD/MM não é suficiente que ocorram mutação apenas no gene *RUNX1*. As mutações do gene *RUNX1* estão presentes em inúmeras doenças hematológicas *de novo*, doenças somáticas, leucemias agudas, leucemias secundárias à quimioterapia/radioterapia, LMMC, LMC, SMD e FPD-MM, porém estas mutações do gene *RUNX1* isoladamente não desencadeiam leucemia aguda. É necessário um ambiente medular adequado à instalação de *stemcells* com perfil genômico que favoreça o desenvolvimento de clones displásicos. Isso ocorre através da somação de eventos secundários, além das mutações de *RUNX1*, como mutações somáticas adjuvantes que levam à transformação leucêmica (LATGER-CANNARD, PHILIPPE, *et al.*, 2016; MANGAN, SPECK, *et al.*, 2011).

São necessárias mutações que afetem o alelo normal de *RUNX1* para se dar a evolução clonal e desencadear a leucemogênese (MANGAN, SPECK, *et al.*, 2011)

Além das mutações em haploinsuficiência de *RUNX1* são necessárias outras mutações somáticas para desencadear a evolução leucêmica. Esses eventos podem ser de diversas naturezas: (i) através de mutações somáticas em inúmeros genes (ii) instabilidade genômica levando à perda de função da cópia normal através de mutações somáticas que silenciam o alelo normal (iii) mutações somáticas que desenvolvem variação no número de cópias (iv) mutação *out of frame* 8 bp no próprio gene *RUNX1* em heterozigose (v) deleção de 3,5 Mb na região 21q22.11-21q.12. (vi) duplicação do *RUNX1* mutado com a trissomia do cromossoma 21 (vii) perda do alelo normal de *RUNX1* (BÉRI-DEXHEIMER, LATGER-CANNARD, *et al.*, 2008) (SOOD, KAMIKUBO, *et al.*, 2017).

As mutações somáticas se processam em genes que atuam como (i) supressores tumorais (*RB1*), (ii) fatores modificadores epigenéticos (*MLL-PTD*, *ASXL1*, *WT1*, *IDH1*, *IDH2*, *TET*, *BCOR*, *DNMT3A*, *WT1*), (iii) maquinaria do *splicing* (*SRSF2*, *SF3 β 2*), (iv) proliferação celular e sobrevivência (*FLT3ITD/TKD*, *CBL*, *RASSHP2*) e (v) reparo de DNA (*TP53*)

(SCHLEGELBERGER, HELLER, 2017; YOKOTA, HUO, *et al.*, 2020; SOOD, KAMIKUBO, *et al.*, 2017).

Já os pacientes que evoluem com LMA com mutação bialélica no gene *RUNX1* indicam que houve a aquisição de mutação no alelo normal enquanto já havia mutação germinativa no segundo alelo (DUPLOYEZ, LEJEUNE, *et al.*, 2016).

A FPD-MM mutação em *RUNX1* é uma doença com herança autossômica dominante. Pode cursar com trombocitopenia leve ou moderada em torno de $70.000 - 145.000 \times 10^9/L$, no limite inferior normal ou contagem plaquetária normal. Há tendência a sangramento espontâneo como gengivorragia, epistaxe e metrorragia (YOKOTA, HUO, *et al.*, 2020).

Existem outras manifestações clínicas não hematológicas como eczema e psoríase. (DEUITCH, *et al.*, 2021) A presença de fenótipos mais complexos, com retardo mental e anomalias cardíacas, se verificam nos casos de grandes deleções de porções do gene *RUNX1* (DUPLOYEZ, LEJEUNE, *et al.*, 2016).

O risco de desenvolverem SMD e LMA ao longo da vida é elevado, em torno de 35% a 40%. Sendo que 25% das famílias podem cursar com LLA (a mais comum é a LLA-T) e linfomas. Outras neoplasias associadas à FPD/MM são neuroblastoma e linfossarcoma (YOKOTA, HUO, *et al.*, 2020).

Os pacientes portadores de FPD/MM evoluem com SMD ou LMA em média aos 33 anos (dispersão: 6-77 anos). Porém, permanece sem resposta qual a mutação seria responsável por levar ao desenvolvimento de doenças hematológicas específicas. Há também o relato do fenômeno da antecipação (BÉRI-DEXHEIMER, LATGER-CANNARD, *et al.*, 2008; CHURPEK, ONEL, 2010; BROWN, ARTS, *et al.*, 2020).

As alterações morfológicas do sangue periférico de pacientes portadores de FPD-MM evidenciam trombocitopenia, leucopenia discreta, macrocitose, plaquetas com poucos grânulos, eosinofilia e neutrófilos com segmentação anormal (KANAGAL-SHAMANNA, LOGHAVI, *et al.*, 2017). Na medula óssea as alterações morfológicas dos pacientes portadores de FPD-MM consistem em celularidade global para a idade aumentada ou diminuída. A linhagem megacariocítica pode apresentar-se dismórfica, em número diminuído ou aumentado, núcleo hipolobulado e células com citoplasma escasso. Há sinais de dismegacariocitopoiese, disetritropoiese e disgranulopoiese (KANAGAL-SHAMANNA, LOGHAVI, *et al.*, 2017; (KANAGAL-SHAMANNA, *et al.*, 2021).

Em resumo, pode haver três padrões possíveis para a morfologia da medula óssea nos portadores de FPD-MM: (i) morfologia normal (ii) presença de megacariócitos pequenos com medula hipocelular, sem configurar SMD (iii) presença de micro megacariócitos, medula hipercelular, achados compatíveis com SMD e de doenças mieloproliferativas.

A imunofenotipagem dos portadores de FPD-MM apresenta anormalidades semelhantes às encontradas nas SMDs ou neoplasias de célula tronco. Há a diminuição de CD38, CD13 e aumento de CD117 e CD123 (que é receptor da IL3, funcionando como marcador de LMA) (KANAGAL-SHAMANNA, LOGHAVI, *et al.*, 2017).

São descritos pacientes portadores de monossomia do cromossoma 5, deleção 5q e trissomia do cromossoma 21, trissomia do cromossoma 8 e trissomia do cromossoma 13 (GAO, GONG, *et al.*, 2019; YOKOTA, HUO, *et al.*, 2020).

Para diagnóstico das mutações associadas às DHF utilizamos a técnica de Sanger que lê fragmentos de aproximadamente 800 pares de base. O método permite sequenciamento com acurácia, porém é dispendioso e não atende às análises em larga escala. Já a técnica de *Next Gene Sequencing* (NGS) permite o sequenciamento simultâneo de longos trechos de DNA em larga escala, com alta especificidade e de vários trechos do DNA em menor tempo, além disso permite a avaliação de analisando vários genes simultaneamente, porém ainda é um exame de alto custo (DE LEENEER, DE SCHRIJVER, *et al.*, 2011; GOODWIN, MCPHERSON, *et al.*, 2016; RIZZO, BUCK, *et al.*, 2012).

3. JUSTIFICATIVA

A LA e a SMD são doenças que apresentam resultados limitados com relação à sobrevida global e prognóstico na população adulta. A população pediátrica, ao contrário da população adulta, a LA obtém altos índices de cura. A SMD pediátrica é uma doença rara, com 30% dos pacientes revelando sintomas clínicos associados à anemia refratária (a maioria dos casos apresentam na forma hipoplásica) e alterações citogenéticas sobretudo no cromossomo 7 (GALAVARNA, RUGGERI, *et al.*, 2018; BUENO, 2023).

O tratamento permanece basicamente o mesmo há décadas, exceto para determinadas condições que atualmente tem tratamento alvo específico (ex: LMA promielocítica). A melhora na sobrevida deveu-se à otimização das medidas de suporte infeccioso, transfusional, estratificação de risco e desenvolvimento de protocolos de TMO com fontes alternativas de células tronco (HOFFBRAND, 2021).

O reconhecimento da participação de fatores hereditários no desenvolvimento de doenças hematológicas mudou o paradigma do entendimento da fisiopatologia da leucemogênese e hoje é importante campo de investigação. A catalogação de casos com densa agregação familiar permite individualizar síndromes clínicas e os genes envolvidos. Além disso, estudos demonstram diferenças no padrão mutacional de um mesmo gene em populações distintas, tornando evidente a participação do fator étnico com mutações recorrentes ou fundadoras e nas suas características clínicas (FURUTANI, SHIMAMURA, *et al.*, 2017).

O Brasil é um país multirracial, com características socioeconômicas e culturais que imprimem riscos epidemiológicos específicos para a ocorrência de mielodisplasias e outros tipos de cânceres, como a exposição da população pediátrica e adulta jovem a pesticidas no campo (LOPES, 2006).

Pesquisar a existência de síndromes de predisposição para SMD/LMA familiar em pacientes do SUS no Brasil fornecerá dados relevantes ao corpo clínico que assiste aos pacientes e seus familiares no que diz respeito ao tratamento, seguimento, metodologia de vigilância e prevenção clínica.

A avaliação de mutações germinativas contribuirá para conhecermos como se dá a penetrância e expressividade da SMD/LMA com predisposição hereditária e a epidemiologia destas condições no país.

A agenda de pesquisa neste campo é ampla e deve identificar famílias, catalogar genes e as variantes genéticas, compreender a arquitetura clonal envolvida no desenvolvimento das doenças hematológicas hereditárias. Com isso será possível individualizar síndromes clínicas, data de início de sintomas, alvos terapêuticos para prevenir, tratar e minimizar os efeitos da doença instalada.

A identificação de pacientes de SMD/LA Familiar no SUS permite realizar vigilância a longo prazo através da criação de estratégias de acompanhamento de pacientes portadores e familiares sintomáticos/assintomáticos para prevenção de síndromes clínicas associadas. Estes pacientes e suas famílias devem ser referenciados a aconselhamento genético, discussão de risco reprodutivo, acompanhamento clínico para vigilância de disfunção orgânica e de risco hematológico mesmo na ausência de base molecular definida.

Além disso, é possível evitar a realização de tratamentos cirúrgicos desnecessários (esplenectomia) em portadores de doenças hematológicas familiares que se apresentam com plaquetopenia e são interpretados inadvertidamente como PTI, bem como prevenir a utilização de protocolos mieloablativos de TMO deletérios nestes pacientes.

Optamos por investigar o perfil mutacional dos genes *RUNX1* e *GATA2* por serem fatores transcricionais com ampla ação no desenvolvimento de órgãos e tecidos como o hematopoiético, músculo esquelético, neurológico, cardíaco, osteoarticular e vascular.

Por essas razões, este projeto integra a compreensão dos múltiplos aspectos da fisiopatologia, à avaliação clínica com impacto no tratamento e acompanhamento de famílias com DHF. Além disso, pretende-se desenvolver critérios de suspeição de pacientes susceptíveis de serem portadores de DHF que colaborem para que não sejam utilizados indivíduos portadores assintomáticos de mutações como doadores de células-tronco.

Questão da pesquisa:

Como reconhecer casos de DHF no Setor de Hematologia de dois hospitais terciários da rede pública do SUS? Qual é sua apresentação clínica, laboratorial e seu padrão mutacional para os genes *RUNX1* e *GATA2*?

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL:

Detectar e caracterizar a concomitância (*cluster*) de doenças hematológicas (neoplásica ou não) em familiares de pacientes com SMD/LMA, atendidos no IPPMG e HF da Lagoa sugestivos de predisposição hereditária familiar para SMD/LMA.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- a) Descrever características clínicas, laboratoriais de pacientes com SMD/LMA e seus familiares.
- b) Obter informações das famílias selecionadas sobre a ocorrência de neoplasias e idade de óbito para a construção de heredogramas de 3 ou mais gerações.
- c) Descrever o perfil mutacional para os genes *RUNX1* e *GATA2* nos casos de DHF estudados.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

Período e locais do estudo: Os participantes da pesquisa foram triados entre os anos de 2019 a 2022 no ambulatório de Hematologia Adulto e Hematologia Pediátrica do Hospital Federal da Lagoa (HFL) e no Instituto de Pediatria e Puericultura Martagão Gesteira (IPPMG/UFRJ).

5.1. DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de estudo descritivo, ambidirecional, de uma coorte de pacientes com neoplasias mieloides com suspeita de predisposição germinativa.

5.2. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Pacientes pertencentes a famílias com presença de pelo menos dois membros com doenças hematológicas, SMD ou leucemias agudas, cujo probando tenha sido tratado no IPPMG e HFL.

Considerou-se como caso suspeito paciente com leucemia aguda ou SMD com parente de primeiro, segundo ou terceiro grau que apresentem:

1. Alterações genéticas ou moleculares, manifestações clínicas ou doenças sugestivas de alteração genéticas hereditárias a saber:

a) anormalidades citogenéticas clássicas (translocações do cromossomo 1q, ganho de 3q, isocromossomo 7, monossomia 7 isolado; b) mutações bialélicas em células de medula óssea em genes associados a síndrome SMD/LMA familiar (*RUNX1*, *GATA2* ou outros que porventura viessem a ser identificados).

c) má-formações congênitas (ex: defeitos cardíacos congênitos, anormalidades de rádio e de polegar); d) baixa estatura ou achados dismórficos; e) achados mucocutâneos clássicos (ex: manchas café com leite, distrofia ungueal, hipopigmentação de pele); f) comorbidades associadas (ex: fibrose pulmonar, endocrinopatias, falência ovariana prematura, linfedema); g) história de complicações raras e graves de pós-tratamento de radioterapia ou quimioterapia.

2. Alterações hematológicas ou manifestações clínicas sugestivas de Neoplasias hematológicas.

a) citopenias; b) trombocitopenia; c) propensão a sangramento; d) macrocitose; e) anormalidades ungueais e de polegar; f) pigmentação de pele; g) leucoplaquia oral; h) fibrose

pulmonar; i) doença hepática inexplicada; j) linfedema; l) infecções atípicas; m) deficiências autoimunes; n) anormalidades congênitas de membros; o) qualquer má-formação congênita; p) tumores múltiplos, bilaterais ou metacrômicos; q) tumores raros; r) vários indivíduos afetados por um mesmo tipo de tumor ou vários parentes de primeiro e segundo grau com câncer (especialmente sarcoma, câncer de mama com < 50 anos e tumor de cérebro); s) complicações raras e graves de quimioterapia ou radioterapia; t) consanguinidade; u) trombozes.

3. Paciente com doença hematológica iniciada com < 50 anos com parente de primeiro grau com qualquer câncer ocorrendo com < 50 anos.

4. Doador aparentado de célula-tronco saudável (doador para um membro da família com doença hematológica que necessite de TMO alogênico) identificado com:

a) trombocitopenia; b) propensão a sangramento; c) macrocitose; d) anormalidades ungueais; e) pigmentação de pele; f) leucoplaquia oral; g) falha em mobilizar células-tronco com protocolos bem estabelecidos de mobilização (CHURPEK, LORENZ, *et al.*, 2013; BABUSHOK, BESSLER, *et al.*, 2015).

Em caso afirmativo, o participante da pesquisa, seus familiares e responsáveis foram convidados a assinar o TCLE/TALE e responder o questionário 1 e 2. (Anexo 1e 2). O segundo questionário (questionário 2) foi adaptado de Churpek e Babushok e contém termos técnicos. Desta forma, o pesquisador acompanhou o preenchimento deste questionário 2 (CHURPEK, LORENZ, *et al.*, 2013; BABUSHOK, BESSLER, *et al.*, 2015).

5.3. A AMOSTRA

A amostra deste estudo foi obtida por conveniência. Geramos dados iniciais a partir de uma coorte proveniente de dois hospitais terciários que atendem pacientes pediátricos e adultos do SUS. Foram selecionadas 22 famílias, como em uma família há dois gêmeos univitelinos perfazem 23 sujeitos de pesquisa, de 4 meses a 83 anos de idade. Há DNA dos probandos e de familiares que cumpriam os critérios de inclusão descritos acima.

Os probandos que foram incluídos foram divididos em dois conjuntos: Grupo A e Grupo B.

O grupo A formado por pacientes referenciados aos ambulatórios de hematologia pediátrica e de adultos para investigar, via de regra, alguma citopenia. As citopenias são definidas como: (i) plaquetas <150.000 10^9 , (ii) SEG < 1000 μ L e (iii) HGB < 10 mg/ dL (HGB < 9 mg/dL, em

casos de probandos com menos de 6 meses. Compreendem casos de SMD, PTI, plaquetopenia e anemia refratária, SSD e síndrome de Cohen. Os pacientes foram submetidos a uma extensa avaliação laboratorial que pretendia estabelecer os principais diagnósticos diferenciais das citopenias (HOFFBRAND, 2021).

O grupo B formado por pacientes referenciados para investigar e tratar neoplasias hematológicas como linfomas, mieloma múltiplo, leucemia aguda e doenças mieloproliferativas (síndrome hipereosinofílica). Durante o acompanhamento foi identificada a presença de familiares portadores de doenças hematológicas.

5.4. COLETA DE DADOS DE CLÍNICOS E LABORATORIAIS DOS FAMILIARES

Foram coletados dados clínicos e laboratoriais de pacientes probandos e seus familiares com suspeita de neoplasias mieloides com predisposição germinativa a partir dos prontuários, durante as consultas ambulatoriais e visitas domiciliares.

5.5. MÉTODOS ESTATÍSTICOS

Para descrição das variáveis quantitativas, foram calculadas médias (desvio padrão) e medianas (intervalo interquartil e dispersão). As variáveis categóricas foram descritas através de seus percentuais. Para uma análise exploratória das diferenças encontradas, utilizaremos os seguintes testes de hipótese: i) teste T *student* para cálculo de significância estatística em variáveis com distribuição normal, ii) teste Mann-Whitney para variáveis que não atendam aos requisitos para distribuição normal (comparação de 2 grupos) ou Kuskal-Wallis (comparação de 3 ou mais grupos) e iii) Teste de exato de Fisher ou χ^2 quadrado para comparação entre variáveis categóricas.

5.6. MATERIAL COLETADO PARA EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO

Os pacientes foram selecionados durante as consultas ambulatoriais nos hospitais HFL e IPPMG.

O material biológico foi coletado pela D. Rose Filgueiras durante as consultas regulares nos ambulatórios de hematologia no HFL e do IPPMG bem como em visita às residências dos

pacientes e familiares. Os pacientes e familiares foram então convidados a assinar o TCLE/TALE. Após isso, foram coletadas amostras de *swab* de mucosa jugal e bulbo capilar dos pacientes selecionados e dos familiares para purificação de DNA genômico, para rastreio de mutações nos genes de interesse e armazenamento das células por congelamento em nitrogênio.

O material obtido foi transportado pela Dra. Rose Filgueiras em caixa refrigerada para a Divisão de Genética do CPq- INCAe estocado para a posterior extração de DNA.

Foram processadas as amostras de *swab* bucal e o material proveniente do bulbo capilar, por conter menos material, foi preservado para casos excepcionais em que houvesse pouca obtenção ou perda de material.

5.7. COLETA DE MATERIAL PARA EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO:

Técnica de isolamento de material genômico a partir de *swab* de mucosa jugal.

Foi realizado o protocolo para extração de DNA a partir de amostras de *swab* bucal e bulbo capilar utilizando o kit *ReliaPrepTM gDNA Tissue Miniprep System* – Promega, seguindo as indicações do fabricante.

A seguir são descritas as etapas da coleta dos materiais biológicos:

- 1) O *swab* bucal foi friccionado na mucosa jugal 10 vezes e a ponta foi colocada dentro de um tubo Falcon contendo 2 ml de PBS e agitado levemente para soltar as células coletadas. Esse processo foi repetido em três locais diferentes da mucosa jugal. Esse líquido foi distribuído em 4 microtubos eppendorf de 1,5 ml com 500 µL cada.
- 2) Foram extraídos 4 fios de cabelo com o bulbo e armazenados em microtubos eppendorf de 1,5 ml contendo 1,5 ml de PBS.
- 3) Os microtubos foram preservados em freezer a -20° C. 4). Os microtubos foram transportados para a Divisão de Genética do CPq em caixas de transporte de material biológico à temperatura de -40° C. 5) Na Divisão de Genética os microtubos foram mantidos a -80° C para a preservação de longo prazo.

A seguir são descritas as etapas do protocolo de isolamento:

- 1) Retirou-se o tubo com 500µl do freezer a -80°C que foi descongelado no gelo. Foi colocada a extremidade do *swab* bucal dentro de um tubo de microcentrífuga de 1,5 ml. Adicionou-se 400µl de PBS.
- 2) Foi adicionado 20µl de solução *Proteinase K* e vortexado rapidamente.
- 3) Adicionou-se 400 µl de *Cell Lysis Buffer* (CLD) e vortexado por 10 segundos.
- 4) Incubou-se a 56° C em banho maria por 30 minutos. 5) Retirou-se do banho maria e adicionou-se 500 µl de *Binding Buffer* (BBA) e vortexado por 10 segundos.
- 6) Colocou-se uma coluna *ReliaPrep*TM em um tubo coletor para cada amostra.
- 7) Adicionou-se o líquido da amostra na coluna. Centrifugou-se em microcentrífuga por um minuto em velocidade máxima.
- 8) Colocou-se a coluna em um tubo coletor novo. Adicionou-se 500 µl de *Wash Solution* (CWS) à coluna e centrifugou-se na velocidade máxima por 2 minutos. Caso a amostra ainda estivesse visível no topo da membrana a coluna seria centrifugada mais um minuto.
- 9) Colocou-se a coluna em um tubo novo. O passo 8 foi repetido duas vezes para um total de 3 lavagens.
- 10) A coluna foi colocada num tubo de microcentrífuga de 1,5 ml. Adicionou-se 100 µl de *Nuclease Free Water* e o tubo foi centrifugado por um minuto a velocidade máxima.
- 11) Descartou-se a coluna e o DNA genômico eluído foi armazenado a -20° C.

O DNA foi quantificado no espectrofotômetro *Nanodrop*. O DNA foi armazenado a -20 C° até seu uso. Os genes selecionados para análise foram: *RUNX1* e *GATA2*.

Técnica de Reação em Cadeia Polimerase

Para a realização deste projeto, foram utilizadas 23 amostras, coletadas com o consentimento dos pacientes previamente selecionados.

Todas as etapas foram realizadas seguindo os protocolos de ética e biossegurança, de acordo com as diretrizes de Boas Práticas Clínicas, mantendo as identidades sob sigilo. As amostras de DNA sequenciadas e analisadas foram previamente isoladas de material coletado via swabs orofaríngeos *ReliaPrep*TM *gDNA Tissue Miniprep System* – Promega avaliadas quanto sua pureza, concentração e integridade utilizando espectrofotômetro NanoDrop® 1.000

Spectrophotometer (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) e através de eletroforese em gel de agarose 0,8% em tampão NaOH/Ácido Bórico 1x.

Todas as amostras foram armazenadas sob refrigeração (-20°C) e foram disponibilizadas para sequenciamento.

Reação em cadeia da polimerase (PCR), sequenciamento e identificação de variantes:

Regiões codificantes dos genes *GATA2* e *RUNX1* foram selecionadas para amplificação por PCR, sequenciamento convencional (método de Sanger) e, subsequente análise e busca por variações em regiões codificantes. As reações foram realizadas nos termocicladores ProFlex 3x32-well PCR system (Applied Biosystems) e Veriti 96 Well (Applied Biosystems) e ocorrem em 35 ciclos.

Para os genes *GATA2* e *RUNX1*, os iniciadores utilizados estavam previamente descritos na literatura (Figura: 1, 2) seguindo diferentes perfis padronizados conforme a demanda de cada região alvo (Quadro: 2).

O sucesso da PCR foi observado através de eletroforese em gel de agarose 1,5% e os amplicons, purificados (Illustra GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit GE-Healthcare) e submetidos ao sequenciamento na plataforma ABI 3130xl utilizando os mesmos iniciadores e o conjunto de reagentes BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems). Os dados obtidos pós sequenciamento foram analisados e editados utilizando o programa ChromasPro. Para comparação e busca de variantes, as sequências obtidas foram alinhadas no programa MEGA e comparadas com referências genômicas NG_012022.1; NG_029334.1; NG_011402.2 dos genes *GATA2* e *RUNX1*, respectivamente.

Para interpretação dos resultados obtidos, utilizamos a busca das mutações encontradas em dois repositórios diferentes, as plataformas ABRaOM e DBSNP. A plataforma ABRaOM (Arquivo Brasileiro Online de Mutações) consiste no repositório de variantes genéticas da população idosa brasileira da cidade de São Paulo. Essas variantes são obtidas por Whole Genome Sequencing.

Já a plataforma DBSNP (*Single Nucleotide Polymorphism database*) é o integrador de submissões de diferentes fontes de variantes do *National Center for Biotechnology Information*, GenBank, PubMed, Locuslink e do Projeto Genoma Humano (SHERRY, WARD, *et al.*, 2001).

Classificação de variantes

O *American College of medical Genetics and Genomics* (ACMG) e *Association for Molecular Pathology* (AMP) publicaram um guia para interpretação de variantes, onde recomendam um sistema de 5 níveis de classificações para variantes identificadas em genes que causam distúrbios mendelianos.

Dessa forma, as variantes encontradas foram classificadas, segundo o ClinVar, entre:

- Benignas: variantes que não contribuem para o desenvolvimento de doenças.
- Potencialmente benignas: variantes que não possuem evidências científicas atuais insuficientes para serem categorizadas de forma conclusiva que sejam benignas, porém sem grande expectativa de que tenham um efeito significativo para causar uma doença.,
- Patogênicas: variantes que contribuem diretamente para o desenvolvimento de doenças.
- Potencialmente patogênicas: variantes que tem mais que 90% de patogenicidade, ou seja, cause um distúrbio patogênico. Normalmente provocam perda de função da proteína sintetizada (nonsense, frameshift, sítios de splicing).
- Variante de significado incerto (VUS – *variant uncertain significance*): variantes que ainda não possuem evidências científicas suficientes para apoiar uma classificação mais definitiva, podendo ser variantes raras na população, que causam alguma alteração na proteína.

Quadro 2 – Iniciadores para amplificação das regiões alvo dos genes *GATA2* e *RUNX1*.

Gene	Éxon		Iniciador
<i>GATA2</i> ^{**}	2	F (senso)	5'-GCC TCA CTC CCC CTT CCT-3'
		R (antissenso)	5'-GCC TGG GTT CTC ATC ACC A-3'
	3	F (senso)	5'-CCA CCC TGA TCC TCT CTC TCT TT-3'
		R (antissenso)	5'-TCA CAG CTC CCC ACC ACA A-3'
	4	F (senso)	5'-GAA CTT GCC GGT TAA GCA GG-3'
		R (antissenso)	5'-GCA AAG CGT CTG CAT TTG AA-3'
	5	F (senso)	5'-TTT GAT TCC CAT GTG AGA TTT AGC-3'
		R (antissenso)	5'-CCT CTT GCC TGG CAG CAC-3'
	6	F (senso)	5'-TGT TGC TGG AGG AAG GAA CTG-3'
		R (antissenso)	5'-TGT CGG CCT TCG GGA AAT-3'
<i>RUNX1</i> ^{**}	2	F (senso)	5'- AAC CAC GTG CAT AAG GAA CAG - 3'
		R (antissenso)	5'- CAT TTC ATT ACA GGC AAA GCT G - 3'
	3	F (senso)	5'- AAC CAC GTG CAT AAG GAA CAG - 3'
		R (antissenso)	5'- GCA GAA ACA GCC TTA ATT ATT TGG - 3'
	4	F (senso)	5'- TGG TAG GAG CTG TTT GCA GG - 3'
		R (antissenso)	5'- CAT CCC AAG CTA GGA AGA CC - 3'
	5	F (senso)	5'- TTG AAA TGT GGG TTT GTT GC - 3'
		R (antissenso)	5'- TCA CTA CAC AAA TGC CCT AAA AG - 3'
	6	F (senso)	5'- AGA TAT GTT CAG GCC ACC AAC - 3'
		R (antissenso)	5'- TCT GAG ACA TGG TCC CTG AG - 3'
	7	F (senso)	5'- AAG AAA AGC CCC AGT TTT AGG - 3'
		R (antissenso)	5'- AGT TGG TCT GGG AAG GTG TG - 3'
	8	F (senso)	5'- GAA CAA GGG CCA CTC ATT TC - 3'
		R (antissenso)	5'- TGG ACC TTC CAC CCC AG - 3'
	9	F (senso)	5'- CTC CGC AAC CTC CTA CTC AC - 3'
		R (antissenso)	5'- CCC ACC ATG GAG AAC TGG TA - 3'

Fonte: Adaptado de PASQUET, BELLANNÉ-CHANTELOT, *et al.*, 2013; GREIF, KONSTANDIN, *et al.*, 2012

Quadro 3 – Polimerases utilizadas para PCR e condições para amplificação das regiões alvo dos genes *GATA2* e *RUNX1*.

Gene	Éxon	Kit PCR	Ciclagem
<i>GATA2</i> [*]	2	GT HS G2 (1)	94°C - 2min + 35x(94°C - 30seg + 62°C - 30seg + 72°C - 1min) + 72°C - 5min + 4°C infinito
	3	TP (2)	94°C - 2min + 35x(94°C - 30seg + 68°C - 30seg + 72°C - 1min) + 72°C - 5min + 4°C infinito
	4	TP (2)	94°C - 2min + 35x(94°C - 30seg + 64°C - 30seg + 72°C - 1min) + 72°C - 5min + 4°C infinito
	5	TP HF (3)	95°C - 3min + 35x(95°C - 30seg + X°C - 40seg + 68°C - 1min10seg) + 68°C - 5min + 4°C infinito
	6	TP (2)	94°C - 2min + 35x(94°C - 30seg + 68°C - 30seg + 72°C - 1min) + 72°C - 5min + 4°C infinito
<i>RUNX1</i> ^{**}	2	TP (2)	94°C - 2min + 35x(94°C - 30seg + 62°C - 30seg + 72°C - 1min) + 72°C - 5min + 4°C infinito
	3	TP (2)	94°C - 2min + 35x(94°C - 30seg + 64°C - 30seg + 72°C - 1min) + 72°C - 5min + 4°C infinito
	4	GT HS G2 (1)	94°C - 2min + 35x(94°C - 30seg + 60°C - 30seg + 72°C - 1min) + 72°C - 5min + 4°C infinito
	5	P HF GC (4)	98°C - 30seg + 35x(98°C - 5seg + 52°C - 20seg + 72°C - 30seg) + 72°C - 2min + 4°C infinito
	6	TP (2)	94°C - 2min + 35x(94°C - 30seg + 64°C - 30seg + 72°C - 1min) + 72°C - 5min + 4°C infinito
	7	TP (2)	94°C - 2min + 35x(94°C - 30seg + 64°C - 30seg + 72°C - 1min) + 72°C - 5min + 4°C infinito
	8	GT HS G2 (1)	94°C - 2min + 35x(94°C - 30seg + 60°C - 30seg + 72°C - 1min) + 72°C - 5min + 4°C infinito
	9	TP (2)	94°C - 2min + 35x(94°C - 30seg + 62°C - 30seg + 72°C - 1min) + 72°C - 5min + 4°C infinito

1 - GoTaq® G2 Polymerase (Promega); 2 - Platinum_Taq DNA Polimerase (Invitrogen); 3 - Platinum_Taq DNA_Polymerase_High Fidelity (Invitrogen); 4 - Phusion High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer (Thermo Scientific). Fonte: Adaptado de PASQUET, BELLANNÉ-CHANTELOT, *et al.*, 2013; GREIF, KONSTANDIN, *et al.*, 2012

Quadro: 4 – Descrição das condições de amplificação do gene *GATA2*

<i>GATA2</i>							
Exon 2		Exon 3		Exon 4		Exon 6	
H2O	16,1 µL	H2O	17,4 µL	H2O	18,2 µL	H2O	18,8 µL
Tampão 5x	5,0 µL	Tampão 10x	2,5 µL	Tampão 10x	2,5 µL	Tampão 10x	2,5 µL
MgCl2 25mM	1,6 µL	MgCl2 50mM	0,8 µL	MgCl2 50mM	1,0 µL	MgCl2 50mM	0,4 µL
Primer F 20pM	0,5 µL	Primer F 20pM	0,5 µL	Primer F 20pM	0,5 µL	Primer F 20pM	0,5 µL
Primer R 20pM	0,5 µL	Primer R 20pM	0,5 µL	Primer R 20pM	0,5 µL	Primer R 20pM	0,5 µL
DNTP 25mM	0,15 µL	DNTP 25mM	0,15 µL	DNTP 25mM	0,15 µL	DNTP 25mM	0,15 µL
Taq_G2 (5u/µl)	0,15 µL	Taq_Plat (5u/µl)	0,15 µL	Taq_Plat (5u/µl)	0,15 µL	Taq_Plat (5u/µl)	0,15 µL
Amostra	1,00 µL	Amostra	3,0 µL	Amostra	2,0 µL	Amostra	2,0 µL

Quadro 5 – Descrição das condições de amplificação do gene *RUNX1*.

<i>RUNX1</i>									
Exon 3		Exon 4		Exon 5		Exon 6		Exon 7	
H2O	19,80 µL	H2O	16,55 µL	H2O	10,15 µL	H2O	19,70 µL	H2O	19,15 µL
Tampão 10x	2,50 µL	Tampão 5x	5,00 µL	2x MasterMix GC	15,00 µL	Tampão 10x	2,50 µL	Tampão 10x	2,50 µL
MgCl2 50mM	0,40 µL	MgCl2 25mM	1,10 µL			MgCl2 50mM	0,55 µL	MgCl2 50mM	0,55 µL
Primer F 20pM	0,50 µL	Primer F 20pM	0,50 µL	Primer F 20pM	0,45 µL	Primer F 20pM	0,50 µL	Primer F 20pM	0,50 µL
Primer R 20pM	0,50 µL	Primer R 20pM	0,50 µL	Primer R 20pM	0,45 µL	Primer R 20pM	0,50 µL	Primer R 20pM	0,50 µL
DNTP 25mM	0,15 µL	DNTP 25mM	0,20 µL			DNTP 25mM	0,15 µL	DNTP 25mM	0,15 µL
Taq_Plat (5u/µl)	0,15 µL	Taq_G2 (5u/µl)	0,15 µL	DMSO 100%	2,40 µL	Taq_Plat (5u/µl)	0,15 µL	Taq_Plat (5u/µl)	0,15 µL
Amostra	1,00 µL	Amostra	1,00 µL	Amostra	2,00 µL	Amostra	1,00 µL	Amostra	1,00 µL

Armazenamento de material humano:

O armazenamento de material biológico humano em biorrepositório e os demais aspectos relativos à formação de biorrepositório de material biológico humano ao longo da execução da pesquisa seguiram a Resolução CNS 441/11 e Portaria MS 2201/11.

Questões éticas: O projeto está de acordo com a Resolução CNS 466/2012.

O sigilo dos pacientes e familiares envolvidos foi garantido através de codificação em banco de dados, bem como no presente documento. A coleta de swab de mucosa jugal não acarretou dano a nenhum sujeito de pesquisa envolvido. Todos os envolvidos assinaram termo de consentimento e/ou assentimento previamente aprovado pelo comite de ética em pesquisa do IPPMG, sob o número: 3707054.

Este projeto foi aprovado sob os números CAAE: 01039118.0.0000.5264 e 01039118.0.3001.5274 no INCA (Anexo 1 e 2).

6. RESULTADOS

6.1. CARACTERIZAÇÃO DOS PROBANDOS INCLUÍDOS:

Foram selecionados 23 probandos de 22 famílias não relacionadas que atendiam aos critérios de neoplasia mieloide com predisposição germinativa. Como uma família compreendia um casal gemelar univitelino disso resultou um total de 23 sujeitos de pesquisa. A apresentação clínica, laboratorial e os diagnósticos dos probandos encontra-se detalhada na Tabela 4.

Houve discreta predominância de probandos de sexo feminino compreendendo 56,5% (13/23). A idade de início dos sintomas variou de 4 meses de vida a 83 anos, com uma idade mediana de 14 anos. Já a mediana da idade de diagnóstico foi de 16 anos (variando de 4 meses a 83 anos).

Com relação aos diagnósticos e síndromes, houve 52% (12/23) de probandos portadores de SMD, 8,5% (2/23) de linfomas sendo 1 caso de Linfoma de Hodgkin (LH) e um de grandes células B (LNH-DGCB), 8,5% (2/23) de LMA, 8,5% (2/23) de trombocitopenias isoladas. O restante dos casos correspondia: uma PTI, uma doença do *pool* plaquetário, um mieloma múltiplo, uma anemia refratária (AR) e uma síndrome hipereosinofílica.

Havia perfil hemorrágico em 52% (12/23) dos probandos e (48%) 11/23 não apresentavam manifestações hemorrágicas. Tal frequência se justifica porque 56,5% (13/23) probandos tinham plaquetopenia. A contagem plaquetária mediana foi de 106000/uL, variando de 19800/uL a 412000/uL.

Em relação às características do hemograma 34,8% (8/23) dos probandos apresentaram anemia, sendo que apenas dois tinham anemia grave com hemoglobina menor que 7g/dL. A hemoglobina mediana encontrada foi de 12,5 g/dL variando de 6,5 a 15 g/dL. A maioria dos casos apresentava hemácias normocíticas com VCM médio 85/fL, sendo que apenas 1 paciente apresentava macrocitose (VCM 109 fL). A mediana de leucócitos foi de 6000 mm³. A mediana de segmentados foi de 1019 mm³.

Avaliamos as características morfológicas dos achados da biópsia de medula óssea e se observamos que a celularidade da medula óssea revelou: medula hipocelular em 8 casos e a celularidade normal em 3 casos (Tabela: 5) A celularidade média da medula óssea foi de 59% (30-80%).

O setor megacariocítico foi considerado displásico em 5 probandos (P3-III9, P13-III1, P18-V1, P20-IV1, P23-IV2), hiperplásico em 1 (P7-V1) e hipoplásico em 3 casos (P1-II6, P5-III1, P1-III2).

O setor granulocítico foi descrito como displásico em 4 probandos (P3-III9, P7-V1, P18-V1, P23-IV2), hipoplásico em 2 (P5-III1, P12-III2) e normoblástico em 2 (P1-II6, P20-IV1).

A morfologia do setor eritróide revelou-se displásica em 3 probandos (P3-III9, P7-V1, P18-V1), hipoplásico em 1 (P12-III2), hiperplásico em 2 (P5-III1, P23-IV2) e normoblástico em 3 (P20-IV1, P1-II6, P13-III1).

Nenhum dos nove casos em que foi realizada a coloração para reticulina apresentavam fibrose na medula óssea. Em 2 dos probandos (P7-V1, P14-III1) a biópsia de medula foi inconclusiva e em outros 5 probandos não foram realizadas por decisão da equipe médica.

A citogenética apresentou padrão feminino normal 46,XX em 3 probandos e padrão masculino normal 46,XY em 6 probandos (Tabela:6).

Um probando (P7-V1) apresentou cariótipo 46,XX, SRY ausente e fenótipo masculino.

Outro probando (P3-III) apresentou o cariótipo 46,XX, del (17) (p12)[5]/46,XX[23], com deleção do gene *TP53* em 18% das metáfases analisadas pelo FISH.

Um probando não apresentou metáfase sendo que o FISH foi negativo para o cromossomo 7. Dois probandos (P6-III6, P9-III10) não apresentaram metáfase para a análise.

Com relação à evolução clínica, 91% (21/23) dos pacientes permaneceram vivos e houve 2 óbitos durante o período de observação. Um paciente foi submetido a TMO alogênico aparentado e permanece vivo.

Tabela 2 – Características clínicas e laboratoriais (mediana, limite inferior e superior) dos probandos.

Características	N=23
Sexo feminino	13 (56,5%)
Idade (mediana, variação)	14 (4 meses a 83 anos)
Diagnósticos	
SMD	12 (52%)
LMA	2 (8,5%)
LNH	1 (4,3%)
LH	1 (4,3%)
Doença do pool plaquetário	1 (4,3%)
Anemia refratária	1 (4,3%)
Mieloma Múltiplo	1 (4,3%)
PLaquetopenia	2 (8,5%)
PTI	1 (4,3%)
Síndrome Hipereosinofílica	1 (4,3%)
Hemoglobina g/dL	12,5 (6,5-15)
Leucócitos x 10⁹/L	6000 (1590-26100)
Neutrófilos x 10⁹/L	2188
Plaquetas x 10⁹/L	106000 (19800-412000)
VCM	85fL

Nota: LMA: leucemia mieloide aguda, LH: linfoma de Hodgkin, LNH: linfoma não Hodgkin, PTI: púrpura trombocitopênica idiopática, VCM: volume corpuscular médio, SMD: síndrome mielodisplásica.

Tabela 3 – Características clínicas, diagnósticos hematológicos, diagnósticos sindrômicos e características laboratoriais dos probandos:

Pedigree	Sexo	Diagnóstico	Sangramento	Status	Idade início sintomas /anos	Idade diagnóstico /anos	Htc %	Leuco x10 ⁹ /L	Seg 10 ⁹ /L	Vcm fL	PLQ x10 ⁹ /L	BMO	Celularidade BMO
1	F	Smd	Sim	Vivo	34	35	43,6	6000	2880	73,4	65000	Smd	Hipocelular
2	F	Síndrome hipereosinofílica	Não	Vivo	31	42	41,9	9000	3000	84,3	279000	NR	
3	F	Smd	Sim	Vivo	1	18	42	2970	371	98,4	253000	Smd	Hipocelular
4	M	Smd	Não	Vivo	1 ano e 8 meses	3 anos e 8 meses	41,1	8100	161	78,5	337000	Smd	
5	M	Smd	Sim	Vivo	2	4	32,3	4900	640		83000	Smd	Normal
6	M	Linfoma Hodgkin	Não	Vivo	13	14	40,6	5800	1000		412000	NR	
7	M	Pti	Sim	Vivo	4	0,25	28,1	26100	3393	75	29000	Inconclusivo	Normal
8	M	Smd	Não	Vivo	1 ano e 8 meses	3 anos e 8 meses	38,8	8900	801	72,5	364000	Smd	
10	M	LMA	Sim	Tmo	52	53	26,2	4430	974,6	86	19800	LMA	
11	F	Doença do pool plaquetário	Sim	Vivo	14	16	38,7	11540	1008	77	315000	NR	
12	M	Smd	Não	Vivo	16	18	41,7	5600	3245	97,4	82000	Smd	Hipocelular
13	M	Smd	Sim	Vivo	14	15	46,8	4800	2554		140000	Smd	Hipocelular
14	M	Plaquetopenia	Não	Vivo	12	4	45	5250	3130		103000	Inconclusivo	
15	F	Plaquetopenia	Sim	Vivo	59	59	34,1	1590	1019	96,7	42000	NR	
16	F	Mieloma Múltiplo	Não	Óbito	64	65	20,3	14800	11248		83000	Mieloma Múltiplo	
17	F	Smd	Sim	Vivo	7	15	42	9600	6048	88	32000	Smd	Hipocelular
18	F	Smd	Sim	Vivo	4	2,67	28	2400	192	99	211000	Smd	Hipocelular

Tabela 3 – Continuação

19	F	LNH DGCB	Não	Vivo	64	64	36	6400	2291,2		213000	normal	Normoblástica
20	F	Smd	Não	Vivo	5	10	37,6	8400	5460		103000	Smd	Hipocelular
21	F	LMA M3	Sim	Vivo	20	21	31,9	1850	1	86	235000	LMA-M3	
22	F	Anemia refratária	Não	Óbito	83	83	21	2560	2188	109	186000	NR	
23	F	Smd	Sim	Vivo	8	16	43,3	14800	8800	80,8	38000	Smd	Hipocelular

BMO: biópsia de medula óssea, HTC: hematócrito, Leuco: leucócitos, LH: linfoma de Hodgkin, LMA: leucemia mieloide aguda, LMA M3: leucemia mieloide aguda M3, LNH DGCB: linfoma não Hodgkin difuso de grandes células B, PLQ: plaquetas, PTI: púrpura trombocitopênica idiopática, Seg: segmentados, SMD: síndrome mielodisplásica, VCM: volume corpuscular médio.

Tabela 4 – Características clínicas, morfologia da medula óssea e citogenética dos probandos com critérios de DHF.

Diagnóstico hematológico/ Diagnóstico Sindrômico		BMO	Celularidade/ %	Megacariócito	Granulócito	Eritróide	Fibrose	Citogenética
1	Smd	Smd	Hipocelular /60%	Hipoplástico	Normoblástico	Normoblástico	Sem fibrose	46,XX
2	Síndrom e Hipereos inofílica	NR						
3	Smd	Smd	Hipocelular/30 %	Displástico	Displástico	Displástico	Sem fibrose	46,XX,del(17)(p12)[5]/46,XX[23] delecao do gene TP53 em 18%
4	Smd	Smd						46,XY
5	Smd	Smd	Normal/80%	Hipoplástico	Hipoplástico	Hiperplástico	Sem fibrose	46,XY
6	Linfoma de Hodgkin	NR						Sem metáfase
7	Pti	Inconclusivo	Normal	Hiperplástico	Displástico	Displástico	Sem fibrose	46,XX sem SRY
8	Smd	Smd						46,XY
9	Smd	Smd						Sem metáfase

Tabela 4 – Continuação

10	LMA	LMA					Sem fibrose	46,XY
11	Doença do Pool Plaquetár io	NR						
12	Smd	Smd	Hipocelular/40 %	Hipoplásico	Hipoplásico	Hipoplásic o	Sem fibrose	46,XY
13	Smd	Smd	Hipocelular	Displásico		Normoblás tico	Sem fibrose	46,XY
14	Plaqueto penia	Inconclusivo						
15	Plaqueto penia	NR						
16	Mieloma Múltiplo	Mieloma Múltiplo						
17	Smd	Smd	Hipocelular					
18	Smd	Smd	Hipocelular /50%	Displásico	Displásico	Displásico	Sem fibrose	46,XX
19	LNH DGCB	Normal	Normoblástica/6 0%					
20	Smd	Smd	Hipocelular/60 %	Displásico	Normoblástico	Normoblás tico	Sem fibrose	Sem metáfase FISH neg para crom 7
21	LMA- M3	LMA-M3						

Tabela 4 – Continuação[illegible]

BMO: biópsia de medula óssea, SMD: síndrome mielodisplásica; LMA: leucemia mieloide aguda, LMA M3: leucemia mieloide aguda M3, LNH DGCB: linfoma não Hodgkin difuso de grandes células B, LH: linfoma de Hodgkin, NR: não realizada, PTI: púrpura trombocitopênica idiopática.

Tabela 5 – Características clínicas e variantes identificadas nos probandos com critério para DHF.

Probando	Sexo	Diagnóstico	Variante <i>GATA2</i> éxon 2 sinônima / benigna	Variante <i>Gata</i> 2 éxon 3 não sinonima / benigna	Variante <i>RUNX1</i> éxon 4 sinônima/ benigna/provavelmente benigna	Variante <i>RUNX1</i> éxon 9 não sinônima / VUS
1	F	Smd	GATA2 éxon 2 NM_032638.5(<i>GATA2</i>):c.15C>G (p.Pro5=)	Gata 2 éxon 3 NM_032638.5(<i>GA</i> <i>TA2</i>):c.490G>A (p.Ala164Thr)		
2	F	Síndrome hipereosinofí lica	GATA2 éxon 2 NM_032638.5(<i>GATA2</i>):c.15C>G (p.Pro5=)	Gata 2 éxon 3 NM_032638.5(<i>GA</i> <i>TA2</i>):c.490G>A (p.Ala164Thr)		
3	F	Smd	GATA2 éxon 2 NM_032638.5(<i>GATA2</i>):c.15C>G (p.Pro5=)	Gata 2 éxon 3 NM_032638.5(<i>GA</i> <i>TA2</i>):c.490G>A (p.Ala164Thr)		

Tabela 5 – Continuação

4	M	Smd	GATA2 éxon 2 NM_032638.5(GATA2):c.1 5C>G (p.Pro5=)	Gata 2 éxon 3 NM_032638.5(GA TA2):c.490G>A (p.Ala164Thr)	
5	M	Smd	GATA2 éxon 2 NM_032638.5(GATA2):c.1 5C>G (p.Pro5=)		
6	M	Linfoma de Hodgkin	GATA2 éxon 2 NM_032638.5(GATA2):c.1 5C>G (p.Pro5=)	Gata 2 éxon 3 NM_032638.5(GA TA2):c.490G>A (p.Ala164Thr)	
7	M	Pti		Gata 2 éxon 3 NM_032638.5(GA TA2):c.490G>A (p.Ala164Thr)	
8	M	Smd	GATA2 éxon 2 NM_032638.5(GATA2):c.1 5C>G (p.Pro5=)	Gata 2 éxon 3 NM_032638.5(GA TA2):c.490G>A (p.Ala164Thr)	
9	M	Smd	GATA2 éxon 2 NM_032638.5(GATA2):c.1 5C>G (p.Pro5=)	Gata 2 éxon 3 NM_032638.5(GA TA2):c.490G>A (p.Ala164Thr)	RUNX1 éxon 9 NM_001754.5(RUNX1):c.1093G>A (p.Gly365Ser)

Tabela 5 – Continuação

10	M	LMA	GATA2 éxon 2 NM_032638.5(GATA2):c.1 5C>G (p.Pro5=)	Gata 2 éxon 3 NM_032638.5(GA TA2):c.490G>A (p.Ala164Thr)	RUNX1 éxon 4 NM_001754.5(RUNX1):c.303G>T (p.Val101=)
11	F	Doença do Pool Plaquetário	GATA2 éxon 2 NM_032638.5(GATA2):c.1 5C>G (p.Pro5=)		
12	M	Smd	GATA2 éxon 2 NM_032638.5(GATA2):c.1 5C>G (p.Pro5=)		
13	M	Smd	GATA2 éxon 2 NM_032638.5(GATA2):c.1 5C>G (p.Pro5=)		
14	M	Plaquetopeni a	-	-	-
15	F	Plaquetopeni a	GATA2 éxon 2 NM_032638.5(GATA2):c.1 5C>G (p.Pro5=)		
16	F	Mieloma Múltiplo	GATA2 éxon 2 NM_032638.5(GATA2):c.1 5C>G (p.Pro5=)		

Tabela 5 – Continuação

17	F	Smd	GATA2 éxon 2			
			NM_032638.5(GATA2):c.1 5C>G (p.Pro5=)			
18	F	Smd	-	-	-	-
19	F	LNH DGCB	GATA2 éxon 2			
			NM_032638.5(GATA2):c.1 5C>G (p.Pro5=)			
20	F	Smd	GATA2 éxon 2			
			NM_032638.5(GATA2):c.1 5C>G (p.Pro5=)			
21	F	LMA-M3	GATA2 éxon 2			
			NM_032638.5(GATA2):c.1 5C>G (p.Pro5=)			
22	F	Anemia Refratária	GATA2 éxon 2			
			NM_032638.5(GATA2):c.1 5C>G (p.Pro5=)			
23	F	Smd	GATA2 éxon 2			
			NM_032638.5(GATA2):c.1 5C>G (p.Pro5=)			

6.1.1. Grupo A

P1, feminina, 34 anos, parda, foi encaminhada à hematologia para investigação de plaquetopenia. Tinha história de epistaxe volumosa desde os oito anos de idade e metrorragia. Foi verificada plaquetopenia aos 25 anos por ocasião da primeira gravidez.

A paciente encontrava-se em uso regular de ácido tranexâmico e anticoncepcional injetável trimestral sem pausa, prescrito em outro serviço, para controle de metrorragia e síndrome anêmica.

O exame físico não apresentava alterações. O hemograma do diagnóstico apresentava: HGB: 14,3 g/dL, HTC: 43,6%, VCM: 73,4 fL, HGM 24,1 g/dL, LEUCO: 6000 mm³ SEG: 48%, LINFO: 32%, PLQ: 65000 mm³.

Biópsia de medula óssea apresentava: (i) 6 espaços trabeculares, amostra não subcortical, (ii) celularidade geral 20%, amostra diminuída para a idade cronológica, distribuição irregular do tecido hematopoiético (iii) série granulocítica com maturação preservada, diminuída, sem ALIP (iv) série eritrocítica muito hipoplásica, celularidade diminuída (v) série megacariocítica muito diminuído, hipocelular, presença de micromegacariócitos (vi) presença de rede de reticulina com várias interseções especialmente perivasculares. Quadro compatível com SMD.

A citogenética com padrão feminino normal 46,XX [20].

A análise das variantes verificou a presença de variante no gene *GATA2* éxon2 NM_032638.5(*GATA2*): c.15C>G (p. Pro5=) sinônima e benigna e no gene *GATA2* éxon 3 NM_032638.5(*GATA2*): c.490G>A (p. Ala164Thr) não sinônima e benigna. Pelo banco de dados do DBSNP a frequência global do alelo variante é de 0,6524 e a frequência do alelo variante no banco de dados ABRaOM é de 0,7165.(Figura: 5 e 6)

A paciente manteve-se em acompanhamento semestral sem intercorrências ou novos episódios de sangramento.

História familiar: (Figura 4)

A mãe apresentava história de plaquetopenia e metrorragia e faleceu de câncer de sítio primário não definido.

O primeiro filho da probanda, dois anos, pardo, foi encaminhado à hematologia para avaliação de plaquetopenia. Ao exame físico apresentava petéquias esparsas e equimoses em membros inferiores.

O mielograma apresentava (i) medula óssea celular e pleiomórfica. (ii) setor eritroide: 20% normoblástico. (iii) setor branco: 57% sequencial normoblástico. Linfócitos: 23% típicos alguns com aparência de hematogônia. (iv) setor megacariocítico: aumentado em diversos estágios de maturação, plaquetogênicos. (v) conclusão: medula óssea normal para a idade, compatível com púrpura trombocitopênica idiopática.

O segundo filho da probanda, masculino, dois meses, meio irmão materno de foi encaminhado à hematologia para investigação de síndrome purpúrica. Ao exame físico não apresenta falange distal do polegar direito. O hemograma do diagnóstico apresentava: HGB: 12,3 g/dL, HTC: 36,5%, LEU: 8900 mm³, SEG: 3600 mm³, PLQ: 67000 mm³.

A biópsia de medula óssea apresentava (i) 90% celularidade, (ii) série megacariocítica com formas pequenas e hipolobuladas, (iii) sugestiva de síndrome mielodisplásica.

A análise citogenética das células da medula óssea mostrou padrão masculino normal 46,XY.

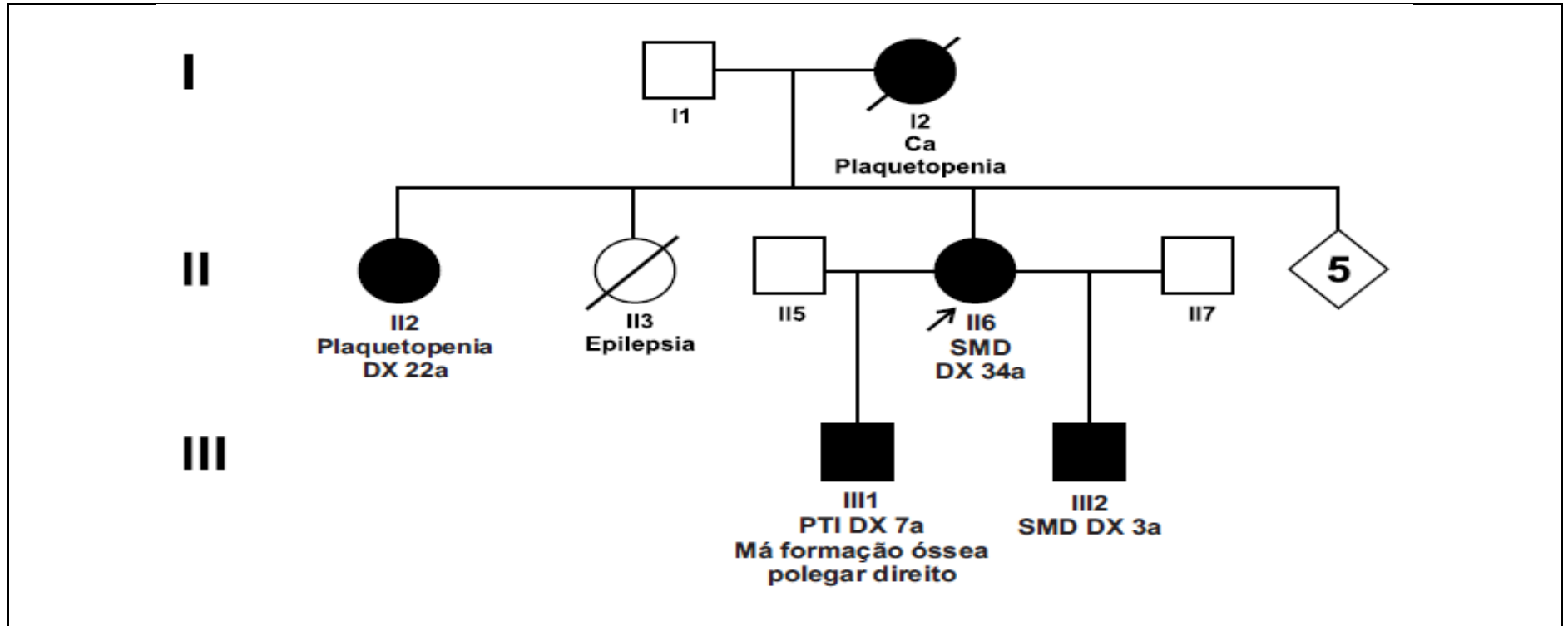
achados da imunofenotipagem eram compatíveis com mielodisplasia.

O paciente foi submetido à otoplastia aos 10 anos sem intercorrências hemorrágicas. Foi mantido sem medicação.

A irmã da probando, feminina, 22 anos foi encaminhada à hematologia para avaliação de sangramento transvaginal durante a primeira gravidez. Relatou que aos 18 anos verificou plaquetopenia em exame de rotina. A paciente tinha história de metrorragia. O hemograma de início de avaliação apresentava: HGB: 13 g/dL, HTC: 41,9%, LEU: 17500 mm³, SEG: 15300 mm³, VCM 82 fl, PLQ: 125000 mm³.

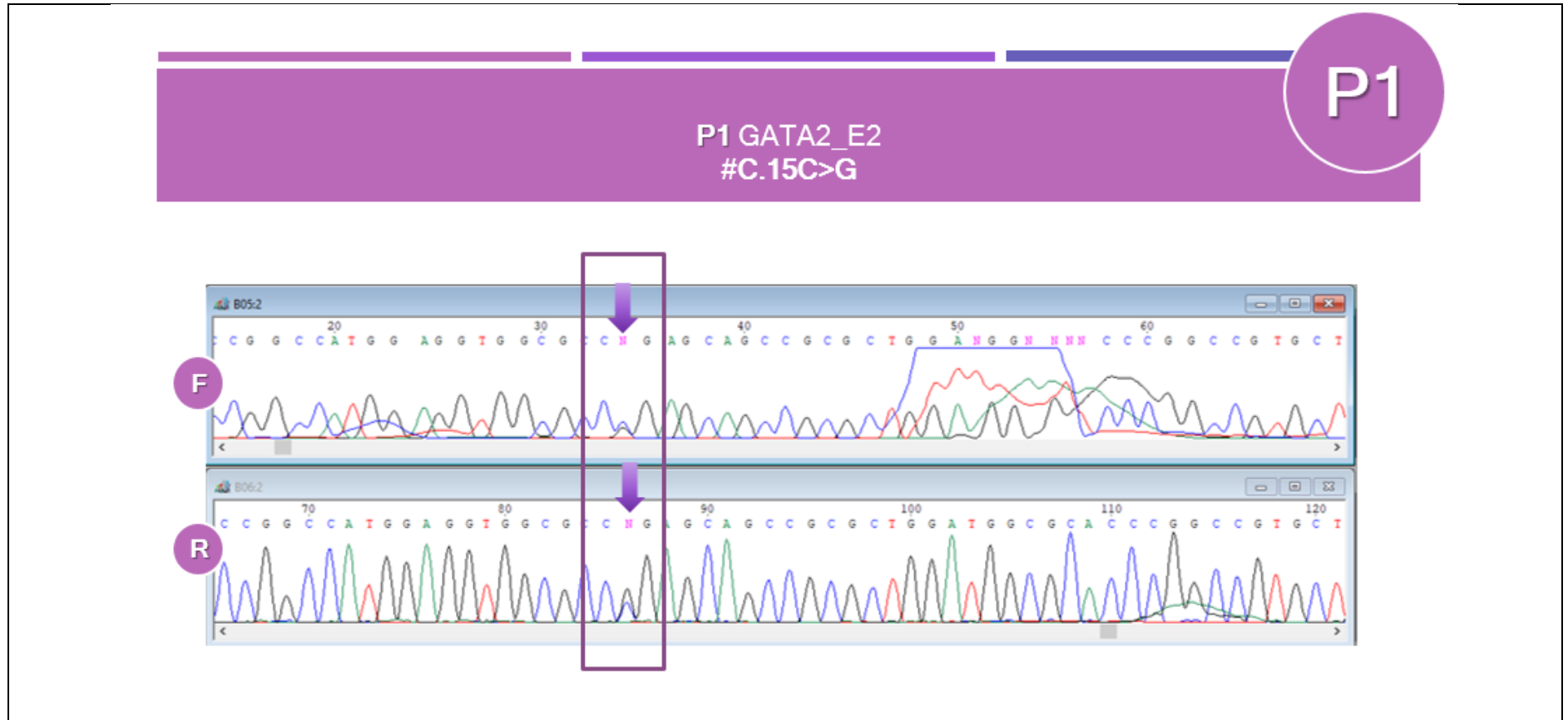
Foi mantida sem medicação pelo hematologista. Não foi realizada prova de agregação plaquetária nos familiares.

Figura 1 – Heredograma da família do probando 1.



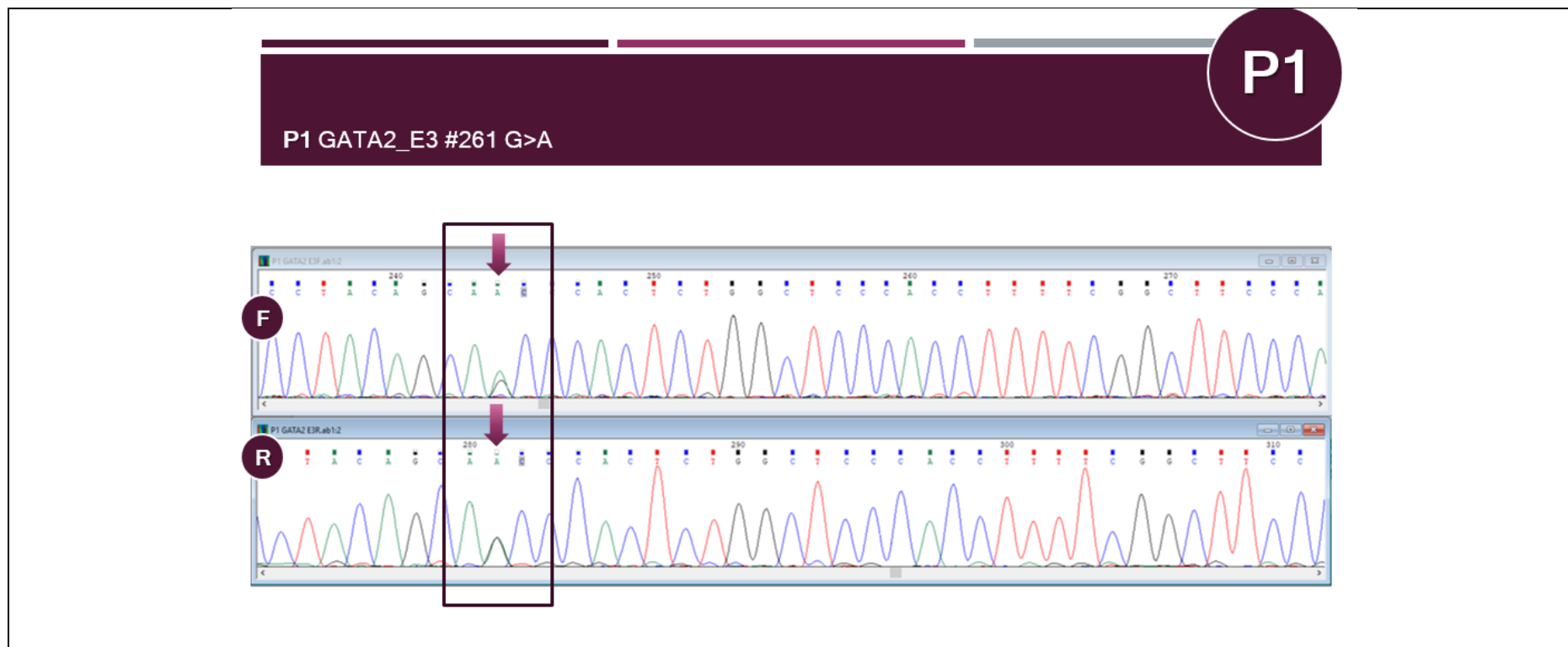
Heredograma da família do probando 1: símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significava indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos.

Figura 2 – Eletroferograma do probando 1.



Eletroferograma evidenciando a Variante no gene GATA2 éxon 2 sinônima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.15C>G (p.Pro5=) no probando 1

Figura 3 – Eletroferograma do probando 1.



Eletroferograma evidenciando a Variante Gata 2 éxon 3 não sinonima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.490G>A (p.Ala164Thr) no probando 1.

P3, feminina, 18 anos, branca encaminhada à hematologia para investigação de neutropenia assintomática, observada desde a primeira infância. Tratava-se de paciente filha de pais consanguíneos (primos de segundo grau).

Ao nascer a triagem para erros inatos do metabolismo observou achados inespecíficos. Os pais negavam alergia medicamentosa, infecção de repetição, hipertensão, diabetes ou crise convulsiva. Engatinhou com um ano e falou aos 13 anos. Usava anticoncepcional oral para controle de intenso fluxo menstrual. Em acompanhamento com o oftalmologista por ser portadora de retinose pigmentar. Não frequentava a escola regular e tinha explicadora domiciliar.

Ao exame físico:

Paciente portadora de microcefalia e atraso de desenvolvimento cognitivo. Paciente cooperativa, muito afetiva, apresentava pequenas verrugas em axila bilateralmente, alteração de mãos e pés pequenos, implantação baixa de cabelo, dentes pequenos e palato ogival.

A ressonância magnética de crânio revelou acentuação da cisterna magna.

A Tomografia de crânio evidenciava sulcos acentuados corticais nos lobos frontais e temporais, cisternas basais amplas, quarto ventrículo alargado, cisterna magna ampla, com efeito expansivo sobre os hemisférios cerebelares, sugerindo cisto aracnóide. O hemograma da admissão revelava neutropenia. O hemograma do início da avaliação apresentava: HTC: 45,6%, VGM 98,4 fL, LEU: 2970 mm³, SEG: 371 mm³, EOS: 18%, MONO: 6.5%, LIN: 2379 mm³, PLQ: 253000 mm³.

Anti-HIV 1e 2: negativo, HGBSAG negativo, Anti-HGBS negativo. Pesquisa para sífilis negativo e sarampo IgM e IgG negativos. A dosagem de B12: 477 pmol /L e Ferro: 8,4 µmol/L.

A biópsia de medula óssea evidenciou (i) 30-40% de celularidade hematopoiética. (ii) série eritróide normoblástica. (iii) série granulocítica predomínio de formas maduras. (iv) Megacariócitos com dismorfias, notando-se micromegacariócitos. (v) Ausência de excesso de blastos. (vi) Imunohistoquímica CD61 evidenciados em micromegacariócitos. Glicoforina evidenciada na série eritróide. CD34 negativo. (vii) Conclusão: quadro compatível com mielodisplasia.

A Citogenética de células de medula óssea mostrou: 46, XX, del (17) (p12) [5] /46, XX [23]. A avaliação através de FISH TP53 confirmou deleção do gene TP53 em 18% das 100 células analisadas.

A imunofenotipagem analisou 100.000 células. Viabilidade estimada 93%. Foram observadas as seguintes populações celulares mielóide: maturação a neutrófilos 62,1%, sendo mieloblastos 0,34%, promielócitos 6,0%, mielócitos 26,0%, metamielócitos 32,5%, neutrófilos 35,1%. Assincronismo maturativo. Maturação a monócitos 4,0% sendo que 1,0% expressam CD16. Série eritróide 5,7%, megacariócitos 9,0%, linfócitos totais 10%. Diferenciação linfóide B não observada, ausência de linfoblastos.

A análise das variantes verificou a presença de variante no gene *GATA2* éxon2 NM_032638.5(*GATA2*): c.15C>G (p. Pro5=) sinônima e benigna e no gene *GATA2* éxon 3 NM_032638.5(*GATA2*): c.490G>A (p. Ala164Thr) não sinônima e benigna. A frequência global do alelo variante pelo banco de dados DBSNP é de 0,6524. No banco de dados ABRaOM a frequência do alelo variante é de 0,7165. (Figura: 8 e 9)

História familiar: (Figura: 7)

A paciente era filha de pais primos de segundo grau.

A mãe aos 32 anos apresentou Sarcoma de Ewing em osso ilíaco. Foi tratada com quimioterapia (ifosfamida e etoposide) e radioterapia.

Dois anos após o tratamento do Sarcoma de Ewing surgiu uma lesão na coxa direita. A biópsia de nódulo de coxa direita evidenciou (i) uma neoplasia de natureza hematológica exibindo expressão de TdT, CD45, CD43 e CD99. (ii) Imunonegatividade para CD3, CD20, CD34, CD15, CD30, desmina, S-100, AE1/AE3, Cam5.2, MUM1, PAX, CD79a, Miogenina, CD56, CD1a, CD117, CD10, CD7, CD2, CD4, CD8 e ALK. (iii) Indicativos de Sarcoma Granulocítico.

O hemograma na readmissão hospitalar apresentou: HTC: 46%, HGB: 14,90 g/dL, VGM: 86,9fL, LEU: 4300/mm³, SEG 66%, PLQ 198000 mm³. A biópsia de medula óssea evidenciou 100% de blastos mielóides e extensa necrose.

A citogenética apresentou padrão feminino normal 46,XX [21].

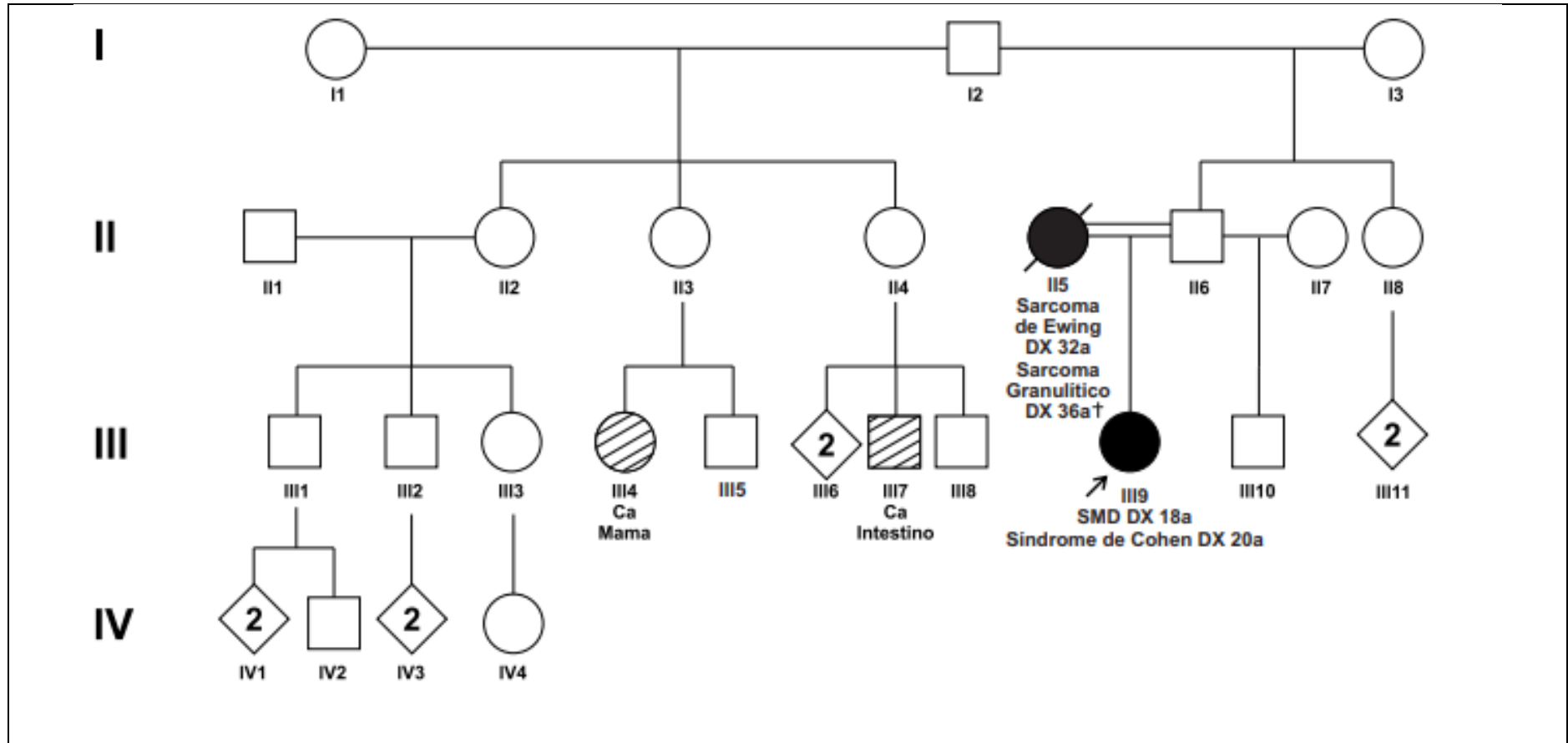
A investigação com marcadores moleculares evidenciou (i) AML-ETO [t (8,21)] negativo, (ii) Inversão 16 CBF-MYh1: negativo e (iii) t (15,17) negativo.

A mãe da paciente apresentou um segundo sarcoma granulocítico em fíbula esquerda. Foi contraindicado início de tratamento com quimioterapia e radioterapia e encaminhada ao centro de suporte paliativo e faleceu.

Um primo primeiro grau com história de câncer de intestino e outra prima de primeiro grau com história de câncer de mama.

A análise cromossômica da probando por array-CGH 400k revelou arr[GRCh37]8q22.2(100247388_100618616) x0, presença de perda no cromossomo 8, banda q 22.2, região 100247388_100618616). A perda de 8q22.2 está ligada à condição *VPS13B* associado à Síndrome de Cohen. A paciente apresenta perda em homozigose dos éxons 18-33 de *VPS13B*. Concluiu-se que a deleção 8q22.2 atende aos critérios de patogenicidade.

Figura 4 – Heredograma da família do probando 3.



Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos.

Figura 5 – Eletroferograma do probando3.



Eletroferograma evidenciando a Variante Gata 2 éxon 3 não sinonima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.490G>A (p.Ala164Thr) no probando3.

Figura 6 – Eletroferograma do probando 3.



Eletroferograma evidenciando a Variante GATA2 éxon 2 sinônima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.15C>G (p.Pro5=) no probando 3.

P5, masculino, 2 anos e seis meses, pardo, foi encaminhado à hematologia para investigar anemia, síndrome emetogênica e infecção respiratória de repetição. A mãe relatou que desde os primeiros meses foi internado em cinco ocasiões para tratamento de infecção. Além de ter tido a necessidade de antibioticoterapia em dez outras ocasiões. A mãe relatava episódios de gengivorragia. O hemograma descreveu a presença de macroplaquetas. Os hemogramas seriados afastaram neutropenia cíclica.

O hemograma evidenciava: HGB: 10,3 g/dL; HTC: 32,3%; LEUCO: 4900 mm³; SEG: 640 mm³; PLQ: 83000 mm³.

Sorologias HIV 1-2, Hepatite A B e C negativos, Herpes simples, EBV, dengue, toxoplasmose IgG e IgM negativos e VDRL negativos.

IgE: 74.5 mg/dL (aumentado), IgA, IgM, IgG: normais, FAN: negativo, Anticorpo anticardiolipina IgG e IgM: não reator.

DEB *test* não mostrou quebras cromossomiais espontâneas ou induzidas.

A primeira biópsia de medula óssea apresentou (i) leve hiper celularidade com predomínio dos elementos da série eritróide. (ii) série mieloide reduzida em número relativo e absoluto representado por precursores eosinofílicos, (iii) megacariócitos em número aumentado, com alguns maduros. (iv) Conclusão: hiperplasia eritróide, hipoplasia granulocítica, dismegacariocitopoiese.

O mielograma evidenciou (i) celularidade normal. (ii) setor megacariocítico hiperplasiado com alguns megacariócitos hipolobulados. (iii) série vermelha e branca normais.

A segunda biópsia de medula óssea com padrão reacional.

A terceira biópsia de medula óssea evidenciou (i) uma proporção entre as séries e formas maduras mantidas (ii) Presença de atipias nos megacariócitos (iii). Sem fibrose nem aumento da trama reticulínica. (iv) Celularidade 70%.

A quarta biópsia de medula óssea apresentava (i) 50% de gordura. (ii) Setor eritróide com maturação normoblástica. (iii) Série granulocítica com maturação preservada. (iv) Megacariócitos normais em número e morfologia. Há ocasionais picnose dos megacariócitos e formas hipolobuladas. Conclusão: medula óssea normal.

A quinta biópsia de medula era descrita como (i) normocelular, com relação G:E normal e (ii) maturação preservada.

A sexta biópsia de medula realizada em outro serviço era descrita como (i) discretamente hipocelular para a idade (80%) (ii) Série granulocítica com sinais de maturação. (iii) série eritróide: hipocelular com sinais de desarranjo arquitetural. (iv) Conclusão: mielodisplasia.

A primeira imunofenotipagem (i) não apresentava assincronia de maturação. (ii) As três séries apresentam estágios normais de maturação inclusive de maturação de linfócitos.

A citogenética apresentou padrão masculino normal 46,XY.

A análise das variantes revelou a presença de variante no gene GATA2 éxon2 NM_032638.5(GATA2):c.15C>G (p.Pro5=) sinônima e benigna. (Figura:11)

História familiar: (Figura:10)

O pai do probando foi encaminhado à hematologia para investigação de plaquetopenia.

A Citogenética do pai apresentou padrão masculino normal 46, XY [20]

A Imunofenotipagem revelou: presença de 1,2% de células CD34+ CD117+ (precursores mieloides) 0,26% de células CD34+ CD19+ (precursores linfoides B); 11,1% de células; 4,4% de células NK, 62% de células de linhagem granulocítica com diminuição de complexidade interna e padrão de maturação preservada; 5,7 % de células de linhagem monocítica, com diminuição da expressão de CD13.

Não foi possível concluir com síndrome mielodisplásica. Sugere medula óssea reacional.

A análise morfológica revelou medula óssea normocelular, com relação G:E 2:1. (i) Setor eritróide: hipercelular com diseritropoiese discreta (megaloblastose, moderada eritrofagocitose) (ii) série granulocítica: normocelular com disgranulopoiese moderada (figura tipo Tempka Braun, retardo maturativo a mielócito e metamielócitos, sem atipias) Blastos 3%. (iii) série megacariocítica: normocelular com assincronia de maturação N/C, um grupo de micromegacariócitos (macroplaquetas em esfregaço de sangue periférico). (iv) Fibrose reticulina G1 (v) Conclusão: não SMD. Material compatível com MO reacional. Os achados podem corresponder a mielodisplasia mas não são definitivos.

Biópsia de medula óssea:

O aspirado de medula óssea com celularidade 70% irregularmente distribuída> Relação G:E 4:1. Série granulocítica: normocelular com sinais de maturação.

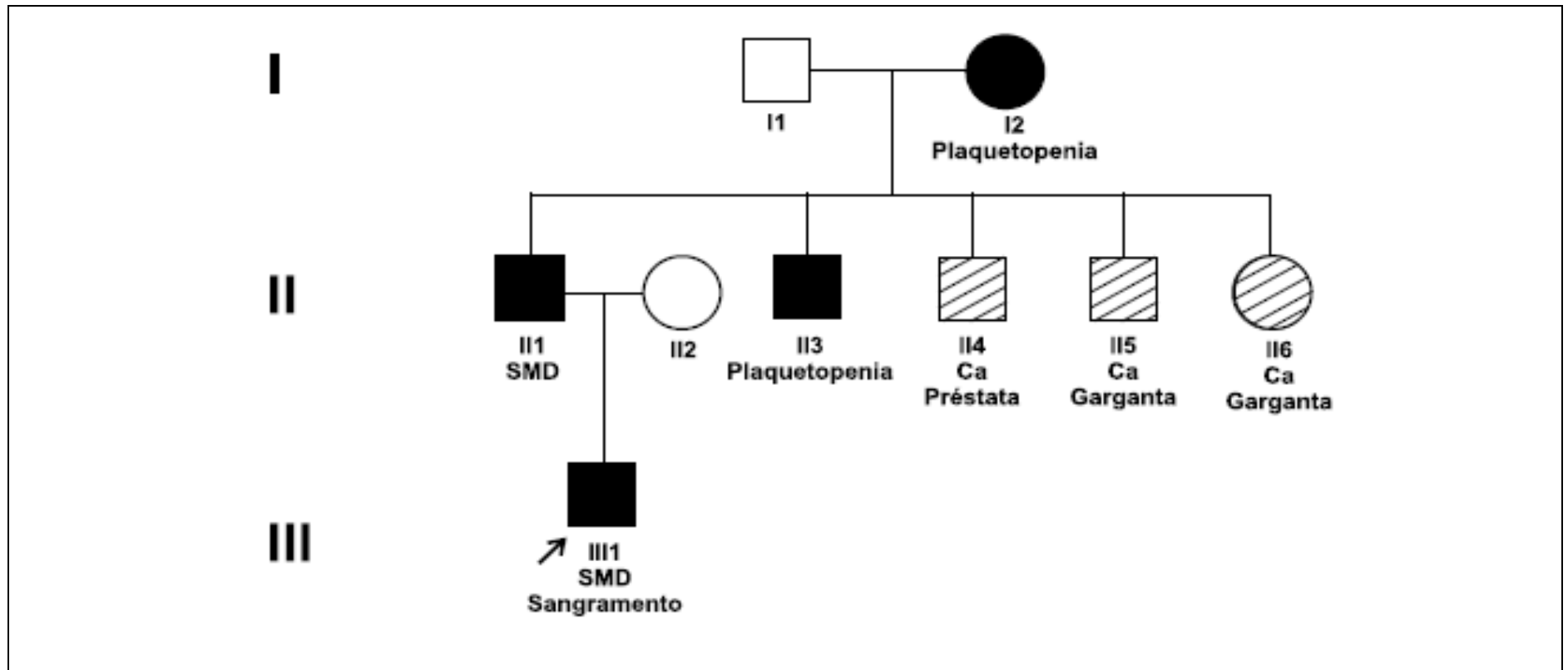
Ele realizou biópsia de medula óssea que revelou (i) celularidade global de 70%. (ii) Aumento de número de micromegacariócitos, micromegacariócitos hiperplasiados, (iii) setor granulocítico diminuído. (iv) Grau 1 de fibrose.

Painel de translocações para LMA. A amostra foi negativo para t (8,21) Runx/Runx1T1 (AML/ETO, t(15,17) PML-Rara, inv (16) CBFβ/ MYH 11, t(6,11) MLL/MLLT4 (MLL/AF6).

A citogenética apresentou padrão masculino normal 46,XY.

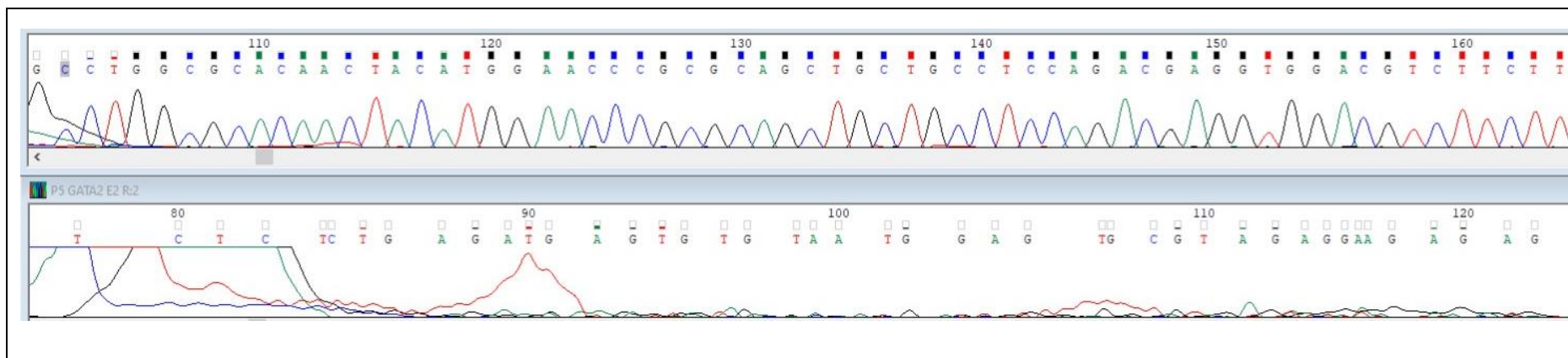
O tio paterno de primeiro grau apresentava história de plaquetopenia sem diagnóstico estabelecido e sem acompanhamento especializado. Há primos de segundo e terceiro graus maternos com história de retardo mental. III2 Primo teve leucemia aguda aos 10 anos.

Figura 7 – Heredograma da família do probando 5.



Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos.

Figura 8 – Eletroferograma do probando 5.



Evidencia a presença de variante GATA2 éxon2 NM_032638.5(GATA2):c.15C>G (p.Pro5=) sinônima e benigna no probando 5.

P7, masculino, aos três meses foi encaminhado à hematologia para investigação de síndrome purpúrica. Os pais não consanguíneos. Nasceu com 33 semanas e foi internado no CTI por insuficiência respiratória. Nessa internação observou-se plaquetopenia. Não havia manifestações hemorrágicas. O Teste de Triagem de Erros Inatos foi normal.

Ao exame físico apresentava dismorfias faciais, micro pênis, testículo esquerdo palpável, criptorquidia bilateral e hérnia inguinal direita. Foi indicada herniorrafia direita. O procedimento ocorreu sem intercorrências. Permaneceu sem sangramentos até que evoluiu com hematomas em membros inferiores.

O hemograma de admissão revelou HTC: 37%, HGB: 12,2 g/dL, VGM: 14,8%, LEU: 23100 mm³ (12 0 0 0 18 70 9), PLQ: 31000 mm³.

A primeira avaliação do sangue periférico revelou hipocromia discreta, plaquetas em número diminuído, presença de macroplaquetas, atipia linfocitária discreta a moderada, neutrófilos hiposegmentados. Ausência de grumos plaquetários. Presença de células com características blásticas.

Após um ano a segunda avaliação do sangue periférico evidenciou monocitose, leucocitose, desvio para a esquerda e sinais de displasia.

Ferro sérico: 31μ mol/L, TIBIC: 365 μg/dL, HGBSAg: positivo, ANTI-HGBS: positivo, HBS-Ag negativo, ANTi-HBC: negativo, ANTI-HAV: negativo, ANTI-HCV negativo, CMV IgG: negativo, IgM negativo, B12: 699 pg/mL, Ácido fólico: 20 ng/mL, Ferritina: 23 pmol/L, Ferro: 57μmol/L, ANTi-HIV 1-2: negativo, VDRL: negativo. HGB fetal: 11,8%.

A biópsia de medula óssea revelou (i) medula óssea com 5% de tecido adiposo, (ii) aumento do setor eritroide com inversão da relação G: E. (iii) Aumento do setor megacariocítico, alguns hipolobulados e atípicos. (iv) Setor granulocítico com formas imaturas e formas maduras. (v) Não havia fibrose. (vi) Presença de ferro.

O primeiro mielograma revelou (i) hiperplasia e megacariocitopoiese, diseritropoiese leve a moderada. (ii) Presença de células imaturas (idade?) Padrão displásico de maturação.

A primeira imunofenotipagem: medula óssea com (i) relação G: E 16:1 (vr 4:1). (ii) Padrão displásico de maturação granulocítica, monocítica e de linfócitos B. (iii) compatível com síndrome mielodislásica, mieloproliferativa, leucemia mielomonocítica juvenil crônica juvenil.

A citogenética de medula óssea e sangue periférico mostrou cariótipo compatível com sexo feminino 46,XX. A análise por PCR e FISH mostrou ausência SRY (gene do Y).

O segundo mielograma revelou presença de dismegacariocitopoiese e diseritropoiese.

A segunda imunofenotipagem revelou (i) medula óssea com grandes bloqueios maturativos e assincronismos maturativos nas linhagens com diferenciação a neutrófilos e a monócitos. (ii) Sendo 8% das células CD34 + mieloides. (iii) Os achados da imunofenotipagem foram compatíveis com mielodisplasia.

A segunda avaliação do sangue periférico revelou (i) poiquilocitose discreta (hemácias alongadas e em alvo), (ii) plaquetas em número normal, com muitas macroplaquetas e plaquetas gigantes. (iii) Atipia linfocitária. Raras células com alta relação núcleo-citoplasma e nucléolo evidente.

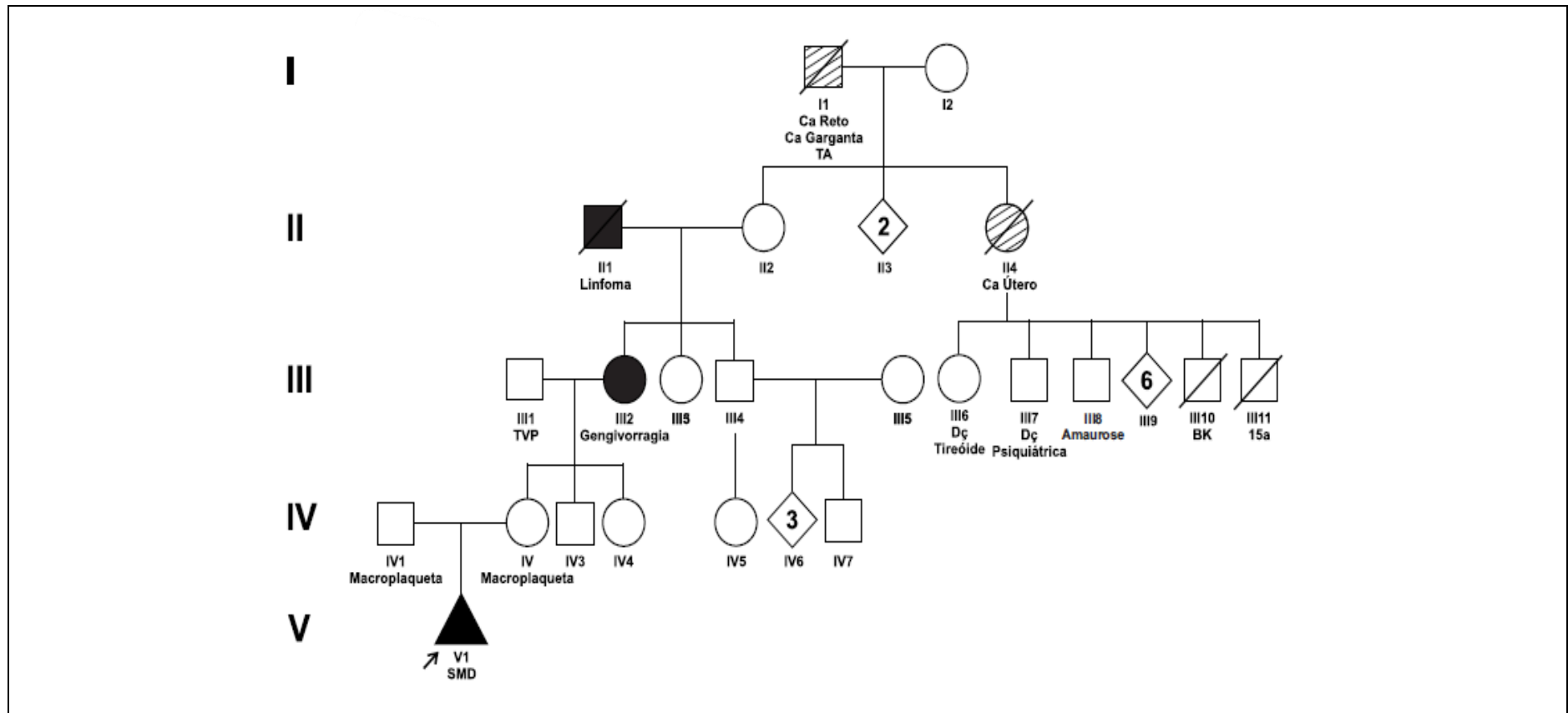
A análise das variantes observou a presença de variante no gene *GATA2* éxon 3 NM_032638.5(*GATA2*):c.490G>A (p.Ala164Thr) não sinônima e benigna. (Figura: 13)

História familiar: (Figura: 12)

O exame do sangue periférico da mãe e do pai revelou presença de plaquetas em número normal e macroplaquetas.

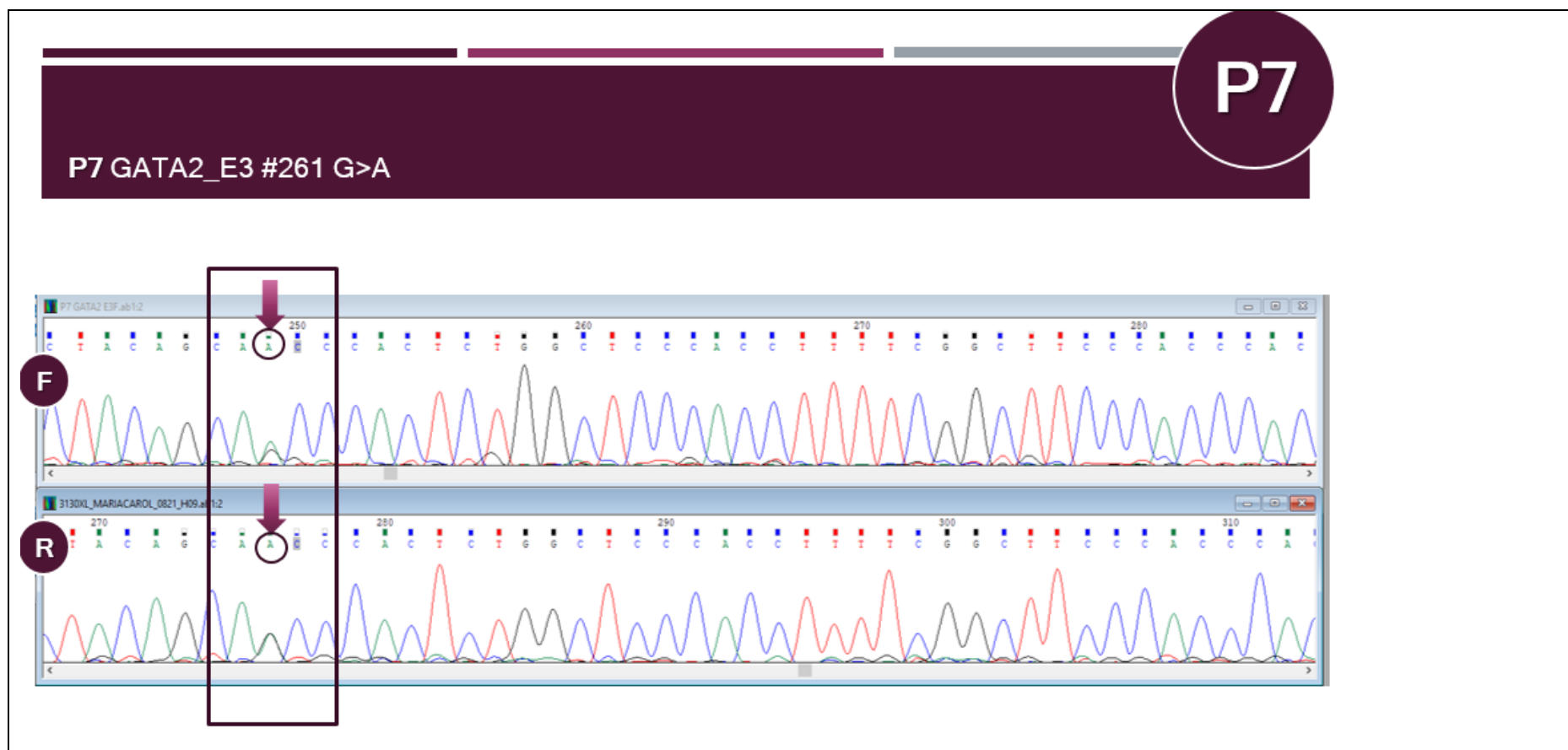
A avó materna apresentava história de anemia e gengivorragia. O avô materno tinha história de trombose venosa superficial aos 54 anos. Tia avó faleceu de câncer de útero. O bisavô materno faleceu de linfoma. O tataravô materno com história de câncer de reto e faleceu por câncer de garganta.

Figura 9 – Heredograma da família do probando 7.



Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; triângulo preenchido (preto) significa indivíduo de sexo não determinado; diamante com número no interior significa número de filhos.

Figura 10 – Eletroferograma do probando 7.



Eletroferograma evidenciando a Variante Gata 2 éxon 3 não sinonima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.490G>A (p.Ala164Thr) no probando 7.

P8, masculino, três anos e oito meses, branco, primeiro gemelar univitelino foi encaminhado à hematologia para investigar neutropenia grave associada a crises convulsivas. A neutropenia foi identificada em exames seriados nos dois últimos anos. Foi iniciado oxycarbamazepina para controle de crise convulsiva.

História familiar: tio com história de sangramento. (Figura 14)

Na hematologia pediátrica foi iniciado Granulokine (GCSF) e houve, inicialmente, resposta com aumento da série granulocítica. Após início de GCSF apresentava HTC: 38,50%, VCM: 80,80fL, LEU: 7,83 mm³, SEG: 0,08 mm³, e PLQ: 436000 mm³. Alguns meses após início de GCSF as contagens voltam a cair.

Dosagem de G6PD: 5,2 (deficiência intermediária), HGBA1: 59,8%, HgA2: 3,7%, HgF: 1,5%, HgS: 35% compatível com traço falcêmico.

A biópsia de medula óssea apresentou (i) celularidade de 40% (hipocelular) (ii) a série granulocítica presente com raras células maduras (iii) a série eritrocítica hipocelular. (iv) Relação G/E 2:1. (v) série megacariocítica presente com atipias, formas hipolobuladas e monolobuladas. (vi) CD34+ 5,5% de células imaturas. (vii) imunohistoquímica: P53 negativo. O quadro compatível com mielodisplasia.

A citogenética nas células da medula óssea apresentou cariótipo masculino 46,XY.

O eletroencefalograma apresentou atividade elétrica anormal por ondas lentas de projeção no hemisférico cerebral direito. O paciente foi diagnosticado com epilepsia e iniciado Trileptal para controle de crises convulsivas.

A análise das variantes revelou a presença de variante no gene *GATA2* éxon2 NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p.Pro5=) sinônima e benigna bem como no gene *GATA2* éxon 3 NM_032638.5(*GATA2*):c.490G>A (p.Ala164Thr) não sinônima e benigna. (Figura: 17 e 18)

P4, masculino, três anos e oito meses, branco, segundo gemelar univitelino, foi encaminhado à hematologia para investigação de neutropenia grave. Paciente nasceu de 39 semanas teve icterícia neonatal tratada com fototerapia.

Com um ano e oito meses foi internado por abscesso no queixo e depois foi internado por infecção cutânea (abscesso), pneumonia, infecção urinária, abscesso dentário e otite. Apresentou também crise convulsiva tratada com Trileptal.

O hemograma da admissão apresentava: HTC: 37,2%, HGB: 11,4 g/dL, HEM: 5,35 milhões/ μ L VGM: 69,5fL, CHCM: 30,7 g/dL, RDW: 15,6 %, PLQ: 401000 mm^3 , LEUCO: 8900, SEG: 568 mm^3 , LDH: 384 U/L, reticulócitos: 3,1%.

IgA: 166,8, IgG: 2378, VHS: 20mm/h, PCR: 12,09 mg/dL,

Eletroforese de hemoglobina: HgA1: 60,4%, HgA2: 3%, HgF: 1,5%, HGB: S 35,1%.
Compatível com traço falcêmico e deficiência de G6PD 5,06 (valores de referência: 7-20)

Sorologias: CMV: IgM negativo, IgG: positivo, Herpes IgG: negativo, IgM: negativo, HTLV 1 e 2: negativo, EBV IgM: negativo, IgG: positivo, Rubéola IgM: negativo, Toxoplasmose IgG: negativo, IgM: negativo, Anti-HGBS: positivo, Anti-HCV: negativo, Anti-HIV: negativo.

FAN: negativo IgA: 29,2 mg/dL, IgE: 6,6 mg/dL, IgG: normal

A biópsia de medula óssea apresentava: (i) três espaços trabeculares com 70% (hipocelular) e representação das três séries. (ii) série granulocítica presente com parada de maturação. (iii) série eritrocítica presente com relação G/E 2:1. (iv) série megacariocítica presente com algumas formas atípicas e raramente agrupados. (v) Imunohistoquímica: P53 negativo. (vi) Achados compatíveis com mielodisplasia.

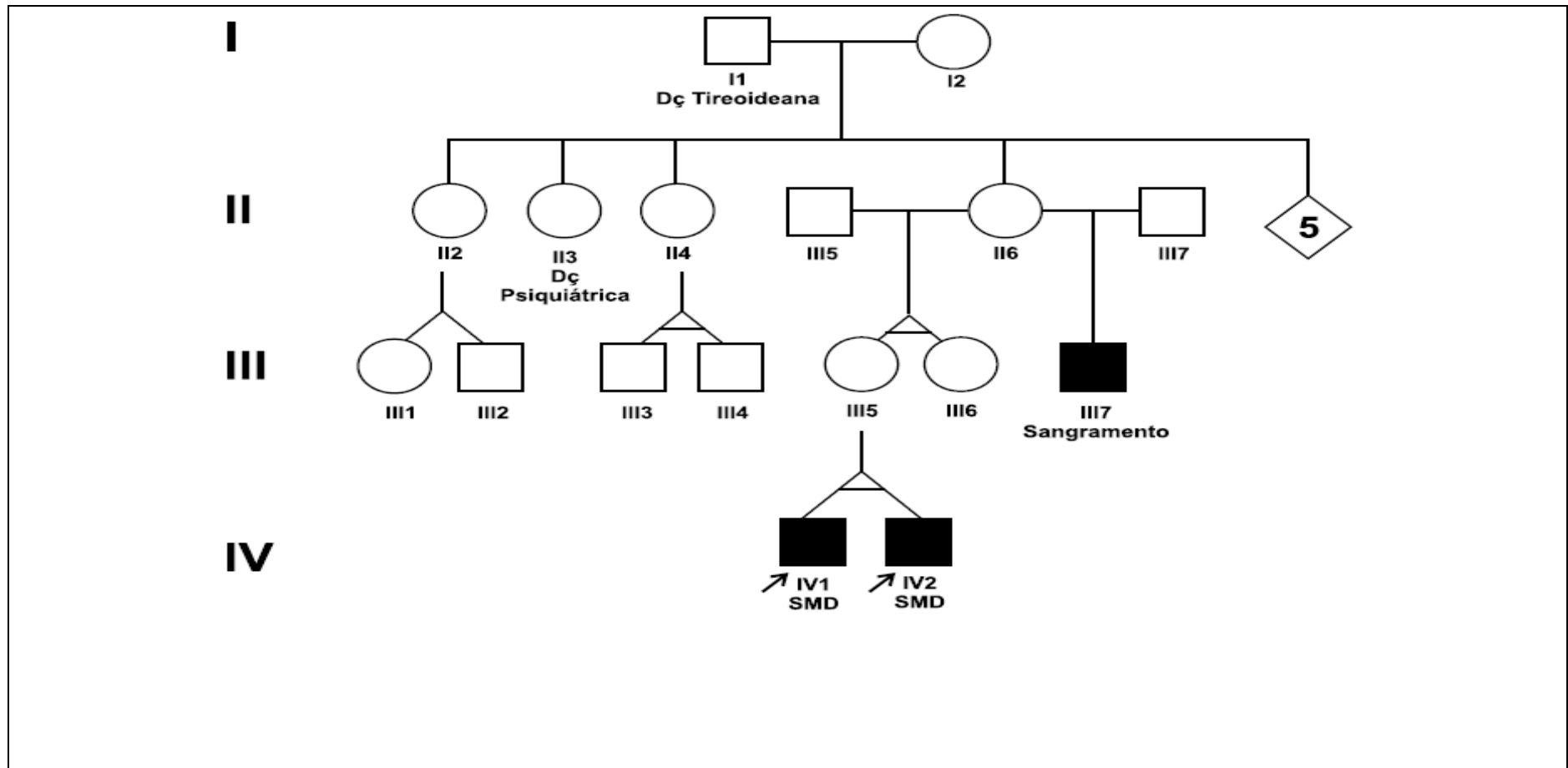
A citogenética com padrão masculino normal 46,XY.

A imunofenotipagem de medula óssea exibindo (i) série neutrofílica em baixíssimo percentual representada somente por promielócitos, metamielócitos, mielócitos não apresentando mieloblastos CD34- nem formas maduras (bastões e segmentados) (ii) percentual das células progenitoras CD34+/MPO+ (comprometidas com a diferenciação a linhagem dessa linhagem: (iii) expressão aberrante de CD56+ em 15% dos monócitos; (iv) linhagens monocítica e linfocítica B em percentuais relativos aumentado. Esse aumento relativo pode estar relacionado ao diminuído percentual dos neutrófilos na amostra.

Imunofenotipagem com alterações compatíveis com mielodisplasia.

A análise das variantes revelou a presença de variante no gene *GATA2* éxon2 NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p.Pro5=) sinônima e benigna, bem como variante o gene *GATA2* éxon 3 NM_032638.5(*GATA2*):c.490G>A (p.Ala164Thr) não sinônima e benigna. (Figura: 15 e 16)

Figura 11 – Heredograma da família dos probandos 4 e 8.



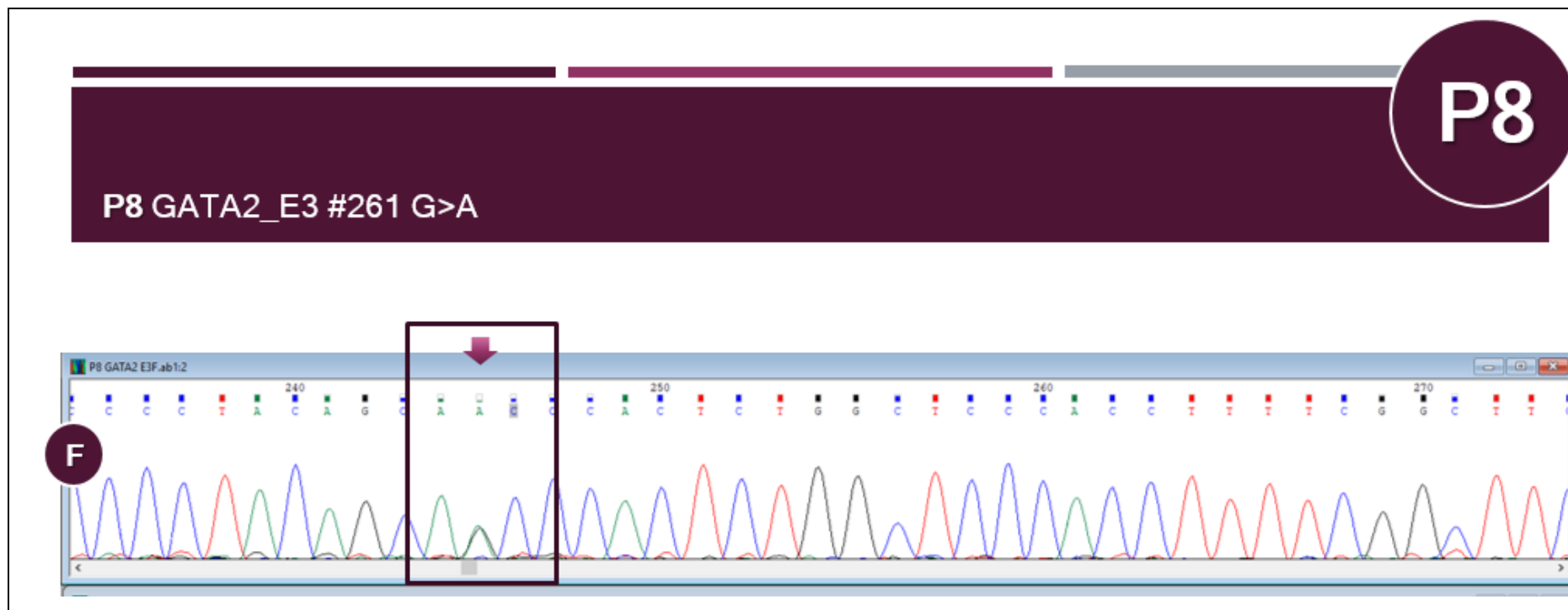
Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos; linhas com triângulo aberto interligado significa gemelariade.

Figura 14 – Eletroferograma do probando 8.



Eletroferograma evidenciando a Variante Gata 2 éxon 3 não sinonima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.490G>A (p.Ala164Thr) no probando 8.

Figura 15 – Eletroferograma do probando 8.



Eletroferograma evidenciando a Variante Gata 2 éxon 3 não sinonima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.490G>A (p.Ala164Thr) no probando 8 .

P9, masculino, 61 anos foi encaminhado à hematologia para investigação de plaquetopenia. É filho de pais consanguíneos (primos de primeiro grau).

Paciente relatou ser portador de cardiomiopatia hipertrófica assimétrica obstrutiva e que fora submetido à miectomia com implante de marcapasso.

O hemograma da admissão revelou HTC: 47,2%, VGM: 97 fL, HGB: 15,7g/dL, LEU: 6870 mm³, SEG: 57,3%. PLQ: 106000 mm³.

O laboratório de seguimento apresentou HTC: 45%, LEU: 7600 mm³, PLQ: 117000 mm³, SEG: 4484 mm³, LIN: 1976 mm³, VCM: 92 fL.

A biópsia de medula óssea revelou (i) medula normocelular, (ii) setor eritróide com maturação normal. (iii) Setor granulocítico maturação normal até fases finais de maturação. (iv) Setor megacariocítico com número reduzido, caracterizado por micromegacariócitos hipolobulados. (v) Ausência de blastos. Achados compatíveis com mielodisplasia.

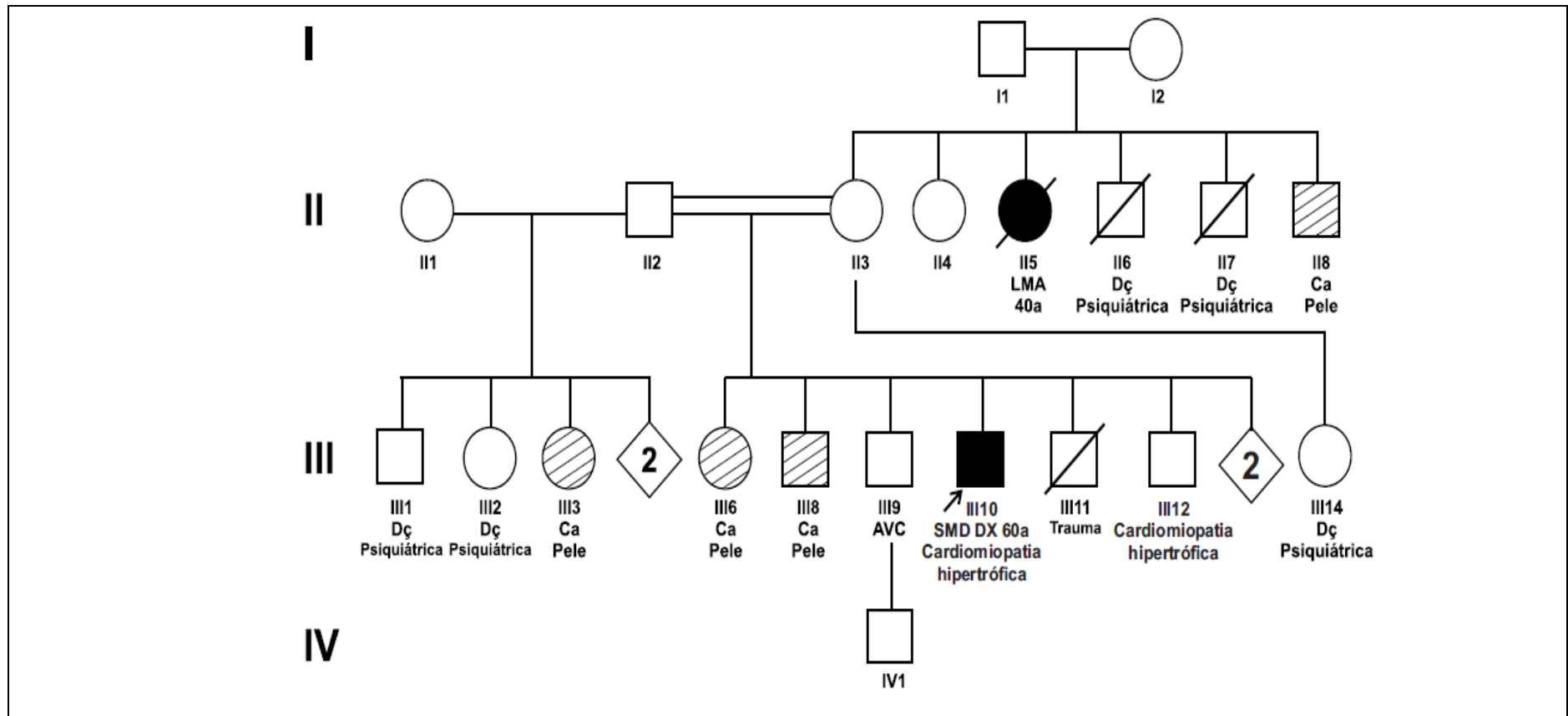
A avaliação citogenética não foi possível pois não foram obtidas metáfases para análise.

História familiar: (Figura: 19)

O irmão com câncer de pele e cardiomiopatia com necessidade de implante de marcapasso. A tia faleceu de leucemia aguda aos 40 anos. A meia irmã, o tio materno e a irmã foram diagnosticadas com câncer de pele.

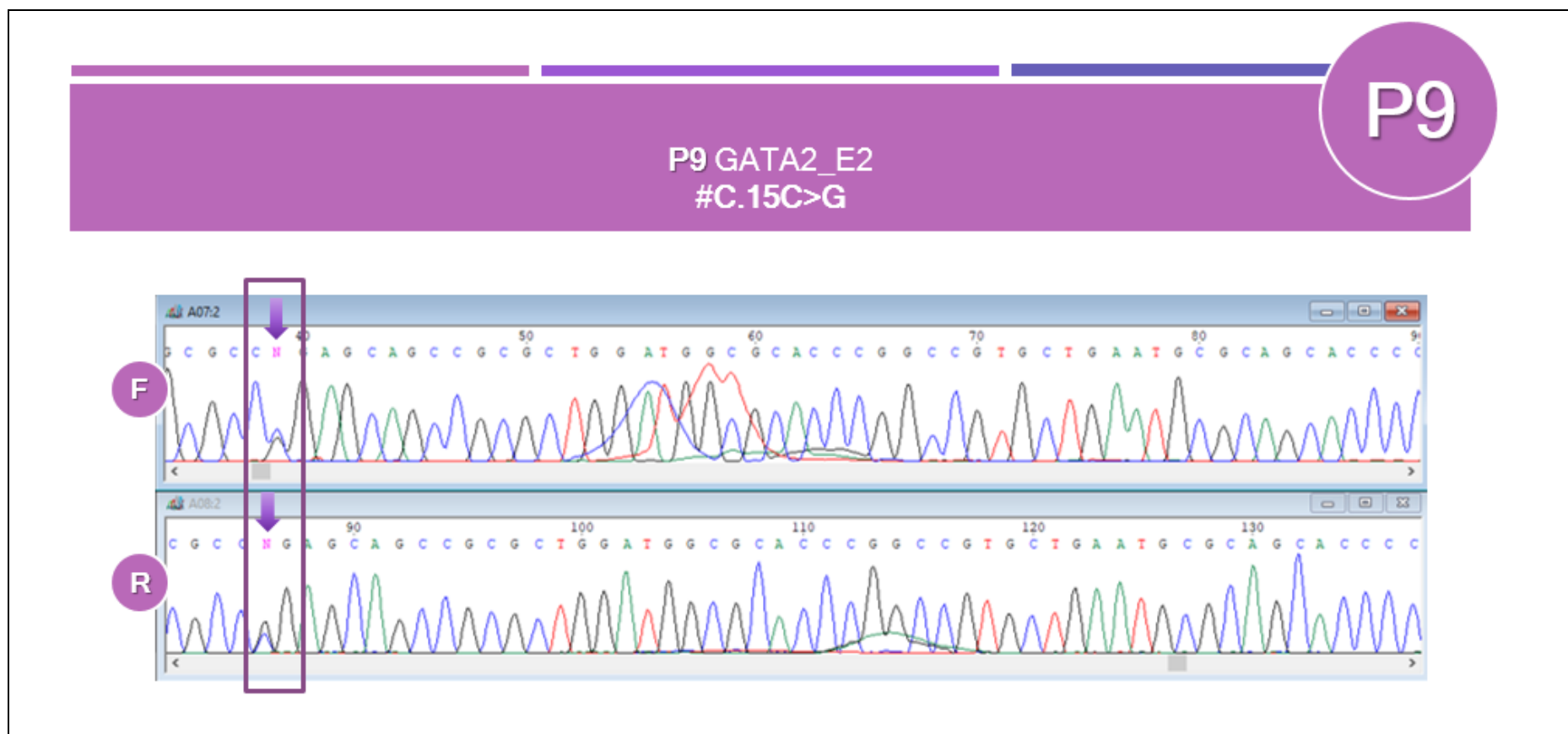
A análise das variantes revelou a presença de variante no gene *GATA2* éxon2 NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p.Pro5=) sinônima, benigna; e variante de significado indeterminado no gene *RUNX1* éxon 9 NM_001754.5(*RUNX1*):c.1093G>A (p.Gly365Ser) não sinônima em homozigose. (Figura: 20 e 21)

Figura 16 – Heredograma da família do probando 9.



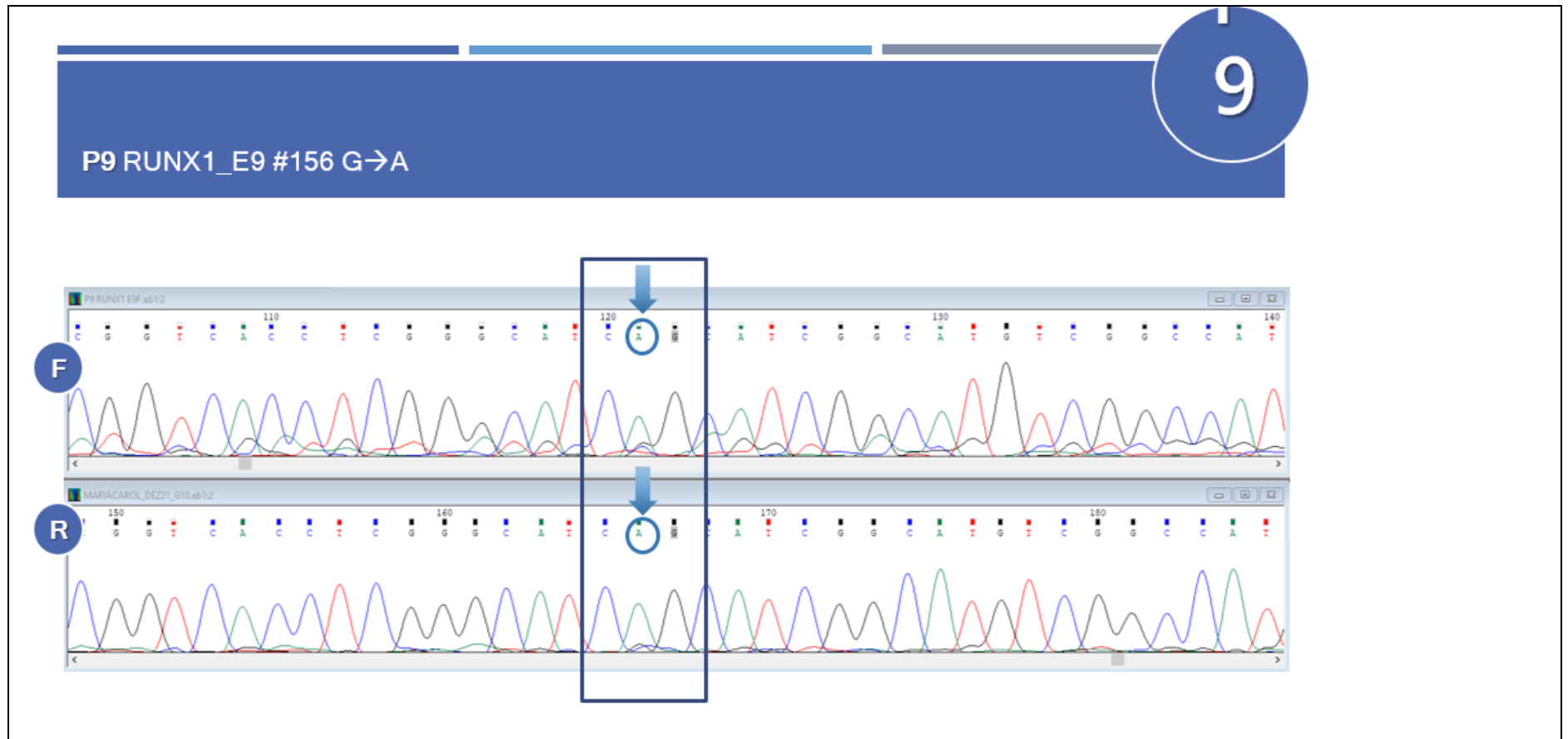
Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos.

Figura 17 – Eletroferograma do probando 9



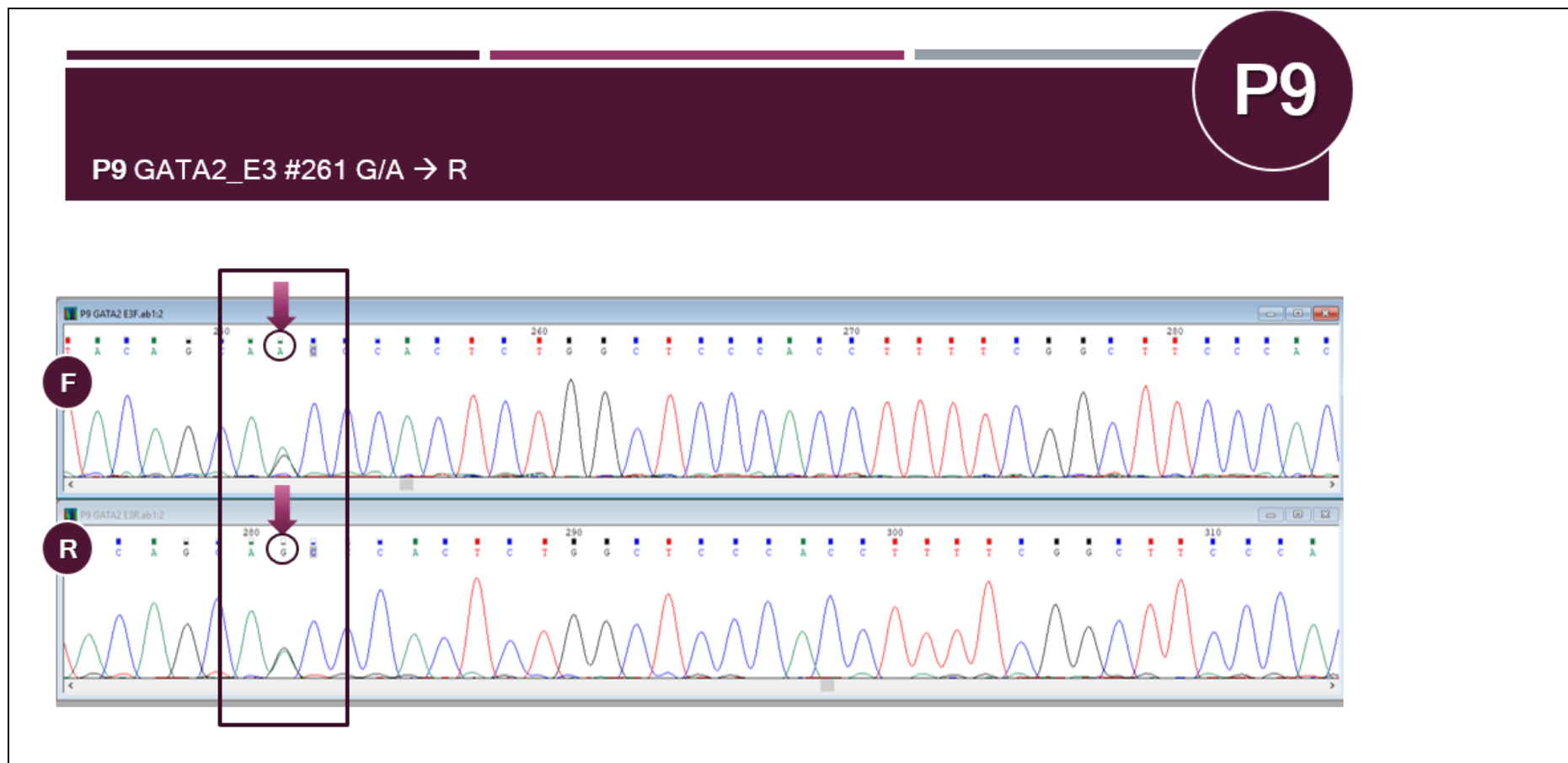
Eletroferograma evidenciando a Variante GATA2 éxon 2 sinônima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.15C>G (p.Pro5=) no probando 9.

Figura 18 – Eletroferograma do probando 9



Eletroferograma evidenciando a Variante de significado incerto em homozigose no gene RUNX1 éxon 9 não sinônima / VUS NM_001754.5(RUNX1):c.1093G>A (p.Gly365Ser) no probando 9.

Figura 19 – Eletroferograma do probando 9



Eletroferograma evidenciando a Variante no gene Gata 2 éxon 3 não sinonima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.490G>A (p.Ala164Thr) no probando 9.

P12, masculino, 16 anos, pardo foi encaminhado à hematologia para avaliação de plaquetopenia de 82000 μL . O paciente negou tabagismo, etilismo e contato com produtos químicos. Sem história de sangramento.

O exame físico revelou hábito marfanóide (os pais têm estatura mediana) e 2 manchas café com leite congênitas.

O hemograma de admissão apresentava: HTC: 41,7%, HGB: 13,9 g/dL, LEUCO: 5600 $\times 10^9$, SEG: 3245 mm^3 , VCM: 97,4 fL, PLQ: 82000 mm^3 .

A biópsia de medula óssea evidenciou: (i) 11 espaços intertrabeculares, amostra não subcortical, celularidade geral 30%, celularidade global diminuída para a idade; (ii) série granulocítica com celularidade diminuída para a idade (iii) série eritrocítica com celularidade diminuída para a idade cronológica, com retardo maturativo focal (iv) 1% de blastos, distribuídos isoladamente (v) série megacariocítica com celularidade diminuída, presença de micromegacariócitos, megacariócitos binucleados pequenos, com núcleos separados, com núcleo redondo, monolobulados e com presença de distúrbio arquitetural (localização paratrabecular). Achados compatíveis com mielodisplasia.

A citogenética em células de medula óssea mostrou cariótipo 46,XY [20].

A análise das variantes observou a presença de variante no gene GATA2 éxon2 NM_032638.5(GATA2):c.15C>G (p.Pro5=) sinônima e benigna. (Figura: 24)

História Familiar: (Figura: 23)

O paciente era filho de pais não consanguíneos. O pai apresentava também plaquetopenia, a irmã com plaquetopenia e sangramento e segunda irmã com leucopenia. Um Primo com plaquetopenia e outro primo paterno com retardo mental. Avó paterna tinha história de câncer de mama. Uma prima com trombose venosa profunda. Uma tia com câncer de útero.

KNC, feminina, 22 anos, parda irmã não gemelar do probando foi encaminhada à hematologia para avaliação de plaquetopenia, anemia ferropriva e metrorragia.

O hemograma da admissão evidenciou: HGB: 8,8 g/dl, HTC: 29%, VCM: 69 fL, RDW: 19,9%, LEU: 5500 $\times 10^9$, PLQ: 122000 mm^3 .

Em exames anteriores verificava-se plaquetopenia discreta de 120000 mm^3 e deficiência de ferro provavelmente relacionado à metrorragia.

O exame físico encontrava-se normal. Foi iniciada reposição de ferro e encaminhada para avaliação ginecológica no intuito de implementar anticoncepcional sem pausa. Houve reversão da anemia ferropriva como mostra o hemograma subsequente. HTC: 35%, VCM: 76,80 fL, LEU: 4600×10^9 , SEG: 67%, LIN: 19%, MONO: 9%, PLQ: 143000 mm^3

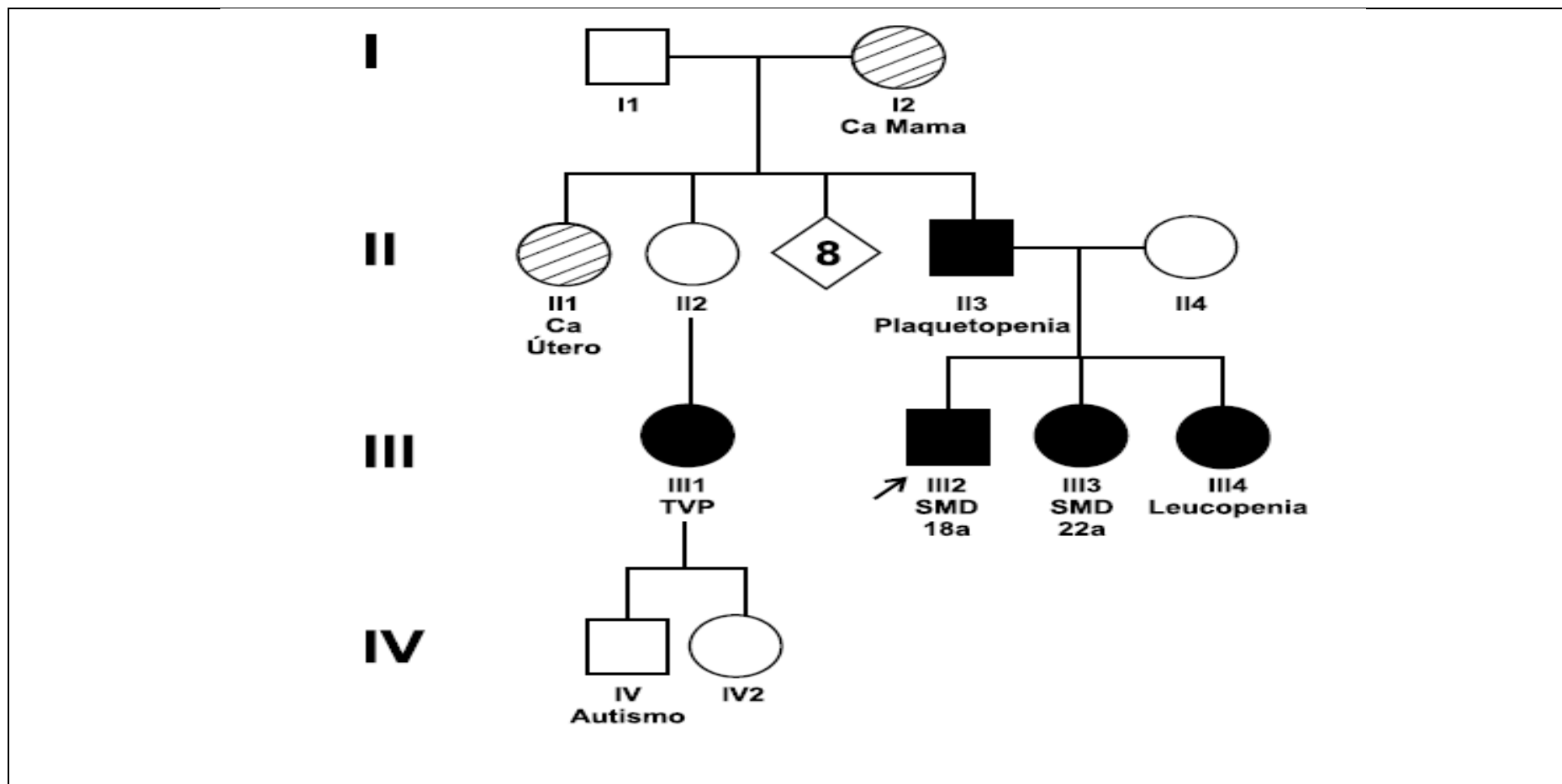
A biópsia de medula apresentou: (i) 6 espaços trabeculares, amostra não subcortical, celularidade global 50% , celularidade diminuída para a idade cronológica (ii) série granulocítica com celularidade diminuída (iii) série eritrocítica com celularidade diminuída; presença de distúrbio arquitetural com a presença de agrupamentos/ colônias com 20 células nucleadas, presença de formas jovens (proeritroblastos) (iv) série granulocítica com maturação megaloblástica, blastos < 1% distribuídos isoladamente (v) série megacariocítica com celularidade diminuída, com características displásicas (micromegacariócitos, hipercromáticos, hipolobulados). Achados compatíveis com mielodisplasia.

O mielograma observou-se micromegacariócitos, megacariócitos hipogranulares e alterações displásicas em série mieloide.

A citogenética em células de medula óssea mostrou cariótipo 46,XX [20].

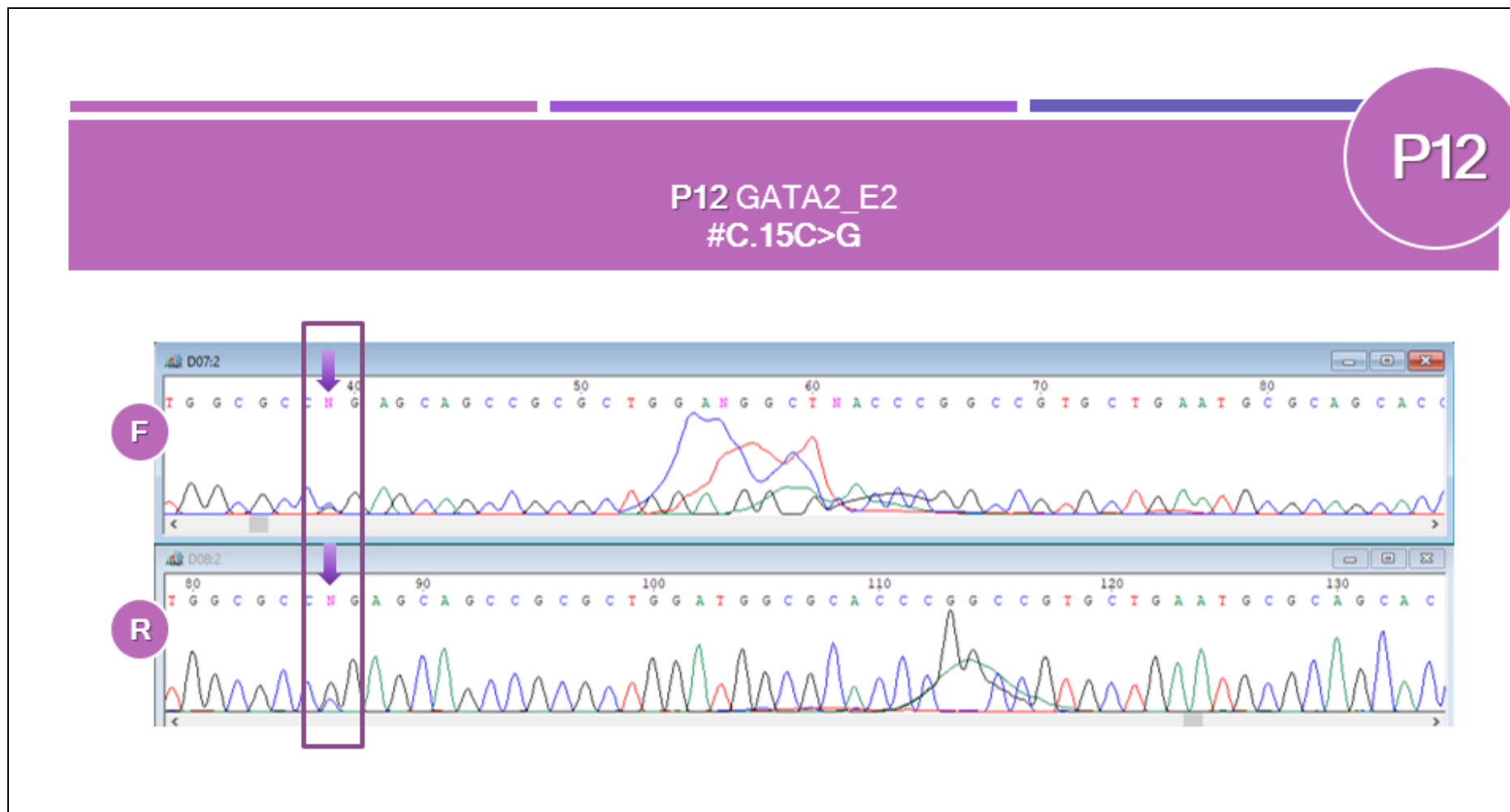
A imunofenotipagem analisou 100000 células. (i) Viabilidade estimada 88,7%. (ii) Série Mieloide com maturação a neutrófilos: 68%, sendo: 1%, promielócitos: 4,9%, mielócitos 28,5% metamielócitos 35,4% neutrófilos 30%. (iii) Presença de assincronismo maturativo. Maturação a monócitos 5,2%. (iv) Série eritróide 8,3%. (v) Diferenciação linfóide B não observada. Células NK 1%. (vi) O perfil imunofenotípico compatível com a presença de displasias no setor mielóide.

Figura 20 – Heredograma da família do probando 12.



Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos.

Figura 21 – Eletroferograma do probando 12.



Eletroferograma evidenciando a Variante GATA2 éxon 2 sinônima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.15C>G (p.Pro5=) no probando 12.

P13, masculino, quinze anos, pardo encaminhado à hematologia para investigação de síndrome purpúrica observada nos últimos seis meses chegando a ter plaquetas de 9000 mm^3 . A investigação de dengue foi negativa. Não necessitou de tratamento e evolui para remissão parcial chegando a plaquetas $100000 \mu\text{L}$. O exame físico apresenta baixa estatura. Foi diagnosticado como portador de ceratocone.

O hemograma da admissão evidenciava HTC: 45,2%, PLQ: 100000 mm^3 , LEU: $4000 \times \text{mm}^3$, SEG: $2240 \times \text{mm}^3$.

A biópsia medula óssea era representada por (i) cerca de 70% de tecidos hematopoiético (levemente hipocelular) com presença de elementos das três séries (eritroide, granulocítica e megacariócitos) (ii) ALIP presente, focal, em áreas não trabeculares e em localização não perivascular. (iii) Fibrose ausente. (iv) Displasia eritroide não observado. (v) Displasia granulocítica presente e leve. (vi) Displasia megacariocítica presente mais acentuada. (vii) Achados compatíveis com mielodisplasia.

A Imunofenotipagem apresentava (i) células viáveis da ordem de 75%. (ii) Maturação a neutrófilos: 76,7%, eritoblastos: 5,2%, eosinófilos, 1,4%, monócitos: 4,4%, (iii) linfócitos totais: 11,6%, linfócitos T: 6,9%, células NK: 2,7%, linfócitos B maduros: 1,2%, precursores de células B: 0,8%, (iv) células CD34+ mieloides: 0,7%, sendo MPO:0,3%. (v) Conclusão: amostra de medula reacional. Não foram encontradas células compatíveis com leucemia aguda, nem padrões aberrantes de maturação que sugerissem síndrome mielodisplásica.

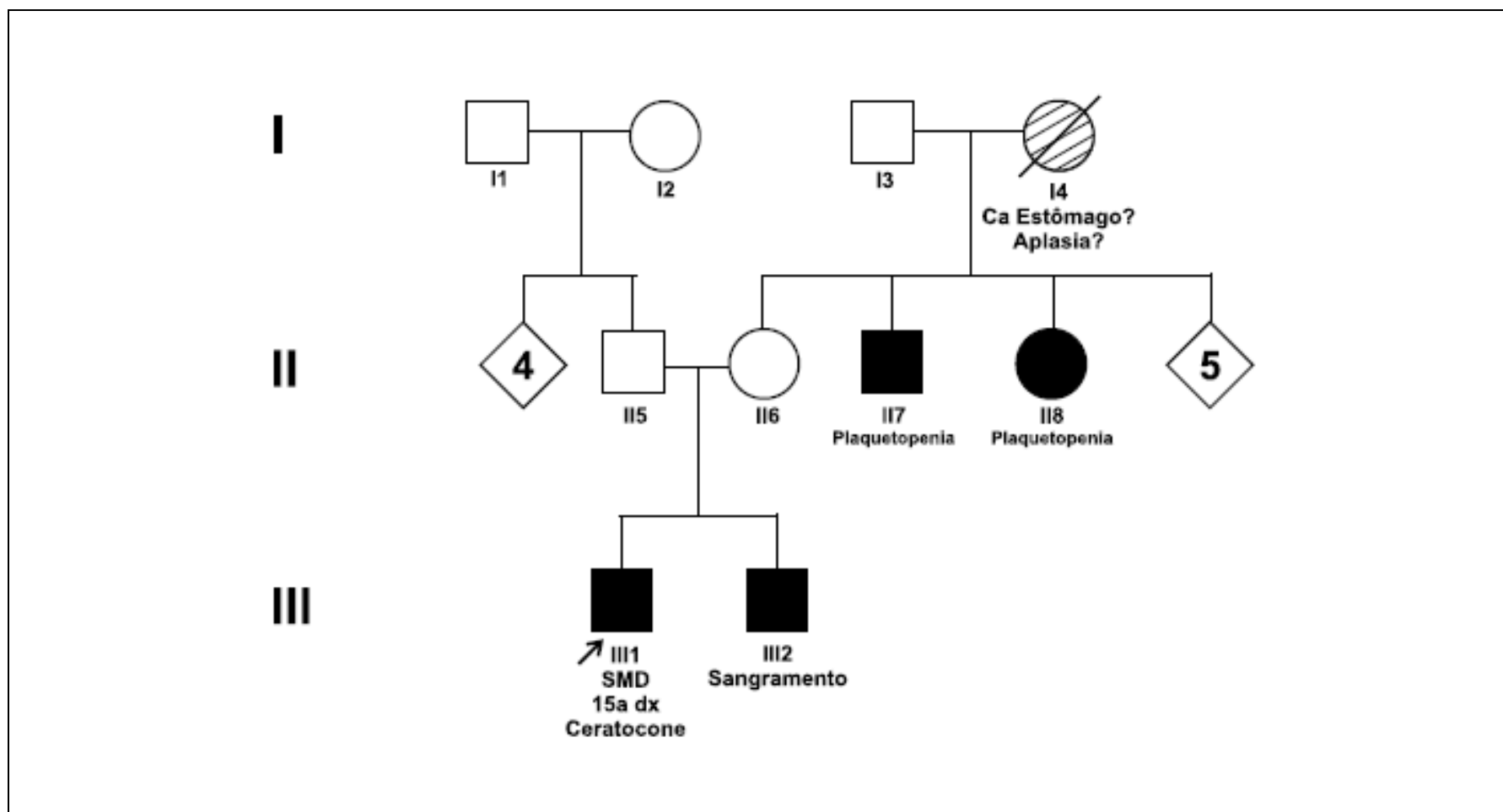
A citogenética em células de medula óssea mostrou cariótipo 46,XX [20].

A análise das variantes observou a presença de variante no gene *GATA2* éxon2 NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p.Pro5=) sinônima e benigna. (Figura: 26)

História familiar: (Figura: 25)

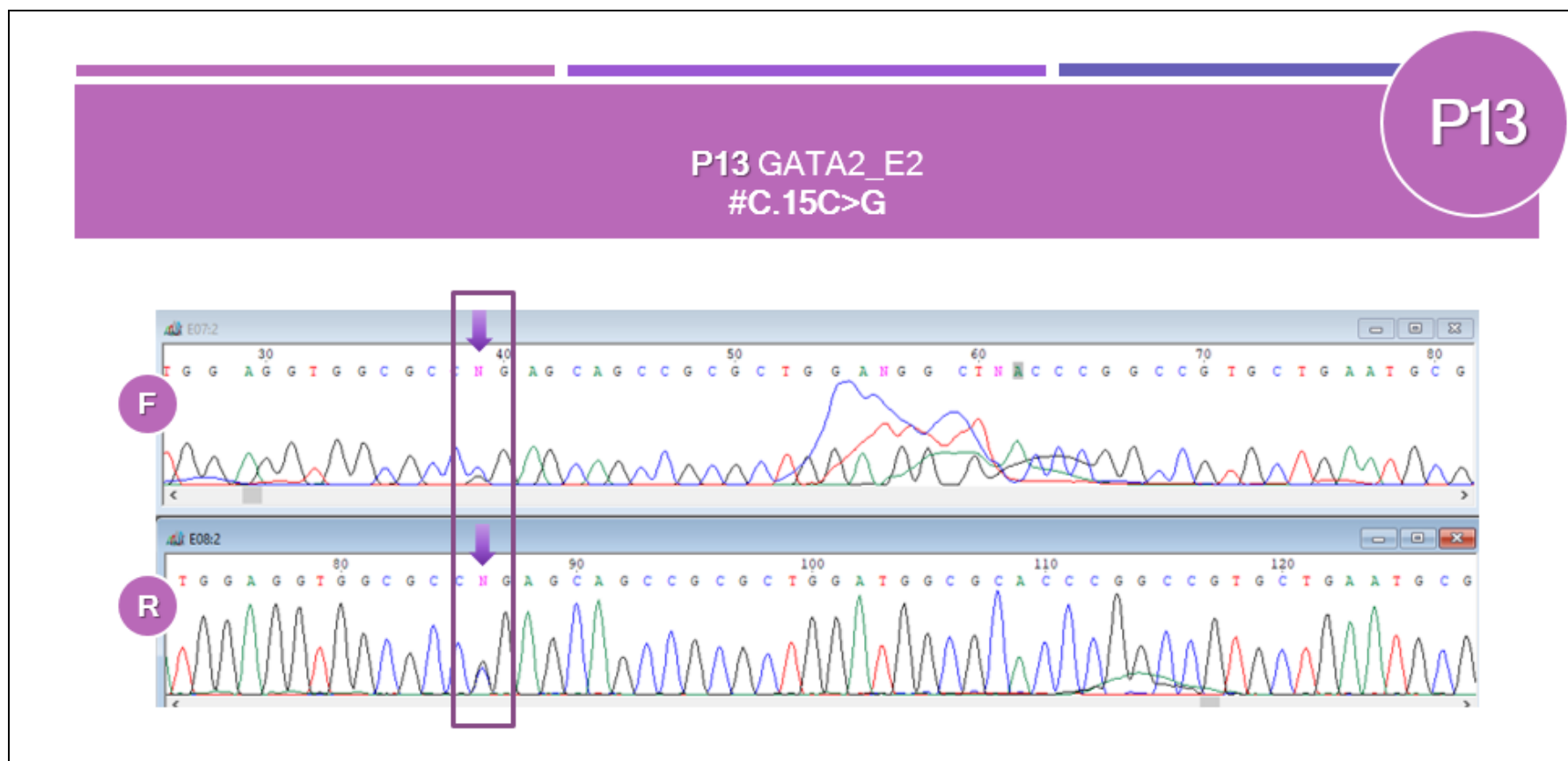
O irmão mais novo apresentou episódio de epistaxe espontânea e plaquetopenia. O tio materno e tia materna tinham história de plaquetopenia, mas sem diagnóstico estabelecido. Avó materna faleceu de câncer de estômago. Atualmente, o paciente permanece sem queixas ou sangramentos e é mantido em observação ambulatorial sem uso de medicação.

Figura 22 – Heredograma da família do probando 13.



Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos.

Figura 23 – Eletroferograma do probando 13.



Eletroferograma evidenciando a Variante no gene GATA2 éxon 2 sinônima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.15C>G (p.Pro5=) no probando 13.

P14, paciente masculino, 14 anos foi encaminhado à hematologia pediátrica para avaliação de plaquetopenia. Tinha história de púrpura trombocitopênica idiopática desde os 12 anos de idade. Nunca foi necessário usar medicação específica para tratamento de plaquetopenia. Apresenta perfil hemorrágico com sangramento nasal e gengivorragia. Realizou procedimento cirúrgico (vasectomia) com intenso sangramento local apesar de apresentar plaquetas de 130000.

O hemograma da admissão revelou HGB: 15,2 mg/dL; HTC: 45%; LEUCO: 5250 mm³; SEG: 3130 mm³; PLQ: 10000 mm³.

A biópsia de medula não obteve material suficiente para análise.

A citogenética não apresentou mitose.

A imunofenotipagem não identificou padrão de mielodisplasia e nem de leucemia aguda ou crônica.

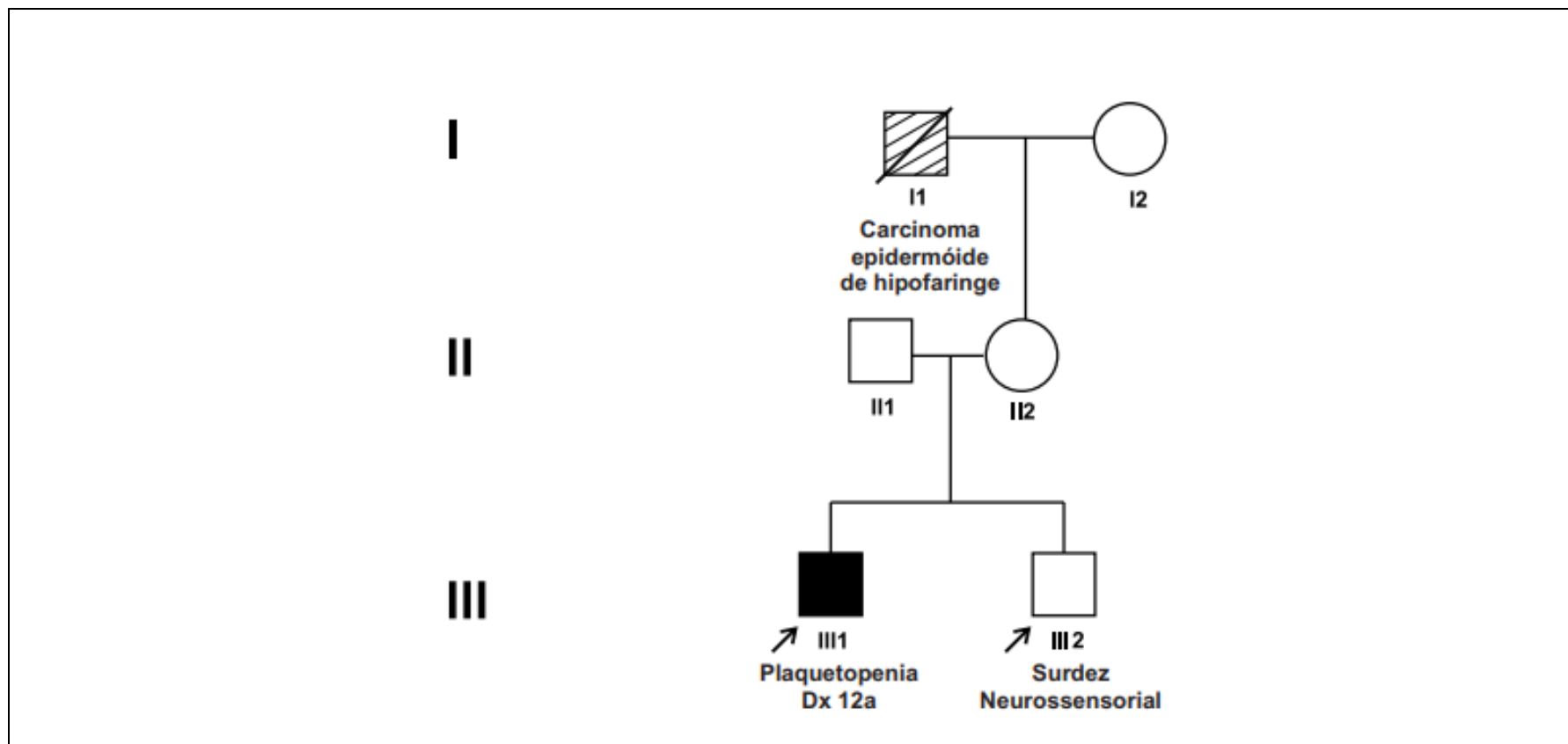
As sorologias para hepatite B e C foram negativas.

Não foram identificadas variantes nos genes analisados.

História familiar: (Figura: 27)

Era filho de pais não consanguíneos. Avô materno faleceu carcinoma epidermóide moderadamente diferenciado de hipofaringe e o irmão apresentou surdez neurosensorial congênita.

Figura 24 – Heredograma da família do probando 14.



Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos.

P15, feminina, 57 anos foi encaminhada à hematologia para avaliação de plaquetopenia. A paciente tinha história de hipertensão e diabetes tipo 2.

O hemograma da admissão revelou: HTC: 34,1% HGB: 12 g/dL, VCM: 97, Leuco: 1590 mm³, SEG: 1019mm³, PLQ: 42000 mm³.

A paciente realizou avaliação de plaquetopenia em EDTA: 76,000 µL, Citrato: 60,000 µL e Heparina: 55,000 µL. Na lâmina do sangue periférico foram descritas macroplaquetas. A paciente relatou episódios de epistaxe. A rinoscopia evidenciou ectasia vascular.

A paciente relatou episódios de epistaxe. A rinoscopia evidenciou ectasia vascular. Àquele momento a pesquisa de sorologias para hepatite B, C, Anti-HIV 1 e 2, VDRL foram não reativos. O US abdominal estava normal bem como as provas de função hepática.

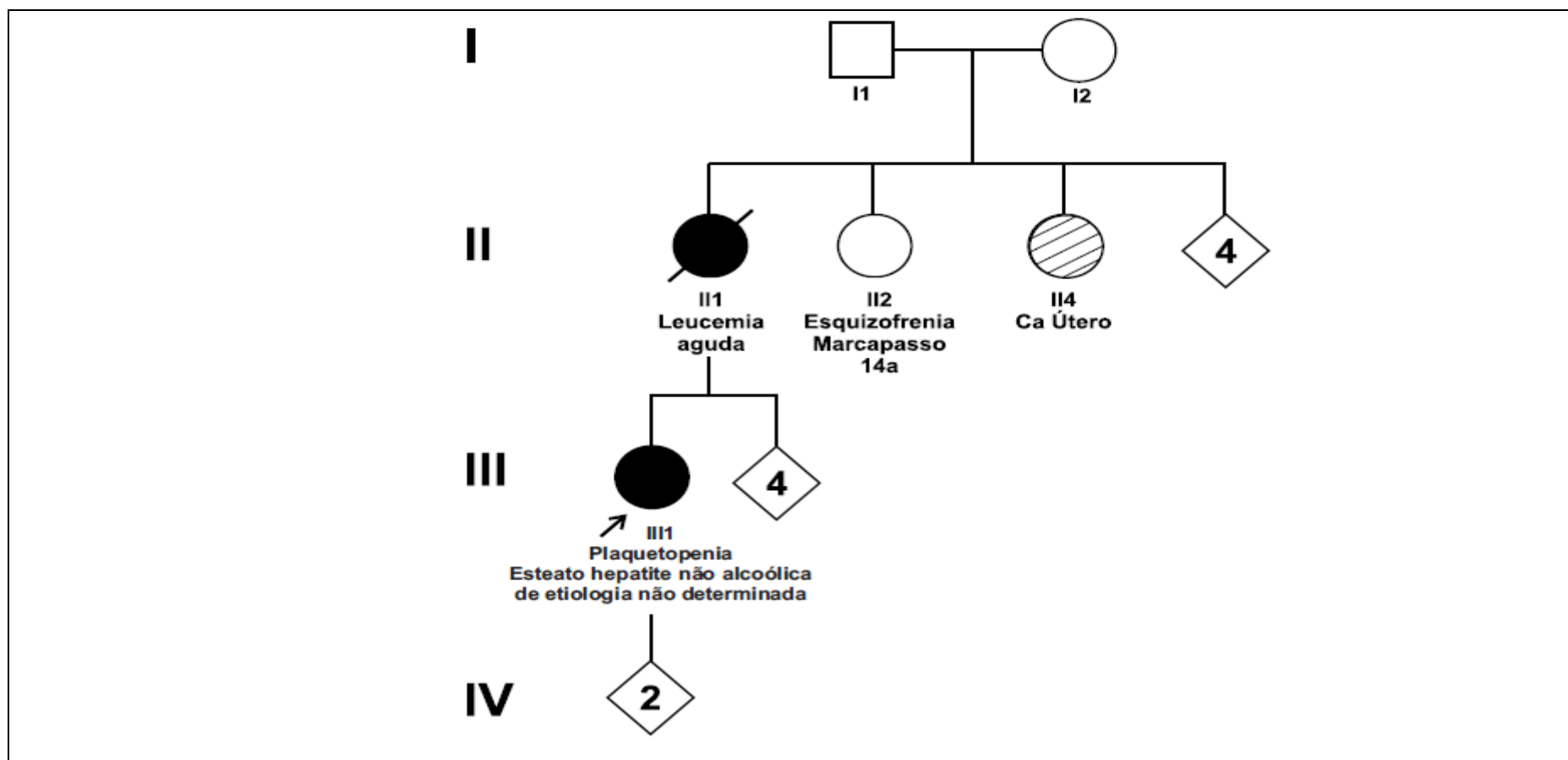
Após 6 anos a paciente evoluiu com hemorragia digestiva alta. A Endoscopia digestiva alta descreveu gastropatia hipertensivo portal intensa e varizes esofagianas, mostrou gastropatia hipertensiva portal intensa e bulbite erosiva. A paciente evoluiu com ascite volumosa e hemorragia digestiva, insuficiência hepática, cirrose hepática CHILD B7. As sorologias para hepatite B, C e HIV 1 e 2 permaneciam negativas. O novo US de abdômen revelou um fígado reduzido de tamanho, esplenomegalia de 16 cm e ascite. Diagnóstico compatível com esteato hepatite não alcóolica de etiologia não determinada.

A análise das variantes observou a presença de variante no gene *GATA2* éxon 2 NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p.Pro5=) sinônima e benigna. (Figura: 29)

História Familiar: (Figura: 28)

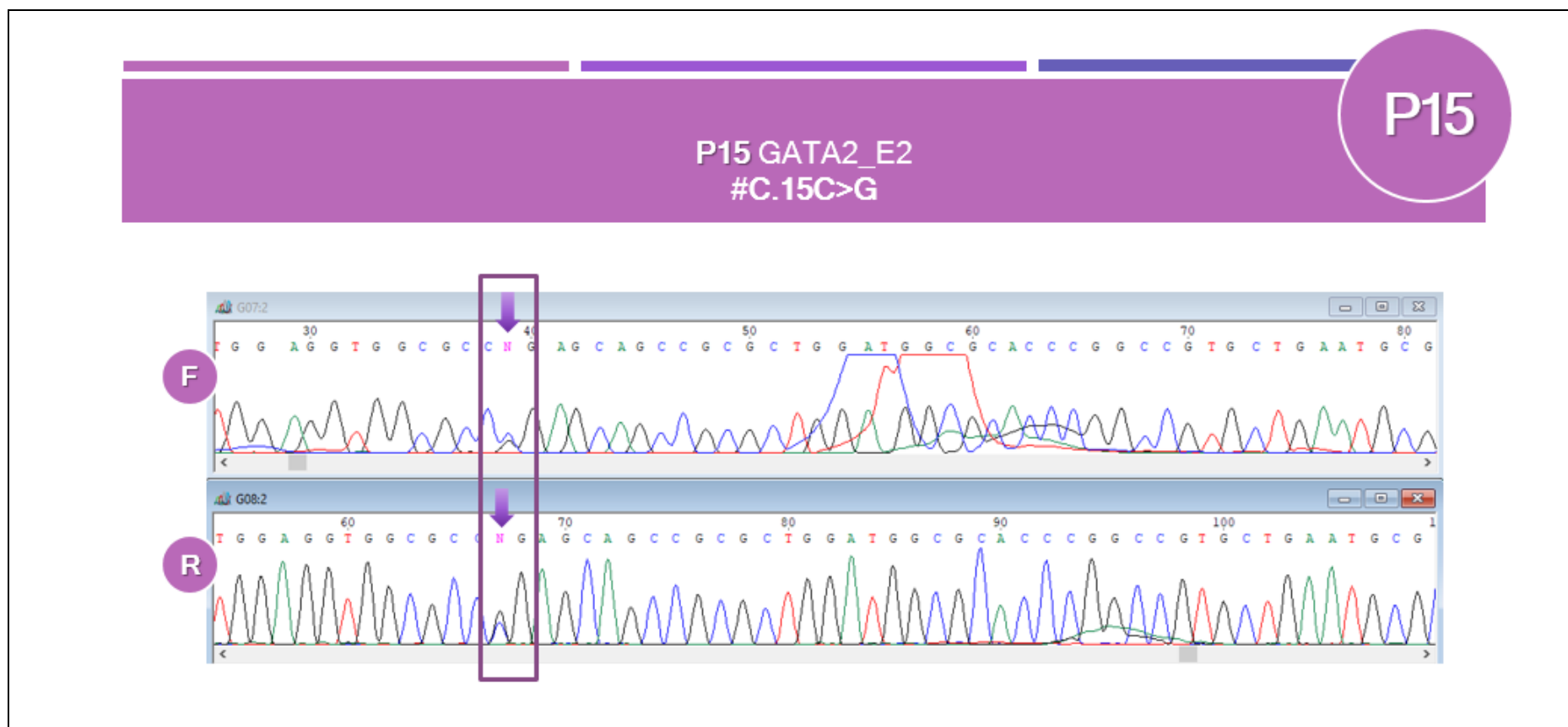
A mãe faleceu de leucemia aguda aos 72 anos. A tia faleceu de câncer de útero.

Figura 25 – Heredograma da família do probando 15:



Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos.

Figura 26 – Eletroferograma do probando 15.



Eletroferograma evidenciando a Variante no gene GATA2 éxon 2 sinônima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.15C>G (p.Pro5=) no probando 15.

P17, feminina, aos 7 anos foi encaminhada à hematologia para avaliação de plaquetopenia. A mãe relatou que durante a gravidez não houve intercorrências e o parto foi normal. A criança ao nascer apresentou cianose no pós-parto. Além disso, foi diagnosticada com estenose pulmonar grave, BAV de primeiro grau com BRD. Foi submetida a valvuloplastia pulmonar no período neonatal sem intercorrências.

Foi investigada para Doença de Von Willebrand que se mostrou sem alteração. O Fator de Von Willebrand: 90,4%, Fator VIII: 130,6%, Cofator de ristocetina: 79,2%. Agregação plaquetária normal (ADP, adrenalina, colágeno, ristocetina, ácido aracdônico e espontânea).

O hemograma inicial na hematologia revelou HTC: 42 %, SEG: 63% LIN: 28%, LEU: 9600; PLQ: 32000 mm³. Observou-se presença de plaquetas gigantes. INR 1,15.

A avaliação pela reumatologia observou FAN negativo e ANTI-DNA positivo. Foi então iniciado Hidroxicloroquina 400 mg/dia.

A paciente apresentou dificuldade de aprendizado. Evoluiu com 2 crises convulsivas tratadas inicialmente com fenobarbital e a seguir substituído por Depakene para evitar piora da plaquetopenia.

A paciente durante a adolescência apresentou metrorragia volumosa. A avaliação pela ginecologia não revelou anormalidades que pudessem explicar o quadro. Foi então iniciado anticoncepcional oral contínuo para controle de metrorragia.

O Eco não havia obstrução na artéria pulmonar, insuficiência de valva pulmonar rmoderada a importante. Ventrículo Direito aumentado com função normal. Foi mantida sem medicação cardiológica.

A biópsia de medula óssea revelou (i) medula óssea hipocelular (ii) Hiperplasia de megacariócitos (iii) discreta hiperplasia granulocítica e eritrocítica. (iv) Presença de dismorfias acentuadas em megacariócitos e leves em granulócitos.

A análise das variantes observou a presença de variante no gene *GATA2* éxon 2 NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p.Pro5=) sinônima e benigna. (Figura: 31)

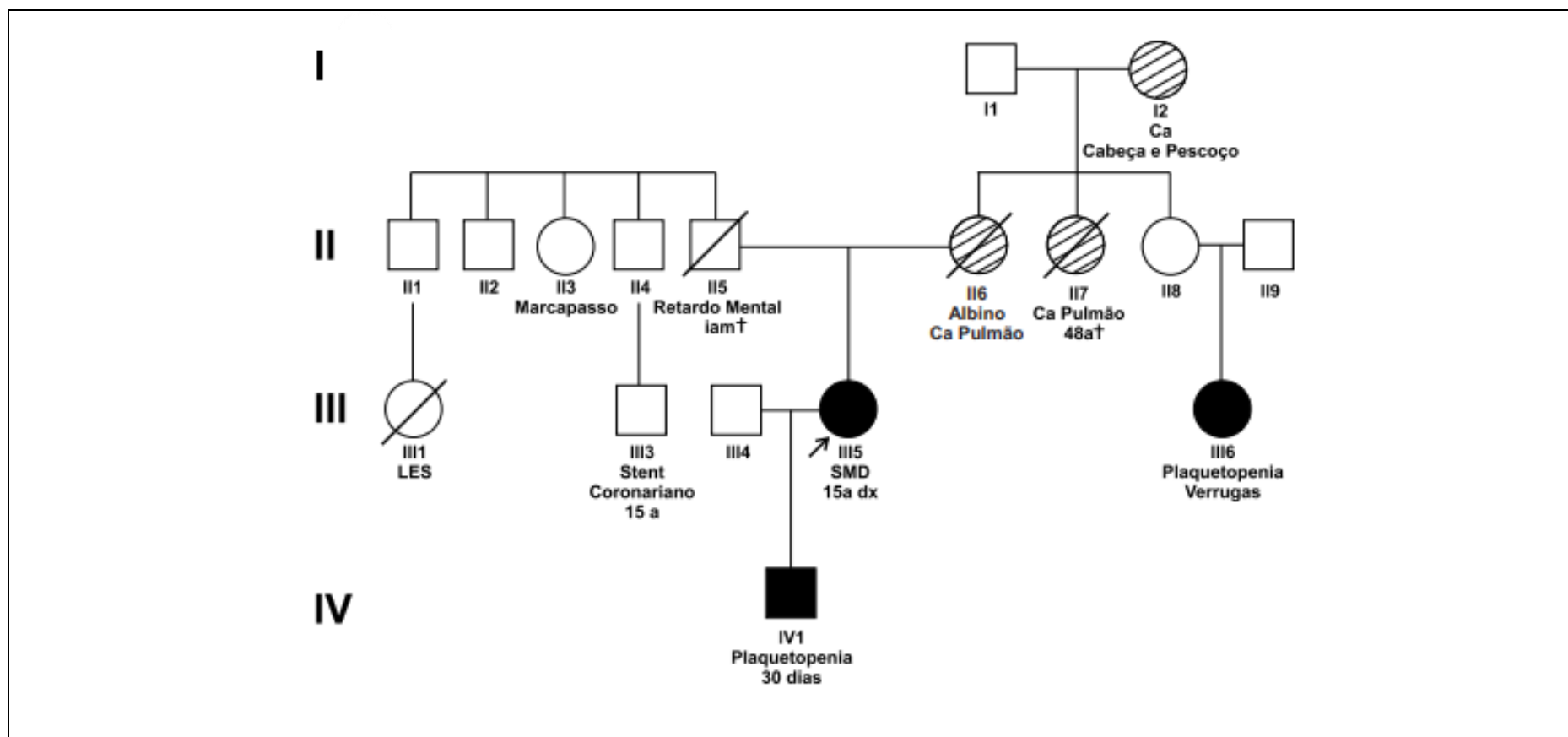
História familiar: (Figura: 30)

Uma prima materna com plaquetopenia e verrugas, um tio materno faleceu de câncer de pulmão aos 48 anos, avó materna teve câncer de cabeça e pescoço, tio materno faleceu de câncer

de pulmão aos 48 anos, prima implantou *stent* coronariano aos 15 anos e a mãe portadora de albinismo faleceu de câncer de pulmão.

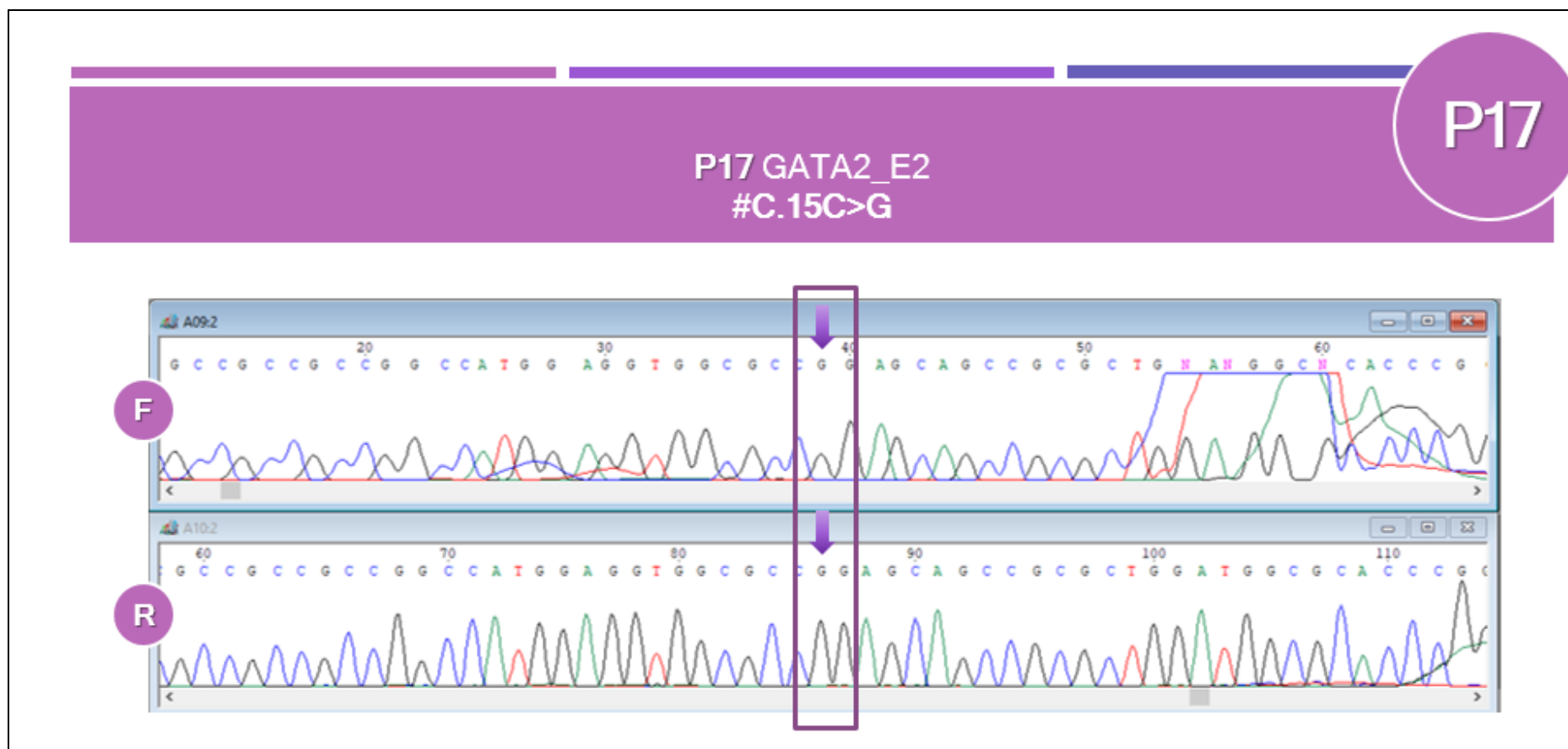
O filho recém-nascido teve plaquetopenia ao nascer que se resolveu após suspensão do aleitamento materno. Esse episódio foi creditado ao uso de anticonvulsivante pela mãe.

Figura 27 – Heredograma da família do probando 17.



Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos.

Figura 28 – Eletroferograma do probando 17.



Eletroferograma evidenciando a Variantedo gene GATA2 éxon 2 sinônima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.15C>G (p.Pro5=) no probando 17.

P18, feminina, aos dois anos e cinco meses foi encaminhada à hematologia para investigar anemia, neutropenia associada a alergia alimentar e atraso global do desenvolvimento.

A mãe relatou que desde o quinto dia de vida a paciente apresentou diarreia aquosa com sangue com até trinta episódios diários, associados a vômitos em jato em grande quantidade após a alimentação, broncoespasmo com secreção abundante branca e hialina. O broncoespasmo piorou com o início da ingesta de leite em pó artificial.

A paciente foi internada sete vezes por pneumonia, com necessidade de suporte de terapia intensiva, associada à neutropenia febril e síndrome anêmica grave com necessidade de suporte transfusional.

O hemograma da admissão revelava: HGB: 9,1 HTC: 28%, VCM: 99, LEUCO: 2400 mm³, SEG: 192mm³, PLQ: 211000.

Os hemogramas seriados subsequentes afastaram neutropenia cíclica.

Ao exame físico havia uma mancha café com leite em abdômen, baixa estatura e atraso global do desenvolvimento da linguagem e psiconeuromotor.

A criança foi encaminhada para investigação de síndrome genética. O quadro era compatível com o diagnóstico de Síndrome Shwachman-Diamond. A α 1 antitripsina era menor que 0,10.

A biópsia de medula óssea evidenciava (i) diminuição das três séries hematopoiéticas com 50% de tecido adiposo. (ii) Presença de micromegacariócitos em meio a outros apoptóticos. (iii) acentuada diminuição granulocítica terminal. (iv) Presença de precursores granulocíticos isolados esparsos fora da região trabecular. (v) Coloração para ferro na medula: ausente. (vi) Medula óssea com achados compatíveis com mielodisplasia.

O mielograma evidenciava (i) medula óssea normocelular. (ii) setor megacariocítico: normal. (iii) setor eritroide: 14% megaloblástico. (iv) setor mieloide: 61%, megaloblástico e com parada maturativa em metamielócito. (v) setor linfoide: 25%. (vi) Relação mieloide/eritroide: 4.3. (vii) medula óssea com alterações megaloblásticas de setor mieloide e eritroide comparada maturativa em metamielócito.

A citogenética em células de medula óssea mostrou cariótipo 46,XX [20].

A imunofenotipagem apresentou achados compatíveis com mielodisplasia.

O sangue periférico apresentou (i) anisopoiquilocitose, microcitose, macrocitose 2+, raros esquizócitos. (ii) leve policromasia. (iii) Plaquetas morfológicamente normais. (iv) neutrófilos com morfologia de pseudo Pelger-Huet. (v) Presença de duas células características imaturas, cromatina frouxa, nucléolos evidentes, citoplasma abundante.

Foi iniciado Fator de Crescimento de Colônia de Granulócito (GCSF) duas vezes por semana com normalização temporária da contagem de leucócitos e neutrófilos (LEU: 4210 mm³, SEG: 1530 mm³).

LPC, feminina, sete anos e onze meses, meia irmã paterna de P18 foi encaminhada à pediatria para investigação de telarca e pubarca precoce. A mãe relatava que surgiram pelos longos havia um ano. Ao nascer apresentou icterícia tratada com fototerapia, permaneceu internada na UTI por onze dias.

Após quatro meses da avaliação inicial não houve progressão dos estágios de Tanner e nas consultas subsequentes evoluiu com puberdade fisiológica. Sendo estabelecido o diagnóstico de puberdade precoce.

Foi encaminhada à hematologia para investigação de neutropenia.

Os hemogramas subsequentes seriados afastaram neutropenia cíclica.

Ao exame físico havia duas manchas café com leite.

A biópsia de medula evidenciou (i) medula óssea hipocelular, 50% de tecido adiposo com relação G:E mantida com formas maduras. (ii) raras células imaturas no interstício. (iii) alguns megacariócitos atípicos e hipolobulados e hipercromasia.

O Mielograma apresentou-se (i) levemente hipocelular. (ii) Setor eritroide e granulocítico: preservados, eosinofilia discreta. (iii) Setor megacariocítico com presença de micromegacariócitos.

A citogenética apresentou padrão feminino normal 46,XX.

A morfologia do sangue periférico apresentou atipia linfocitária sem alterações nos granulócitos.

A Imunofenotipagem apresentou alterações que poderiam ser decorrentes de síndrome mielodisplásica, mas que poderiam ser encontradas em medula óssea em regeneração pós-infecção ou reacional.

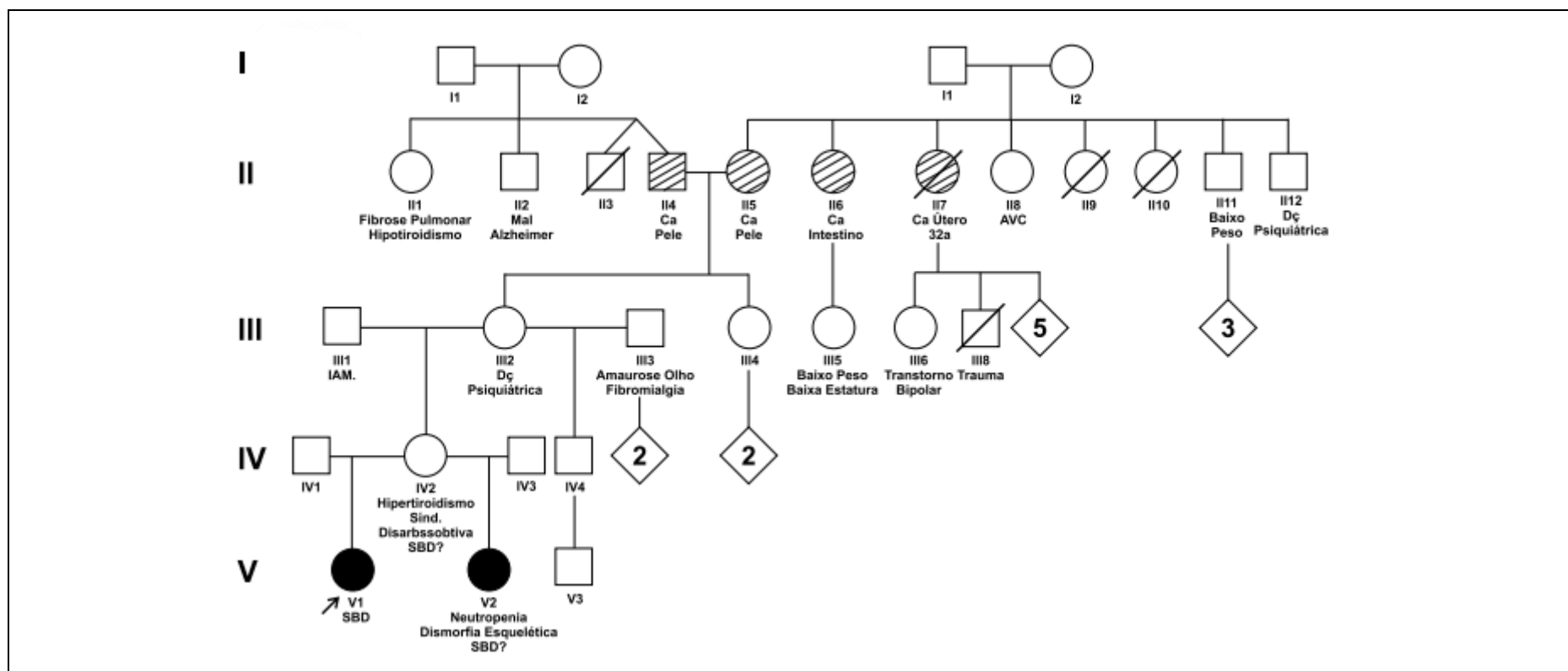
A segunda biópsia de medula encontrava-se hipocelular.

Não se conseguiu, por razões técnicas, sequenciar o gene *GATA2* e *RUNX1* neste probando.

História familiar: (Figura: 32)

A meia irmã apresenta neutropenia crônica não cíclica. A mãe tem história de dois abortamentos no primeiro trimestre de gravidez. É portadora de hipertireoidismo desde os dezoito anos e síndrome disabssortiva em investigação para SSD. O avô paterno faleceu de câncer de pâncreas aos 52 anos. II1 fibrose pulmonar. II5 câncer de pele II7 faleceu de câncer de útero aos 32 anos II11 baixo peso III5 baixo peso e baixa estatura.

Figura 29 – Heredograma da família do probando 18.



Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos.

P20, feminina, 5 anos, foi encaminhada à hematologia para investigação plaquetopenia. Não relatou história de sangramento.

O hemograma evidenciou HGB: 12,4 g/dL, HTC: 37,6 %, LEU: 6980 mm³ (0/1/0/0/43/48/8), PLQ: 103.000 mm³.

A biópsia de medula óssea apresentou (i) 60-70% de celularidade com distribuição topográfica e maturação nas linhagens eritroide e mieloide. (ii) Presença de megacariócitos com alterações (hipolobulados, micromegacariócitos e grupamentos anômalos). (iii) Sem alteração de fibras reticulares. Não evidenciado necrose ou fibrose. (iv) O quadro compatível com mielodisplasia.

A Citogenética não apresentou metáfase. O FISH foi negativo para monossomia do cromossomo 7.

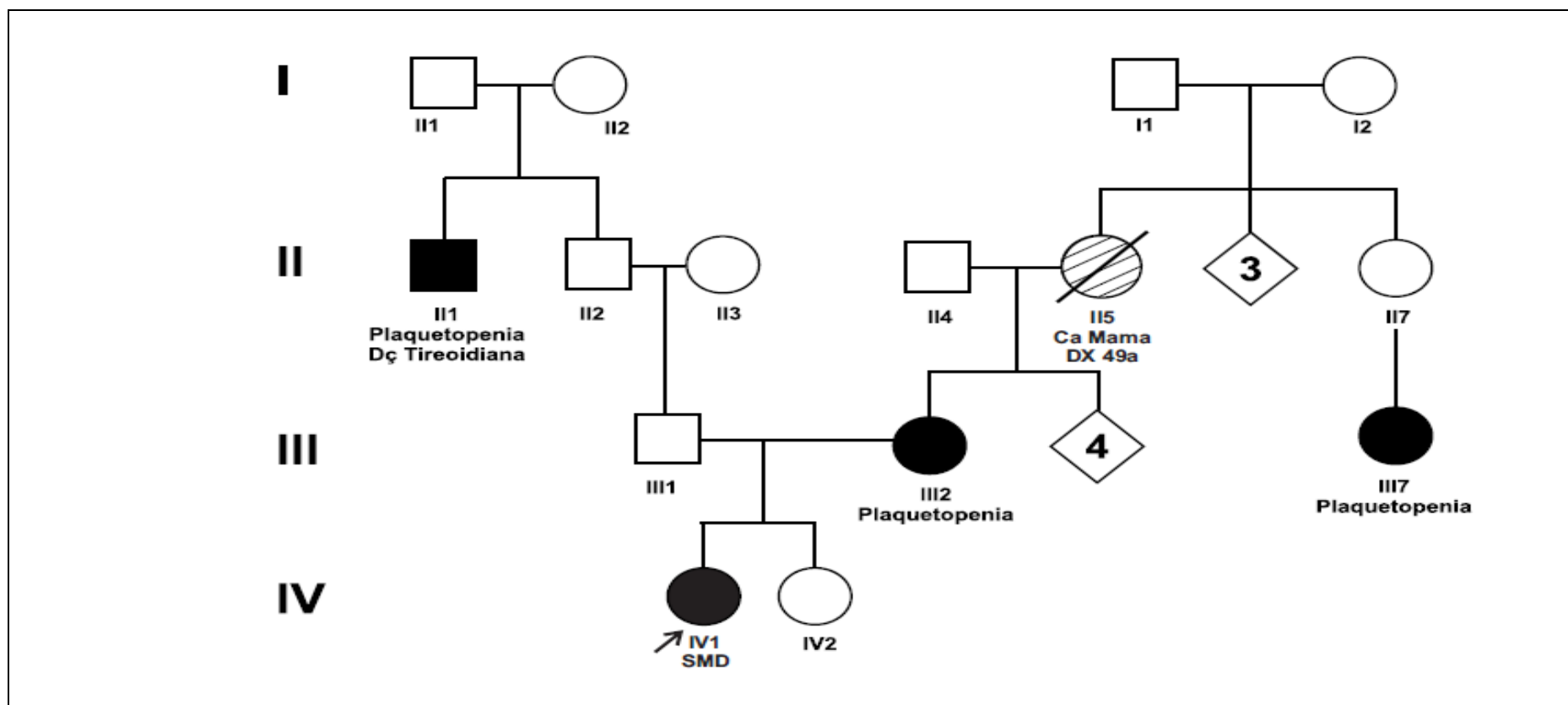
Imunofenotipagem: Medula óssea com distribuição celular exibindo: (i) linhagem monocítica exibindo assincronismo maturativo (ganho precoce de CD14 desde as formas imaturas), (ii) percentual elevado de células precursoras mieloides comprometidas com a linhagem neutrofílica (CD34+/CD13+) (iii) série eritróide exibindo megaloblastose e assincronismo maturativo. Achados compatíveis com mielodisplasia.

A análise das variantes observou a presença de variante no gene *GATA2* éxon 2 NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p.Pro5=) sinônima e benigna. (Figura: 33)

História familiar: (Figura: 32)

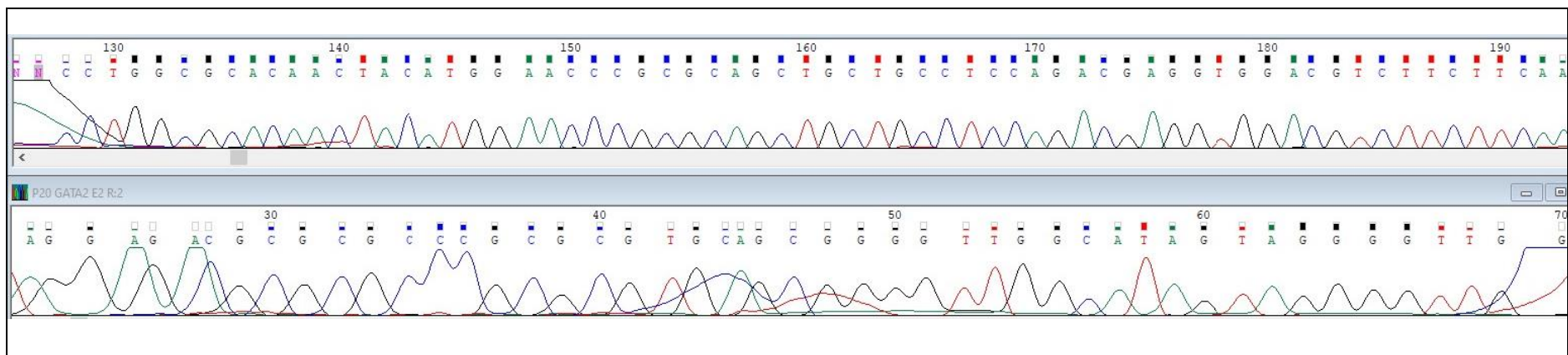
A mãe apresentava plaquetopenia (46000 mm³). O tio-avô paterno com plaquetopenia. A avó materna faleceu de câncer de mama aos 49 anos. A prima materna de segundo grau com plaquetopenia.

Figura 30 – Heredograma da família do probando 20.



Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos.

Figura 31 – Eletroferograma do probando 20.



Evidencia variante do gene *GATA2* éxon 2 NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p.Pro5=) sinônima e benigna no probando 20.

P22, feminina, 83 anos, foi encaminhada à internação na clínica médica para investigação de síndrome consumptiva, astenia, alteração de hábito intestinal e anemia. À admissão evidenciava síndrome anêmica com HTC: 10% e HGB: 3,3 g/dL. Não havia sinal de exteriorização de sangramento.

Tratava-se de paciente hipertensa, diabética insulínica e coronariopata. Com história de carcinoma folicular de tireoide tratada com tireoidectomia total, câncer de mama tratado com radioterapia e quimioterapia aos 73 anos. Realizou transplante de córnea esquerda e mastectomia direita. Negou infarto do miocárdio ou acidente vascular cerebral prévios. Realizou cateterismo cardíaco, mas não sabia informar se foi realizada angioplastia.

A paciente foi encaminhada à hematologia para investigação de anemia macrocítica e leucopenia.

A investigação para síndrome anêmica evidenciou anemia macrocítica, reticulócitos de 0,9 com ausência de sinais de hemólise e cinética de ferro normal.

A endoscopia digestiva alta revelou pangastrite enantematosa leve e a tomografia de abdome e tórax sem alterações sugestivas de neoplasia. USG com leve hidronefrose esquerda e vesícula biliar repleta de cálculos.

Os exames laboratoriais: VHS: 138 mm, Reticulócitos: 1,5% HGB: 6,8 g/L, HTC: 21%, VCM: 109, LEU: $2560 \times 10^9/L$, SEG: 2188, PLQ: $186000 \times \text{mm}^3$, INR: 1, Ferro: 151 $\mu\text{mol/L}$, TBIC: 201 mcg/dL, Ferritina: 725,1 pmol/L, haptoglobina: 196 mg/dL, B12: 2000 pmol/L, Ácido Fólico: $>20 \text{ ng/L}$, LDH: 341 U/L.

O quadro clínico era sugestivo de anemia refratária. A biópsia de medula não foi realizada pela extrema fragilidade da paciente.

A paciente foi mantida com suporte transfusional e Eritropoietina 20.000 ui/semana que foi aumentada para 40.000ui/semana com pouca resposta. A paciente manteve-se com alta dependência transfusional e veio a falecer de disfunção de múltiplos órgãos e sistemas aos 86 anos.

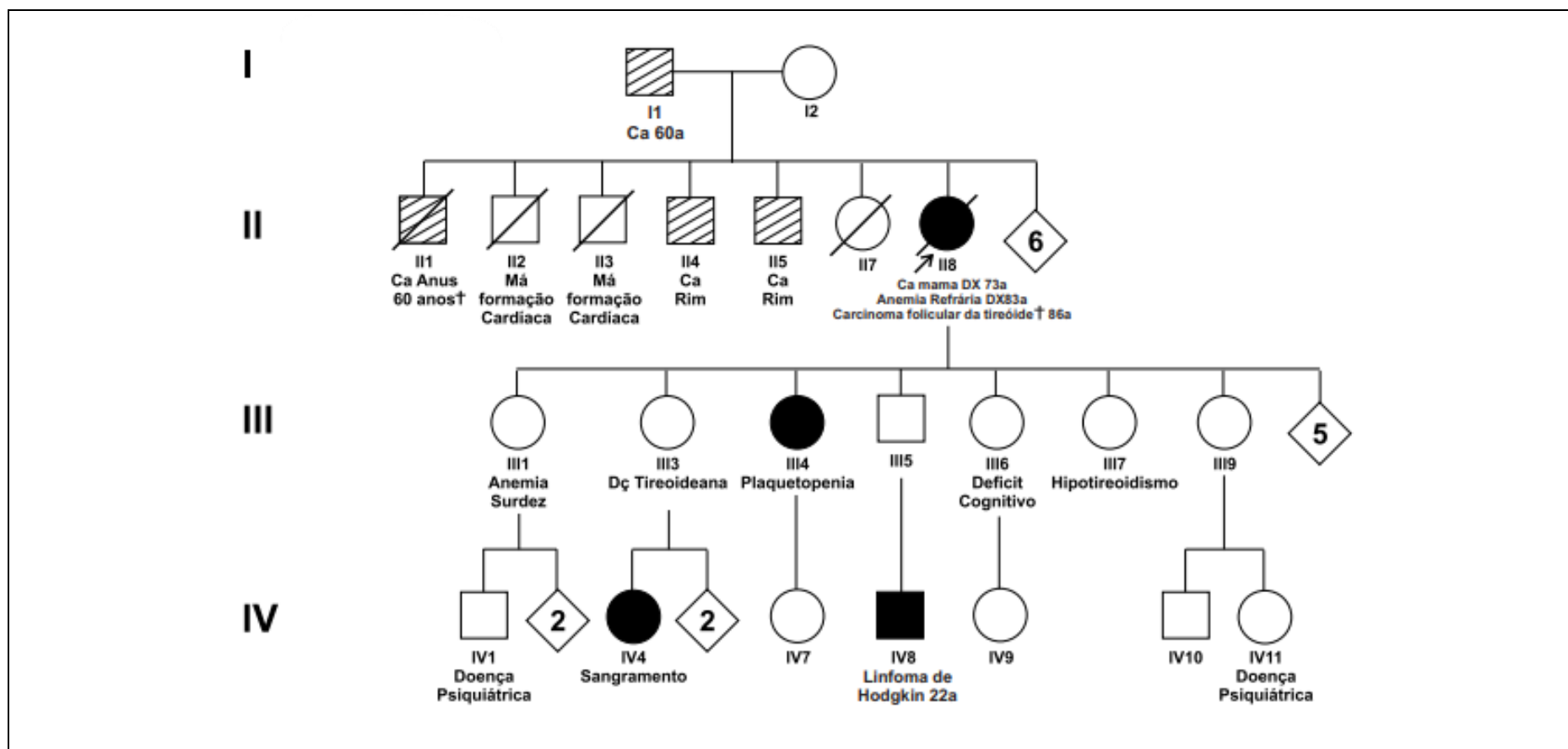
A análise das variantes observou a presença de variante no gene *GATA2* éxon 2 NM_032638.5(*GATA2*): c.15C>G (p. Pro5=) sinônima e benigna. (Figura: 35)

História familiar: (Figura: 34)

A probando com anemia refratária, câncer de mama e carcinoma folicular de tireóide.

O irmão II1 faleceu de câncer de ânus aos 60 anos, II2 faleceu de má formação cardíaca, II3 faleceu de má formação cardíaca, II4 teve câncer de rim, II8 apresentava plaquetopenia, III1 apresentava anemia e surdez, III4 apresentava plaquetopenia, IV 4 apresentava perfil hemorrágico e IV8 apresentou Linfoma de Hodgkin.

Figura 32 – Heredograma da família do probando 22.



Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos.

Figura 33 – Eletroferograma do probando 22.



Eletroferograma evidenciando a Variante no gene *GATA2* éxon 2 sinônima / benigna NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p.Pro5=) no probando 22.

P23, feminina, oito anos, branca, foi encaminhada à hematologia para investigação de plaquetopenia e metrorragia. A paciente nasceu sem anormalidades e com um mês apresentou pneumonia grave com necessidade de internação em UTI. Evoluiu com duas paradas cardíacas e encefalopatia anóxica que resultou em sequelas motoras. Não houve sequelas cognitivas.

A paciente fazia uso de anticoncepcional injetável orientado pelo pediatra para controle da metrorragia. O hemograma apresentava HGB: 13,9 mg/dL, HTC: 43,2%, Leuco: 14800 mm³, SEG: 8800 mm³, PLQ: 38000 mm³.

A primeira biópsia de medula óssea realizada revelou (i) presença de 3 séries hematopoiéticas em proporções habituais (ii) alguns megacariócitos evidenciavam alterações da lobulação.

O mielograma apresentava (i) medula óssea hipocelular (ii) presença de megacariócitos. Relação G:E: 1: 5,16. (iii) Maturação sequencial. (iv) Hipoplasia do setor eritróide.

A segunda biópsia de medula óssea apresentava (i) 7 espaços intertrabeculares, (ii) hipocelular, com 50% de celularidade. (iii) Série megacariocítica: normocelular, com atipias nucleares (núcleos hipolobulares e separados) (iv) Presença de micromegacariócitos e alguns micromegacariócitos agrupados. (v) Setor eritroide: discreta hipoplasia, maturação focal megaloblástica, por vezes com agrupamentos com mais de vinte células. (vi) Setor granulocítico com discreta hipoplasia. Relação G:E: 2:1. (viii) CD34+ 1-2%. (ix) P53 negativo. (x) Reticulina negativa (xi) achados compatíveis com mielodisplasia.

A Imunofenotipagem apresentou-se (i) sem infiltração leucêmica com poucos precursores mielóides e linfóides (dilucional?), (ii) diminuição relativa do setor linfóide B (achado incomum em PTI).

A citogenética em células de medula óssea mostrou cariótipo 46,XX [20].

A paciente realizou primeiro curso de corticóide com boa resposta, mas houve queda logo a seguir. No ano seguinte realizou novo curso de corticóide houve resposta parcial com subsequente perda da resposta. Como havia recebido vacina há 7 dias e teve infecção de via aérea superior foi reiniciado corticoterapia.

A paciente teve pequena lesão infecciosa cutânea (abcesso) em mama tratada com ciprofloxacina. O hemograma dessa ocasião revelava HTC: 37,5%, VGM:80,8 fL, PLQ: 22000 mm³, VMP: 10,2 fL, Leuco: 8800 mm³, SEG: 54% LIN: 29%. Após 10 dias evoluiu com plaquetopenia grave e sangramento espontâneo. A investigação diagnóstica revelou coinfeção

pelo Parvovírus B19 e Covid 19 que foi tratada com dois ciclos de imunoglobulina humana, corticóide e anticoncepcional oral. Após este tratamento o hemograma era: HTC: 42,4%, LEU: 16.00 mm³, SEG: 68%, LIN: 29%, MONO 15%, PLQ: 111000 mm³.

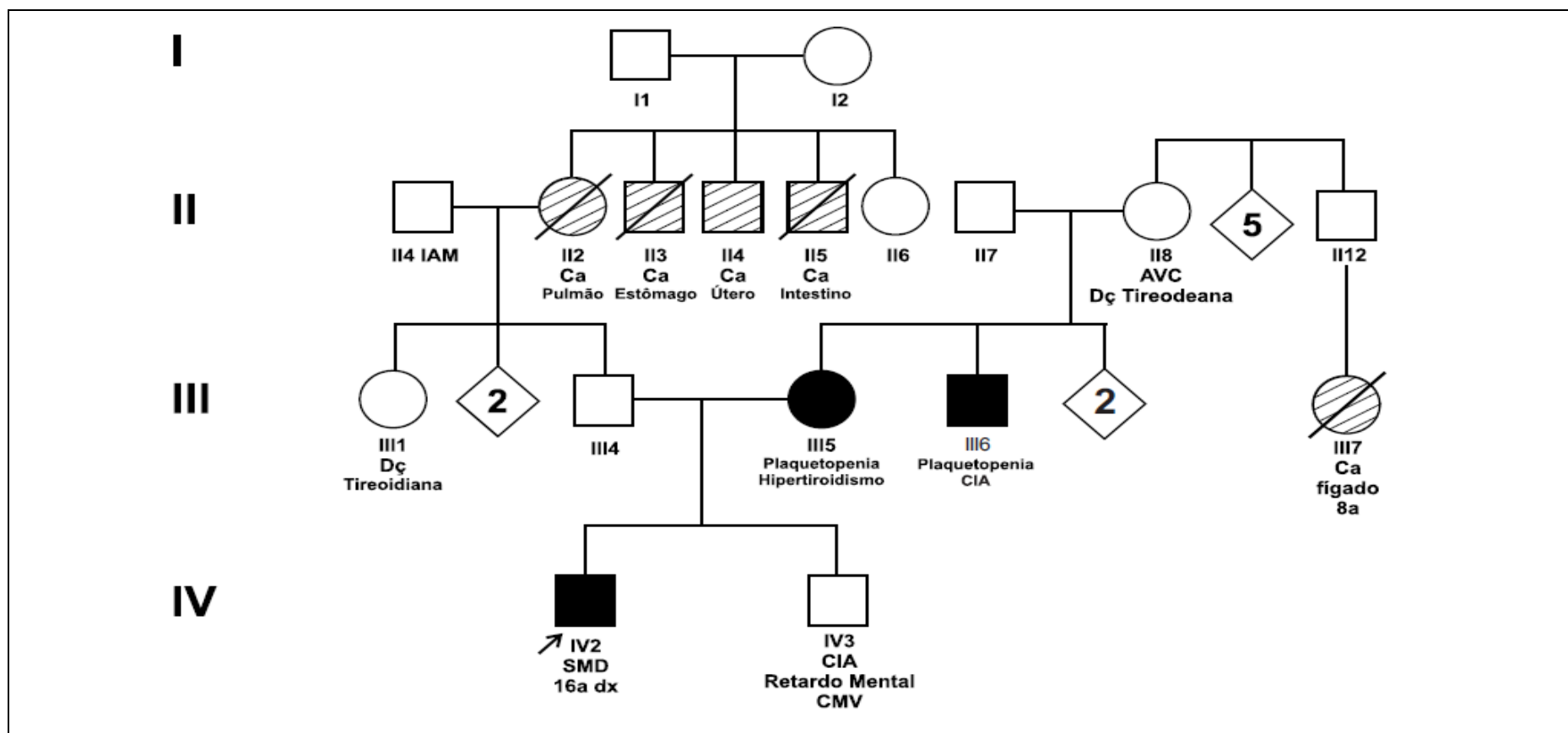
A análise das variantes observou-se a presença de variante no gene *GATA2* éxon 2 NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p.Pro5=) sinônima e benigna. (Figura: 37)

História Familiar: (Figura: 36)

A mãe apresentava discreta plaquetopenia no hemograma: HTC: 36,9%, VGM: 80,6 fL, PLQ: 173000 mm³, LEU: 10200mm³, LIN: 38%. A avó apresentava história de plaquetopenia e bócio mergulhante. A tia avó materna com câncer de mama. Uma prima materna de segundo grau falecida aos 8 anos de câncer de fígado. A avó paterna faleceu de câncer de pulmão. O tio avô faleceu de câncer de estômago, tia avó faleceu de câncer de útero, tio avô faleceu de câncer de intestino e prima faleceu aos 52 anos de câncer de mama.

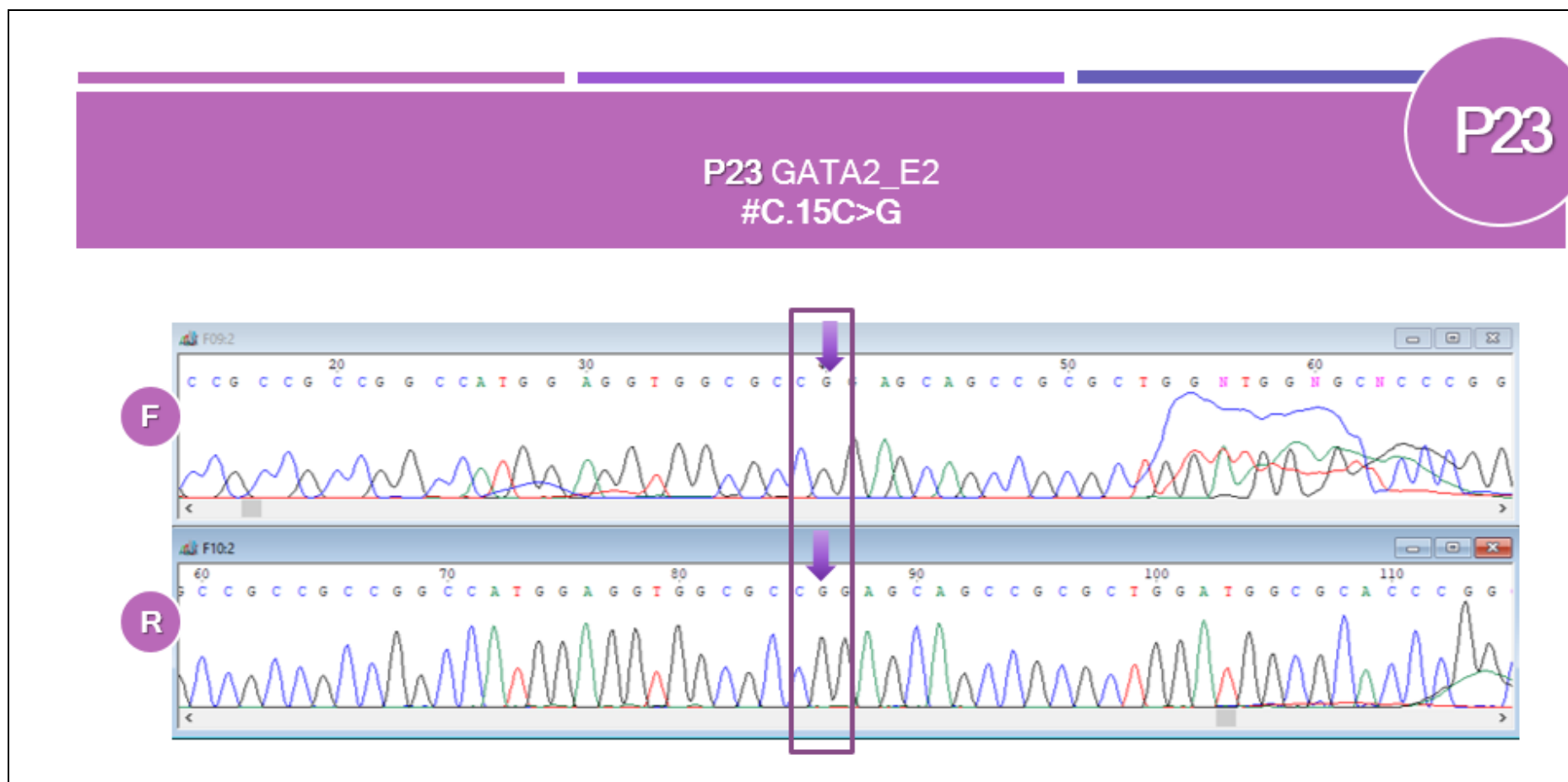
Um tio com discreta plaquetopenia e doença do coração: HTC: 40,9%, HEM: 4600000, HGB: 13,1 g/dL; LEU: 9600 mm³; PLQ: 166000 mm³, EOSINO: 3%; BASTÃO: 2%; SEG: 83%; LIN: 11%; MONO: 1%.

Figura 34 – Heredograma da família do probando 23.



Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos. CIA: comunicação interatrial; CMV: infecção pelo Citomegalovírus.

Figura 35 – Eletroferograma do probando 23.



Eletroferograma evidenciando a Variante no gene GATA2 éxon 2 sinônima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.15C>G (p.Pro5=) no probando 23.

6.1.2. Grupo B

Este grupo foi formado por pacientes referenciados para investigar e tratar neoplasias hematológicas como linfomas, mieloma múltiplo, leucemia aguda e doenças mieloproliferativas (síndrome hipereosinofílica). Durante o curso do acompanhamento verificou-se a presença de familiares portadores de doenças hematológicas.

P2, feminina, 44 anos, foi encaminhada à hematologia para investigação de eosinofilia ($6000/\text{mm}^3$) associada a pneumonia de repetição com 17 anos de evolução.

A paciente foi fumante passiva por muitos anos (não sabia precisar exatamente quantos anos).

A radiografia de tórax evidenciava condensação não-homogênea de lobo superior direito e nódulos pulmonares bilaterais. A tomografia de tórax evidenciou lesão intersticial difusa, com bandas parenquimatosas nas bases, espessamento dos septos interlobulares, áreas de opacidade em vidro fosco esparsas e sobretudo subpleurais. Pequenos nódulos esparsos em ambos os pulmões. Linfonodos mediastinais menor que 1 cm e outro para-aórtico de 1,6 cm.

A prova de função respiratória revelou distúrbio ventilatório restritivo leve, capacidade de difusão do monóxido de carbono normal. O exame parasitológico foi positivo para *estrongilóides*.

Realizou biópsia pulmonar compatível com pneumonia eosinofílica. Fez uso de prednisona 20 mg por 4 meses com boa resposta clínica.

A Tomografia de Tórax após o início da corticoterapia mostrou redução das dimensões das múltiplas opacidades com densidade de partes moles, outras em vidro-fosco, de contornos irregulares, algumas associadas a áreas em vidro fosco no parênquima pulmonar adjacentes, difusamente distribuídas em ambos os pulmões. Não foram caracterizadas consolidações e houve redução das áreas de infiltrado em vidro fosco.

A paciente foi mantida em acompanhamento conjunto com a pneumologia em uso de doses variáveis de prednisona via oral (10 a 40 mg) e corticóide inalatório e permanece sem sinais de exacerbação aguda com reversão da hipereosinofilia. Observou que após o início de corticóide surgiram verrugas de difícil controle em mãos. As lesões permanecem mesmo após diminuição de dose do corticóide e são refratárias ao tratamento dermatológico.

HTC: 41,9%, VGM: 84,3fL, LEU: 9000 mm³, EOS: 0,5 mm³, PLQ: 279000 mm³ e VMP: 6,9fL.

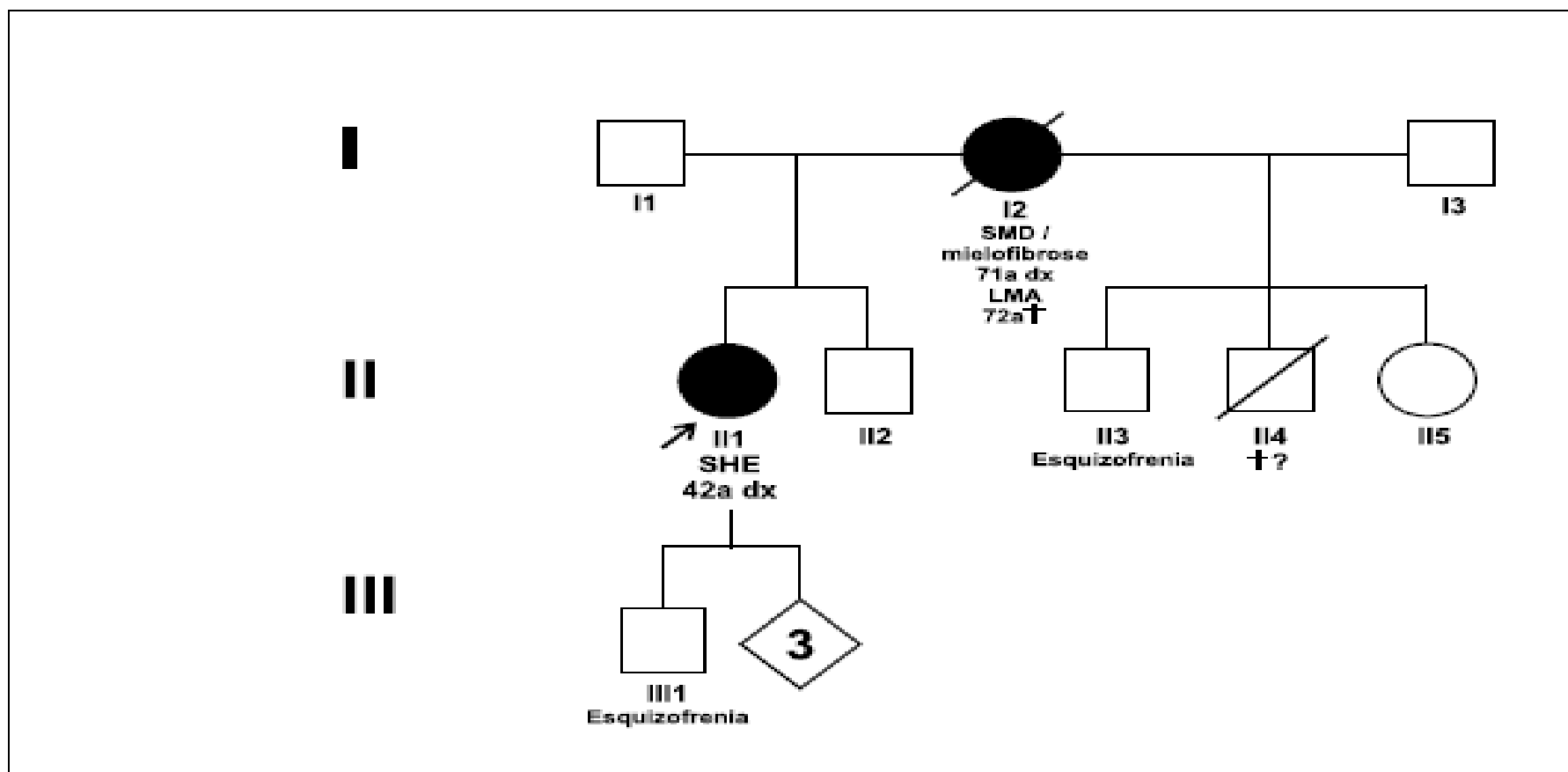
A biópsia de medula revelava: (i) medula óssea normocelular, com 70% de celularidade, (ii) setor eritróide com discreta hipercelularidade, maturação normoblástica, (iii) setor granulocítico normocelular, maturação preservada, relação G: E 4:1, (iv) setor megacariocítico normocelular, megacariócitos mononucleados; o CD61 revela presença de grupamentos de megacariócitos, micromegacariócitos; (v) reticulina MF0. CD34: 1% isolados, ausência de ALIP, ausência de fibrose, coloração Masson negativa.

A análise das variantes verificou a presença de variante no gene *GATA2* éxon2 NM_032638.5(*GATA2*): c.15C>G (p. Pro5=) sinônima e benigna e no gene *GATA2* éxon 3 NM_032638.5(*GATA2*): c.490G>A (p. Ala164Thr) não sinônima e benigna (Figura: 39 e 40).

História familiar: (Figura: 38)

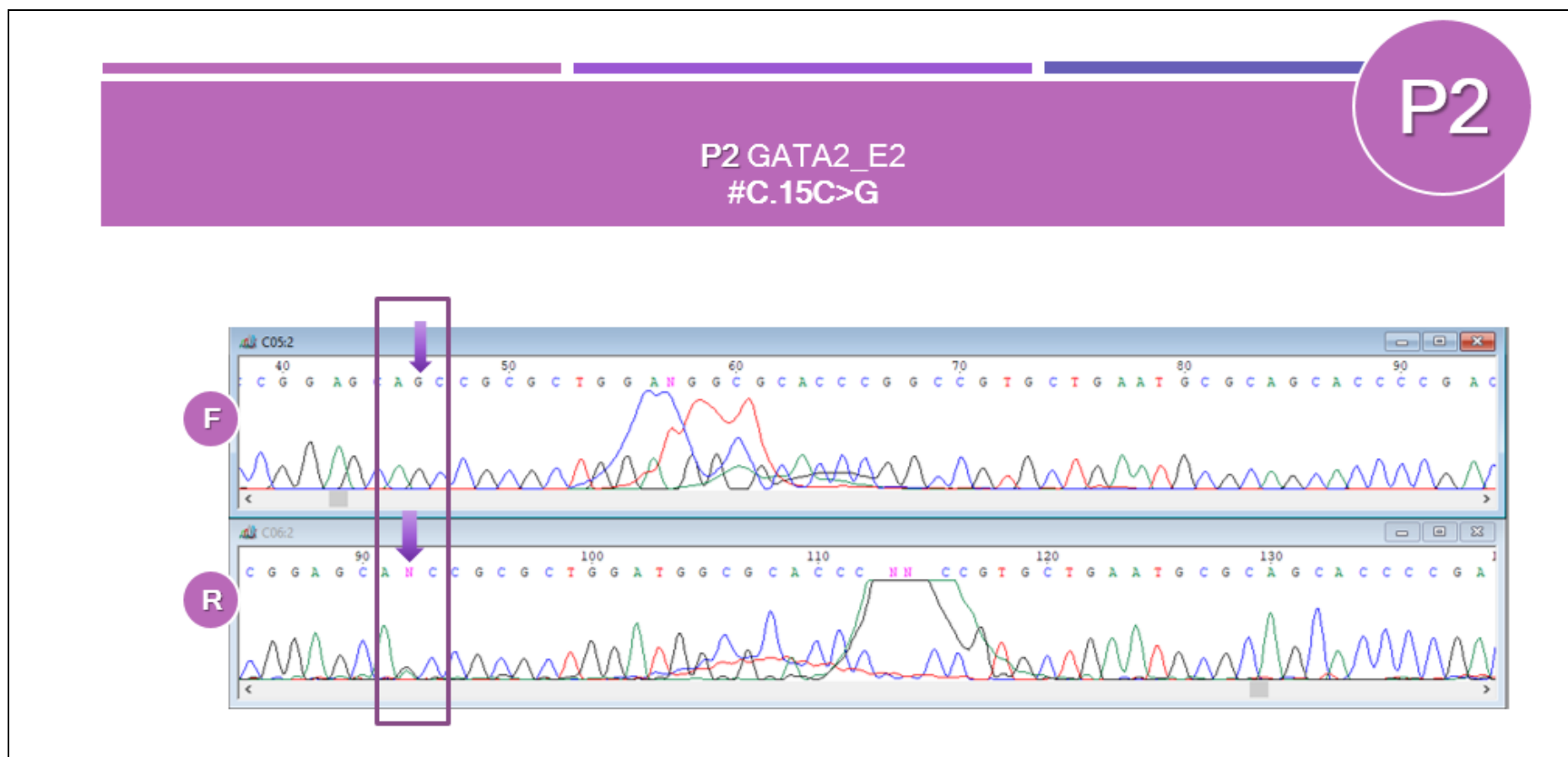
A mãe foi diagnosticada com doença mieloproliferativa. Inicialmente havia dúvida diagnóstica entre síndrome mielodisplásica e mielofibrose. A paciente evolui com LMA e faleceu alguns meses depois por complicações da doença.

Figura 36 – Heredograma da família do probando 2.



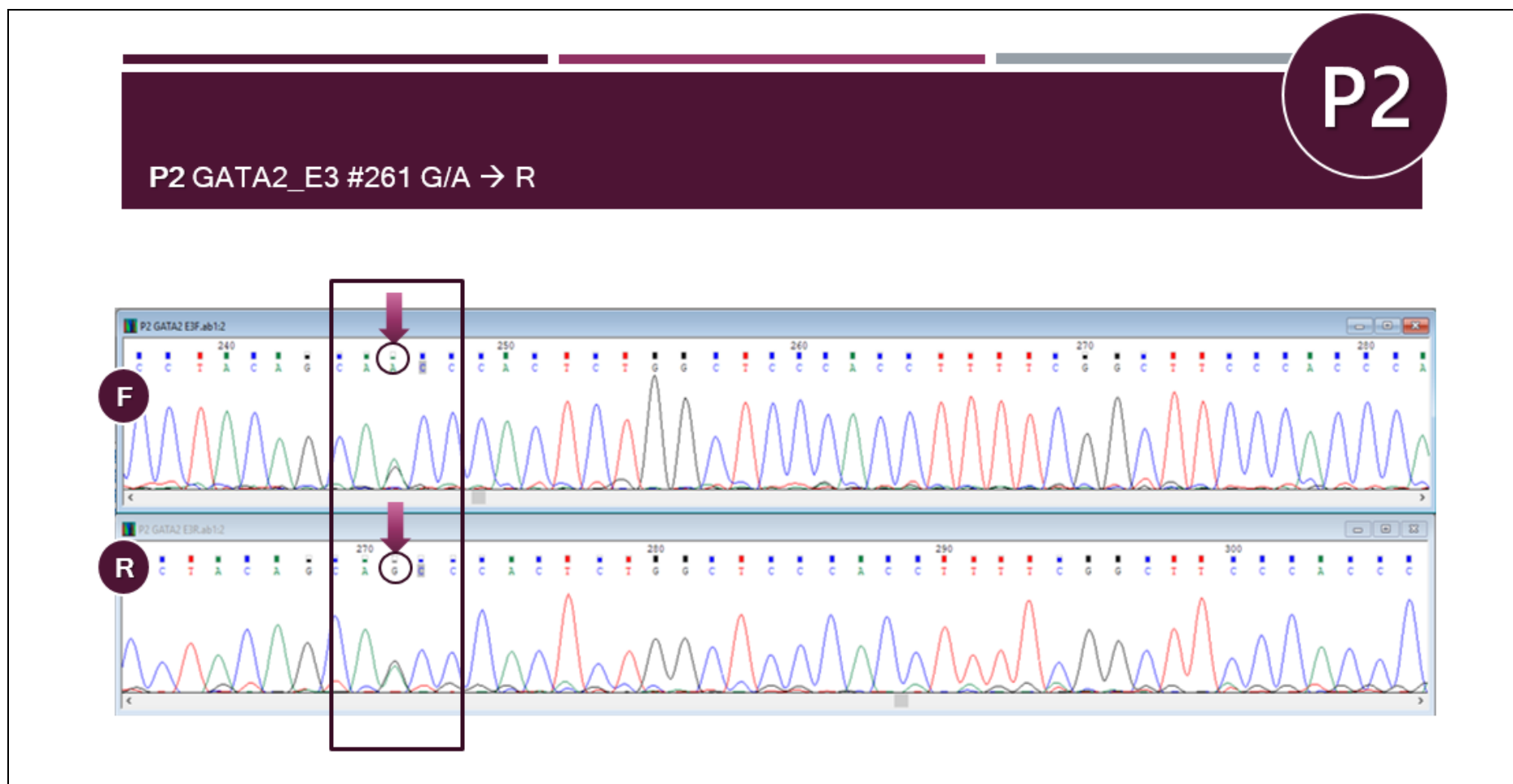
Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos; diamante com número no interior significa número de filhos .

Figura 37 – Eletroferograma do probando 2.



Eletroferograma evidenciando a Variante do gene *GATA2* éxon 2 sinônima / benigna NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p.Pro5=) no probando 2.

Figura 38 – Eletroferograma do probando 2.



Eletroferograma evidenciando a Variante no gene Gata2 éxon 3 não sinonima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.490G>A (p.Ala164Thr) no probando 2.

P6, masculino, 14 anos, branco, foi encaminhado à hematologia para investigação de massa mediastinal. A biópsia revelou tratar-se de Linfoma de Hodgkin (esclerose nodular) Estadiamento: IIIA.

O hemograma de admissão revelava HTC: 47%, SEG: 2200 mm³, LIN: 2000 mm³, PLQ: 202000 mm³.

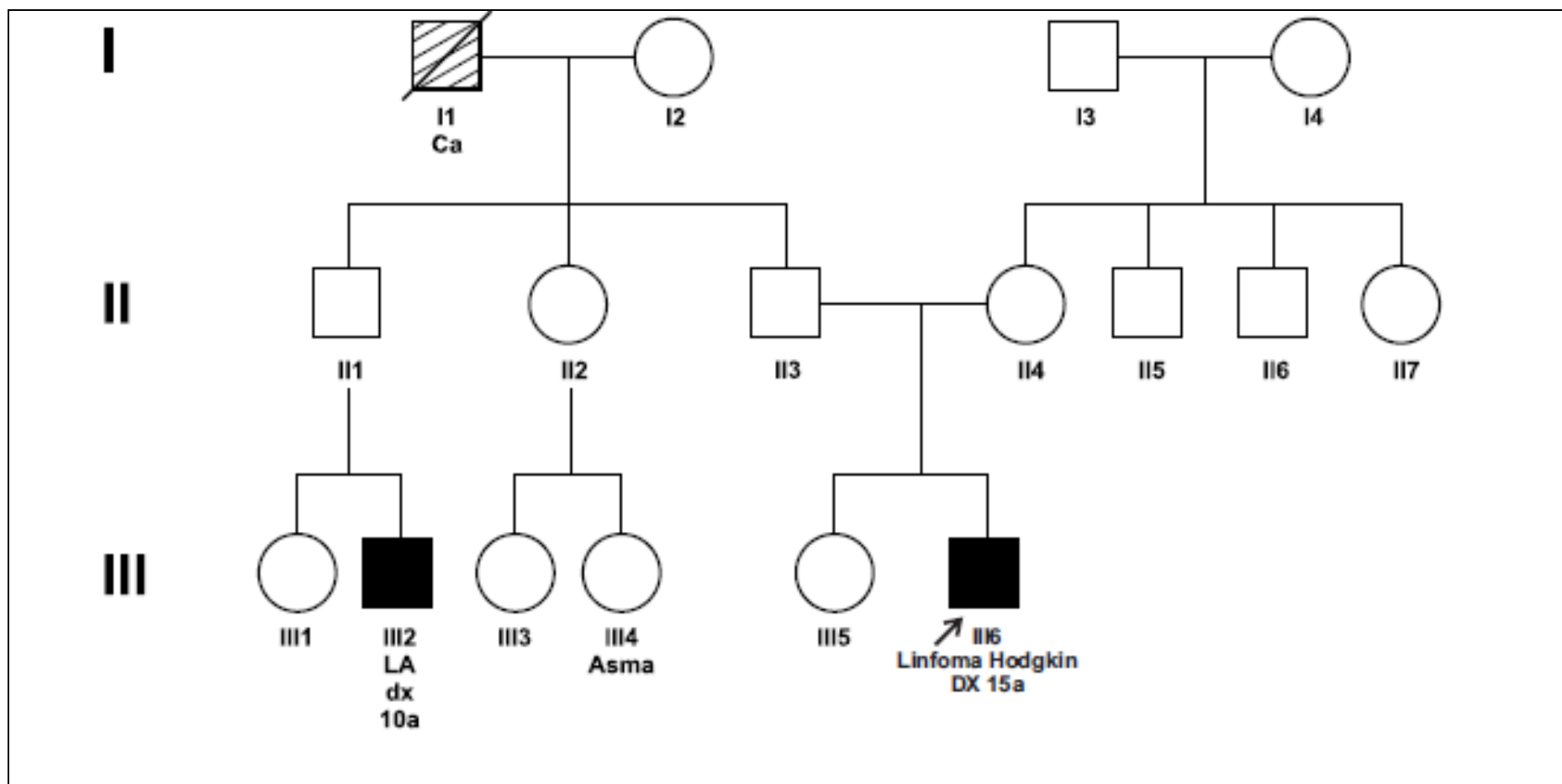
O paciente foi tratado com seis ciclos de quimioterapia composto por Doxorrubicina, Bleomicina, Vimblastina, Dacarbazina (ABVD).

O paciente permanece em remissão completa desde então.

A análise das variantes revelou a presença de variante no gene *GATA2* éxon 2 NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p.Pro5=) sinônima e benigna e a variante no gene *GATA2* éxon 3 NM_032638.5(*GATA2*):c.490G>A (p.Ala164Thr) não sinônima e benigna. (Figura: 42 e 43)

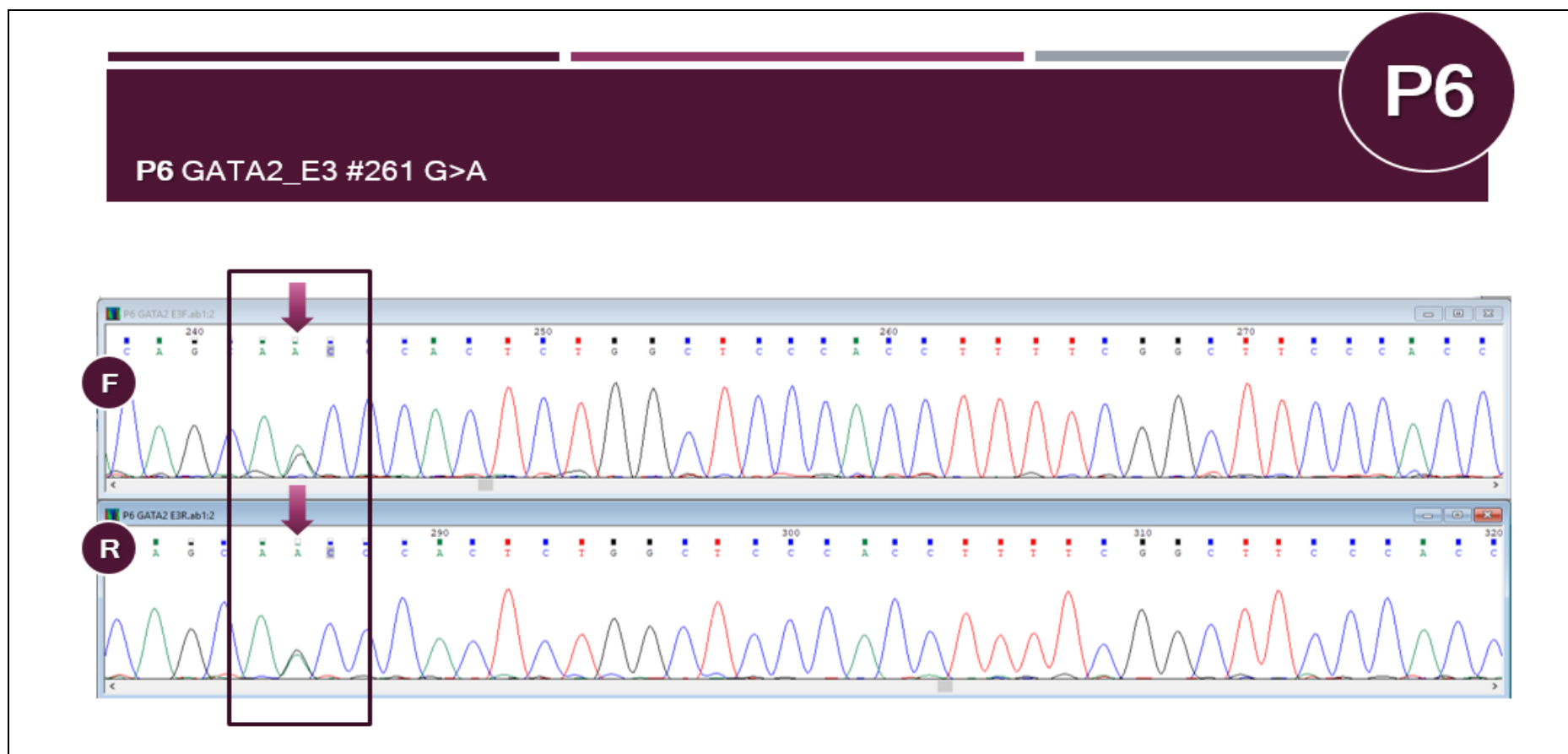
Na história familiar seu primo de primeiro grau (III2) teve o diagnóstico de leucemia aguda aos 10 anos. (Figura: 41)

Figura 39 – Heredograma da família do probando 6.



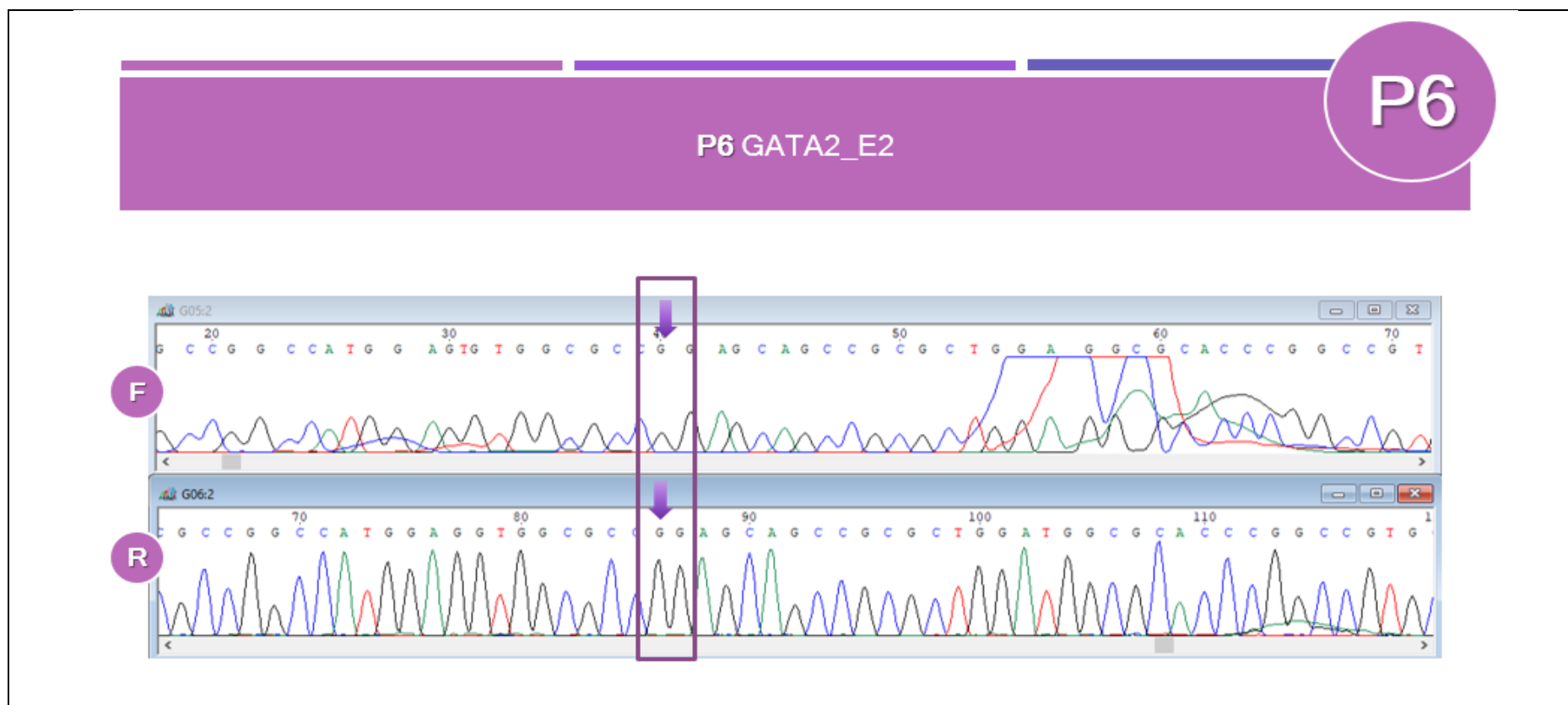
Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos.

Figura 40 – Eletroferograma do probando 6.



Eletroferograma evidenciando a Variante no gene *Gata2* éxon 3 não sinonima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.490G>A (p.Ala164Thr) no probando 6.

Figura 41 – Eletroferograma do probando 6.



Eletroferograma evidenciando a Variante do gene *GATA2* éxon 2 sinônima / benigna NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p.Pro5=) no probando 6.

P10, masculino, 46 anos, branco foi encaminhado à hematologia para investigação de pancitopenia. Relatou que evoluiu com cansaço, equimoses frequentes e gengivorragia nos últimos 6 meses. Foi submetido à extração dentária e apresentou sangramento excessivo e dois meses após evoluiu com hematoma e sangramento abundante no local da extração. Foi internado e iniciou-se suporte transfusional e infeccioso.

A investigação diagnóstica revelou tratar-se de LMA M0/M1 CD7+.

A citoquímica revelou PAS difuso fraco, cloroacetato esterase fraco, naftil butirato moderado compatível com LMA M4.

A Imunofenotipagem apresentou (i) 70% de células + para CD13, CD33, CD117, CD34 e HLADR. (ii) Fraco para CD7, CD11 e CD15. (iii) Negativo para CD14, CD8, CD2, CD19 e CD20. (iv) Compatível com LMA M0/M1 com CD7+.

A citogenética em células da medula óssea evidenciou cariótipo 46,XY [26].

A avaliação molecular do rearranjo BCR-ABL [t (9,22)] multiplex negativo e *nested* negativo.

O hemograma da admissão HEM: 3,19 milhões/ μ L, HGB: 8,4 g/dL, HTC: 26,2%, VGM: 86,6 fL, LEU: 4430 $\times 10^9$, BASO: zero, EOS: zero, Promielócitos: zero, Mielócitos: zero, SEG: 22%, LIN: 72%, monócito 5%, PLQ:19800 mm^3 .

Iniciou tratamento quimioterápico para indução de remissão de leucemia com Citarabina e Daunorrubicina e alcançou remissão parcial. A seguir foi tratado com quatro ciclos de citarabina em alta dose e alcançou remissão completa.

Após oito meses evoluiu com recaída hematológica. Foi realizada reindução com dois ciclos de FLAG-IDA. A análise imunofenotípica para pesquisa de doença residual pós-quimioterapia de reindução não observou o perfil LMA M0/M1.

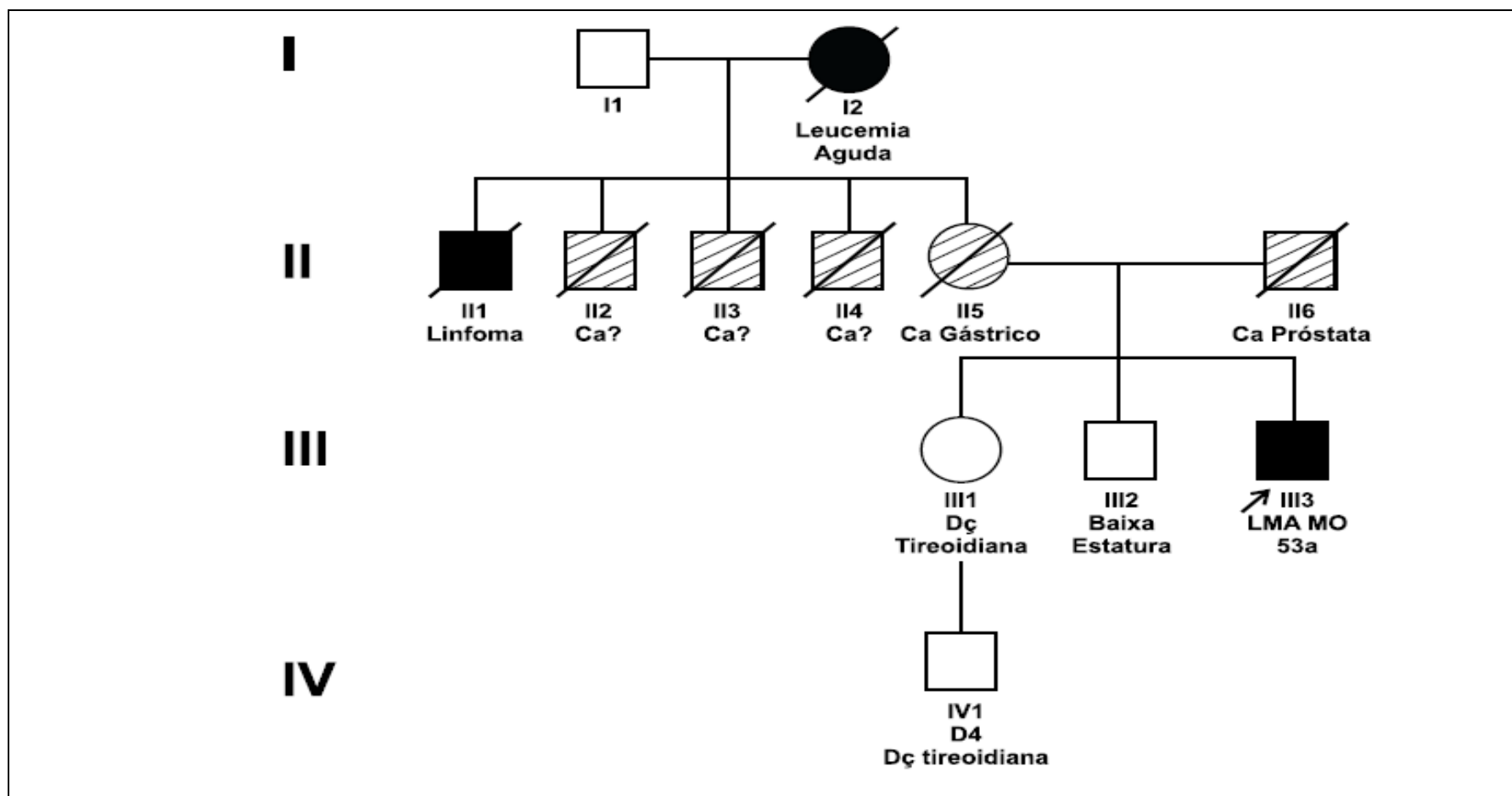
Realizou transplante de medula óssea alogênico aparentado (irmão). Dois anos após o transplante foi verificado quimerismo total. O paciente permanece em remissão completa.

A análise das variantes observou a presença de 3variantes, a saber: no gene *GATA2* éxon2 NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p.Pro5=) sinônima e benigna; variante no gene *GATA2* éxon 3 NM_032638.5(*GATA2*):c.490G>A (p.Ala164Thr) não sinônima e benigna, bem como a variante no gene *RUNX1* éxon 4 NM_001754.5(*RUNX1*):c.303G>T (p.Val101=) sinônima, benigna e provavelmente benigna. (Figura: 45, 46 e 47)

História familiar: (Figura: 44)

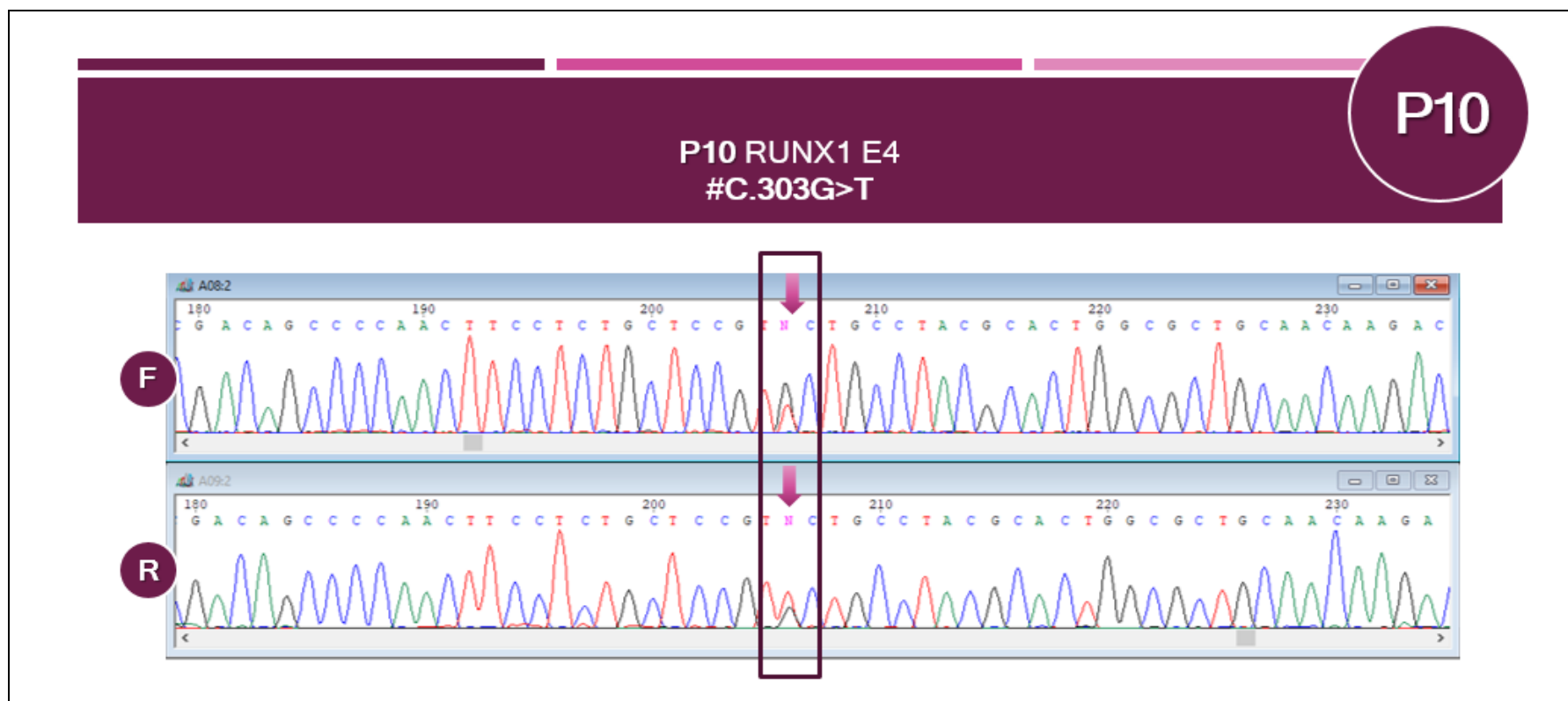
A mãe faleceu de câncer gástrico. O pai faleceu de câncer de próstata. Avó materna faleceu de leucemia. Os três tios faleceram de câncer, porém não soube informar o sítio primário. O tio materno faleceu de linfoma. A irmã com descrição de baixa estatura (sic).

Figura 42 – Heredograma da família do probando 10.



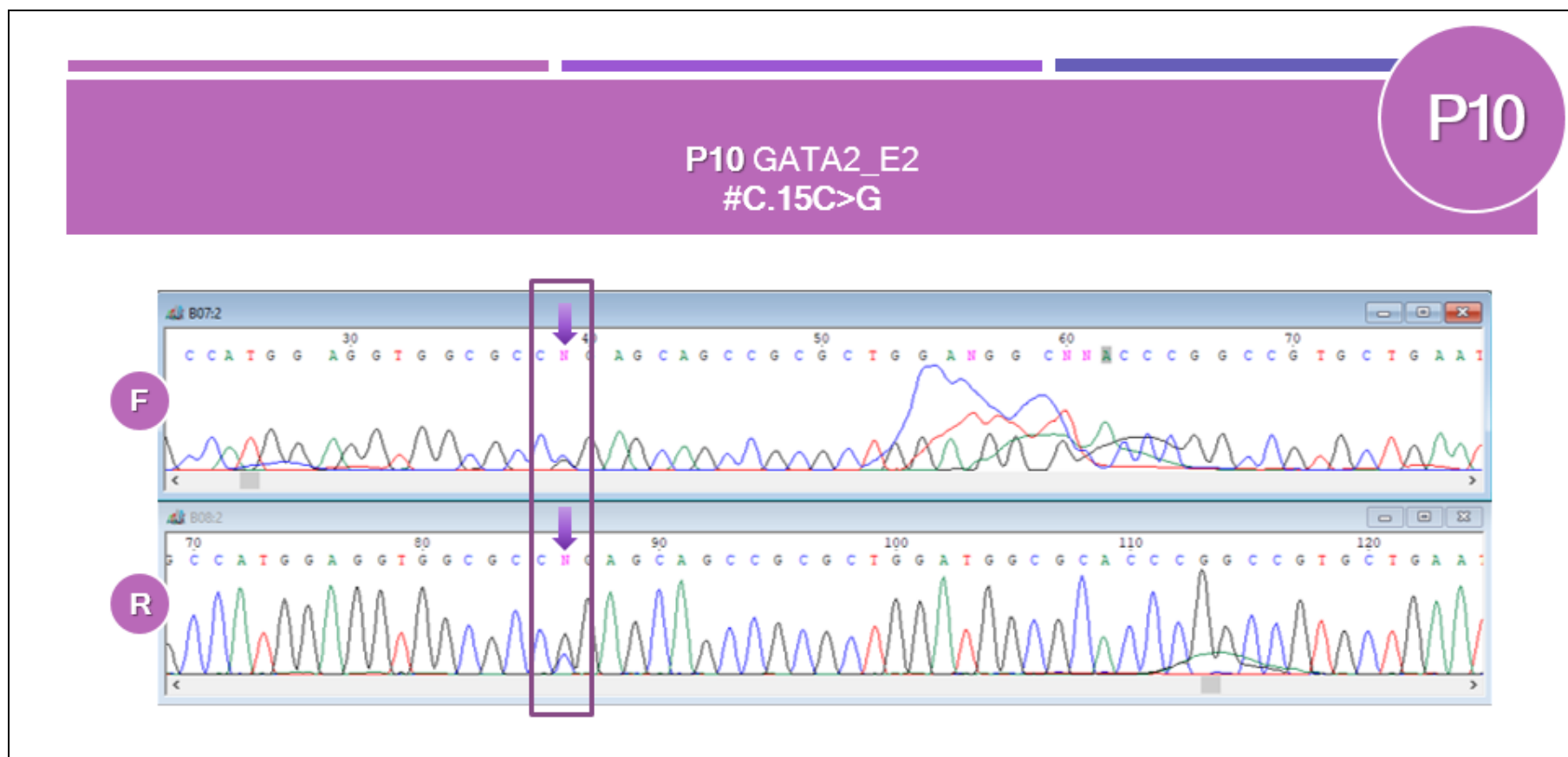
Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos; Ca? Significa indivíduo falecido de câncer de sítio indeterminado.

Figura 43 – Eletroferograma do probando 10.



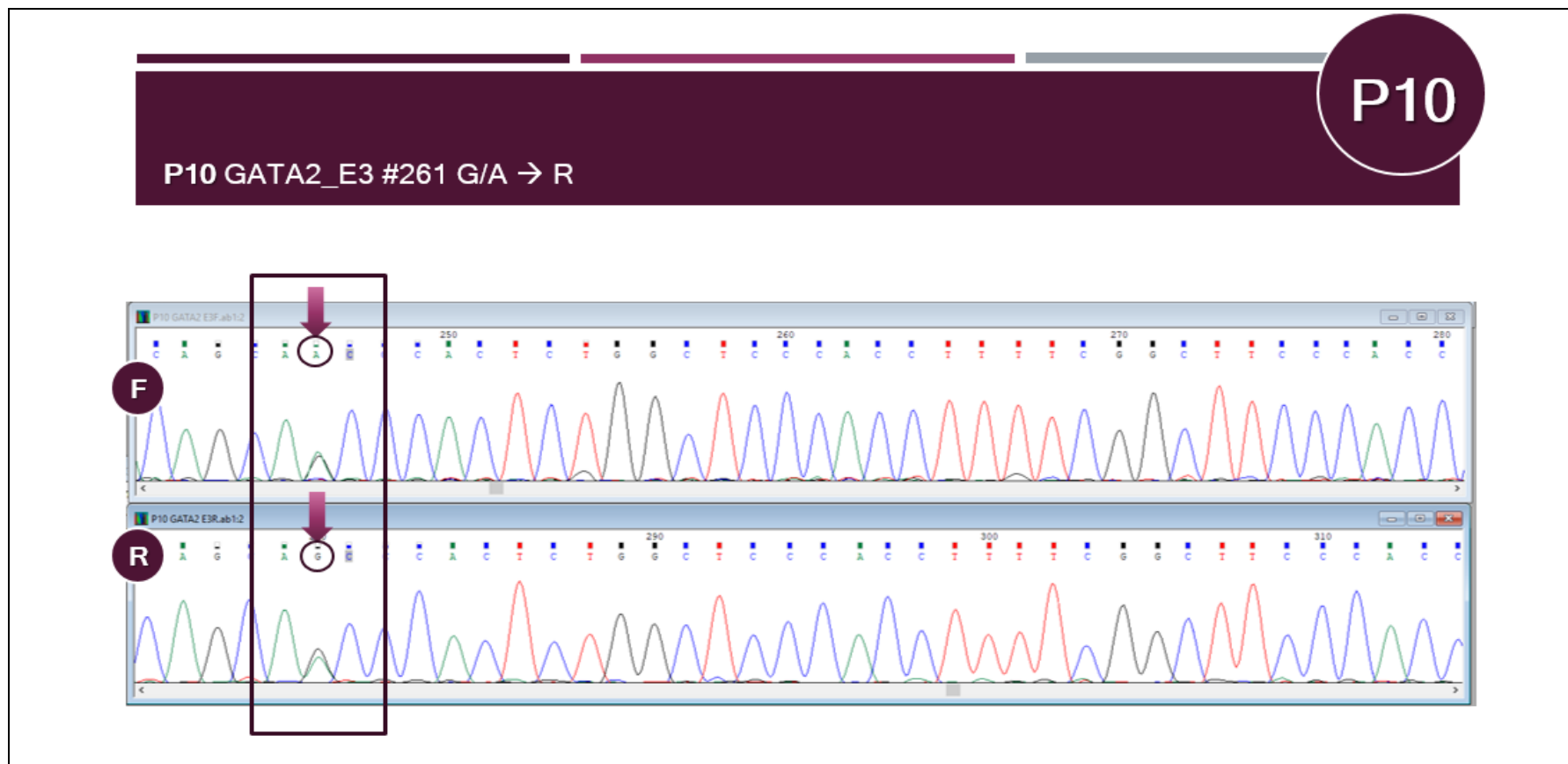
Eletroferograma evidenciando a Variante no gene *RUNX1* éxon 4 sinônima/ benigna/provavelmente benigna NM_001754.5(*RUNX1*):c.303G>T (p.Val101=) no probando 10.

Figura 44 – Eletroferograma do probando 10.



Eletroferograma evidenciando a Variante *GATA2* éxon 2 sinônima / benigna NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p.Pro5=) no probando 10.

Figura 45 – Eletroferograma do probando 10.



Eletroferograma evidenciando a Variante no gene Gata 2 éxon 3 não sinonima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.490G>A (p.Ala164Thr) no probando 10.

P16, feminina, 64 anos foi internada para investigação de bicitopenia, hematêmese, epistaxe e síndrome consumptiva. A paciente evoluíra nas últimas semanas com insuficiência renal estágio V. A paciente tinha história de hipertensão e diabetes há 30 anos em tratamento regular.

O laboratório da admissão evidenciava HGB: 6,5 HTC: 20,3%, LEU: $14800 \times 10^9 /L$, BASTÃO: 2%, SEG: 76 %, PLQ: 83000 mm^3 , INR: 0.8, Ureia: 120 mg/dL, CREA: 3,90 mg/dL, proteínas totais: 7,2 g/dL, albumina: 2,5 g/dL, globulina: 5,4 g/dL.

A eletroforese de proteínas evidenciou pico monoclonal na fração gama, agregando 31,2% e proteína monoclonal de 2,48 g/dL.

A imunoeletroforese revelou presença de bandas monoclonais frente ao antissoro cadeia leve lambda. O diagnóstico era compatível com mieloma múltipla cadeia leve lambda. O inventário ósseo sem evidência de fratura patológica.

Iniciou-se então tratamento quimioterápico com esquema bortezomibe, ciclofosfamida e dexametasona (VCD).

A eletroforese de proteínas séricas após 4º ciclo de quimioterapia apresentou pico monoclonal da fração gama agregando 11,9% com a proteína M: 0,87 g/dL.

Após o 5º ciclo de VCD, a paciente evoluiu com linfonodomegalia em braço direito, região torácica, inguinal esquerda, móveis e indolores. A tomografia evidenciou linfonodomegalia axilar esquerda, massa mediastinal 3,8 x 4.1 cm. Nódulos com densidade de partes moles 3x2 cm subcutâneos em parede abdominal e pélvica, conglomerados inguinais 9,3 x 7 cm, pélvicos (17 x 10cm) fossa ilíaca.

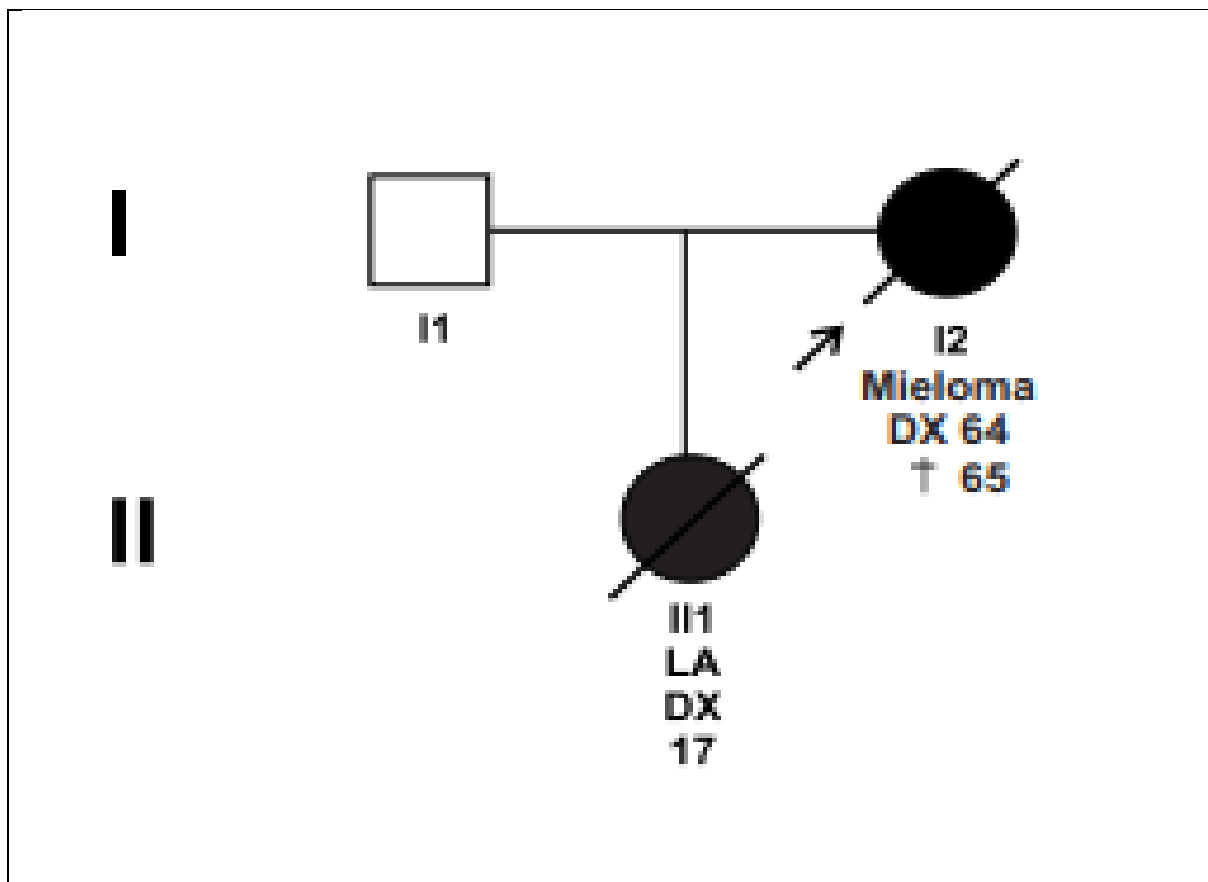
A nova eletroforese apresentou aumento da proteína M: 2,51 g/dL. A paciente foi internada e evoluiu com insuficiência respiratória, choque séptico refratário vindo a falecer.

A análise das variantes observou a presença de variante no gene GATA2 éxon2 NM_032638.5(GATA2):c.15C>G (p.Pro5=) sinônima e benigna. (Figura: 49)

História Familiar: (Figura: 48)

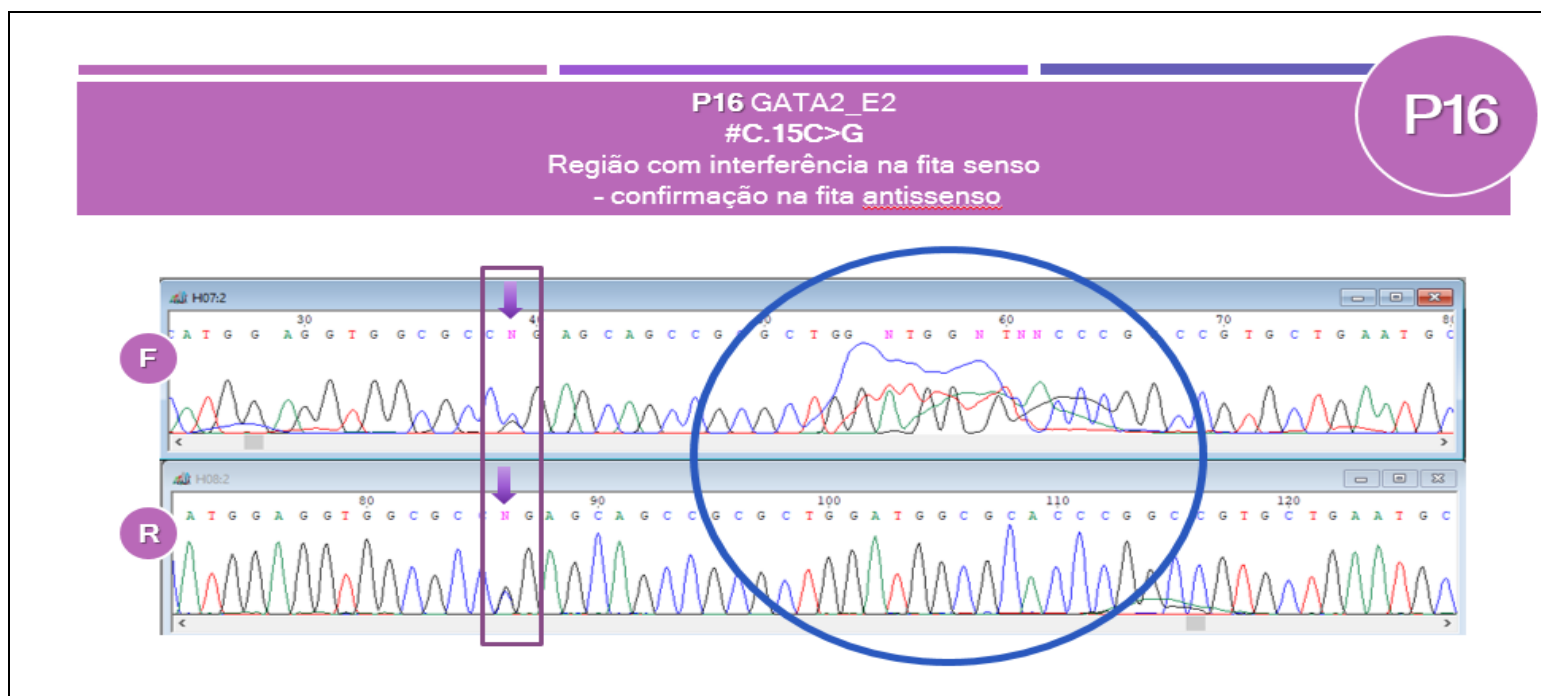
A filha faleceu aos 23 anos de leucemia aguda.

Figura 46 – Heredograma da família do probando 16:



Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos; LA significa leucemia aguda.

Figura 47 – Eletroferograma do probando 16.



Eletroferograma evidenciando a Variante GATA2 éxon 2 sinônima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.15C>G (p.Pro5=) no probando 16. Região com interferência na fita senso teve confirmação na fita antissenso.

P19, feminina, 64 anos, foi encaminhada à hematologia para avaliação de linfadenopatia. Relatou que observou o surgimento de linfonodomegalia, perda de peso, febre e sudorese nos últimos seis meses 6.

A biópsia linfonodal realizada revelou tratar-se de LNH DGCB Ki-67: 60% e CD20+, Ki67: 60%.

A paciente foi tratada com seis ciclos de R-CHOP com boa resposta clínica e diminuição da linfadenopatia.

Após 4 meses de finalizado o tratamento quimioterápico, evoluiu com tosse, anorexia, emagrecimento, febre, linfonodomegalias cervicais à direita, conglomerado linfonodal axilar direita e região lateral do tórax à direita, axilar esquerda e aumento do volume abdominal.

A nova biópsia linfonodal revelou tratar-se de (i) LNH DGCB positivo para CD20, PAX 5 e MUM 1. (ii) Negativo para CD3, CD10 Ki67: 90%, (iii) favorecendo o subtipo células B pós-Centro germinativo células de ativadas.

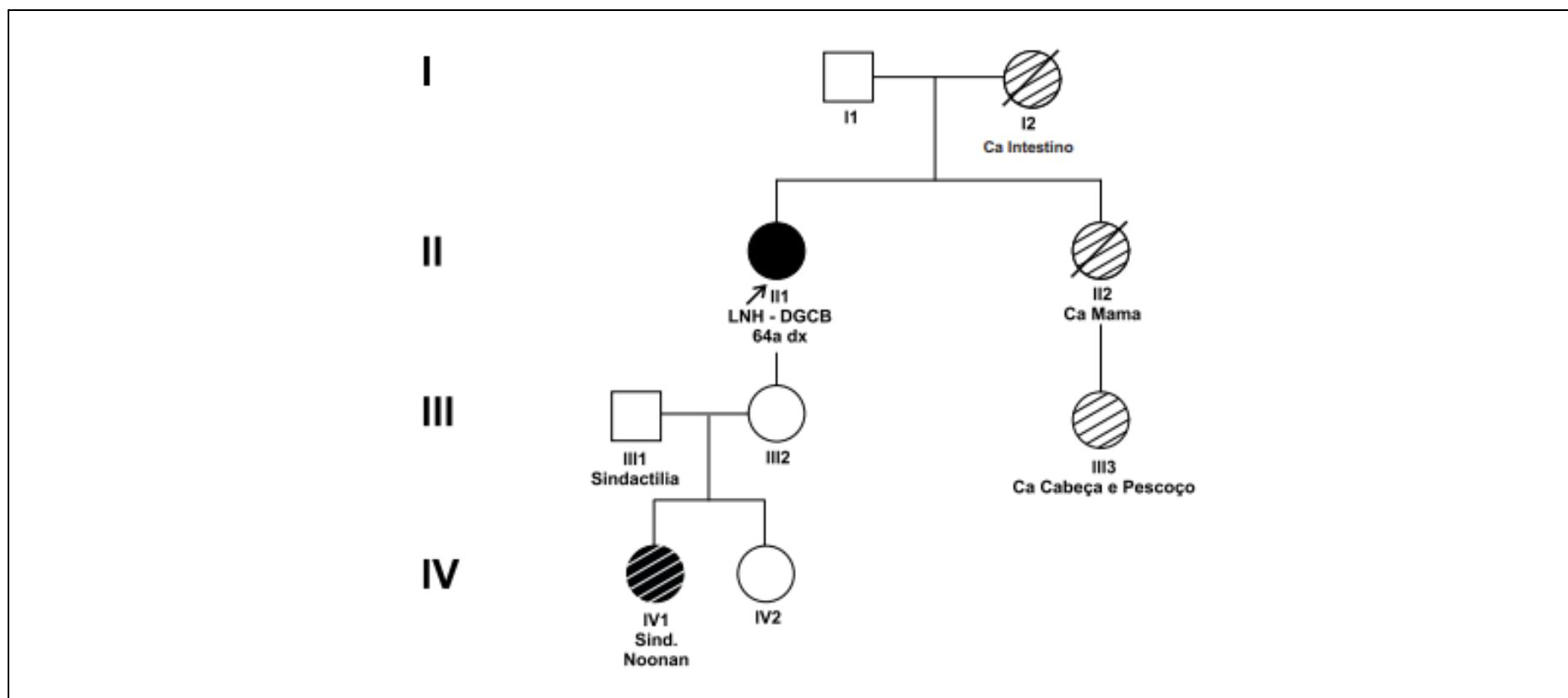
Foi reiniciada quimioterapia com esquema R-CHOP. Desde então, permanece em remissão completa.

A análise das variantes observou a presença de variante no gene GATA2 éxon2 NM_032638.5(GATA2):c.15C>G (p.Pro5=) sinônima e benigna. (Figura: 51)

História Familiar: (Figura: 50)

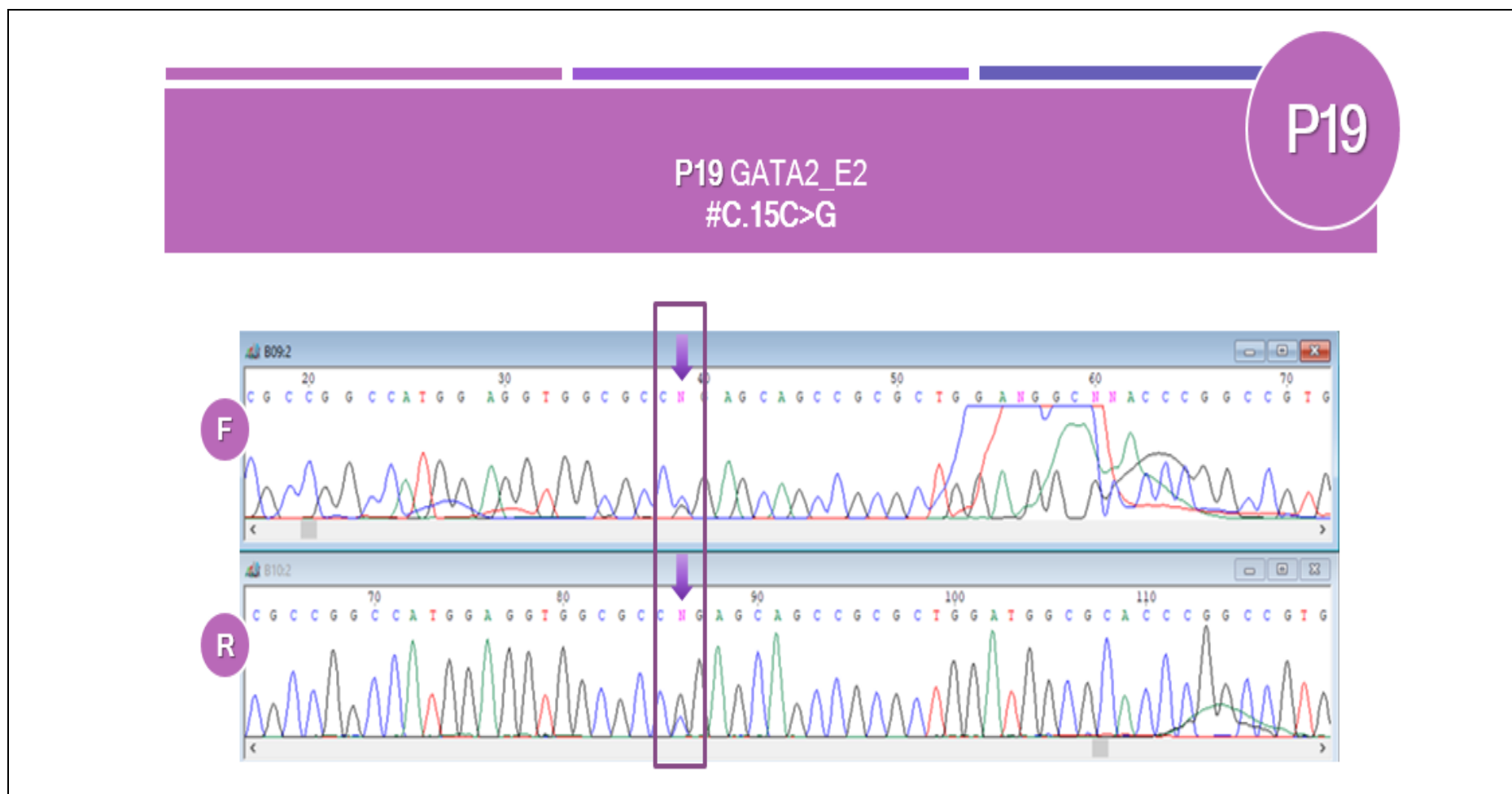
A neta portadora é de síndrome de Noonan. A mãe da probando faleceu secundariamente a tumor intestinal. A tia materna faleceu de câncer de mama aos 42 anos. A sobrinha (III3) teve câncer de cabeça e pescoço.

Figura 48 – Heredograma da família do probando 19.



Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos.

Figura 49 – Eletroferograma do probando 19.



Eletroferograma evidenciando a Variante no gene GATA2 éxon 2 sinônima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.15C>G (p.Pro5=) no probando 19.

P21, feminina, 21 anos, foi encaminhada à hematologia para investigação de síndrome anêmica e purpúrica. A paciente relatou que havia 5 meses evoluía com astenia e cefaléia frontal intensa. Durante a investigação observou-se pancitopenia e foi internada para investigação, suporte transfusional e infeccioso.

A imunofenotipagem de medula óssea era (i) representada por células blásticas hipergranulares (ii) positivo para: CD33, CD13, CD117 e CD45. HLA-DR negativo (iii) Marcadores de linhagem T e B negativos. (iv) Compatível com LMA-M3. O RT PCR quantitativo para t(15,17) foi positivo confirmando o diagnóstico de leucemia promielocítica.

O hemograma de admissão: HEM: 3,71 M/ mm³ HGB: 10,4 g/dL, HTC: 31,9 %, VGM: 86 fL, LEU: 1,85 mm³, SEG: 54,5 mm³, PLQ: 235000 mm³.

A análise das variantes observou a presença de variante no gene GATA2 éxon 2 NM_032638.5(GATA2):c.15C>G (p.Pro5=) sinônima e benigna. (Figura: 53)

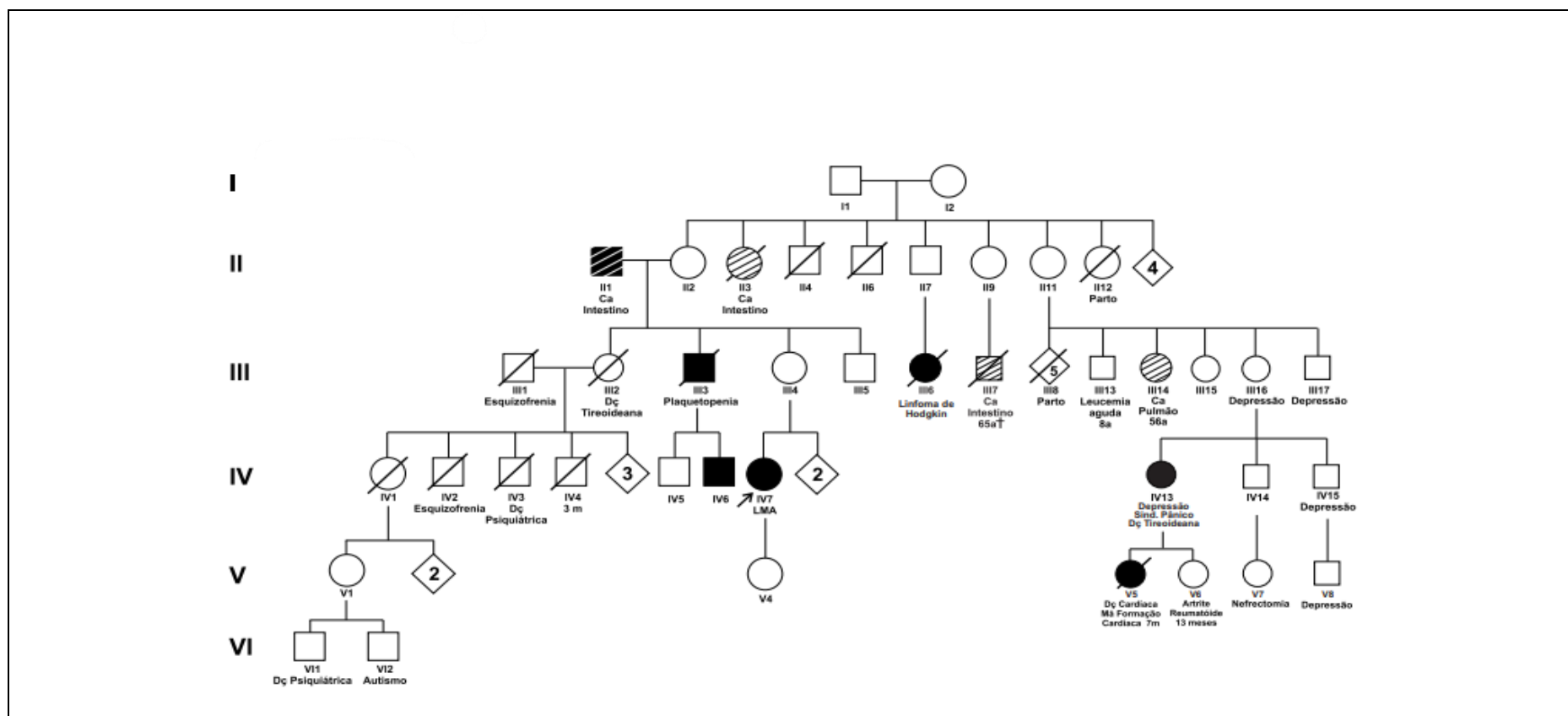
A paciente foi tratada inicialmente, em outro serviço, com dois ciclos de quimioterapia. Posteriormente, realizado um ciclo com protocolo ácido-trans-retinóico (ATRA) e idarrubicina. Evoluiu com síndrome de diferenciação o que obrigou à suspensão do ATRA temporariamente. Após a quimioterapia realizou segundo RT-PCR qualitativo que foi negativo para o gene PML-RARA. A partir de então, foi iniciado esquema de manutenção de longo prazo com purinetol, metotrexate e ATRA por dois anos. Paciente encontra-se em remissão completa.

História familiar: (Figura: 52)

Esta família apresenta uma rica agregação de doença hematológica bem como de câncer sólido. Apesar de serem moradores do interior em uma pequena cidade do estado não foi verificada a presença de casamento consanguíneo.

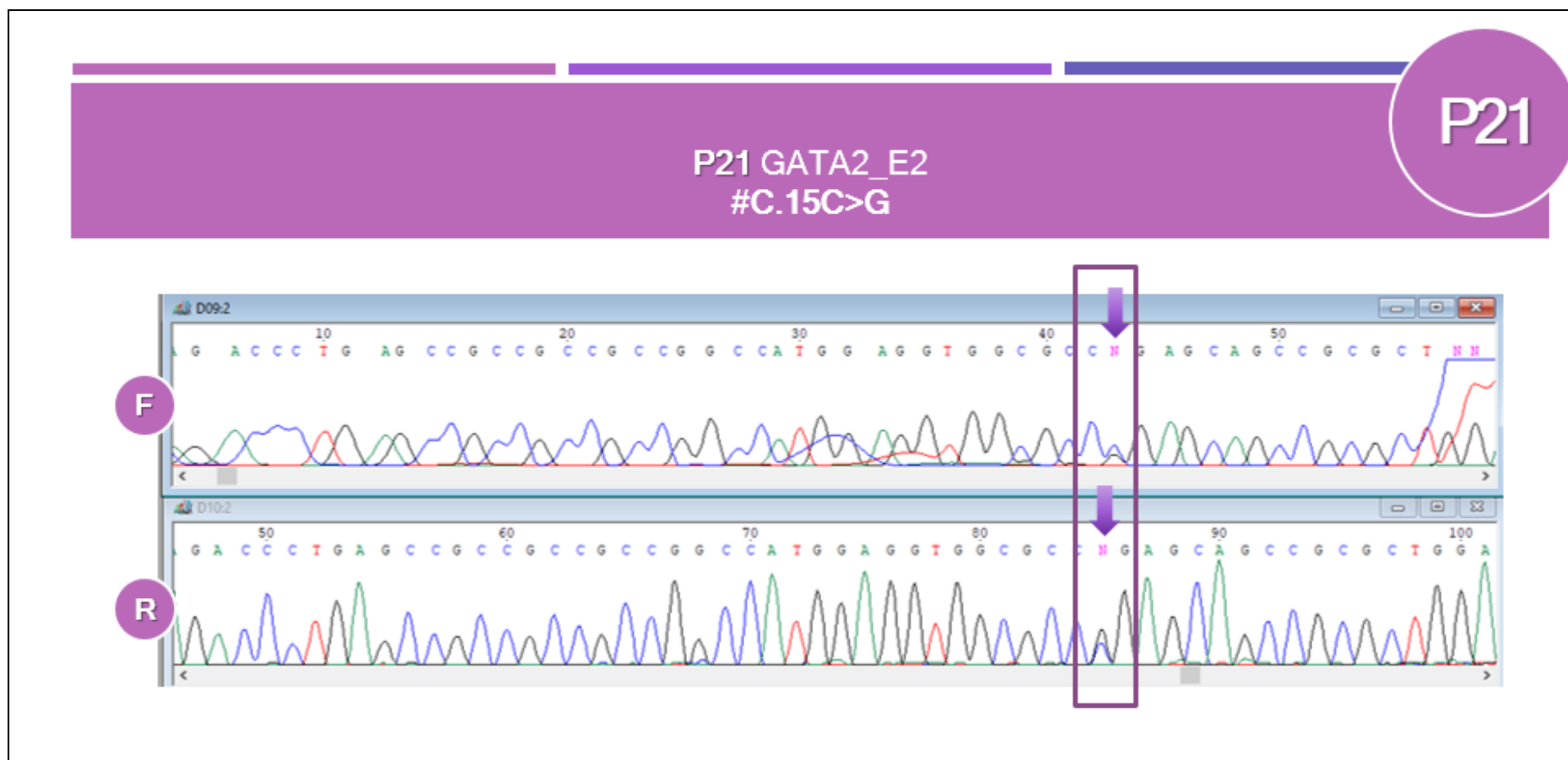
O tio materno III 3 evoluiu com plaquetopenia foi tratado com corticoide por dois anos e faleceu de complicações síndrome infecciosa. A prima de segundo grau materna faleceu de leucemia aguda aos oito anos. A família tem casos de câncer de reto, 2 cânceres de intestino, rim, linfoma de Hodgkin, pulmão, 3 casos de plaquetopenia, sangramento, má formação cardíaca, nefrectomia sem causa determinada e anemia associada à surdez.

Figura 50 – Heredograma da família do probando 21.



Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos.

Figura 51 – Eletroferograma do probando 21.



Eletroferograma evidenciando a Variante GATA2 éxon 2 sinônima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.15C>G (p.Pro5=) no probando 21.

P11, feminina, 14 anos, encaminhada à hematologia para investigação de gengivorragia, equimoses e metrorragia.

O hemograma da admissão revelava: LEU: 14500 mm³, SEG: 76%, LIN: 18,3%, HEM: 4,82 milhões, HGB: 12,4 g/dL, HTC: 37%, PLQ: 317000 mm³. A investigação diagnóstica revelou tratar-se de síndrome do *pool* plaquetário.

A análise das variantes revelou a presença de variante no gene *GATA2* éxon 2 NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p.Pro5=) sinônima e benigna e variante no gene *GATA2* éxon 3 NM_032638.5(*GATA2*): c.490G>A (p.Ala164Thr) não sinônima e benigna. (Figura: 55)

História familiar: (Figura: 54)

A filha da probando, parda, nascida de 37 semanas de parto cesariana por trombocitopenia materna. A paciente apresentou alteração no teste de triagem neonatal com o TSH 10,2 mU/L. Aos quatro anos a mãe notou dificuldade de marcha, fala, alteração morfológica nos olhos, dentição, mastigação, ausência de controle esfinteriano, sem relato de crise convulsiva ou sangramentos.

A paciente foi encaminhada ao endocrinologista aos 21 dias de vida para investigação de hipotireoidismo que ao final não evidenciou anormalidades na função tireoidiana.

O serviço de genética identificou atraso no desenvolvimento de linguagem e neuropsicomotor, obesidade e cardiopatia congênita. A avaliação Citogenética constitucional evidenciou cariótipo 46 XX (D7Z1 x 2, WBS x 1) microdeleção da região 7q11.23.

Foi diagnosticada como portadora de Síndrome de Williams associado a hipotireoidismo subclínico.

O hemograma estava normal com HGB: 13,2 g/dL, HTC: 40,2%, LEU: 9060 mm³, SEG: 2770 mm³, VGM: 82,9 fL, PLQ: 384000 mm³.

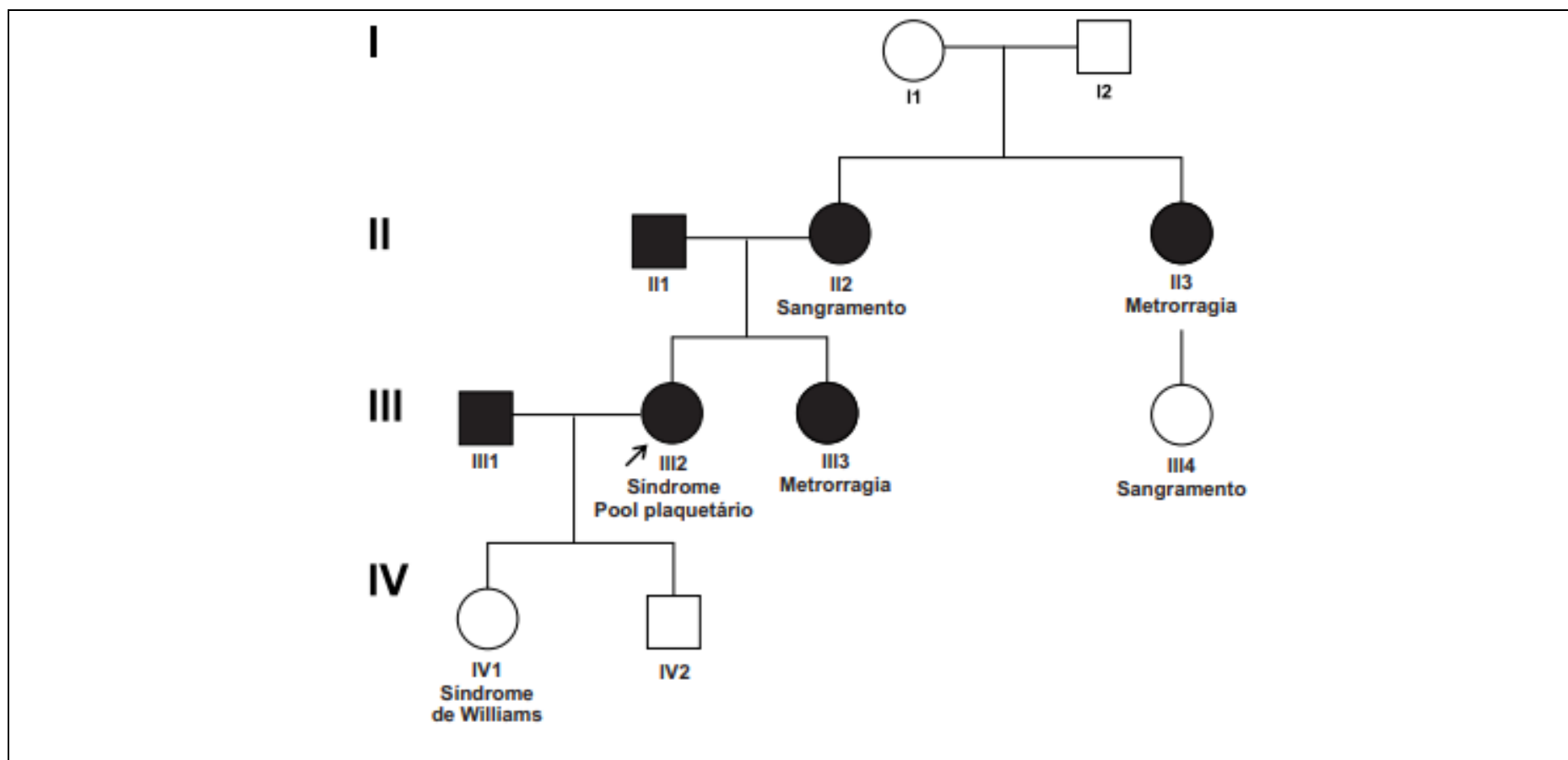
O ECO evidenciou estenose de valva supra aórtica e estenose pulmonar leve.

A paciente permanece em acompanhamento multidisciplinar nos serviços de genética, endocrinologia, nutrição e cardiologia. Sem fenótipo hemorrágico.

A irmã da probando apresentava metrorragia. Tia materna também com metrorragia. Avó materna portadora de condição genética com plaquetopenia crônica.

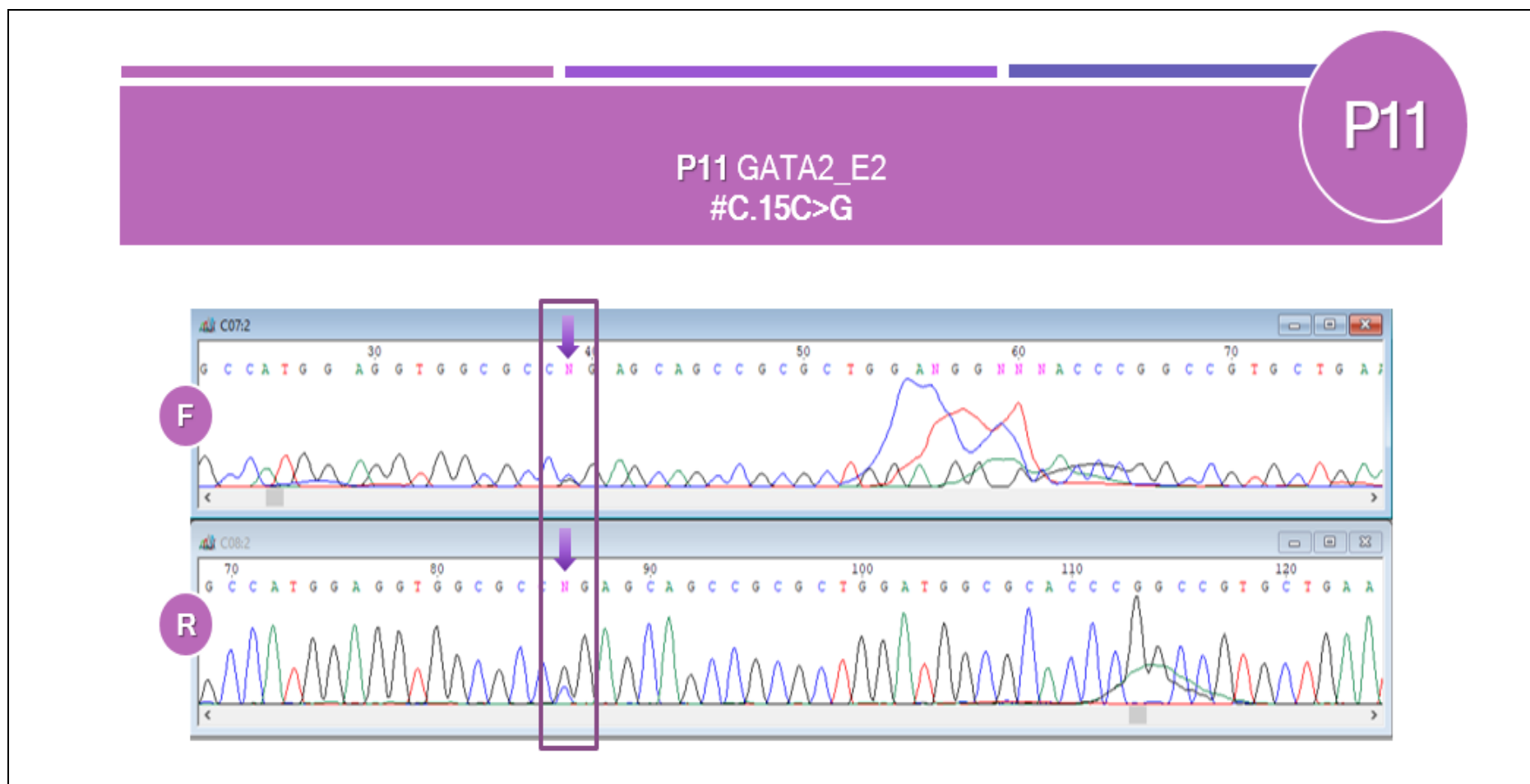
Na família paterna a avó com síndrome purpúrica. Tia avó era bipolar. (Figura: 54)

Figura 52 – Heredograma da família do probando 11.



Símbolos preenchidos (preto) representam indivíduos com doenças hematológicas; símbolos hachurados significam indivíduos com doenças oncológicas; símbolos brancos significam indivíduos não afetados; Dx significa idade do diagnóstico; † idade de falecimento; a seta significa o probando; símbolo cortado significa indivíduo que veio a óbito; diamante com número no interior significa número de filhos.

Figura 53– Eletroferograma do probando 11.



Eletroferograma evidenciando a Variante GATA2 éxon 2 sinônima / benigna NM_032638.5(GATA2):c.15C>G (p.Pro5=) no probando 11.

7. DISCUSSÃO

As DHF são doenças que ganharam visibilidade após a revisão de WHO de 2016 em que se apresentaram as bases genéticas da sua ocorrência (ARBER, ORAZI, *et al.*, 2016). Nosso trabalho contribuiu na identificação de pacientes e famílias com história clínica e laboratorial compatível com a presença de fatores hereditários na fisiopatologia do quadro onco-hematológico.

Com isso, trouxemos a discussão que a DHF é uma realidade que impacta na prática clínica cotidiana, pois traz mais um elemento na interpretação de citopenias discretas que acontecem simultaneamente dentro de um grupo familiar. Ao mesmo tempo, a identificação da coexistência de casos de doenças hematológicas na mesma família auxilia na tomada de decisão com relação aos protocolos adequados de TMO, realização de procedimentos cirúrgicos (esplenectomia em casos de PTI refratária) e mesmo administração de anticorpos monoclonais.

Ao manter alta suspeição clínica para os achados de DHF identificamos 22 famílias com quadro clínico compatível com DHF que, de outro modo, poderiam passar despercebidas já que é uma patologia subdiagnosticada.

A conduta de oferecer aos pacientes portadores de síndrome hereditária predisponente como o câncer de mama e de cólon, estreita vigilância clínica, a despeito de não se identificar marcadores genéticos específicos, está consolidada. Estes pacientes e seus familiares são acompanhados clinicamente com protocolos bem estabelecidos ao longo da vida no intuito de prevenir e tratar precocemente possíveis agravos.

As diretrizes sobre qual a melhor forma de realizar o acompanhamento de pacientes e familiares portadores e assintomáticos de DHF ainda está por ser definida por estudos prospectivos de larga escala. A prática atual, baseia-se na experiência de especialistas, que advogam a coleta de exames laboratoriais com periodicidade de 3 a 6 meses, realizar biópsia de medula óssea ao diagnóstico, e manter os pacientes em vigilância. Postulam que uma nova biópsia seja realizada quando ocorrerem mudanças no padrão hematemétrico para investigação de evolução clonal (GODLEY, SHIMAMURA, *et al.*, 2017).

A identificação de pacientes portadores de DHF implica em atentar para os fenótipos sentinelas clássicos das síndromes genéticas verificáveis no exame físico, achados laboratoriais (macrocitose e imunodeficiência, insuficiência hepática idiopática), pesquisa minuciosa da história familiar de doenças hematológicas e de câncer precoce, história de sangramento

espontâneo e de citopenias. Em cenários de TMO aparentado a ocorrência de baixa mobilização de células tronco deve ensejar a investigação para DHF (CHURPEK, 2010).

A maioria dos nossos probandos apresentou alguma citopenia persistente, seja plaquetopenia, neutropenia ou anemia. O que coincide com a apresentação da SMD pediátrica a qual se manifesta como citopenia refratária, principalmente trombocitopenia, anemia, neutropenia ou a combinação entre si. Sendo necessário realizar a investigação diagnóstica mesmo em citopenias discretas na população pediátrica e em adultos jovens cuja importância pode ser minimizada. (BUENO, 2023).

A SMD, sobretudo a pediátrica, pode advir após o tratamento quimioterápico, porém, nenhum dos nossos probandos portadores de SMD realizou tratamento quimioterápico prévio (BUENO, 2023). Fica o questionamento se haveria convergência entre os achados da SMD pediátrica e SMD adulta *de novo* e a SMD pediátrica e do adulto no contexto das DHF. Do mesmo modo, até que ponto os parâmetros de análise da SMD *de novo* poderiam ser extrapolados, em termos da fisiopatologia, achados laboratoriais e comportamento clínico, para a avaliação da SMD associada à DHF. Isso por que há lacunas no conhecimento da SMD relacionada à DHF, e os instrumentos analíticos provém de outras entidades.

Um achado da história clínica que predominou nos nossos casos foi o sangramento espontâneo, presente em 52,17% dos pacientes. As mutações em *RUNX1*, *ANKD21* (Trombocitopenia tipo 2) e *ETV6* (trombocitopenia tipo 5) são as mais comumente relacionadas à trombocitopenia, sangramento e risco de desenvolvimento de neoplasias mieloide, isso exige manter vigilância clínica para a evolução clonal e transformação leucêmica bem como expandir o painel de investigação para esses genes. Porém, foi encontrada apenas uma VUS no probando 9. (SOOD, KAMIKUBO, *et al.*, 2017; FEURSTEIN; GODLEY, *et al.*, 2017; CAZOLA, *et al.*, 2023). Rio-Machin et al. por exemplo, ao analisarem 86 famílias com critério para LMA/SMD familiar verificaram que 49 famílias tinham variantes genéticas com moderada a alta evidência de associação com doenças hematológicas e 37 famílias eram portadoras de novas variantes genéticas cujo impacto, se patogênicas ou não, ainda está por ser definido através de estudos funcionais (RIO-MACHIN, VULLIAMY, *et al.*, 2020).

O probando II8 portador de síndrome anêmica, foi diagnosticado com câncer de tireóide e câncer de mama anteriormente. Seus familiares, ao longo de quatro gerações, vivenciaram uma extensa lista de cânceres sólidos e manifestações hematológicas tais como casos de câncer de rim, má formação cardíaca, câncer de ânus, anemia associada a surdez, sangramento

espontâneo, Linfoma de Hodgkin e anemia refratária. Apesar de não localizarmos mutações nos genes *RUNX1* e *GATA2*, essa família, é um exemplo da necessidade de acompanhamento das famílias com forte agregação de casos de neoplasia, independentemente de ter sido isolado ou não um marcador genético específico capaz de explicar este fenômeno. A fronteira que delimita a fisiopatologia das síndromes hereditárias envolvidas no desenvolvimento de tumores sólidos e as doenças onco-hematológicas familiares tem sido expandida. Por exemplo, verificou-se que variantes deletérias do gene *DDX41* podem predispor a doenças linfoproliferativas, bem como doenças mieloproliferativas (LMC), SMD, LMA e tumores de cólon. As variantes de *RUNX1* predis põem tanto a LLA-T, SMD, plaquetopenia, e doenças linfoproliferativas B. As variantes de *ETV6* podem acarretar desde LLA-B a leucemias da linhagem mieloide (LEWINSOHN, BROWN, *et al.*, 2016).

A consanguinidade consiste num dos fatores mais importantes para as síndromes de susceptibilidade ao câncer hereditário ao lado de história de familiares com câncer e a ocorrência de câncer em idade precoce. O casamento consanguíneo é considerado todo aquele que ocorre entre indivíduos com coeficiente de endogamia maior ou igual a 0,0156. O coeficiente de endogamia representa a chance da progênie de herdar genes com alelos idênticos e derivados de um mesmo ancestral. Desta forma, há maior probabilidade de expressar doenças autossômicas recessivas.). No caso de primos de primeiro grau eles possuem 12,5% dos genes em comum e a progênie será homozigota em 6,25% dos *loci* genéticos (BITTLES, BLACK, *et al.*, 2001; BENNETT, MALLEDA, *et al.*, 2021).

Aslam *et al*, estudando casos de LLA (n= 300) de pacientes paquistaneses, onde a taxa de consanguinidade é elevada, constataram que a consanguinidade isoladamente não estava associada ao aumento da incidência de leucemia. Na Arábia Saudita, onde a taxa de casamentos consanguíneos também é elevada, o número de variantes P/LP em genes associados ao advento de câncer nos pacientes diagnosticados com LLA também é baixo (ASLAM, SHABANA, *et al.*, 2021).

Em nosso conjunto de pacientes há dois probandos filhos de casamentos consanguíneos. Um dos probandos III10, portador da variante NM_001754.5(*RUNX1*):c.1093G>A (p.Gly365Ser) em homozigose, filho de pais primos de primeiro grau. Apresentou SMD e miocardiopatia hipertrófica. Seu irmão também é portador de miocardiopatia hipertrófica, e uma tia materna faleceu de LMA.

Esta variante é *missense* e promove a troca do aminoácido glicina por uma serina no códon 365 da proteína RUNX1. O aminoácido glicina nessa posição é muito conservado na história evolucionária dos vertebrados. A frequência desta variante não está disponível nos bancos de dados populacionais.

As ferramentas atuais, que avaliam o possível impacto de alterações estruturais na função da proteína, não chegaram a um denominador comum sobre a repercussão funcional dessa variante. Alguns exemplos de algoritmos como SIFT, que avalia a conservação evolutiva das variantes, a classifica como tendo efeito deletério. Já os algoritmos que fazem a avaliação da variante com relação à estrutura e a função da proteína, como o PolyPhen, a classificam como “possivelmente prejudicial” e o Align GVGD como “Classe C0”, ou seja, menor probabilidade de interferir na função da proteína (TAVTIGIAN, GREENBLATT, *et al.*, 2008).

Até o momento, esta variante não foi descrita em pacientes que são portadores de patologias características de alterações no gene *RUNX1*. O resultado desta variante ainda não foi descrito em pacientes que são portadores de patologias derivadas de alterações no gene *RUNX1*.

Assim, a troca da glicina por uma serina no códon 365 da proteína RUNX1 não apresenta, até o momento, elementos suficientes para classificar esta variante de maneira categórica com relação ao seu significado clínico e atualmente é classificada como VUS.

A MHH é a doença cardiovascular hereditária mais comum. Foram identificados 11 genes que participam da fisiopatologia da MHH, que codificam proteínas defeituosas, que compõem os sarcômeros do músculo cardíaco. Esta condição tem padrão autossômico dominante com penetrância incompleta. Apresenta amplo espectro de manifestações clínicas, indo desde pacientes oligossintomáticos, e outros com repercussões cardíacas graves, como fibrose miocárdica, disfunção diastólica e arritmia cardíaca (TEEKAKIRIKUL, ZHU, *et al.*, 2019).

Riddell *et al* trazem à reflexão para este caso a intrigante participação do gene *RUNX1* na fisiopatologia de doenças cardiovasculares. Ao gene *RUNX1* tem sido atribuído papel na regulação no remodelamento cardíaco pós-IAM, na miocardiopatia dilatada relacionada ao diabetes mellitus, a miocardiopatia secundária aos danos isquêmicos de sobrecarga de pressão e miocardiopatia dilatada crônica. Os modelos animais com cobaias com knockout *Runx1* não alcançam as fases finais da hematopoiese e apresentam profundas alterações estruturais cardíacas como afinamento da parede miocárdica e defeitos no septo interventricular (RIDDELL, MCBRIDE, *et al.*, 2020). Esta é a primeira vez que se registra a presença de MHH

e síndrome mielodisplásica num contexto de doença hematológica familiar. Serão necessários estudos funcionais para avaliar se a variante de significado indeterminado do gene *RUNX1*, presente no paciente P9, tem participação na fisiopatologia deste quadro.

A paciente P3 portadora de Síndrome de Cohen (OMIM 216550) é filha de pais consanguíneos, primos em segundo grau. A mãe da paciente evoluiu com Sarcoma de Ewing e anos mais tarde apresentou LMA, falecendo meses após o diagnóstico.

A Síndrome de Cohen é uma doença autossômica recessiva que ocorre por mutação do gene *VPS13B* no cromossoma 8q22.2. A proteína codificada participa do desenvolvimento do sistema hematopoiético, sistema osteoarticular, oftalmológico, cardiovascular, músculo esquelético e neurológico (WANG, FALK *et al*, 2016).

Kallio *et al*, analisaram 16 amostras de medula óssea de pacientes portadores de Síndrome de Cohen. Nessa série de casos, os pacientes apresentavam neutropenia leve a moderada cujos índices flutuaram entre normais a próximos do normal. Nossa paciente apresentou neutropenia grave.

No estudo de Kallio (1977) treze pacientes tiveram infecção e gengivite de repetição ao passo que nossa paciente não apresenta infecções oportunistas ou gengivite recorrente. Kallio *et al* verificaram também que a celularidade da medula óssea foi normal ou aumentada e a citogenética normal na sua série de casos. A paciente brasileira, no entanto, apresenta medula óssea hipocelular e a citogenética anormal, o que evidencia o caráter clonal das alterações hematológicas.

Na série de casos de Kallio não há descrição de história familiar de doenças hematológicas bem como não houve casos de leucemia ou SMD. Talvez porque a SMD fosse uma entidade pouco descrita àquela época. Enquanto nossa paciente, portadora de SMD, apresenta exuberante história familiar de doença hematológica e oncológica (leucemia aguda e sarcoma de Ewing) (KIVITIE-KALLIO, RAJANTIE, *et al.*, 1997).

Olivieri *et al*, ao estudarem a capacidade de adesividade de neutrófilos em pacientes com Síndrome de Cohen, observaram que a medula óssea dos pacientes não apresentava alterações morfológicas significativas enquanto a nossa paciente tem achados compatíveis com SMD (OLIVIERI, LOMBARDI, *et al.*, 1998).

A P2 é portadora de síndrome hipereosinofílica. Anos antes sua mãe apresentou síndrome mieloproliferativa (havia dúvida se se tratava de mielofibrose) com evolução para leucemia aguda vindo a falecer de complicações clínicas secundárias.

A eosinofilia é uma desordem que ocorre predominantemente na população pediátrica. Kelemen et al., analisaram um painel de 109 pacientes com eosinofilia/ hipereosinofilia dos quais 14 (12,8%) correspondiam a casos de eosinofilia associados a doenças hereditárias, tais como SMD/NMP com mutação em *GATA2*, leucemia eosinofílica crônica, mutação em *MYSM1*, imunodeficiência primária, mutação no gene *SMARCB1*, síndrome de Wiskott-Aldrich, neutropenia congênita grave, síndrome de hiper-IgE e síndrome de Li-Fraumeni. Um achado relevante do exame físico das síndromes de deficiência de *GATA2* é a presença de verrugas recorrentes cutâneas virais extragenitais e genitais refratárias. Nossa paciente apresenta verrugas em mãos, bilateralmente, refratárias à suspensão do corticóide e ao tratamento dermatológico realizado, porém as variantes em *GATA2* identificadas nesta paciente são consideradas benignas (sinônimas e não sinônimas) (OSTERGAARD, SIMPSON, *et al.*, 2011; KELEMEN, SAFT, *et al.*, 2021; TURNER, SHAVER, *et al.*, 2019).

Compreender a fisiopatologia do quadro deste probando exigiria ampliar a investigação de outras vias moleculares possivelmente implicadas. A investigação de Síndrome Hipereosinofílica deve conter informações da história familiar, para avaliar se há critérios para DHF, e realizar avaliação genética apropriada como a descrita acima.

O probando P16 portador de mieloma múltiplo teve uma filha adulta jovem que faleceu de leucemia aguda. Wei et al. , avaliaram 50 pedigrees com mieloma múltiplo familiar e mieloma múltiplo de início precoce através de sequenciamento, e verificaram a presença de mutações truncadas no gene *LSD1/KDM1A* em uma família em que ocorreram casos de LMA, MGUS e câncer de cólon (WEI, CALVO-VIDAL, *et al.*, 2018). Pertesi et al., estudaram 937 indivíduos de 154 famílias não relacionadas em que haviam portadores de Mieloma, MGUS e indivíduos com outra neoplasias hematológicas e verificaram a presença de 4 indivíduos com variantes germinativas do gene *DIS3* (PERTESI, VALLÉE, *et al.*, 2019).

Dois probandos P10 e P21, portadores de LMA M0 e LMA M3 respectivamente, têm em comum a presença de inúmeros casos de tumor sólido, neoplasia linfoproliferativa e familiares com perfil hemorrágico. O probando P10 com diagnóstico de LMA-M0 construímos o heredograma com 4 gerações e verificamos que toda a segunda geração foi acometida por algum tipo de neoplasia sólida e na primeira geração a avó materna faleceu de leucemia aguda.

Nesse probando encontramos variantes em *GATA2* éxon 2 NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p.Pro5=), *GATA2* éxon 3 NM_032638.5(*GATA2*):c.490G>A (p.Ala164Thr) e *RUNX1* éxon 4 NM_001754.5(*RUNX1*):c.303G>T (p.Val101=). As duas variantes de *GATA2* são consideradas benignas e a variante de *RUNX1* é considerada benigna ou provavelmente benigna. O que sugere que seriam necessárias outras análises para elucidar as vias moleculares implicadas nos casos de malignidade presentes nesta família.

Este caso suscita os cuidados a serem tomados ao se realizar TMO para tratamento de leucemia aguda quando há suspeita de DHF. O doador aparentado de células tronco hematopoiéticas, tem potencial de ser ele próprio um portador assintomático da mesma mutação fundadora implicada na leucemia do receptor. Quando isso ocorre, o paciente no pós-TMO pode cursar com citopenia, tempo prolongado de enxertia e até o desenvolvimento de leucemia relacionada ao clone do doador. Por outro lado, há também consequências para o próprio doador como o desenvolvimento de leucemia secundariamente aos protocolos de mobilização para coleta de células tronco. Este paciente foi submetido a TMO aparentado e seu irmão foi o doador. (ROLOFF, DRAZER, *et al.*, 2021).

Owen et al. identificaram 5 pedigrees de pacientes portadores de SMD/LMA com mutações na porção 3 N-terminal e 2 C-terminal do gene *RUNX1*. Os desfechos relacionados ao TMO nestes pacientes foram Doença linfoproliferativa pós-transplante, falha de enxerto e recaída precoce. Ao contrário, os pacientes do nosso estudo apresentaram variantes do gene *RUNX1* de comportamento benigno. O paciente evoluiu no pós-TMO com GVHD mas que foi controlado ao longo do acompanhamento e permanece em remissão completa. Com relação ao irmão não houve evidência até o momento de agravos relacionados ao TMO (OWEN, BARNETT, *et al.*, 2008).

O probando P21, portador de LMA-M3, realizou tratamento alvo com ácido al-trans-retinóico e permanece em remissão. É filha de pais não consanguíneos, de família oriunda de uma pequena cidade do interior do estado. Nos familiares ocorreram diversos casos de câncer sólido e doença onco-hematológica. Um tio materno apresentou síndrome purpúrica tratado com corticóide sem sucesso e faleceu alguns anos após.

Mendes de Almeida et al. analisaram uma série de 5878 casos de leucemia em pacientes com menos de 21 anos. Após excluir síndromes genéticas, verificou que 472 casos (13%) tinham história familiar positiva para câncer, sendo que 96 casos (20,3%) tinham especificamente história de neoplasia hematológica. Um subgrupo de 18 pacientes portadores de LMA

apresentou maior risco de ter um familiar de primeiro grau com neoplasia hematológica em comparação com os casos de LLA (MENDES DE ALMEIDA, 2023).

No nosso conjunto de pacientes ocorreram 2 casos de doença linfoproliferativa. P6 foi diagnosticado com Linfoma de Hodgkin aos 14 anos e seu primo de primeiro grau aos 10 anos foi diagnosticado com leucemia aguda. No probando foram encontradas as variantes *GATA2* éxon 2 NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p.Pro5=) sinônima e benigna e *GATA2* éxon 3 NM_032638.5(*GATA2*):c.490G>A (p.Ala164Thr) não sinônima e benigna no probando. A literatura ressalta que a associação de doença linfoproliferativa e leucemia aguda se dá sobretudo com a mutação do gene *DDX41* (LEWINSOHN, 2016).

O P19 era portador de LNH-DGCB, cuja neta apresenta síndrome de Noonan-like. No probando verificamos a presença de variante *GATA2* éxon 2 NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p. Pro5=) sinônima e benigna.

A síndrome de Noonan associa-se à leucemia mielomonocítica juvenil e outras leucemias agudas, em presença da variante patogênica germinativa do gene *PTPN11* (OWEN, BARNETT, *et al.*, 2008).

O P7 é filho de pais não consanguíneos, apresentou leucocitose, anemia e plaquetopenia. Este paciente apresentou alterações no desenvolvimento sexual com fenótipo masculino. Porém, seu cariótipo constitucional era 46,XX e estava ausente o gene *SRY*. O gene *SRY* localizado no braço curto do cromossomo Y é responsável pela codificação do Fator Determinante Testicular no gênero masculino (REY, JOSSO, *et al.*, 2000). Este é um gene da família SOX e alguns desses genes estão relacionados com o desenvolvimento de LMA, SMD, carcinoma hepatocelular, glioblastoma e câncer de mama (PINGAULT, ZERAD, *et al.*, 2022; LEUNG, LEUNG, *et al.*, 2020); FAN, ZHANG, *et al.*, 2012). O achado de macroplaquetas no sangue periférico dos pais associado à bicitopenia do probando pode ser indício de DHF, ainda mais reforçado pelo perfil hemorrágico de familiares e pela presença de doença linfoproliferativa.

O casal de gêmeos P4 e P8 univitelinos, filhos de pais não consanguíneos, são portadores de SMD. Na família há uma prima de primeiro grau com fenótipo hemorrágico. Apresentaram as variantes benignas NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p.Pro5=) e NM_032638.5(*GATA2*):c.490G>A (p.Ala164Thr).

Foi possível construir heredogramas com grande número de familiares sendo que um deles obteve informações de seis gerações. Isso permitiu um amplo painel sobre as doenças que aconteceram ao longo das gerações. A descrição de heredogramas é importante nessa fase em que os especialistas se ocupam em identificar variantes, mutações e polimorfismos, compreender os padrões de penetrância e relacionar o conjunto dessas informações às apresentações clínicas. O número de casos que foi levantado poderia refletir tanto a raridade das DHF como o não referenciamento ao ambulatório de hematologia de citopenias mais sutis que poderiam tratar-se de DHF. A frequência na população tem sido motivo de investigação.

No nosso estudo a coleta da história familiar foi o ponto de partida para a suspeição e investigação de DHF. O levantamento dos dados clínicos de várias gerações configurou uma limitação do estudo devido ao viés de memória. Porém, o que se verifica é que relatos de memória no caso das doenças hematológicas guardam forte correlação com a realidade (FIEDERLING, SHAMS, *et al.*, 2016). O viés de memória foi minimizado através da aplicação de dois questionários para conferir uma abordagem homogênea nos participantes da pesquisa (Formulário 1 e 2).

O material utilizado para a análise dos genes foi o *swab* de mucosa jugal e este tem sido considerado material conveniente para a avaliação de variantes germinativas tendo em vista que o padrão ouro é a cultura de fibroblasto (PADRON, BALL, *et al.*, 2018; MANGAONKAR, PATNAIK, *et al.*, 2020).

As biópsias de medula disponíveis foram revisadas para proporcionar maior uniformidade, principalmente para os casos de SMD, formado basicamente por pacientes com citopenias. Houve pacientes que pelas condições clínicas não foram biopsiados. Em alguns probandos não foi possível a amplificação dos genes de interesse. Por fim, um problema enfrentado pelo estudo foi a não amplificação do éxon 5 do gene *GATA2*.

8. CONCLUSÃO

A SMD foi o diagnóstico preponderante no presente grupo de pacientes com critérios para DHF. Mas, conforme descrito, houve grande diversidade de manifestações clínicas. Estes achados estão em concordância com a literatura médica, que tem registrado novas síndromes clínicas e identificado marcadores genéticos específicos associados a estas condições.

Nosso trabalho identificou famílias com critérios de DHF. Esse enfoque suscitou a investigação de pacientes com citopenias discretas que tinham sido negligenciadas, em alguns casos o diagnóstico de SMD foi estabelecido e casos específicos foram encaminhados para avaliação genética.

Os probandos permanecem em acompanhamento de longo prazo como parte da estratégia de vigilância clínica não obstante a não individualização do alvo genético envolvido e pacientes selecionados foram encaminhados para aconselhamento genético.

Pesquisamos a presença de variantes nos genes *RUNX1* e *GATA2* associados às DHF. Localizamos uma VUS em *RUNX1* em homozigose, pelos critérios da ACMG, em um paciente portador de SMD e cardiomiopatia hipertrófica, filho de pais consanguíneos. Este paciente tem história familiar de leucemia aguda e seu irmão também é portador de cardiomiopatia hipertrófica. Esta variante ainda não foi descrita nas bases de dados especializadas.

A partir da estratégia adotada para a realização do nosso trabalho poderíamos sintetizar as seguintes sugestões com o objetivo de identificar, acompanhar e orientar no tratamento de pacientes e familiares com quadro compatível de DHF:

- Estabelecer protocolo para a identificação de pacientes com perfil de DHF
- Estreitar o diálogo com o Geneticista
- Utilização de formulários próprios para a identificação de famílias com quadro compatível de DHF pelos serviços de pediatria e hematologia
- Encaminhar pacientes selecionados para aconselhamento genético
- Investigar citopenias discretas
- Manter sob vigilância de longo prazo pacientes e familiares com quadro compatível de DHF

- Realizar a testagem para genes envolvidos em DHF
 - Fornecer elementos para a descrição das síndromes de DHF já estabelecidas na literatura bem como para a definição de novas síndromes clínicas

9. BIBLIOGRAFIA:

ARBER, D. A., ORAZI, A., HASSERJIAN, R., *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, 19 2016. DOI: 10.1182/blood-2016-03-643544.

ASLAM, S., SHABANA, null, AHMED, M. "Implications of ACMG guidelines to identify high-risk acute lymphoblastic leukemia patients with hereditary cancer susceptibility syndromes (HCSS) in a highly consanguineous population", **BMC pediatrics**, v. 21, n. 1, p. 282, 16 jun. 2021. DOI: 10.1186/s12887-021-02749-2.

ALLANSON, J.E., ROBERTS, E., "Noonan Syndrome", **GeneReviews**, University of Washington, Seattle, 2022.

BABUSHOK, D. V., BESSLER, M. "Genetic predisposition syndromes: when should they be considered in the work-up of MDS?", **Best Practice & Research. Clinical Haematology**, v. 28, n. 1, p. 55–68, mar. 2015. DOI: 10.1016/j.beha.2014.11.004.

BEJAR, R., LEVINE, R., EBERT, B. L. "Unraveling the molecular pathophysiology of myelodysplastic syndromes", **Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 29, n. 5, p. 504–515, 10 fev. 2011. DOI: 10.1200/JCO.2010.31.1175.

BENNETT, R. L., MALLEDA, N. R., BYERS, P. H., *et al.* "Genetic counseling and screening of consanguineous couples and their offspring practice resource: Focused Revision", **Journal of Genetic Counseling**, v. 30, n. 5, p. 1354–1357, out. 2021. DOI: 10.1002/jgc4.1477.

BÉRI-DEXHEIMER, M., LATGER-CANNARD, V., PHILIPPE, C., *et al.* "Clinical phenotype of germline RUNX1 haploinsufficiency: from point mutations to large genomic deletions", **European journal of human genetics: EJHG**, v. 16, n. 8, p. 1014–1018, ago. 2008. DOI: 10.1038/ejhg.2008.89.

BIGLEY, V., HANIFFA, M., DOULATOV, S., *et al.* "The human syndrome of dendritic cell, monocyte, B and NK lymphoid deficiency", **The Journal of Experimental Medicine**, v. 208, n. 2, p. 227–234, 14 fev. 2011. DOI: 10.1084/jem.20101459.

BITTLES, A. H., BLACK, M. L., "Consanguinity and its relevance to clinical genetics", **Clinical Genetics**, v. 60, n. 2, p. 89–98, ago. 2001. DOI: 10.1034/j.1399-0004.2001.600201.x.

BRESNICK, E. H., JUNG, M. M., KATSUMURA, K. R. "Human GATA2 mutations and hematologic disease: how many paths to pathogenesis?", **Blood Advances**, v. 4, n. 18, p. 4584–4592, 22 set. 2020. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020002953.

BRESNICK, E. H., KATSUMURA, K. R., LEE, H.-Y., *et al.* "Master regulatory GATA transcription factors: mechanistic principles and emerging links to hematologic malignancies", **Nucleic Acids Research**, v. 40, n. 13, p. 5819–5831, jul. 2012. DOI: 10.1093/nar/gks281.

BROWN, A. L., ARTS, P., CARMICHAEL, C. L., *et al.* "RUNX1-mutated families show phenotype heterogeneity and a somatic mutation profile unique to germline predisposed AML", **Blood Advances**, v. 4, n. 6, p. 1131–1144, 24 mar. 2020. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019000901.

Bueno APS, Síndromes Mielodisplásicas Primárias na infância: variáveis preditoras para diagnóstico baseadas em estudo descritivo clínico, morfológico, histopatológico, imunofenotípico e citogenético, Rio de Janeiro, 2023.

CAI, X., GAO, L., TENG, L., *et al.* "Runx1 Deficiency Decreases Ribosome Biogenesis and Confers Stress Resistance to Hematopoietic Stem and Progenitor Cells", **Cell Stem Cell**, v. 17, n. 2, p. 165–177, 6 ago. 2015. DOI: 10.1016/j.stem.2015.06.002.

CHRZANOWSKA, K. H., GREGOREK, H., DEMBOWSKA-BAGIŃSKA, B., *et al.* "Nijmegen breakage syndrome (NBS)", **Orphanet Journal of Rare Diseases**, v. 7, p. 13, 28 fev. 2012. DOI: 10.1186/1750-1172-7-13.

CHURPEK, J. E., LORENZ, R., NEDUMGOTTIL, S., *et al.* "Proposal for the clinical detection and management of patients and their family members with familial myelodysplastic syndrome/acute leukemia predisposition syndromes", **Leukemia & Lymphoma**, v. 54, n. 1, p. 28–35, jan. 2013. DOI: 10.3109/10428194.2012.701738.

CHURPEK, J. E., ONEL, K. "Heritability of Hematologic Malignancies: From Pedigrees to Genomics", **Hematology/Oncology Clinics of North America**, Genetic Predisposition to Cancer. v. 24, n. 5, p. 939–972, 1 out. 2010. DOI: 10.1016/j.hoc.2010.06.001.

CHURPEK, J. E., PYRTEL, K., KANCHI, K.-L., *et al.* "Genomic analysis of germ line and somatic variants in familial myelodysplasia/acute myeloid leukemia", **Blood**, v. 126, n. 22, p. 2484–2490, 26 nov. 2015. DOI: 10.1182/blood-2015-04-641100.

COGLE, C. R. "Incidence and Burden of the Myelodysplastic Syndromes", **Current Hematologic Malignancy Reports**, v. 10, n. 3, p. 272–281, set. 2015. DOI: 10.1007/s11899-015-0269-y.

CRABBE, L., JAUCH, A., NAEGER, C. M., *et al.* "Telomere dysfunction as a cause of genomic instability in Werner syndrome", **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, n. 7, p. 2205–2210, 13 fev. 2007. DOI: 10.1073/pnas.0609410104.

CRISPINO, J. D., HORWITZ, M. S. "GATA factor mutations in hematologic disease", **Blood**, v. 129, n. 15, p. 2103–2110, 13 abr. 2017. DOI: 10.1182/blood-2016-09-687889.

Damashek, W., "Chronic Lymphatic Leukemia in Twins" , **AMJ** Vol 25, No 10 (1929) p. 1112- 1112, DOI: org/10.17816/kazmj80339.

DAVIDSSON, J., PUSCHMANN, A., TEDGÅRD, U., *et al.* "SAMD9 and SAMD9L in inherited predisposition to ataxia, pancytopenia, and myeloid malignancies", **Leukemia**, v. 32, n. 5, p. 1106–1115, maio 2018. DOI: 10.1038/s41375-018-0074-4.

DE BRUIJN, M., DZIERZAK, E. "Runx transcription factors in the development and function of the definitive hematopoietic system", **Blood**, v. 129, n. 15, p. 2061–2069, 13 abr. 2017. DOI: 10.1182/blood-2016-12-689109.

DE LEENEER, K., DE SCHRIJVER, J., CLEMENT, L., *et al.* "Practical tools to implement massive parallel pyrosequencing of PCR products in next generation molecular diagnostics", **PloS One**, v. 6, n. 9, p. e25531, 2011. DOI: 10.1371/journal.pone.0025531.

DEMBOWSKA-BAGIŃSKA, B., PEREK, D., BROZYNA, A., *et al.* "Non-Hodgkin lymphoma (NHL) in children with Nijmegen Breakage syndrome (NBS)", **Pediatric Blood & Cancer**, v. 52, n. 2, p. 186–190, fev. 2009. DOI: 10.1002/pbc.21789.

Deutch N, *et al.* "RUNX1 Familial Platelet Disorder with Associated Myeloid Malignancies Synonyms: Familial Platelet Disorder / Acute Myeloid Leukemia (FPD/AML), RUNX1 Familial Platelet Disorder (FPD)", **GeneReviews** , v.10(3); 2010 Maio 2021.

DINARDO, C. D., ROUTBORT, M. J., BANNON, S. A., *et al.* "Improving the detection of patients with inherited predispositions to hematologic malignancies using next-generation sequencing-based leukemia prognostication panels", **Cancer**, v. 124, n. 13, p. 2704–2713, 1 jul. 2018. DOI: 10.1002/cncr.31331.

DUPLOYEZ, N., LEJEUNE, S., RENNEVILLE, A., *et al.* "Myelodysplastic syndromes and acute leukemia with genetic predispositions: a new challenge for hematologists", **Expert Review of Hematology**, v. 9, n. 12, p. 1189–1202, 1 dez. 2016. DOI: 10.1080/17474086.2016.1257936.

FAN, R., ZHANG, L.-Y., WANG, H., *et al.* "Methylation of the CpG island near SOX7 gene promoter is correlated with the poor prognosis of patients with myelodysplastic syndrome", **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**, v. 227, n. 2, p. 119–128, jun. 2012. DOI: 10.1620/tjem.227.119.

FIEDERLING, J., SHAMS, A. Z., HAUG, U. "Validity of self-reported family history of cancer: A systematic literature review on selected cancers", **International Journal of Cancer**, v. 139, n. 7, p. 1449–1460, 1 out. 2016. DOI: 10.1002/ijc.30203.

FURUTANI, E., SHIMAMURA, A. "Germline Genetic Predisposition to Hematologic Malignancy", **Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology**, v. 35, n. 9, p. 1018–1028, 20 mar. 2017. DOI: 10.1200/JCO.2016.70.8644.

GALAUVERNA, F., RUGGERI, A., LOCATELLI, F. "Myelodysplastic syndromes in children", **Current Opinion in Oncology**, v. 30, n. 6, p. 402–408, nov. 2018. DOI: 10.1097/CCO.0000000000000488.

GAO, J., GONG, S., CHEN, Y.-H. "Myeloid Neoplasm With Germline Predisposition: A 2016 Update for Pathologists", **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 143, n. 1, p. 13–22, jan. 2019. DOI: 10.5858/arpa.2017-0194-RA.

GODLEY, L. A., SHIMAMURA, A. "Genetic predisposition to hematologic malignancies: management and surveillance", **Blood**, v. 130, n. 4, p. 424–432, 27 jul. 2017. DOI: 10.1182/blood-2017-02-735290.

GONZALEZ, K. D., BUZIN, C. H., NOLTNER, K. A., *et al.* "High frequency of de novo mutations in Li–Fraumeni syndrome", **Journal of Medical Genetics**, v. 46, n. 10, p. 689–693, 1 out. 2009. DOI: 10.1136/jmg.2008.058958.

GREIF, P. A., KONSTANDIN, N. P., METZELER, K. H., *et al.* "RUNX1 mutations in cytogenetically normal acute myeloid leukemia are associated with a poor prognosis and up-regulation of lymphoid genes", **Haematologica**, v. 97, n. 12, p. 1909–1915, dez. 2012. DOI: 10.3324/haematol.2012.064667.

HEIBL, S., STAUDER, R., PFEILSTÖCKER, M. "Is Myelodysplasia a Consequence of Normal Aging?", **Current Oncology Reports**, v. 23, n. 12, p. 142, 4 nov. 2021. DOI: 10.1007/s11912-021-01136-5.

HETZ, C. "The unfolded protein response: controlling cell fate decisions under ER stress and beyond", **Nature Reviews. Molecular Cell Biology**, v. 13, n. 2, p. 89–102, 18 jan. 2012. DOI: 10.1038/nrm3270.

HIRABAYASHI, S., WLODARSKI, M. W., KOZYRA, E., *et al.* "Heterogeneity of GATA2-related myeloid neoplasms", **International Journal of Hematology**, v. 106, n. 2, p. 175–182, ago. 2017. DOI: 10.1007/s12185-017-2285-2.

Hoffbrand, AV, *Essential Haematology*, Boston, 2021.

HSU, A. P., MCREYNOLDS, L. J., HOLLAND, S. M. "GATA2 deficiency", **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, v. 15, n. 1, p. 104–109, fev. 2015. DOI: 10.1097/ACI.0000000000000126.

INOUE, D., KITAURA, J., MATSUI, H., *et al.* "SETBP1 mutations drive leukemic transformation in ASXL1-mutated MDS", **Leukemia**, v. 29, n. 4, p. 847–857, abr. 2015. DOI: 10.1038/leu.2014.301.

JØRGENSEN, S. F., BUECHNER, J., MYHRE, A. E., *et al.* "A Nationwide Study of GATA2 Deficiency in Norway-the Majority of Patients Have Undergone Allo-HSCT", **Journal of Clinical Immunology**, v. 42, n. 2, p. 404–420, fev. 2022. DOI: 10.1007/s10875-021-01189-y.

KANAGAL-SHAMANNA, R. "The Emerging Role of Hematopathologists and Molecular Pathologists in Detection, Monitoring, and Management of Myeloid Neoplasms with Germline Predisposition", **Current Hematologic Malignancy Reports**, v. 16, n. 4, p. 336–344, ago. 2021. DOI: 10.1007/s11899-021-00636-2.

KANAGAL-SHAMANNA, R., LOGHAVI, S., DINARDO, C. D., *et al.* "Bone marrow pathologic abnormalities in familial platelet disorder with propensity for myeloid malignancy and germline RUNX1 mutation", **Haematologica**, v. 102, n. 10, p. 1661–1670, 2017. DOI: 10.3324/haematol.2017.167726.

KEEL, S. B., SCOTT, A., SANCHEZ-BONILLA, M., *et al.* "Genetic features of myelodysplastic syndrome and aplastic anemia in pediatric and young adult patients", **Haematologica**, v. 101, n. 11, p. 1343–1350, nov. 2016. DOI: 10.3324/haematol.2016.149476.

KELEMEN, K., SAFT, L., CRAIG, F. E., *et al.* "Eosinophilia/Hypereosinophilia in the Setting of Reactive and Idiopathic Causes, Well-Defined Myeloid or Lymphoid Leukemias, or Germline Disorders", **American Journal of Clinical Pathology**, v. 155, n. 2, p. 179–210, 4 fev. 2021. DOI: 10.1093/ajcp/aqaa244.

KHOURY, J. D., SOLARY, E., ABLA, O., *et al.* "The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms", **Leukemia**, v. 36, n. 7, p. 1703–1719, jul. 2022. DOI: 10.1038/s41375-022-01613-1.

KIRWAN, M., DOKAL, I. "Dyskeratosis congenita, stem cells and telomeres", **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1792, n. 4, p. 371–379, abr. 2009. DOI: 10.1016/j.bbadis.2009.01.010.

KIRWAN, M., WALNE, A. J., PLAGNOL, V., *et al.* "Exome sequencing identifies autosomal-dominant SRP72 mutations associated with familial aplasia and myelodysplasia", **American Journal of Human Genetics**, v. 90, n. 5, p. 888–892, 4 maio 2012. DOI: 10.1016/j.ajhg.2012.03.020.

KIVITIE-KALLIO, S., RAJANTIE, J., JUVONEN, E., *et al.* "Granulocytopenia in Cohen syndrome", **British Journal of Haematology**, v. 98, n. 2, p. 308–311, 1997. DOI: 10.1046/j.1365-2141.1997.2323049.x.

KRISTINSSON, S. Y., BJÖRKHOLM, M., GOLDIN, L. R., *et al.* "Risk of lymphoproliferative disorders among first-degree relatives of lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenstrom macroglobulinemia patients: a population-based study in Sweden", **Blood**, v. 112, n. 8, p. 3052–3056, 15 out. 2008. DOI: 10.1182/blood-2008-06-162768.

Kumar, K. R., Cowley, M. J., Next-generation sequencing technologies: An overview, **Semin Thromb Hemost** 2019; 45(07): 661-673 DOI: 10.1055/s-0039-1688446.

LAUPER, J. M., KRAUSE, A., VAUGHAN, T. L., *et al.* "Spectrum and risk of neoplasia in Werner syndrome: a systematic review", **PloS One**, v. 8, n. 4, p. e59709, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0059709.

LEUNG, R. K. C., LEUNG, H. C., LEUNG, A. Y. H. "Diverse pathogenetic roles of SOX genes in acute myeloid leukaemia and their therapeutic implications", **Seminars in Cancer Biology**, v. 67, n. Pt 1, p. 24–29, dez. 2020. DOI: 10.1016/j.semcancer.2019.11.001.

LEWINSOHN, M., BROWN, A. L., WEINEL, L. M., *et al.* "Novel germ line DDX41 mutations define families with a lower age of MDS/AML onset and lymphoid malignancies", **Blood**, v. 127, n. 8, p. 1017–1023, 25 fev. 2016. DOI: 10.1182/blood-2015-10-676098.

LIAKHOVITSKAIA, A., RYBTSOV, S., SMITH, T., *et al.* "Runx1 is required for progression of CD41+ embryonic precursors into HSCs but not prior to this", **Development (Cambridge, England)**, v. 141, n. 17, p. 3319–3323, set. 2014. DOI: 10.1242/dev.110841.

LIAU, W.-S., NGOC, P. C. T., SANDA, T. "Roles of the RUNX1 Enhancer in Normal Hematopoiesis and Leukemogenesis", **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 962, p. 139–147, 2017. DOI: 10.1007/978-981-10-3233-2_10.

LIEW, E., OWEN, C. "Familial myelodysplastic syndromes: a review of the literature", **Haematologica**, v. 96, n. 10, p. 1536–1542, out. 2011. DOI: 10.3324/haematol.2011.043422.

Lopes LF, Mielodisplasia em Pediatria, ISBN: 9788586652462, Edição: 1 Ano: 2006.

MANGAN, J. K., SPECK, N. A. "RUNX1 mutations in clonal myeloid disorders: from conventional cytogenetics to next generation sequencing, a story 40 years in the making", **Critical Reviews in Oncogenesis**, v. 16, n. 1–2, p. 77–91, 2011. DOI: 10.1615/critrevoncog.v16.i1-2.80.

MARTINELLI, S., DE LUCA, A., STELLACCI, E., *et al.* "Heterozygous germline mutations in the CBL tumor-suppressor gene cause a Noonan syndrome-like phenotype", **American Journal of Human Genetics**, v. 87, n. 2, p. 250–257, 13 ago. 2010. DOI: 10.1016/j.ajhg.2010.06.015.

MCREYNOLDS, L. J., CALVO, K. R., HOLLAND, S. M. "Germline GATA2 Mutation and Bone Marrow Failure", **Hematology/Oncology Clinics of North America**, v. 32, n. 4, p. 713–728, ago. 2018. DOI: 10.1016/j.hoc.2018.04.004.

MCREYNOLDS, L. J., YANG, Y., YUEN WONG, H., *et al.* "MDS-associated mutations in germline GATA2 mutated patients with hematologic manifestations", **Leukemia Research**, v. 76, p. 70–75, jan. 2019. DOI: 10.1016/j.leukres.2018.11.013.

MEVEL, R., DRAPER, J. E., LIE-A-LING, M., *et al.* "RUNX transcription factors: orchestrators of development", **Development (Cambridge, England)**, v. 146, n. 17, p. dev148296, 5 set. 2019. DOI: 10.1242/dev.148296.

MIR, M. A., KOCHUPARAMBIL, S. T., ABRAHAM, R. S., *et al.* "Spectrum of myeloid neoplasms and immune deficiency associated with germline GATA2 mutations", **Cancer Medicine**, v. 4, n. 4, p. 490–499, abr. 2015. DOI: 10.1002/cam4.384.

MILL, C.P., FISKUS, W., *et al.* "RUNX1 targeted therapy for AML expressing somatic or germline mutation in RUNX1", **BLOOD**, abr. 2019. DOI 10.1182.

NARUMI, S., AMANO, N., ISHII, T., *et al.* "SAMD9 mutations cause a novel multisystem disorder, MIRAGE syndrome, and are associated with loss of chromosome 7", **Nature Genetics**, v. 48, n. 7, p. 792–797, jul. 2016. DOI: 10.1038/ng.3569.

NICKELS, E. M., SOODALTER, J., CHURPEK, J. E., *et al.* "Recognizing familial myeloid leukemia in adults", **Therapeutic Advances in Hematology**, v. 4, n. 4, p. 254–269, ago. 2013. DOI: 10.1177/2040620713487399.

NORIS, P., PERROTTA, S., SERI, M., *et al.* "Mutations in ANKRD26 are responsible for a frequent form of inherited thrombocytopenia: analysis of 78 patients from 21 families", **Blood**, v. 117, n. 24, p. 6673–6680, 16 jun. 2011. DOI: 10.1182/blood-2011-02-336537.

OLIVIERI, O., LOMBARDI, S., RUSSO, C., *et al.* "Increased neutrophil adhesive capability in Cohen syndrome, an autosomal recessive disorder associated with granulocytopenia", **Haematologica**, v. 83, n. 9, p. 778–782, set. 1998.

OSTERGAARD, P., SIMPSON, M. A., CONNELL, F. C., *et al.* "Mutations in GATA2 cause primary lymphedema associated with a predisposition to acute myeloid leukemia (Emberger syndrome)", **Nature Genetics**, v. 43, n. 10, p. 929–931, 4 set. 2011. DOI: 10.1038/ng.923.

OWEN, C., BARNETT, M., FITZGIBBON, J. "Familial myelodysplasia and acute myeloid leukaemia--a review", **British Journal of Haematology**, v. 140, n. 2, p. 123–132, jan. 2008. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2007.06909.x.

PARTA, M., SHAH, N. N., BAIRD, K., *et al.* "Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for GATA2 Deficiency Using a Busulfan-Based Regimen", **Biology of Blood and Marrow Transplantation: Journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation**, v. 24, n. 6, p. 1250–1259, jun. 2018. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.01.030.

PASQUET, M., BELLANNÉ-CHANTELOT, C., TAVITIAN, S., *et al.* "High frequency of GATA2 mutations in patients with mild chronic neutropenia evolving to MonoMac syndrome, myelodysplasia, and acute myeloid leukemia", **Blood**, v. 121, n. 5, p. 822–829, 31 jan. 2013. DOI: 10.1182/blood-2012-08-447367.

PERTESI, M., VALLÉE, M., WEI, X., *et al.* "Exome sequencing identifies germline variants in DIS3 in familial multiple myeloma", **Leukemia**, v. 33, n. 9, p. 2324–2330, set. 2019. DOI: 10.1038/s41375-019-0452-6.

PINGAULT, V., ZERAD, L., BERTANI-TORRES, W., *et al.* "SOX10: 20 years of phenotypic plurality and current understanding of its developmental function", **Journal of Medical Genetics**, v. 59, n. 2, p. 105–114, fev. 2022. DOI: 10.1136/jmedgenet-2021-108105.

PIPPUCCI, T., SAVOIA, A., PERROTTA, S., *et al.* "Mutations in the 5' UTR of ANKRD26, the ankirin repeat domain 26 gene, cause an autosomal-dominant form of inherited thrombocytopenia, THC2", **American Journal of Human Genetics**, v. 88, n. 1, p. 115–120, 7 jan. 2011. DOI: 10.1016/j.ajhg.2010.12.006.

POPPE, B., VAN LIMBERGEN, H., VAN ROY, N., *et al.* "Chromosomal aberrations in Bloom syndrome patients with myeloid malignancies", **Cancer Genetics and Cytogenetics**, v. 128, n. 1, p. 39–42, 1 jul. 2001. DOI: 10.1016/s0165-4608(01)00392-2.

REY, R., JOSSO, N., RACINE, C., "Sexual Differentiation". In: FEINGOLD, K. R., ANAWALT, B., BLACKMAN, M. R., *et al.* (Org.), **Endotext**, South Dartmouth (MA), MDText.com, Inc., 2000. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279001/>. Acesso em: 12 jul. 2023.

PASQUET, M., CHANTELOT C. B., High frequency of GATA2 mutations in patients with mild chronic neutropenia evolving to MonoMac syndrome, myelodysplasia, and acute myeloid leukemia, *Blood*, 2013. DOI: 10.1182/blood-2012-08-447367.

RIDDELL, A., MCBRIDE, M., BRAUN, T., *et al.* "RUNX1: an emerging therapeutic target for cardiovascular disease", *Cardiovascular Research*, v. 116, n. 8, p. 1410–1423, 1 jul. 2020. DOI: 10.1093/cvr/cvaa034.

RIZZO, J. M., BUCK, M. J. "Key principles and clinical applications of “next-generation” DNA sequencing", *Cancer Prevention Research (Philadelphia, Pa.)*, v. 5, n. 7, p. 887–900, jul. 2012. DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-11-0432.

ROLLISON, D. E., HOWLADER, N., SMITH, M. T., *et al.* "Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United States, 2001-2004, using data from the NAACCR and SEER programs", *Blood*, v. 112, n. 1, p. 45–52, 1 jul. 2008. DOI: 10.1182/blood-2008-01-134858.

ROLOFF, G. W., DRAZER, M. W., GODLEY, L. A. "Inherited Susceptibility to Hematopoietic Malignancies in the Era of Precision Oncology", *JCO precision oncology*, v. 5, p. 107–122, nov. 2021. DOI: 10.1200/PO.20.00387.

ROY, A., ROBERTS, I., VYAS, P. "Biology and management of transient abnormal myelopoiesis (TAM) in children with Down syndrome", *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, v. 17, n. 4, p. 196–201, ago. 2012. DOI: 10.1016/j.siny.2012.02.010.

Savage SA, Niewisch MR. Dyskeratosis Congenita and Related Telomere Biology Disorders. 2009.

SCHLEGELBERGER, B., HELLER, P. G. "RUNX1 deficiency (familial platelet disorder with predisposition to myeloid leukemia, FPDMM)", *Seminars in Hematology*, v. 54, n. 2, p. 75–80, abr. 2017. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2017.04.006.

SILVa, M. C. A., Estudo citogenético e molecular de síndromes Mielodisplásicas/ leucemia aguda familiar, São Paulo, 2019.

SHERRY S.T., WARD, M.-H., dbSNP: the NCBI database of genetic variation *Nucleic Acids Research*, 2001, Vol. 29, No. 1.

SONG, W. J., SULLIVAN, M. G., LEGARE, R. D., *et al.* "Haploinsufficiency of CBFA2 causes familial thrombocytopenia with propensity to develop acute myelogenous leukaemia", *Nature Genetics*, v. 23, n. 2, p. 166–175, out. 1999. DOI: 10.1038/13793.

SONGDEJ, N., RAO, A. K. "Hematopoietic transcription factor mutations: important players in inherited platelet defects", *Blood*, v. 129, n. 21, p. 2873–2881, 25 maio 2017. DOI: 10.1182/blood-2016-11-709881. .

SOOD, R., KAMIKUBO, Y., LIU, P. "Role of RUNX1 in hematological malignancies", *Blood*, v. 129, n. 15, p. 2070–2082, 13 abr. 2017. DOI: 10.1182/blood-2016-10-687830.

SPINNER, M. A., SANCHEZ, L. A., HSU, A. P., *et al.* "GATA2 deficiency: a protean disorder of hematopoiesis, lymphatics, and immunity", *Blood*, v. 123, n. 6, p. 809–821, 6 fev. 2014. DOI: 10.1182/blood-2013-07-515528.

TAVTIGIAN, S. V., GREENBLATT, M. S., GOLDFAR, D. E., *et al.* "Assessing pathogenicity: overview of results from the IARC Unclassified Genetic Variants Working Group", *Human Mutation*, v. 29, n. 11, p. 1261–1264, nov. 2008. DOI: 10.1002/humu.20903.

TAWANA, K., WANG, J., RENNEVILLE, A., *et al.* "Disease evolution and outcomes in familial AML with germline CEBPA mutations", **Blood**, v. 126, n. 10, p. 1214–1223, 3 set. 2015. DOI: 10.1182/blood-2015-05-647172.

TEEKAKIRIKUL, P., ZHU, W., HUANG, H. C., *et al.* "Hypertrophic Cardiomyopathy: An Overview of Genetics and Management", **Biomolecules**, v. 9, n. 12, p. 878, 16 dez. 2019. DOI: 10.3390/biom9120878.

TESI, B., DAVIDSSON, J., VOSS, M., *et al.* "Gain-of-function SAMD9L mutations cause a syndrome of cytopenia, immunodeficiency, MDS, and neurological symptoms", **Blood**, v. 129, n. 16, p. 2266–2279, 20 abr. 2017. DOI: 10.1182/blood-2016-10-743302.

TROTTIER, A. M., GODLEY, L. A. "Inherited predisposition to haematopoietic malignancies: overcoming barriers and exploring opportunities", **British Journal of Haematology**, v. 194, n. 4, p. 663–676, ago. 2021. DOI: 10.1111/bjh.17247.

TURNER, S. A., SHAVER, A. C., KOVACH, A. E., *et al.* "Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm with eosinophilia as a manifestation of Li Fraumeni Syndrome", **Leukemia & Lymphoma**, v. 60, n. 13, p. 3312–3315, dez. 2019. DOI: 10.1080/10428194.2019.1630619.

UNIVERSITY OF CHICAGO HEMATOPOIETIC MALIGNANCIES CANCER RISK TEAM. "How I diagnose and manage individuals at risk for inherited myeloid malignancies", **Blood**, v. 128, n. 14, p. 1800–1813, 6 out. 2016. DOI: 10.1182/blood-2016-05-670240.

WEI, X., CALVO-VIDAL, M. N., CHEN, S., *et al.* "Germline Lysine-Specific Demethylase 1 (LSD1/KDM1A) Mutations Confer Susceptibility to Multiple Myeloma", **Cancer Research**, v. 78, n. 10, p. 2747–2759, 15 maio 2018. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-1900.

WEINBERG, O. K., KUO, F., CALVO, K. R. "Germline Predisposition to Hematolymphoid Neoplasia", **American Journal of Clinical Pathology**, v. 152, n. 3, p. 258–276, 01 2019. DOI: 10.1093/ajcp/aqz067.

WEST, A. H., GODLEY, L. A., CHURPEK, J. E. "Familial myelodysplastic syndrome/acute leukemia syndromes: a review and utility for translational investigations", **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1310, p. 111–118, mar. 2014. DOI: 10.1111/nyas.12346.

WLODARSKI, M. W., HIRABAYASHI, S., PASTOR, V., *et al.* "Prevalence, clinical characteristics, and prognosis of GATA2-related myelodysplastic syndromes in children and adolescents", **Blood**, v. 127, n. 11, p. 1387–1397; quiz 1518, 17 mar. 2016. DOI: 10.1182/blood-2015-09-669937.

WU, D., OZAKI, T., YOSHIHARA, Y., *et al.* "Runt-related transcription factor 1 (RUNX1) stimulates tumor suppressor p53 protein in response to DNA damage through complex formation and acetylation", **The Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 2, p. 1353–1364, 11 jan. 2013. DOI: 10.1074/jbc.M112.402594.

YOKOTA, A., HUO, L., LAN, F., *et al.* "The Clinical, Molecular, and Mechanistic Basis of RUNX1 Mutations Identified in Hematological Malignancies", **Molecules and Cells**, v. 43, n. 2, p. 145–152, 29 fev. 2020. DOI: 10.14348/molcells.2019.0252.

YOKOTE, K., CHANPRASERT, S., LEE, L., *et al.* "WRN Mutation Update: Mutation Spectrum, Patient Registries, and Translational Prospects", **Human Mutation**, v. 38, n. 1, p. 7–15, jan. 2017. DOI: 10.1002/humu.23128.

APÊNDICE A - FORMULÁRIO 1

Projeto: Síndrome Mielodisplásica/Leucemia Mieloide Aguda (SMD/LMA) familiar no Sistema Único de Saúde: avaliação dos genes *RUNX1*, *CEBPA*, *DDAX41*, *ETV6* e *GATA2*.

Prontuário:_____Hospital:_____Data_____

Diagnóstico:_____

Parentesco:_____

Existe na sua família algum caso de () Linfoma () Leucemia () Mieloma () Câncer de mama em jovem () sangramento () anemia () plaqueta baixa () qualquer câncer jovem com menos de 50 anos () Trombose na sua família?

APÊNDICE B - FORMULÁRIO 2

Projeto de pesquisa: Síndrome Mielodisplásica/Leucemia Aguda Familiar no Sistema Único de Saúde.

Prontuário: _____ DN _____ Diagnóstico: _____

Hospital: _____ Data _____

Responsável pelo preenchimento: _____

História de exposição a derivados de benzeno () Radioterapia () Quimioterapia () radiação () tabagismo () etilismo ()

- 1) O senhor (a) tem algum parente com início jovem de mielodisplasia () (< 50 anos)
- 2) O senhor (a) tem algum parente com doença hematológica identificados com anormalidades citogenéticas ()?
- 3) O senhor (a) tem algum parente com doença hematológica identificados com mutações? ()
- 4) O senhor (a) tem algum parente com doença no sangue e defeitos no coração () anormalidades de rádio e de polegar ()?
- 5) O senhor (a) tem algum parente com doença hematológica e baixa estatura? ()
- 6) O senhor (a) tem algum parente com doença hematológica e manchas café com leite () unhas malformadas () manchas de pele? ()
- 7) O senhor (a) tem algum parente com doença no sangue e doenças como fibrose pulmonar () doenças endocrinológicas () falência ovariana jovem () edema de pernas () retardo mental () () trombozes?
- 8) O senhor (a) tem algum parente com história de complicações graves de pós-tratamento de radioterapia ou quimioterapia? ()
- 9) O senhor (a) tem algum parente com LMA, LLA ou SMD ou que apresentem: () leucócitos baixos ou altos () plaqueta baixa () sangramento () macrocitose () leucoplaquia oral () fibrose pulmonar () doença hepática inexplicada () infecções atípicas () deficiências autoimunes () tumores múltiplos, bilaterais () tumores raros () vários parentes afetados por um mesmo tipo de tumor ou vários parentes de primeiro e segundo grau com câncer

(especialmente sarcoma, câncer de mama com < 50 anos e tumor de cérebro () Complicações raras e graves de quimioterapia ou radioterapia () cossanguinidade.

10) O senhor (a) tem algum parente com doença hematológica iniciada com < 50anos ou parente de primeiro grau com qualquer câncer ocorrendo com < 50 anos () ?

11) O senhor (a) tem algum parente que fez transplante de medula óssea em que foi identificado plaqueta baixa () alguma alteração no exame de sangue () sangramento espontâneo () macrocitose () anormalidades nas unhas () pigmentação de pele() leucoplaquia oral () falha em coletar células-tronco () ?

Baseado em Babushok DV, Genetic Predisposition Syndromes: When Should They Be Considered In The Work-up of MDS? Best prac Res Clin Haematol, 2015.

The University of Chicago Hematopoietic Malignancies Cancer Risk Team, How I diagnose and manage individuals at risk for inherited myeloid malignancies, Blood, 2016.

APÊNDICE C – TCLE E TALE

Termo de consentimento livre e esclarecido dirigido ao paciente maior de idade.

Projeto: Síndrome Mielodisplásica/Leucemia Mieloide Aguda (SMD/LMA) familiar no Sistema Único de Saúde: avaliação dos genes *RUNX1*, *CEBPA*, *DDAX41*, *ETV6* e *GATA2*.

Nome do participante da pesquisa: _____

Você está sendo convidado (a) a participar de um projeto que pretende avaliar se a atividade de determinados genes em SMD/LMA Familiar está relacionada a algumas características da doença.

Para a realização desse projeto serão convidados pacientes com suspeita de serem portadores de SMD/LMA Familiar atendidos no Hospital Federal da Lagoa e Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira. Serão estudadas algumas características genéticas da SMD/LMA Familiar.

Além disso, serão realizados testes para verificar se existem alterações em genes nas células, a partir do material genético isolado a partir de células de mucosa da bochecha, sangue periférico e fios de cabelo.

Os resultados deste projeto poderão trazer informações sobre a influência desses genes no tratamento de doenças do sangue. Para que você possa decidir se quer participar ou não deste projeto, precisa conhecer seus benefícios, riscos e implicações, por isso é importante que você leia atentamente esse documento.

Objetivo do projeto:

O projeto quer saber se há influência dos genes *RUNX1*, *CEBPA*, *DDAX41*, *ETV6* e *GATA2* em um tipo de doença hematológica que estamos pesquisando: a síndrome mielodisplásica e leucemia mieloide aguda familiar.

Procedimentos do projeto:

Se você concordar em participar desse projeto serão coletados alguns fios de cabelo, uma amostra de sangue periférico (uma colher de sopa) e um cotonete será passado levemente na sua bochecha. Você poderá sentir um leve desconforto no momento da retirada dos fios de cabelo e poderá ter um pouco de dor no momento da coleta da quantidade de sangue da sua veia, bem como apresentar manchas roxas no local da punção. Você

também responderá a algumas perguntas sobre seus hábitos de vida e autorizará a consulta aos seus dados no prontuário médico.

Métodos alternativos:

Sua participação nesse projeto é voluntária. Caso você não deseje participar deste projeto de pesquisa, basta que você não assine este Termo de Consentimento, e nenhuma amostra será colhida para esse fim. Não existem outros métodos ou formas para sua participação nesse projeto de pesquisa, se você não concordar com os procedimentos que serão realizados para a execução desse projeto você é totalmente livre para não participar.

Riscos:

Serão coletadas células da sua bochecha através de um cotonete, você poderá sentir um leve desconforto. Além disso, será coletada uma amostra de sangue através de punção de veia periférica (aproximadamente uma colher de sopa) que poderá causar manchas roxas no local. Coletaremos alguns fios do seu cabelo e você poderá sentir um pequeno desconforto.

Benefícios:

Os resultados desse projeto de pesquisa trarão benefícios para o entendermos a sua doença. Os resultados desse projeto serão importantes para que possamos entender melhor como se comportam as doenças hematológicas familiares. Essas informações poderão nos ajudar acompanhar e tratar melhor as pessoas com este tipo de doença do sangue. Seremos capazes de identificar pacientes e familiares que podem ser portadores de SMD/LMA familiar, acompanhá-los e assim prevenir doenças associadas. Com isso, evitaremos a realização de cirurgias desnecessárias, poderemos dar orientações caso o paciente necessite de transplante de células tronco. Referenciar os pacientes a aconselhamento genético, discussão de risco reprodutivo, acompanhamento clínico para vigilância de doenças e de risco hematológico se assim for necessário.

Caráter confidencial dos registros:

Além dos pesquisadores que participam desse projeto, os dados obtidos e seus registros médicos poderão ser consultados pelo Comitê de Ética em Pesquisa do INCA e equipe de pesquisadores envolvidos. **Seu nome não será revelado** ainda que informações de seu registro médico e os dados gerados nesse projeto sejam utilizados para propósitos educativos ou de publicação científica, que ocorrerão independentemente dos resultados obtidos.

Tratamento médico em caso de danos:

Todo e qualquer dano decorrente do desenvolvimento deste projeto de pesquisa, e que necessite de atendimento médico, ficará a cargo da sua instituição. Seu tratamento e acompanhamento médico independem de sua participação neste projeto.

Custos:

Não haverá qualquer custo ou forma de pagamento para você pela sua participação no projeto.

Bases da participação:

É importante que você saiba que a sua participação neste projeto é totalmente voluntária e que você pode recusar-se a participar ou interromper sua participação a qualquer momento sem penalidades ou perda de benefícios aos quais tem direito. Caso você decida interromper sua participação no projeto, a equipe assistente deve ser comunicada e a coleta de dados será imediatamente interrompida e os resultados obtidos não serão utilizados na execução do projeto.

O médico responsável por sua internação no hospital em que você faz o tratamento pode interromper sua participação no projeto a qualquer momento, mesmo sem a sua autorização. Nesse caso, o motivo dessa interrupção será discutido com você.

Garantia de esclarecimentos:

Você e seus familiares podem fazer perguntas a qualquer momento durante a execução desse projeto. Neste caso, por favor, ligue para Dra. Rose Filgueiras, telefone 21-3111-5219.

Se você tiver perguntas com relação a seus direitos como participante do projeto, também pode contar com um terceiro contato imparcial, o Comitê de Ética em Pesquisa da UFRJ (Rua Abelardo Lobo, 50, Ilha do Fundão, no Instituto de Pediatria, telefone 38384812) ou do Comitê de Ética em Pesquisa do INCA (Rua André Cavalcante, 28, Centro telefone 32075698)

Você, seus familiares e seu médico ao receber os resultados da pesquisa serão orientados com relação às implicações no seu acompanhamento e tratamento. Ou seja, os participantes e os familiares participantes poderão ser referenciados a aconselhamento genético, discussão de

risco reprodutivo, acompanhamento clínico para vigilância de disfunção orgânica e de risco hematológico se assim for necessário.

Declaração de consentimento e assinatura:

Li as informações acima e entendi os propósitos deste projeto assim como seus benefícios e riscos potenciais da minha participação. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas foram respondidas. Eu, por intermédio deste documento, dou livremente meu consentimento para participar neste projeto.

Entendo que poderei ser submetido a exames adicionais aos necessários a meu tratamento e não receberei compensação monetária por minha participação neste projeto.

Eu recebi uma cópia assinada deste formulário de consentimento.

_____/____/201__

(Assinatura do paciente, familiar ou responsável)

(Nome do paciente, familiar ou responsável – letra de forma)

_____ (Testemunha, se necessário)

Eu, abaixo assinado, expliquei completamente os detalhes relevantes deste projeto ao paciente indicado acima e/ou pessoa autorizada para consentir pelo paciente.

_____ / ____ / ____

(Assinatura da pessoa que aplicou o TCLE.)

Termo de assentimento livre e esclarecido dirigido ao paciente pediátrico e adolescente:

Projeto: Síndrome Mielodisplásica/Leucemia Mieloide Aguda (SMD/LMA) familiar no Sistema Único de Saúde.

Nome do participante da pesquisa: _____

Você está sendo convidado para participar da pesquisa. Seus pais permitiram que você participe. As crianças e adolescentes que irão participar desta pesquisa têm de zero a 18 anos

de idade. Você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu e não terá nenhum problema se desistir. A pesquisa será feita no IPPMG e no Hospital da Lagoa onde as crianças como você fazem acompanhamento. Para isso, serão coletadas células da bochecha através de um cotonete, você poderá sentir um leve desconforto. Será coletada uma amostra de sangue através de punção de veia periférica (aproximadamente uma colher de sopa) que poderá causar manchas roxas no local. Coletaremos fios do seu cabelo e para isso vamos pentear o seu cabelo e você poderá sentir um desconforto bem pequeno. Você responderá algumas perguntas sobre seus hábitos de vida. Caso aconteça algo errado, você pode nos procurar pelos telefones 31115219 da pesquisadora Rose Filgueiras. Mas há coisas boas que podem acontecer, como entender como funcionam as doenças do sangue o que ajudará a tratar melhor outras pessoas. Ninguém saberá que você está participando da pesquisa; não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der.

Se você tiver perguntas com relação a seus direitos como participante do projeto, também pode contar com um terceiro contato imparcial, o Comitê de Ética em Pesquisa da UFRJ (Rua Abelardo Lobo, 50, Ilha do Fundão, no Instituto de Pediatria, telefone 38384812) ou do Comitê de Ética em Pesquisa do INCA (Rua André Cavalcante, 28, Centro telefone 32075698)

Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar. Eu escrevi os telefones na parte e cima deste texto.

Eu _____ aceito participar do projeto de pesquisa

Síndrome Mielodisplásica/Leucemia Aguda (SMD/LMA) familiar no Sistema Único de Saúde:

Entendi as coisas ruins e as coisas boas que podem acontecer. Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir e que ninguém vai ficar chateado comigo. Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus responsáveis. Recebi uma cópia deste termo de assentimento e li e concordo em participar da pesquisa.

Rio de Janeiro, ___ de _____ de 201__.

Assinatura da criança ou adolescente _____

Assinatura do responsável _____

Termo de assentimento livre e esclarecido dirigido ao familiar pediátrico e adolescente:

Projeto: Síndrome Mielodisplásica/Leucemia Mieloide Aguda (SMD/LMA) familiar no Sistema Único de Saúde:

Nome do participante da pesquisa: _____

Você está sendo convidado para participar da pesquisa. Seus pais permitiram que você participe.

As crianças e adolescentes que irão participar desta pesquisa têm de zero a 18 anos de idade. Você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu e não terá nenhum problema se desistir. A pesquisa será feita no IPPMG e no Hospital da Lagoa onde as crianças como você fazem acompanhamento. Para isso, serão coletadas células da bochecha através de um cotonete, você poderá sentir um leve desconforto. Será coletada uma amostra de sangue através de punção de veia periférica (aproximadamente uma colher de sopa) que poderá causar manchas roxas no local. Coletaremos fios do seu cabelo e para isso vamos pentear o seu cabelo e você poderá sentir um desconforto bem pequeno. Você responderá algumas perguntas sobre seus hábitos de vida. Caso aconteça algo errado, você pode nos procurar pelos telefones 31115219 da pesquisadora Rose Filgueiras. Mas há coisas boas que podem acontecer, como entender como funcionam as doenças do sangue o que ajudará a tratar melhor outras pessoas. Ninguém saberá que você está participando da pesquisa; não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der.

Se você tiver perguntas com relação a seus direitos como participante do projeto, também pode contar com um terceiro contato imparcial, o Comitê de Ética em Pesquisa da UFRJ (Rua Abelardo Lobo, 50, Ilha do Fundão, no Instituto de Pediatria, telefone 38384812) ou do Comitê de Ética em Pesquisa do INCA (Rua André Cavalcante, 28, Centro telefone 32075698)

Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar. Eu escrevi os telefones na parte de cima deste texto.

Eu _____ aceito participar do projeto de pesquisa

Síndrome Mielodisplásica/Leucemia Aguda (SMD/LMA) familiar no Sistema Único de Saúde:

Entendi as coisas ruins e as coisas boas que podem acontecer. Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir e que ninguém vai ficar chateado comigo. Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus

responsáveis. Recebi uma cópia deste termo de assentimento e li e concordo em participar da pesquisa.

Rio de Janeiro, ____ de _____ de 201__.

Assinatura da criança ou adolescente _____

Assinatura do responsável _____

Termo de assentimento livre e esclarecido dirigido ao familiar pediátrico e adolescente suspeito:

Projeto: Síndrome Mielodisplásica/Leucemia Mieloide Aguda (SMD/LMA) familiar no Sistema Único de Saúde: avaliação dos genes *RUNX1*, *CEBPA*, *DDAX41*, *ETV6* e *GATA2*.

Nome do participante da pesquisa: _____

Você está sendo convidado para participar da pesquisa. Seus pais permitiram que você participe.

As crianças e adolescentes que irão participar desta pesquisa têm de zero a 18 anos de idade. Você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu e não terá nenhum problema se desistir. A pesquisa será feita no IPPMG e no Hospital da Lagoa onde as crianças fazem acompanhamento. Para isso, serão coletadas células da bochecha através de um cotonete, você poderá sentir um leve desconforto. Será coletada uma amostra de sangue através de punção de veia periférica (aproximadamente uma colher de sopa) que poderá causar manchas roxas no local. Coletaremos fios do seu cabelo e para isso vamos pentear o seu cabelo e você poderá sentir um desconforto bem pequeno. Você responderá algumas perguntas sobre seus hábitos de vida. Caso aconteça algo errado, você pode nos procurar pelos telefones 31115219 da pesquisadora Rose Filgueiras. Mas há coisas boas que podem acontecer, como entender como funcionam as doenças do sangue o que ajudará a tratar melhor outras pessoas. Ninguém saberá que você está participando da pesquisa; não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der.

Se você tiver perguntas com relação a seus direitos como participante do projeto, também pode contar com um terceiro contato imparcial, o Comitê de Ética em Pesquisa da UFRJ (Rua

Abelardo Lobo, 50, Ilha do Fundão, no Instituto de Pediatria, telefone 38384812) ou do Comitê de Ética em Pesquisa do INCA (Rua André Cavalcante, 28, Centro telefone 32075698)

Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar. Eu escrevi os telefones na parte de cima deste texto.

Eu _____ aceito participar do projeto de pesquisa

Síndrome Mielodisplásica/Leucemia Aguda (SMD/LMA) familiar no Sistema Único de Saúde:

Entendi as coisas ruins e as coisas boas que podem acontecer. Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir e que ninguém vai ficar chateado comigo. Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus responsáveis. Recebi uma cópia deste termo de assentimento e li e concordo em participar da pesquisa.

Rio de Janeiro, ____ de _____ de 201__.

Assinatura da criança ou adolescente _____

Assinatura do responsável _____

Assinatura do pesquisador:

Termo de consentimento livre e esclarecido dirigido ao responsável do paciente pediátrico e adolescente.

Projeto: Síndrome Mielodisplásica/Leucemia Mieloide Aguda (SMD/LMA) familiar no Sistema Único de Saúde:

Nome do participante da pesquisa _____

Você e seu filho estão sendo convidados (as) a participar de um projeto que pretende avaliar se a atividade de determinados genes em SMD/LMA Familiar está relacionada a algumas características da doença.

Para a realização desse projeto serão convidados pacientes com suspeita de serem portadores de SMD/LMA Familiar atendidos no Hospital Federal da Lagoa e Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira. Serão estudadas algumas características genéticas da SMD/LMA Familiar.

Além disso, serão realizados testes para verificar se existem alterações em genes nas células, a partir do material genético isolado a partir de células de mucosa jugal (bochecha), sangue periférico e fios de cabelo.

Os resultados deste projeto poderão trazer informações sobre a influência desses genes no tratamento de doenças do sangue. Para que você possa decidir se quer participar ou não deste projeto, precisa conhecer seus benefícios, riscos e implicações, por isso é importante que você leia atentamente esse documento.

Objetivo do projeto:

O projeto quer saber se há influência dos genes *RUNX1*, *CEBPA*, *DDAX41*, *ETV6* e *GATA2* em um tipo de doença hematológica que estamos pesquisando: a síndrome mielodisplásica e leucemia mieloide aguda familiar.

Procedimentos do projeto:

Se você concordar em participar desse projeto serão coletados alguns fios de cabelo, uma amostra de sangue periférico (uma colher de sopa) e um cotonete será passado levemente na sua bochecha. Você poderá sentir um leve desconforto no momento da retirada dos fios de cabelo e poderá ter um pouco de dor no momento da coleta da quantidade de sangue da sua veia, bem como apresentar manchas roxas no local da punção. Você também responderá a algumas perguntas sobre seus hábitos de vida e autorizará a consulta aos seus dados no prontuário médico.

Métodos alternativos:

Sua participação nesse projeto é voluntária. Caso vocês não desejem participar deste projeto de pesquisa, basta que você não assine este Termo de Consentimento, e nenhuma amostra será colhida para esse fim. Não existem outros métodos ou formas para sua participação nesse projeto de pesquisa, se você não concordar com os procedimentos que serão realizados para a execução desse projeto você é totalmente livre para não participar.

Riscos:

Serão coletadas células da sua bochecha através de um cotonete, você poderá sentir um leve desconforto. Além disso, será coletada uma amostra de sangue através de punção de veia periférica (aproximadamente uma colher de sopa) que poderá causar manchas roxas

no local. Coletaremos alguns fios do seu cabelo e você poderá sentir um pequeno desconforto.

Benefícios:

Os resultados desse projeto de pesquisa trarão benefícios para entendermos a sua doença. Os resultados desse projeto serão importantes para que possamos entender melhor como se comportam as doenças hematológicas familiares. Essas informações poderão nos ajudar acompanhar e tratar melhor as pessoas com este tipo de doença do sangue. Seremos capazes de identificar pacientes e familiares que podem ser portadores de SMD/LMA familiar, acompanhá-los e assim prevenir doenças associadas. Com isso, evitaremos a realização de cirurgias desnecessárias, poderemos dar orientações caso o paciente necessite de transplante de células tronco. Referenciar os pacientes a aconselhamento genético, discussão de risco reprodutivo, acompanhamento clínico para vigilância de doenças e de risco hematológico se assim for necessário.

Caráter confidencial dos registros:

Além dos pesquisadores que participam desse projeto, os dados obtidos e seus registros médicos poderão ser consultados pelo Comitê de Ética em Pesquisa do INCA e equipe de pesquisadores envolvidos. **Seu nome não será revelado** ainda que informações de seu registro médico e os dados gerados nesse projeto sejam utilizados para propósitos educativos ou de publicação científica, que ocorrerão independentemente dos resultados obtidos.

Tratamento médico em caso de danos:

Todo e qualquer dano decorrente do desenvolvimento deste projeto de pesquisa, e que necessite de atendimento médico, ficará a cargo da sua instituição. Seu tratamento e acompanhamento médico independem de sua participação neste projeto.

Custos:

Não haverá qualquer custo ou forma de pagamento para você pela sua participação no projeto.

Bases da participação:

É importante que você saiba que a sua participação neste projeto é totalmente voluntária e que você pode recusar-se a participar ou interromper sua participação a qualquer momento sem penalidades ou perda de benefícios aos quais tem direito. Caso você decida

interromper sua participação no projeto, a equipe assistente deve ser comunicada e a coleta de dados será imediatamente interrompida e os resultados obtidos não serão utilizados na execução do projeto.

O médico responsável por sua internação no hospital em que você faz o tratamento pode interromper sua participação no projeto a qualquer momento, mesmo sem a sua autorização. Nesse caso, o motivo dessa interrupção será discutido com você.

Garantia de esclarecimentos:

Você e seus familiares podem fazer perguntas a qualquer momento durante a execução desse projeto. Neste caso, por favor, ligue para Dra. Rose Filgueiras, telefone 21-3111-5219. Se você tiver perguntas com relação a seus direitos como participante do projeto, também pode contar com um terceiro contato imparcial, o Comitê de Ética em Pesquisa da UFRJ. Você, seus familiares e seu médico ao receber os resultados da pesquisa serão orientados com relação às implicações no seu acompanhamento e tratamento. Ou seja, os pacientes e os familiares poderão ser referenciados a aconselhamento genético, discussão de risco reprodutivo, acompanhamento clínico para vigilância de disfunção orgânica e de risco hematológico se assim for necessário.

Se você tiver perguntas com relação a seus direitos como participante do projeto, também pode contar com um terceiro contato imparcial, o Comitê de Ética em Pesquisa da UFRJ (Rua Abelardo Lobo, 50, Ilha do Fundão, no Instituto de Pediatria, telefone 38384812) ou do Comitê de Ética em Pesquisa do INCA (Rua André Cavalcante, 28, Centro telefone 32075698)

Declaração de consentimento e assinatura:

Li as informações acima e entendi os propósitos deste projeto assim como seus benefícios e riscos potenciais da participação de meu filho (a). Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas foram respondidas. Eu, por intermédio deste documento, dou livremente meu consentimento para que meu filho (a) participe deste projeto.

Entendo que poderei ser submetido a exames adicionais aos necessários a meu tratamento e não receberei compensação monetária por minha participação neste projeto.

Eu recebi uma cópia assinada deste formulário de consentimento.

_____/____/201__

(Assinatura do paciente, familiar ou responsável)

(Nome do paciente, familiar ou responsável – letra de forma)

_____ (Testemunha, se necessário)

Eu, abaixo assinado, expliquei completamente os detalhes relevantes deste projeto ao paciente indicado acima e/ou pessoa autorizada para consentir pelo paciente.

_____ / ____ / ____

(Assinatura da pessoa que aplicou o TCLE.)

Termo de consentimento livre e esclarecido dirigido ao responsável do familiar pediátrico e adolescente.

Projeto: Síndrome Mielodisplásica/Leucemia Mieloide Aguda (SMD/LMA) familiar no Sistema Único de Saúde

Nome do participante da pesquisa: _____

Você e seu filho estão sendo convidados (as) a participar de um projeto que pretende avaliar se a atividade de determinados genes em SMD/LMA Familiar está relacionada a algumas características da doença.

Para a realização desse projeto serão convidados familiares com suspeita de serem portadores de SMD/LMA Familiar atendidos no Hospital Federal da Lagoa e Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira. Serão estudadas algumas características genéticas da SMD/LMA Familiar.

Além disso, serão realizados testes para verificar se existem alterações em genes nas células, a partir do material genético isolado a partir de células de mucosa jugal (bochecha), sangue periférico e fios de cabelo.

Os resultados deste projeto poderão trazer informações sobre a influência desses genes no tratamento de doenças do sangue. Para que você possa decidir se quer participar ou não deste projeto, precisa conhecer seus benefícios, riscos e implicações, por isso é importante que você leia atentamente esse documento.

Objetivo do projeto:

O projeto quer saber se há influência dos genes *RUNX1*, *CEBPA*, *DDAX41*, *ETV6* e *GATA2* em um tipo de doença hematológica que estamos pesquisando: a síndrome mielodisplásica e leucemia mieloide aguda familiar.

Procedimentos do projeto:

Se você concordar em participar desse projeto serão coletados alguns fios de cabelo, uma amostra de sangue periférico (uma colher de sopa) e um cotonete será passado levemente na sua bochecha. Você poderá sentir um leve desconforto no momento da retirada dos fios de cabelo e poderá ter um pouco de dor no momento da coleta da quantidade de sangue da sua veia, bem como apresentar manchas roxas no local da punção. Você também responderá a algumas perguntas sobre seus hábitos de vida e autorizará a consulta aos seus dados no prontuário médico.

Se vocês concordarem em participar desse projeto serão coletados fios de cabelo, uma amostra de sangue da veia (uma colher de sopa) e algumas células da mucosa jugal (bochecha), também responderá a algumas perguntas sobre seus hábitos de vida e autorizará a consulta aos seus dados do seu filho no prontuário médico.

Métodos alternativos:

Sua participação nesse projeto é voluntária. Caso vocês não desejem participar deste projeto de pesquisa, basta que você não assine este Termo de Consentimento, e nenhuma amostra será colhida para esse fim. Não existem outros métodos ou formas para sua participação nesse projeto de pesquisa, se você não concordar com os procedimentos que serão realizados para a execução desse projeto você é totalmente livre para não participar.

Riscos:

Serão coletadas células da sua bochecha através de um cotonete, você poderá sentir um leve desconforto. Além disso, será coletada uma amostra de sangue através de punção de veia periférica (aproximadamente uma colher de sopa) que poderá causar manchas roxas no local. Coletaremos alguns fios do seu cabelo e você poderá sentir um pequeno

Benefícios:

Os resultados desse projeto de pesquisa trarão benefícios para você pois entendermos melhor a sua doença. Os resultados desse projeto serão importantes para que possamos entender melhor como se comportam as doenças hematológicas familiares. Essas informações poderão nos ajudar acompanhar e tratar melhor as pessoas com este tipo de doença do sangue. Seremos

capazes de identificar pacientes e familiares que podem ser portadores de SMD/LMA familiar, acompanhá-los e assim prevenir doenças associadas. Com isso, evitaremos a realização de cirurgias desnecessárias, poderemos dar orientações caso o paciente necessite de transplante de células tronco. Referenciar os pacientes a aconselhamento genético, discussão de risco reprodutivo, acompanhamento clínico para vigilância de doenças e de risco hematológico se assim for necessário.

Caráter confidencial dos registros:

Além dos pesquisadores que participam desse projeto, os dados obtidos e seus registros médicos poderão ser consultados pelo Comitê de Ética em Pesquisa do INCA e equipe de pesquisadores envolvidos. **Seu nome não será revelado** ainda que informações de seu registro médico e os dados gerados nesse projeto sejam utilizados para propósitos educativos ou de publicação científica, que ocorrerão independentemente dos resultados obtidos.

Tratamento médico em caso de danos:

Todo e qualquer dano decorrente do desenvolvimento deste projeto de pesquisa, e que necessite de atendimento médico, ficará a cargo da sua instituição. Seu tratamento e acompanhamento médico independem de sua participação neste projeto.

Custos:

Não haverá qualquer custo ou forma de pagamento para você pela sua participação no projeto.

Bases da participação:

É importante que você saiba que a sua participação neste projeto é totalmente voluntária e que você pode recusar-se a participar ou interromper sua participação a qualquer momento sem penalidades ou perda de benefícios aos quais tem direito. Caso você decida interromper sua participação no projeto, a equipe assistente deve ser comunicada e a coleta de dados será imediatamente interrompida e os resultados obtidos não serão utilizados na execução do projeto.

O médico responsável por sua internação no hospital em que você faz o tratamento pode interromper sua participação no projeto a qualquer momento, mesmo sem a sua autorização. Nesse caso, o motivo dessa interrupção será discutido com você.

Garantia de esclarecimentos:

Você e seus familiares podem fazer perguntas a qualquer momento durante a execução desse projeto. Neste caso, por favor, ligue para Dra. Rose Filgueiras, telefone 21-3111-5219. Você, seus familiares e seu médico ao receber os resultados da pesquisa serão orientados com relação às implicações no seu acompanhamento e tratamento. Ou seja, os pacientes e os familiares poderão ser referenciados a aconselhamento genético, discussão de risco reprodutivo, acompanhamento clínico para vigilância de disfunção orgânica e de risco hematológico se assim for necessário.

Se você tiver perguntas com relação a seus direitos como participante do projeto, também pode contar com um terceiro contato imparcial, o Comitê de Ética em Pesquisa da UFRJ (Rua Abelardo Lobo, 50, Ilha do Fundão, no Instituto de Pediatria, telefone 38384812) ou do Comitê de Ética em Pesquisa do INCA (Rua André Cavalcante, 28, Centro telefone 32075698)

Declaração de consentimento e assinatura:

Li as informações acima e entendi os propósitos deste projeto assim como seus benefícios e riscos potenciais da participação de meu filho (a). Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas foram respondidas. Eu, por intermédio deste documento, dou livremente meu consentimento para que meu filho (a) participe deste projeto.

Entendo que poderei ser submetido a exames adicionais aos necessários a meu tratamento e não receberei compensação monetária por minha participação neste projeto.

Eu recebi uma cópia assinada deste formulário de consentimento.

_____/____/201__

(Assinatura do paciente, familiar ou responsável)

(Nome do paciente, familiar ou responsável – letra de forma)

_____ (Testemunha, se necessário)

Eu, abaixo assinado, expliquei completamente os detalhes relevantes deste projeto ao paciente indicado acima e/ou pessoa autorizada para consentir pelo paciente.

_____ / ____ / ____

(Assinatura da pessoa que aplicou o TCLE.)

Termo de consentimento livre e esclarecido dirigido ao familiar maior de idade.

Projeto: Síndrome Mielodisplásica/Leucemia Mieloide Aguda (SMD/LMA) familiar no Sistema Único de Saúde: avaliação dos genes *RUNX1*, *CEBPA*, *DDAX41*, *ETV6* e *GATA2*.

Nome do participante da pesquisa _____

Você está sendo convidado (a) a participar de um projeto que pretende avaliar se a atividade de determinados genes em SMD/LMA Familiar está relacionada a algumas características da doença.

Para a realização desse projeto serão convidados pacientes com suspeita de serem portadores de SMD/LMA Familiar atendidos no Hospital Federal da Lagoa e Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira. Serão estudadas algumas características genéticas da SMD/LMA Familiar.

Além disso, serão realizados testes para verificar se existem alterações em genes nas células, a partir do material genético isolado a partir de células de mucosa jugal (bochecha), sangue periférico e fios de cabelo.

Os resultados deste projeto poderão trazer informações sobre a influência desses genes no tratamento de doenças do sangue. Para que você possa decidir se quer participar ou não deste projeto, precisa conhecer seus benefícios, riscos e implicações, por isso é importante que você leia atentamente esse documento.

Objetivo do projeto:

O projeto quer saber se há influência dos genes *RUNX1*, *CEBPA*, *DDAX41*, *ETV6* e *GATA2* em um tipo de doença hematológica que estamos pesquisando: a síndrome mielodisplásica e leucemia mieloide aguda familiar.

Procedimentos do projeto:

Se você concordar em participar desse projeto serão coletados alguns fios de cabelo, uma amostra de sangue periférico (uma colher de sopa) e um cotonete será passado levemente na sua bochecha. Você poderá sentir um leve desconforto no momento da retirada dos fios de cabelo e poderá ter um pouco de dor no momento da coleta da quantidade de

sangue da sua veia, bem como apresentar manchas roxas no local da punção. Você também responderá a algumas perguntas sobre seus hábitos de vida e autorizará a consulta aos seus dados no prontuário médico.

Se você concordar em participar desse projeto serão coletados alguns fios de cabelo, uma amostra de sangue periférico (uma colher de sopa) e um swab da sua bochecha. Você também responderá a algumas perguntas sobre seus hábitos de vida e autorizará a consulta aos seus dados no prontuário médico.

Métodos alternativos:

Sua participação nesse projeto é voluntária. Caso você não deseje participar deste projeto de pesquisa, basta que você não assine este Termo de Consentimento, e nenhuma amostra será colhida para esse fim. Não existem outros métodos ou formas para sua participação nesse projeto de pesquisa, se você não concordar com os procedimentos que serão realizados para a execução desse projeto você é totalmente livre para não participar.

Riscos:

Serão coletadas células da sua bochecha através de um cotonete, você poderá sentir um leve desconforto. Além disso, será coletada uma amostra de sangue através de punção de veia periférica (aproximadamente uma colher de sopa) que poderá causar manchas roxas no local. Coletaremos alguns fios do seu cabelo e você poderá sentir um pequeno desconforto.

Benefícios:

Os resultados desse projeto de pesquisa trarão benefícios para você pois entendermos melhor a sua doença. Os resultados desse projeto serão importantes para que possamos entender melhor como se comportam as doenças hematológicas familiares. Essas informações poderão nos ajudar acompanhar e tratar melhor as pessoas com este tipo de doença do sangue. Seremos capazes de identificar pacientes e familiares que podem ser portadores de SMD/LMA familiar, acompanhá-los e assim prevenir doenças associadas. Com isso, evitaremos a realização de cirurgias desnecessárias, poderemos dar orientações caso o paciente necessite de transplante de células tronco. Referenciar os pacientes a aconselhamento genético, discussão de risco reprodutivo, acompanhamento clínico para vigilância de doenças e de risco hematológico se assim for necessário.

Caráter confidencial dos registros:

Além dos pesquisadores que participam desse projeto, os dados obtidos e seus registros médicos poderão ser consultados pelo Comitê de Ética em Pesquisa do INCA e equipe de pesquisadores envolvidos. **Seu nome não será revelado** ainda que informações de seu registro médico e os dados gerados nesse projeto sejam utilizados para propósitos educativos ou de publicação científica, que ocorrerão independentemente dos resultados obtidos.

Tratamento médico em caso de danos:

Todo e qualquer dano decorrente do desenvolvimento deste projeto de pesquisa, e que necessite de atendimento médico, ficará a cargo da sua instituição. Seu tratamento e acompanhamento médico independem de sua participação neste projeto.

Custos:

Não haverá qualquer custo ou forma de pagamento para você pela sua participação no projeto.

Bases da participação:

É importante que você saiba que a sua participação neste projeto é totalmente voluntária e que você pode recusar-se a participar ou interromper sua participação a qualquer momento sem penalidades ou perda de benefícios aos quais tem direito. Caso você decida interromper sua participação no projeto, a equipe assistente deve ser comunicada e a coleta de dados será imediatamente interrompida e os resultados obtidos não serão utilizados na execução do projeto.

O médico responsável por sua internação no hospital em que você faz o tratamento pode interromper sua participação no projeto a qualquer momento, mesmo sem a sua autorização. Nesse caso, o motivo dessa interrupção será discutido com você.

Garantia de esclarecimentos:

Você e seus familiares podem fazer perguntas a qualquer momento durante a execução desse projeto. Neste caso, por favor, ligue para Dra. Rose Filgueiras, telefone 21-3111-5219. Você, seus familiares e seu médico ao receber os resultados da pesquisa serão orientados com relação às implicações no seu acompanhamento e tratamento. Ou seja, os pacientes e os familiares poderão ser referenciados a aconselhamento genético, discussão de risco reprodutivo, acompanhamento clínico para vigilância de disfunção orgânica e de risco hematológico se assim for necessário.

Se você tiver perguntas com relação a seus direitos como participante do projeto, também pode contar com um terceiro contato imparcial, o Comitê de Ética em Pesquisa da UFRJ (Rua Abelardo Lobo, 50, Ilha do Fundão, no Instituto de Pediatria, telefone 38384812) ou do Comitê de Ética em Pesquisa do INCA (Rua André Cavalcante, 28, Centro telefone 32075698)

Declaração de consentimento e assinatura:

Li as informações acima e entendi os propósitos deste projeto assim como seus benefícios e riscos potenciais da minha participação. Tive a oportunidade de fazer perguntas e todas foram respondidas. Eu, por intermédio deste documento, dou livremente meu consentimento para participar neste projeto.

Entendo que poderei ser submetido a exames adicionais aos necessários a meu tratamento e não receberei compensação monetária por minha participação neste projeto.

Eu recebi uma cópia assinada deste formulário de consentimento.

_____/____/201__

(Assinatura do paciente, familiar ou responsável)

(Nome do paciente, familiar ou responsável – letra de forma)

_____ (Testemunha, se necessário)

Eu, abaixo assinado, expliquei completamente os detalhes relevantes deste projeto ao paciente indicado acima e/ou pessoa autorizada para consentir pelo paciente.

_____ / _____ / _____

(Assinatura da pessoa que aplicou o TCLE.)

APÊNDICE D – ARTIGO

Title: RUNX1 gene variant myelodysplasia in a female patient with Cohen's syndrome and a family history of Ewing's sarcoma, acute leukemia, and solid tumors.

Introduction:

Myelodysplastic syndrome (MDS) is a clonal hematologic disorder that manifests as inefficient hematopoiesis, cytopenias, and a high risk of leukemic transformation.

Primary MDS primarily affects the older population, with the median onset at age 70. Its pathophysiology involves genetic machinery mutations that affect the function of spliceosomal proteins, DNA repair pathways, DNA methylation, altered function of the stem cell pool, loss of telomerase complex integrity, and dysregulation of inflammatory cytokines, among others (Bejar, 2011; Heibel, 2021). Observations extracted from cancer registries in the United States of America showed an MDS incidence rate of 3.3 per 100,000 people between 2001 and 2003 (Dana and Rollison, 2008). Between 2007 and 2011, analyses of MDS registries showed that the incidence had increased to 4.9 per 100,000, probably due to the growing interest in studying the condition. These rates typically increase with age, rising to 7.14 in 60-year-old patients and 35.49 in people aged 80 years and older (COGLE, 2015).

Secondary MDS in the pediatric population and young adults is mainly associated with exposure to cytotoxic agents (either chemotherapeutic or environmental), bone marrow failure syndromes, congenital aplasia, and hereditary syndromes with high predisposition to cancer. In recent years, familial MDS/LMA predisposition syndromes have received increasing attention (Lopes, 2006; Babushok, 2015).

It is estimated that 12% to 19% of patients with hematologic disorders referred for genetic testing have some type of germline mutation (Dinardo, 2018).

The following associations with germline mutations have been described for the hereditary syndromes with predisposition to myelodysplastic syndrome (MDS) and acute myeloid leukemia (AML): Familial AML associated with CEBPA mutation, MDS/AML associated with DDX41 mutation, pre-existing familial disorder/AML associated with RUNX1 mutation, MDS/AML associated with ANKRD6 gene mutation and telomere shortening diseases. (Arber, 2016). When the familial cases are aggregated, affected patients may present with

myelodysplastic syndrome or associations may exist with a clinical spectrum that is detailed below in Table 1.

Table 1 -Subtypes of myeloid neoplasms associated with germline predisposition:

Classification of germline predisposition myeloid neoplasms.
Classification of Myeloid Neoplasms.
Myeloid neoplasms with germline predisposition in the absence of pre-existing disease or organ dysfunction.
AML with germline mutation of CEBPA P/LP (CEBPA-associated familial AML)
Germline variant DDX41 P/PL
Germline TP53 P/PL mutation (Li-Fraumeni syndrome).
Myeloid neoplasms with germline predisposition and pre-existing platelet disorder.
RUNX1 germline variant P/LP (Familial Platelet Disorder with Myeloid Malignancy, FPD-MM).
ANKRD26 germline variant (type 2 thrombocytopenia).
ETV6 P/LP germline variant (type 5 thrombocytopenia).
Germline predisposition to myeloid neoplasms and genetic syndromes.
GATA2 P/LP germline variant (GATA2 deficiency).
Spinal Cord Failure Syndromes
. Severe Congenital Neutropenia
. Shwachman-Diamond Syndrome (SSD).
. Fanconi anemia (FA).
Telomere Biology Disorders.
. RAS disorders (neurofibromatosis type 1, CBL syndrome, Noonan syndrome, or Noonan-like syndrome disorders).
. Down syndrome.
. Germline SAMD9 P/LP variant (MIRAGE syndrome).
. SAMD9L P/LP germline variant (SAMD9L-related ataxia-pancytopenia syndrome).
. Biallelic germline variant BLM P/LP (Bloom syndrome).

Table: 1, adapted from Khoury, 2022 Translated by the author.

The *RUNX1* gene encodes a transcription factor involved in the regulation of normal hematopoiesis. Mutations in *RUNX1* cause familial thrombocytopenia with a predisposition

to myeloid malignancies. This is a rare autosomal dominant inheritance disorder in which thrombocytopenia or normal platelet count and anticipation phenomenon may occur. The incidence of FPD/LMA in families with this mutation has been reported to be 40% (Churpek, 2010).

Cohen's Syndrome is a rare autosomal recessive disease (OMIM 216550) caused by a mutation of the *VPS13B* gene in chromosome 8q22.2.

This encoded protein plays a role in the development of the hematopoietic and osteoarticular systems, as well as the ophthalmologic, cardiovascular, musculoskeletal, and neurological systems. (Wang, 2016)

We will discuss the case of an adolescent patient who is the offspring of second cousins. She has a history of MDS associated with Cohen syndrome and an extensive history of oncologic and onco-hematologic diseases. Molecular evaluation showed a pathogenic variant in the *RUNX1* gene in the course of DHF evaluation.

Case description:

The patient is an 18-year-old white female, and she was referred to hematology to investigate asymptomatic neutropenia observed since early childhood. Her parents were consanguineous relatives (second cousins).

Newborn screening for inborn errors of metabolism findings were nonspecific. Her parents denied a history of drug allergies, recurrent infections, hypertension, diabetes, or seizures. The patient started crawling when she was one-year-old and speaking when she was 13 years old. She was on oral contraceptives to control her heavy menstrual flow. The patient was in follow-up with an ophthalmologist for retinitis pigmentosa. She did not attend regular school and was home schooled. Family history: The patient's parents were second cousins. At 32 years old, her mother developed Ewing's Sarcoma in the iliac bone. She underwent chemotherapy (ifosfamide and etoposide) and radiotherapy. She developed a lesion on the right thigh two years after treatment for Ewing's Sarcoma. Biopsy of the right thigh mass showed (i) a hematologic neoplasm with TdT, CD45, CD43 and CD99 expression. (ii) Immunonegativity for CD3, CD20, CD34, CD15, CD30, desmin, S-100, AE1/AE3, Cam5.2, MUM1, PAX, CD79a, Myogenin, CD56, CD1a, CD117, CD10, CD7, CD2, CD4, CD8 and ALK. (iii). Suggestive of Granulocytic Sarcoma. Blood count upon hospital readmission was: HTC: 46%,

HGB: 14.90 g/dL, VGM: 86.9fL, LEU: 4,300/mm³, SEG 66%, PLQ 198,000 mm³. Bone marrow biopsy showed 100% myeloid blasts and extensive necrosis. Cytogenetics evidenced a normal female 46,XX pattern [21]. Molecular marker investigation showed (i) AML-ETO [t (8,21)] negative, (ii) Inversion 16 CBF-MYh1: negative and (iii)t (15,17) negative. AML remission induction was recommended, yet the patient's mother, for religious reasons, refused to accept blood transfusion. The assisting team found that her refusal to undergo blood transfusion rendered her leukemia treatment unfeasible. The patient's mother developed a second granulocytic sarcoma in the left fibula. Chemotherapy and radiotherapy were not recommended, and she was referred to a palliative support center. The patient died in a different medical center. The patient had a first cousin with a history of bowel cancer and another first cousin with a history of breast cancer. Patient upon physical examination: Microcephaly and delayed cognitive development. A very affectionate, cooperative patient with small bilateral warts in the axillae, abnormally small hands and feet, low hairline, small teeth, and an ogival palate.

Laboratorial findings: Cranial magnetic resonance imaging showed an enlarged cisterna magna. The head CT scan showed prominent cortical sulci in the frontal and temporal lobes, wide basal cisterns, an enlarged fourth ventricle and a large cisterna magna displacing the cerebellar hemispheres, which suggests an arachnoid cyst. Blood count on admission showed neutropenia. Blood count at evaluation onset was: HTC: 45.6%, VGM 98.4 fL, LEU: 2,970 mm³, SEG: 371 mm³, EOS: 18%, MONO: 6.5%, LIN: 2,379 mm³, PLQ: 253,000 mm³. Anti-HIV 1 and 2: negative, HGBSaG negative, anti-HbS negative. Syphilis test negative and measles IgM and IgG negative. B12 level: 477 pmol /L and iron level: 8.4 µmol/L. Bone marrow biopsy showed (i) 30-40% hematopoietic cellularity. (ii) normoblastic erythroid series. (iii) granulocytic series - predominantly mature forms. (iv) Dysmorphic megakaryocytes, micromegakaryocytes observed. (v) Absence of excess blasts. (vi) CD61immunohistochemistry evidenced in micromegakaryocytes. Glycophorin positivity in the erythroid series. CD34 negative. (vii) Conclusion: findings compatible with myelodysplasia. Cytogenetics: 46, XX, del (17) (p12) [5]/46, XX [23]. TP53 FISH probe confirmed TP53 gene deletion in 18% of 100 analyzed cells. Immunophenotyping assayed 100,000 cells. The estimated viability was 93%. The following myeloid cell populations were observed: 62.1% matured into neutrophils, of which 0.34% were myeloblasts, 6.0% were promyelocytes, 26.0% were myelocytes, 32.5% were metamyelocytes and 35.1% were neutrophils. Maturation asynchrony. 4.0% matured into monocytes, 1.0% of which express CD16. Erythroid series 5.7%, megakaryocytes 9.0%, total lymphocytes 10.0%.

B lymphoid differentiation was not observed, absence of lymphoblasts. Hereditary hematological molecular panel (comprising *RUNX1* and *GATA2* genes) showed: the presence of variant in synonymous and benign *GATA2* gene exon 2 NM_032638.5(*GATA2*):c.15C>G (p.Pro5=) and in nonsynonymous and benign *GATA2* gene exon 3 NM_032638.5(*GATA2*):c.490G>A (p.Ala164Thr). The overall variant allele frequency according to the DBSNP database is 0.6524. The ABRaOM database gives a variant allele frequency of 0.7165. Given the patient's failure to thrive and her developmental and morphologic characteristics, there was indication for molecular cytogenetic testing. Chromosomal analysis of the patient by array-CGH 400k revealed arr[GRCh37]8q22.2(100247388_100618616) x0 and a deletion of chromosome 8, band q 22.2, region 100247388_100618616). The deletion of 8q22.2 is associated with VPS13B disease, which is related to Cohen's syndrome. Our patient had a homozygous deletion of exons 18-33 in the VPS13B gene. We concluded that the 8q22.2 deletion meets the criteria for pathogenicity. In addition, the patient has a loss of heterozygosity within the arr[GRCh37]8q13.3q24.23(70887835_136618020) region, which includes the *RUNX1* gene.

The patient had Cohen's Syndrome, and her parents are second cousins. The patient's mother was diagnosed with *Ewing's* Sarcoma. Years later she developed AML and died months after diagnosis.

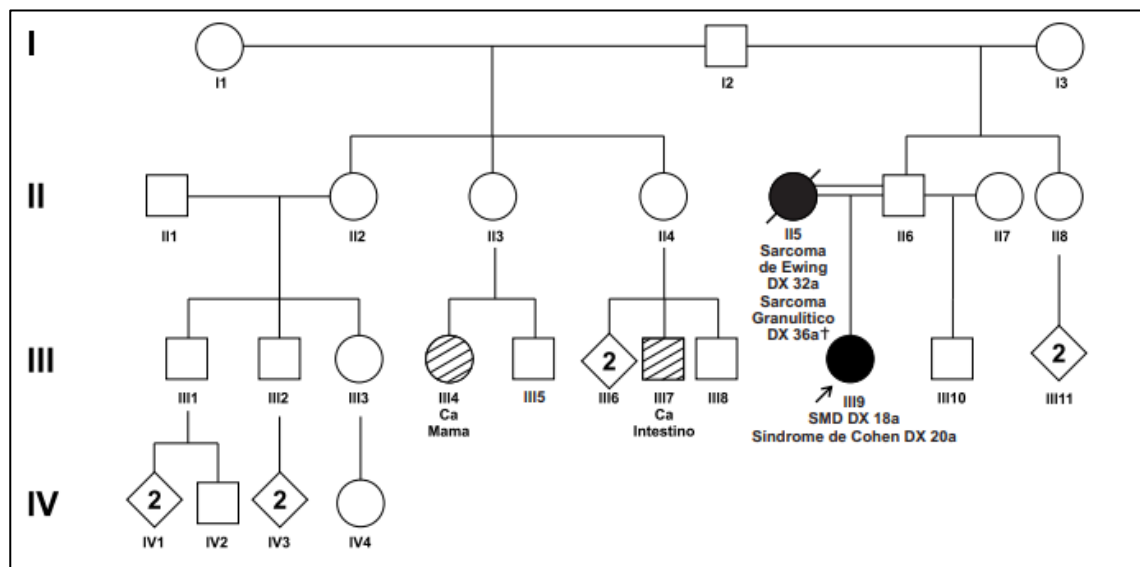


Figure: Proband 3's family pedigree: black filled symbols represent individuals with hematologic diseases; hatched symbols represent individuals with oncologic diseases; white symbols represent unaffected individuals; Dx indicates age at diagnosis; † indicates age at death; an arrow indicates the proband; a crossed-out symbol indicates a deceased individual; a number within a rhombus indicates the number of children.

Discussion:

Cohen's Syndrome is an autosomal recessive disease that is caused by mutation of the *VPS13B* gene in chromosome 8q22.2. This encoded protein has a role in the development of the hematopoietic and osteoarticular systems, as well as the ophthalmologic, cardiovascular, musculoskeletal, and neurological systems. (Wang, 2016)

Kallio *et al*, analyzed 16 bone marrow samples from patients with Cohen's Syndrome. (Kallio, 1997). In this case series, they observed that patients had mild to moderate neutropenia, whose readings from normal to near normal values. Our patient had severe neutropenia (Kallio, 1997).

Thirteen patients had recurrent infection and gingivitis whereas our patient had no opportunistic infections or recurrent gingivitis.

Kallio also found that bone marrow cellularity was normal or increased and cytogenetics normal in their case series. The Brazilian patient, by contrast, had hypocellular bone marrow and abnormal cytogenetics evidencing the clonal nature of the hematologic changes.

There is no family history of hematologic diseases described in Kallio's case series, nor were there any cases of leukemia or SMD. Perhaps this was due to the fact that MDS was an under-described condition at that time. Conversely, our patient with MDS had a strong family history of hematologic and oncologic disease (acute leukemia and Ewing's sarcoma, breast cancer and bowel cancer).

In their study of neutrophil adhesiveness in patients with Cohen's Syndrome, Olivieri *et al* observed that their patients' bone marrow did not manifest significant morphological alterations, whereas MDS findings were present in our patient (Olivieri, 1998).

Much like these clinical characteristics, the hematological phenotype could be explained by consanguinity. A consanguineous marriage is defined as a union between two individuals with an inbreeding coefficient equal or higher than 0.0156 (BITTLES, BLACK, 2001). This coefficient represents their progeny's prospect of inheriting identical genes from both parents. As such, autosomal recessive diseases are more likely to be expressed. First cousins are predicted to share 12.5% (1/8) of their genes, and their progeny will be homozygous at 6.25% of gene *loci* (Bennett *et al*. 2002).

The proband is the daughter of second cousin consanguineous parents, which would be a facilitating element for the occurrence of autosomal recessive diseases and certain familial

cancers. We confirmed the occurrence of Ewing's sarcoma, granulocytic sarcoma, and acute leukemia in the mother, besides two cases of solid cancer in the proband's cousins.

Our patient presents a cytogenetic alteration that determines CS, but concomitantly a loss of heterozygosity of some genomic regions has occurred. Among them, that contains the *RUNX1* gene. This fact introduced elements that are consistent with the patient's MDS characteristics, which are not found in Cohen's syndrome.

References:

Arber DA, The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasm and acute leukemia, Blood, 2016.

Babushok DV, Bessler M, Genetic predisposition syndromes: when should they be considered in the work-up of MDS? Best prac Res Clin Haematol, 2015.

Bejar R, Unraveling the molecular pathophysiology of myelodysplastic syndromes, J. Clin. Oncol, 2011.

Bennett RL, Genetic counseling and screening of consanguineous couples and their offspring practice resource: Focused Revision. J Genet Couns, 2002.

Bittles A, Consanguinity and its relevance to clinical genetics, Clin Genet, 2001.

Churpek JE, Heritability of hematologic malignancies: from pedigrees to genomics. Hematol Oncol Clin North Am, 2010.

Cogle CR, Incidence and burden of the Myelodysplastic syndrome, Curr Hematol Malig Rep, 2015.

DiNardo CD, Improving the Detection of Patients With Inherited Predispositions to Hematologic Malignancies Using Next-Generation Sequencing-Based Leukemia Prognostication Panels, Cancer 2018.

Heibel S, Is Myelodysplasia a Consequence of Normal Aging? Current Oncology Reports, 2021.

Kallio SK, Granulocytopenia in Cohen syndrome, BJH, 1997.

Khoury JD, The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/ Dendritic Neoplasms, Leukemia, 2022.

Lopes LF, Mielodisplasia em Pediatria, Lemar, 2006.

Olivieri O, Increased neutrophil capability in Cohen syndrome, an autosomal recessive disorder associated with granulocytopenia, Haematologica, 1998.

Rollison DE, Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United States, 2001-2004, using data from the NAACCR and SEER programs, Blood, 2008.

Wang H, Cohen Syndrome, GeneReview, 2016.

Annex 2: Proband chromosomal analysis by array-CGH



ANEXO A – APROVAÇÃO CEP UFRJ /IPPMG

**UFRJ - INSTITUTO DE
PUERICULTURA E PEDIATRIA
MARTAGÃO GESTEIRA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO DE JANEIRO**



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Síndrome Mielodisplásica/Leucemia Mielóide Aguda Familiar no Sistema Único de Saúde: avaliação dos genes RUNX1, CEBPA, DDX41, ETV6 e GATA2.

Pesquisador: Marcelo Gerardin Poirot Land

Área Temática: Genética Humana;

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP);

Versão: 3

CAAE: 01039118.0.0000.5264

Instituição Proponente: Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira - RJ

Patrocinador Principal: Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira - RJ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.707.054

Apresentação do Projeto:

Trata-se de estudo retrospectivo e prospectivo, descritivo, de uma coorte de pacientes com critérios para SMD/LMA familiar. É necessário identificar famílias susceptíveis, tratar síndromes clínicas, desenvolver estratégias de prevenção e seguimento de portadores sintomáticos ou assintomáticos, fornecer o aconselhamento genético, caracterizar marcadores biomoleculares e estabelecer tratamentos específicos. Existem casos não identificados de SMD/LMA familiar no Setor de Hematologia de dois hospitais terciários da rede pública do Sistema Único de Saúde.

Objetivo da Pesquisa:

Detectar e caracterizar a concomitância (cluster) de doenças hematológicas (neoplásica ou não) em familiares de pacientes com SMD/LMA, atendidos no IPPMG e HF da Lagoa sugestivos de predisposição hereditária familiar para SMD/LMA e verificar a existência de variantes genéticas em genes selecionados: RUNX1, CEBPA, DDX41, ETV6 e GATA2. Descrever características clínicas, laboratoriais de pacientes com critérios de SMD/LMA - familiar e seus parentes. Obter informações das famílias selecionadas sobre a ocorrência de neoplasias e idade de óbito para a construção de heredogramas de 3 ou mais gerações. c) Avaliar a frequência das variantes patogênicas nos genes

Endereço: Rua Bruno Lobo 50 - Ilha do Fundão		CEP: 21.941-912
Bairro: Cidade Universitária		
UF: RJ	Município: RIO DE JANEIRO	
Telefone: (21)2560-3842	Fax: (21)2562-6150	E-mail: pesquisa@ipmg.ufrj.br

**UFRJ - INSTITUTO DE
PUERICULTURA E PEDIATRIA
MARTAGÃO GESTEIRA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO DE JANEIRO**



Continuação do Parecer: 3.707.054

RUNX1, CEBPA, DDAX41, ETV6 e GATA2.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Danos físicos: os pacientes poderão sentir desconforto no momento da coleta de amostras de swab de mucosa jugal, dor na coleta de fios de cabelo. Psíquica: os pacientes selecionados e seus familiares poderão apresentar ansiedade e medo com relação à possibilidade de desenvolverem quadros de LMA/ SMD familiar no futuro. Poderá haver a quebra accidental do anonimato dos dados: (perda de confidencialidade) ainda que a equipe de pesquisa se comprometa com a garantia da confidencialidade. Para isso serão utilizados códigos numéricos nas amostras coletadas e nas fichas com dados clínicos dos pacientes. Os benefícios do estudo de pacientes portadores de Síndrome Mielodisplásica/Leucemia Mieloide Aguda Familiar no SUS e a avaliação da presença da presença de variantes patogênicas nos genes RUNX1, CEBPA, DDAX41, ETV6 e GATA2 consistem em: Potenciais benefícios indiretos aos pacientes e à sua comunidade.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Será aplicado questionário com informações da história familiar associada à SMD/LMA. Os pacientes selecionados serão convidados a assinar o TCLE e responder 2º questionário com perguntas para avaliar a existência de síndromes predisponentes a câncer e dados epidemiológicos de exposição ambiental. Serão analisadas fichas clínicas do período de 2006 a 2019 de pacientes do serviço de hematologia do HFL e IPPMG, e novos pacientes referenciados nestes hospitais.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O nome da rua do IPPMG deve ser corrigido. Restante, adequados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há.

Considerações Finais e critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP-IPPMG relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

Endereço: Rua Bruno Lobo 50 - Ilhe do Fundão
Bairro: Cidade Universitária CEP: 21.941-912
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2590-3842 Fax: (21)2592-6150 E-mail: pesquisa@ippmg.ufrj.br

Página 02 de 04

**UFRJ - INSTITUTO DE
PUERICULTURA E PEDIATRIA
MARTAGÃO GESTEIRA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
RIO DE JANEIRO**



Continuação do Parecer: 3.707.054

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIO DE JANEIRO, 14 de Novembro de 2019

Assinado por:

José Cesar da Fonseca Junqueira
(Coordenador(a))

ANEXO B – APROVAÇÃO CEP – INCA

	INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA - INCA	
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP		
Elaborado pela Instituição Coparticipante		
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA		
Título da Pesquisa: Síndrome Mielodisplásica/Leucemia Mieloide Aguda Familiar no Sistema Único de Saúde: avaliação dos genes RUNX1, CEBPA, DDX41, ETV6 e GATA2.		
Pesquisador: Marcelo Gerardin Polrot Land		
Área Temática: Genética Humana: (Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP);		
Versão: 4		
CAAE: 01039118.0.3001.5274		
Instituição Proponente: Instituto Nacional de Câncer/ INCA/ RJ		
Patrocinador Principal: Instituto de Fuericultura e Pediatría Martagão Gesteira - RJ		
DADOS DO PARECER		
Número do Parecer: 3.531.301		
Apresentação do Projeto: Conforme descrito no Parecer Consubstanciado CEP/INCA Nº 3.410.697 de 25/06/2019		
Objetivo da Pesquisa: Conforme descrito no Parecer Consubstanciado CEP/INCA Nº 3.410.697 de 25/06/2019		
Avaliação dos Riscos e Benefícios: Conforme descrito no Parecer Consubstanciado CEP/INCA Nº 3.410.697 de 25/06/2019		
Comentários e Considerações sobre a Pesquisa: Trata-se de resposta ao Parecer Consubstanciado CEP/INCA Nº 3.521.753 de 21/08/2019		
Estudo descritivo, exploratório, retrospectivo e prospectivo, de uma coorte de pacientes atendidos no Instituto de Fuericultura e Pediatría Martagão Gesteira (IPPMG/UFRJ) e no Hospital Federal da Lagoa (HFL) com suspeita de SMD/LMA familiar para verificar a existência de variantes genéticas		
Endereço: RUA DO RESENDE, 128 - SALA 204 CEP: 20.231-002 Bairro: CENTRO Município: RIO DE JANEIRO UF: RJ Telefone: (21)3207-4850 Fax: (21)3207-4856 E-mail: cep@inca.gov.br		

Página 01 de 12

	INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA - INCA	
Continuação do Parecer: 3.531.301		
Situação do Parecer: Aprovado		
Necessita Apreciação da CONEP: Não		

RIO DE JANEIRO, 26 de Agosto de 2019

Assinado por:
Carlos Henrique Debenedito Silva
(Coordenador(a))