



UNIVERSIDADE DE
COIMBRA FACULDADE
DE
MEDICINA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

JOANA OLIVEIRA MARTINS CABRAL

***As Síndromes Mielodisplásicas – Fisiopatologia, Diagnóstico e
Tratamento***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE HEMATOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

DOUTORA EMÍLIA NOBRE BARATA ROXO CORTESÃO

PROFESSORA DOUTORA ANA BELA SARMENTO ANTUNES CRUZ RIBEIRO

MAIO/2020

As Síndromes Mielodisplásicas – Fisiopatologia, Diagnóstico e Tratamento

Myelodysplastic Syndromes – Pathophysiology, Diagnosis and Treatment

Joana Oliveira Martins Cabral¹, Emília Nobre Barata Roxo Cortesão^{1,2}, Ana Bela Sarmento Antunes Cruz Ribeiro^{1,2}

¹Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal

²Serviço de Hematologia, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Coimbra, Portugal

Correspondência:

Emília Nobre Barata Roxo Cortesão²

Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

Serviço de Hematologia

Morada: Praceta Professor Mota Pinto, 3000-075, Coimbra, Portugal

Índice

Índice de Figuras.....	4
Índice de Tabelas.....	4
Lista de Abreviaturas, Acrónimos e Siglas.....	5
Resumo.....	6
<i>Abstract</i>	7
Introdução.....	8
Materiais e Métodos.....	9
Síndromes Mielodisplásicas.....	10
1. Definição e Epidemiologia.....	10
2. Etiologia.....	11
3. Fisiopatologia.....	12
3.1. Alterações cromossómicas.....	13
1) Deleções do Cromossoma 5q.....	13
2) Deleções do Cromossoma 7 e 7q.....	14
3) Trissomia do Cromossoma 8.....	15
4) Cromossoma Y e deleções 20q.....	15
5) Alterações acometendo o cromossoma 3q26.....	16
6) Outras alterações citogenéticas.....	16
3.2. Mutações genéticas.....	17
1) Mutações <i>TET2</i>	17
2) Mutações <i>ASXL1</i>	18
3) Mutações <i>RUNX1</i>	18
4) Mutações <i>IDH1</i> e <i>IDH2</i>	19
5) Mutações em Tirosina Cinases, Genes <i>RAS</i> e <i>CBL</i>	20
6) Mutação e Ativação do <i>TP53</i>	20
3.3. Modificações epigenéticas.....	21
3.4. O papel do microambiente medular.....	22
3.5. Alterações das vias de sinalização celular.....	23
4. Características Clínicas.....	26
5. Diagnóstico e Classificação.....	27
5.1. História Clínica e Exame Físico.....	27
5.2. Exames complementares de diagnóstico.....	27
5.2.1. Citologia.....	28
5.2.2. Genética.....	29
6. Diagnóstico Diferencial.....	31
7. Tratamento.....	31

7.1. Tratamento de Suporte	33
7.2. Tratamento das SMD de baixo risco	34
7.3. Tratamento das SMD de alto risco.....	36
7.4. Novas Terapêuticas nas SMD	38
8. Prognóstico.....	40
9. Progressão para LMA.....	41
A Eritropoietina e o Recetor da Eritropoietina nas SMD e noutras neoplasias.....	42
Conclusão	45
Referências Bibliográficas	47

Índice de Figuras

Figura 1

Vias de transformação celular13

Figura 2

Representação do modelo de ativação do EPOR.....24

Índice de Tabelas

Tabela 1

Mutações Somáticas mais comuns nas SMD.....17

Tabela 2

Critérios de Classificação de SMD da OMS 2016.....30

Tabela 3

Score Preditivo de Resposta aos ESA34

Tabela 4

Grupos de Prognóstico Citogenético do IPSS-R.....41

Lista de Abreviaturas, Acrónimos e Siglas

ATG	Globulina Antitimócito
ASXL1	<i>Additional Sex-comb Like-1</i>
CDR	<i>Commonly Deleted Regions</i>
EPO	Eritropoietina
EPOR	Recetor da Eritropoietina
ERK	<i>Extracellular Signal-Regulated Kinase</i>
ESA	Agentes Estimuladores da Eritropoiese
FAB	Classificação Franco-Americo-Britânica
FLT3	<i>FMS-like tyrosine kinase 3</i>
G-CSF	Fator de Crescimento Estimulante das Colónias de Granulócitos
GDF11	Fator 11 de Diferenciação de Crescimento
IDH1/IDH2	Isocitrato Desidrogenase 1/Isocitrato Desidrogenase 2
IPSS	<i>International Prognostic Scoring System</i>
IPSS-R	<i>Revised International Prognostic Scoring System</i>
MAPK	<i>Mitogen-Activated Protein Kinases</i>
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
LMA	Leucemia Mieloide Aguda
NMP	Neoplasias Mieloproliferativas
OMS	Organização Mundial de Saúde
PDGFR	<i>Platelet-Derived Growth Factor Receptor</i>
PI3K	Fosfatidil Inositol-3-Cinase
PLC	Fosfolipase C
rEPO	Eritropoietina recombinante
RUNX1	<i>Runt-related transcription factor 1</i>
S-EPO	Eritropoietina Sérica
SMD	Síndromes Mielodisplásicas
SNC	Sistema Nervoso Central
STAT5	<i>Signal Transducer and Activator of Transcription 5</i>
TET2	<i>Tet Methylcytosine dioxygenase 2</i>
TGF- β	Fator de Crescimento Transformador β
TK	Tirosina Cinases
TNF- α	<i>Tumour Necrosis Factor Alpha</i>
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular

Resumo

Introdução: As Síndromes Mielodisplásicas (SMD) representam um grupo heterogêneo de doenças clonais da célula estaminal hematopoiética. São as neoplasias hematológicas mais frequentes nos idosos, com elevado risco de progressão para Leucemia Mieloide Aguda (LMA), sobrevivência global baixa e resistência às terapêuticas convencionais.

Objetivo: Este trabalho tem como objetivo fazer uma revisão atual da literatura existente acerca das Síndromes Mielodisplásicas, principalmente a nível da sua fisiopatologia, diagnóstico e tratamento.

Material e Métodos: Realizou-se uma pesquisa bibliográfica predominantemente no motor de busca PubMed, combinando os termos “*myelodysplastic syndromes*” e “*erythropoietin*”. Pesquisas adicionais foram efetuadas no *Cochrane Library*, *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), *Acta Médica Portuguesa* e *Repositórios Científicos de Acesso Aberto de Portugal* (RCAAP). Deu-se preferência à literatura publicada nos últimos 10 anos, tendo-se procedido à seleção dos artigos com base na adequabilidade temática, fator de impacto da fonte da publicação, número de citações e edição em inglês, português, espanhol ou francês.

Resultados: A patogénese das SMD parece relacionar-se com a ocorrência de uma sequência de alterações genéticas/epigenéticas na célula progenitora hematopoiética multipotente, sendo que o sistema imune parece ainda desempenhar um papel na supressão da função da medula óssea. Estes mecanismos celulares e moleculares podem ainda influenciar o elevado risco de progressão para LMA. Adicionalmente, as células neoplásicas parecem possuir capacidade de subversão do eixo EPO/EPOR, com ativação de diversas vias de sinalização celular, o que se associa a progressão tumoral. Os Agentes Estimuladores da Eritropoiese (ESA), frequentemente usados como terapêutica de primeira linha, falham na indução de uma resposta sustentável em muitos casos. Estudos recentes têm proposto novos fármacos como alternativas ou associados às terapêuticas atuais.

Conclusão: A heterogeneidade clínica das SMD reflete os diversos mecanismos fisiopatológicos responsáveis pelo seu desenvolvimento e progressão para LMA. O diagnóstico das SMD assenta principalmente nos achados morfológicos de displasia medular em doentes com evidência clínica de hematopoiese ineficaz. Atualmente, a decisão terapêutica baseia-se na aplicação de *scores* de prognóstico. Os progressos recentes no entendimento da fisiopatologia têm permitido o desenvolvimento de fármacos específicos, pelo que o futuro das estratégias terapêuticas pode passar pela contínua aposta na investigação deste grupo de patologias.

Palavras-chave: Síndromes Mielodisplásicas; Eritropoietina; Recetor da Eritropoietina; Transdução de Sinal; Variação Genética

Abstract

Introduction: Myelodysplastic Syndromes (MDS) represent a heterogeneous group of hematopoietic stem cell clonal disorders and the most frequent hematologic neoplasms in the elderly, with a high risk of progression to Acute Myeloid Leukaemia (AML), low overall survival and resistance to conventional therapies.

Aim: This paper aims to review the current existing literature about Myelodysplastic Syndromes, mainly in terms of its pathophysiology, diagnosis and treatment.

Material and Methods: A bibliographic research was carried out predominantly on the PubMed search engine, combining the terms “myelodysplastic syndromes” and “erythropoietin”. Additional research was carried out in the Cochrane Library, Scientific Electronic Library Online (SciELO), *Acta Médica Portuguesa* and *Repositórios Científicos de Acesso Aberto de Portugal* (RCAAP). Preference was given to the literature published in the last 10 years, with the selection of articles based on thematic suitability, impact factor of the publication source, number of citations and edition in English, Portuguese, Spanish or French.

Results: The pathogenesis of MDS seems to be related to a sequence of genetic/epigenetic changes in the multipotent hematopoietic progenitor cell, with the immune system also playing a role in suppressing bone marrow function. These cellular and molecular mechanisms can also influence the high risk of progression to AML. Additionally, neoplastic cells seem to have the capacity to subvert the EPO/EPOR axis, activating several cell signalling pathways, which is associated with tumour progression. Erythropoiesis-Stimulating Agents (ESA), often used as first-line therapy, fail to induce a sustainable response in many cases. Recent studies have proposed new drugs as alternatives or in association with current treatment strategies.

Conclusion: The clinical heterogeneity of MDS reflects the different pathophysiological mechanisms responsible for its development and progression to AML. The diagnosis of MDS is based mainly on the morphological findings of bone marrow dysplasia in patients with clinical evidence of ineffective haematopoiesis. Currently, the therapeutic decision is based on prognostic scores. Recent advances in the understanding of its pathophysiology have allowed the development of specific drugs. The future of therapeutic strategies may involve continuous investment in the investigation of this group of disorders.

Keywords: Myelodysplastic Syndromes; Erythropoietin; Erythropoietin Receptor; Signal Transduction; Genetic Variation

Introdução

As Síndromes Mielodisplásicas (SMD) são um grupo heterogêneo de doenças clonais da célula estaminal hematopoiética caracterizadas por hematopoiese ineficaz, citopenias periféricas com medula hipercelular e displasia celular, sendo que cerca de um terço dos doentes evoluem para Leucemia Mieloide Aguda (LMA).(1–3) A fisiopatologia permanece por esclarecer, mas a evidência científica atual aponta para uma sucessão de alterações genéticas e/ou epigenéticas que conduzem à desregulação da proliferação e da apoptose celulares, bem como da autorrenovação das células estaminais hematopoiéticas, com compromisso da diferenciação celular, mecanismos anti-apoptóticos e, ainda, a mecanismos de evasão do sistema imune.(4) De facto, estes parecem ser os responsáveis pelo desenvolvimento e progressão das SMD, podendo explicar ainda o elevado risco de progressão para LMA, com sobrevivência global baixa e resistência às terapêuticas convencionais, características desta patologia. O tratamento com agentes estimuladores da eritropoiese (ESA) corresponde ao tratamento de primeira linha da anemia, a citopenia mais comum, na maioria dos doentes com SMD. A eritropoietina (EPO) atua sinergicamente com o fator de crescimento estimulante das colónias de granulócitos (G-CSF), inibindo a apoptose eritroide e promovendo a produção de eritrócitos.(5)

A deficiência adquirida de EPO ou a resistência à terapêutica com EPO recombinante levam a desregulação da eritropoiese, com alguns estudos a demonstrarem uma correlação negativa entre os anticorpos anti-recetor da eritropoietina (anti-EPOR) no soro e o número de reticulócitos e eritroblastos na medula óssea, o que indica que os anticorpos anti-EPOR podem desempenhar um papel funcional na indução da anemia.(6) Por outro lado, vários estudos demonstraram que a EPO e outros ESA podem ter uma ação promotora do crescimento e anti-apoptótica em células não hematopoiéticas, tanto normais quanto malignas, embora ainda com resultados não totalmente clarificados.(7–9)

Deste modo, o principal enfoque deste trabalho reside em fazer uma revisão atual da literatura sobre as Síndromes Mielodisplásicas, nomeadamente a nível da sua fisiopatologia, diagnóstico e tratamento. Procuraremos ainda evidenciar o papel das mutações no gene da EPO e seu recetor e analisar de que forma estas alterações podem estar implicadas na patogénese e progressão das Síndromes Mielodisplásicas. Nos últimos anos, os progressos feitos ao nível do entendimento das vias de sinalização celular, do papel da eritropoietina e do seu recetor e do microambiente na patogénese das SMD, têm permitido o desenvolvimento de fármacos específicos, evidenciando que o futuro das estratégias terapêuticas nas SMD pode passar pela aposta contínua na investigação neste grupo de patologias.

Materiais e Métodos

Este trabalho teve por base a pesquisa bibliográfica feita em fevereiro de 2020 com os termos “*myelodysplastic syndromes*” e “*erythropoietin*” (de acordo com o *Medical Subject Headings – MeSH*) e os seguintes filtros: artigos publicados nos últimos 10 anos, escritos em inglês, português, espanhol ou francês e cujos estudos tenham sido aplicados em humanos. Foi essencialmente utilizada a subdivisão Pubmed da base de dados eletrónica do *National Center for Biotechnology Information (NCBI)*. Uma pesquisa adicional foi realizada com o recurso à *Cochrane Library*, *Scientific Electronic Library Online (SciELO)*, *Acta Médica Portuguesa* e *Repositórios Científicos de Acesso Aberto de Portugal (RCAAP)*.

A seleção dos artigos relevantes foi feita, numa primeira fase, pela leitura do título e resumo, tendo sido excluídos os duplicados. Posteriormente, foram selecionados os artigos de acordo com a leitura do texto integral dos mesmos, tendo sido separados os que empregavam os critérios pretendidos. Não foi considerada a revisão dos artigos cujo conteúdo era sobreponível ou considerado não significativo, por incompatibilidade e inadequação com a temática sugerida.

Foram, ainda, incluídas outras publicações de interesse recorrentes na bibliografia de alguns artigos primeiramente selecionados, além de outras não resultantes desta pesquisa, mas de particular pertinência científica para a análise do tema. Os artigos não disponíveis de forma livre nas bases de dados foram solicitados aos seus autores, que os cederam por correio eletrónico, tendo sido incluídos na bibliografia. Após aplicação dos critérios pretendidos e, com base nos artigos encontrados, selecionou-se aqueles com maior relevância para o tema proposto, perfazendo um total de 98 referências bibliográficas, constituindo o suporte do trabalho desenvolvido.

Síndromes Mielodisplásicas

1. Definição e Epidemiologia

As Síndromes Mielodisplásicas (SMD) são um grupo heterogêneo de doenças clonais da célula estaminal hematopoiética caracterizadas por hematopoiese ineficaz, citopenias periféricas, em oposição a uma medula hiperclular, e displasia celular, sendo que cerca de um terço dos doentes evoluem para Leucemia Mieloide Aguda (LMA).(1-3)

O reconhecimento e classificação das SMD evoluíram ao longo dos anos, refletindo o aumento do conhecimento sobre esta patologia.(10) A primeira descrição de SMD parece ser da autoria de von Leube, em 1900, ao reportar um caso com diversas características clínicas coincidentes, tendo o autor especulado que a patologia subjacente teria causa infecciosa e corresponderia a uma forma de anemia hemolítica, com progressão para leucemia aguda, com ausência de resposta ao tratamento instituído.(11) Anos mais tarde, em 1975, Marcel Bessis e Jean Bernard iriam sugerir a designação displasia hematopoiética, posteriormente abreviada para mielodisplasias, um grupo de doenças com um curso mais indolente do que a LMA. Contudo, a designação formal de Síndromes Mielodisplásicas apenas surgiu em 1982, por iniciativa do Grupo Cooperativo Franco-Americo-Britânico (FAB).(12)

As SMD representam as neoplasias hematológicas mais frequentes nos idosos, com idade mediana ao diagnóstico de 70 anos, o que poderá refletir uma exposição prolongada a diversos agentes leucemogénios. Com efeito, menos de 10% dos doentes apresentam idade inferior a 50 anos, com exceção das SMD secundárias à radioterapia ou quimioterapia, administradas no contexto de outras neoplasias.(10,13) Contudo, pode surgir em qualquer idade, incluindo na infância (1 caso por cada 1 000 000 habitantes/ano entre os 5 meses e os 15 anos). De realçar que a maioria dos casos ocorridos nesta faixa etária estão associados a doenças hereditárias predisponentes de SMD, das quais são exemplos a Anemia de Blackfan-Diamond, Síndrome de Shwachman-Diamond, Disqueratose Congénita, Anemia de Fanconi e Síndrome de Kostmann (neutropenia congénita grave), apresentando características distintas das SMD do adulto.(14)

A incidência de SMD na Europa é de cerca de 4 casos por cada 100 000 habitantes/ano (aumentando para 40-50/100 000 em doentes com idades \geq 70 anos).(1,15) Desconhecem-se diferenças étnicas na incidência das SMD, mas sabe-se que tendem a surgir em idades mais precoces em populações asiáticas, mais comumente apresentando medula hipocelular e, menos frequentemente, deleção 5q isolada (SMD com del(5q) isolada), enquanto a associação a trissomia 8 parece ser mais frequente do que em populações ocidentais.(1,16,17) De salientar ainda que as SMD têm maior incidência no sexo masculino, sendo o rácio masculino: feminino de 1,4:1.(18)

2. Etiologia

A etiologia e o tempo de latência permanecem desconhecidos na maioria dos casos de SMD, apenas sendo conhecida em cerca de 15%, aos quais se atribui a designação de SMD secundária. O facto de ser mais comum em idosos pode estar relacionado com o envelhecimento medular que, assim, desempenharia também um papel na sua patogénese. Adicionalmente, o stress oxidativo, mediado por lesão mitocondrial, tem sido apontado como um dos fatores que contribuem para este envelhecimento.

A predisposição hereditária para SMD é mais comumente observada nos casos de SMD em idade pediátrica, associada às doenças hereditárias citadas, sendo menos frequente nos adultos. Deste modo, esta hipótese de diagnóstico deve ser considerada quando é diagnosticada uma SMD em jovens adultos ou em famílias com outros casos de SMD, LMA ou Anemia Aplásica.(14)

Das causas identificadas de SMD destacam-se fatores ambientais, que incluem a administração prévia de quimioterapia, em especial agentes alquilantes e, mais recentemente, análogos das purinas, frequentemente usados no tratamento de linfomas e tumores sólidos,(19) radioterapia ou radiação ionizante, sendo os seus efeitos dependentes da dose e da duração da exposição,(24,25) bem como exposição ao tabaco e seus aditivos.(22)

Os fatores ocupacionais compreendem o benzeno e seus derivados, sendo as principais fontes de exposição, no quotidiano, o fumo do tabaco e a gasolina, com um número considerável de casos de SMD reportados em trabalhadores das áreas da agricultura e indústria.(26,27) A exposição a concentrações elevadas de benzeno provoca, inequivocamente, toxicidade medular, geralmente, aplasia, com possível evolução para mielodisplasia e/ou LMA.(24)

De salientar que os casos de SMD secundárias, em particular aqueles ocorridos após quimioterapia, geralmente, apresentam fatores de prognóstico mais desfavoráveis, como achados citogenéticos complexos, que envolvem os cromossomas 5 e/ou 7 e/ou 17p, constituindo uma neoplasia associada à terapêutica.

Das principais diferenças entre SMD associadas à terapêutica e SMD primárias destacam-se: idade de apresentação mais precoce, incidência aumentada de evolução para leucemia, citopenias de maior gravidade, displasia medular mais marcada (possivelmente displasia das três linhagens medulares), diminuição da celularidade da medula com fibrose, elevada incidência de distúrbios clonais citogenéticos e resistência à terapêutica. De uma forma geral, estes doentes têm um prognóstico mais reservado.(14)

3. Fisiopatologia

A fisiopatologia exata das SMD permanece pouco esclarecida. Contudo, têm sido propostas diversas teorias, que atribuem um papel potencial a fatores como alterações cromossômicas, mutações genéticas hereditárias ou adquiridas, modificações epigenéticas, alterações imunofenotípicas e desregulação do sistema imune, afetando tanto a imunidade celular como a humoral. Tem sido igualmente postulado que a patogênese das SMD representa um processo longo, complexo e que requer múltiplas etapas. Deste modo, a heterogeneidade clínica das SMD reflete os diversos mecanismos fisiopatológicos responsáveis pelo seu desenvolvimento e a sua progressão para leucemia aguda.(14,25)

De facto, a evidência científica atual parece apontar para a necessidade de ocorrerem vários fenómenos de modo a que as SMD se manifestem clinicamente.(4,5,18,29–34) Etapas associadas à patogênese das SMD incluem:

- 1) Aumento da capacidade de autorrenovação da célula estaminal hematopoiética ou aquisição de autorrenovação numa célula progenitora;
- 2) Desregulação da capacidade proliferativa e da apoptose do clone pré-maligno e/ou da sua descendência mais diferenciada;
- 3) Alteração da diferenciação celular;
- 4) Instabilidade genética e epigenética;
- 5) Evasão ao sistema imune;
- 6) Supressão da hematopoiese normal.

Uma das características presente na célula precursora é a capacidade de autorrenovação. Esta célula pode ter origem numa célula estaminal hematopoiética ou num progenitor mielóide mais diferenciado que adquire capacidade de autorrenovação. A expansão adicional deste clone pode ocorrer através do aumento da proliferação ou da resistência à apoptose, sendo que alterações no microambiente da medula óssea podem igualmente favorecer o desenvolvimento de um clone maligno. As SMD ocorrem quando, pelo menos, uma das lesões moleculares presentes no clone dominante ou no seu microambiente induz diferenciação displásica de uma ou mais linhagens mielóides, originando hematopoiese ineficaz (Fig. 1). As alterações que ocorrem em cada etapa determinam o modo como a doença se manifesta clinicamente, incluindo o tipo e a gravidade das citopenias presentes, e se a doença é indolente ou rapidamente progressiva.(4)

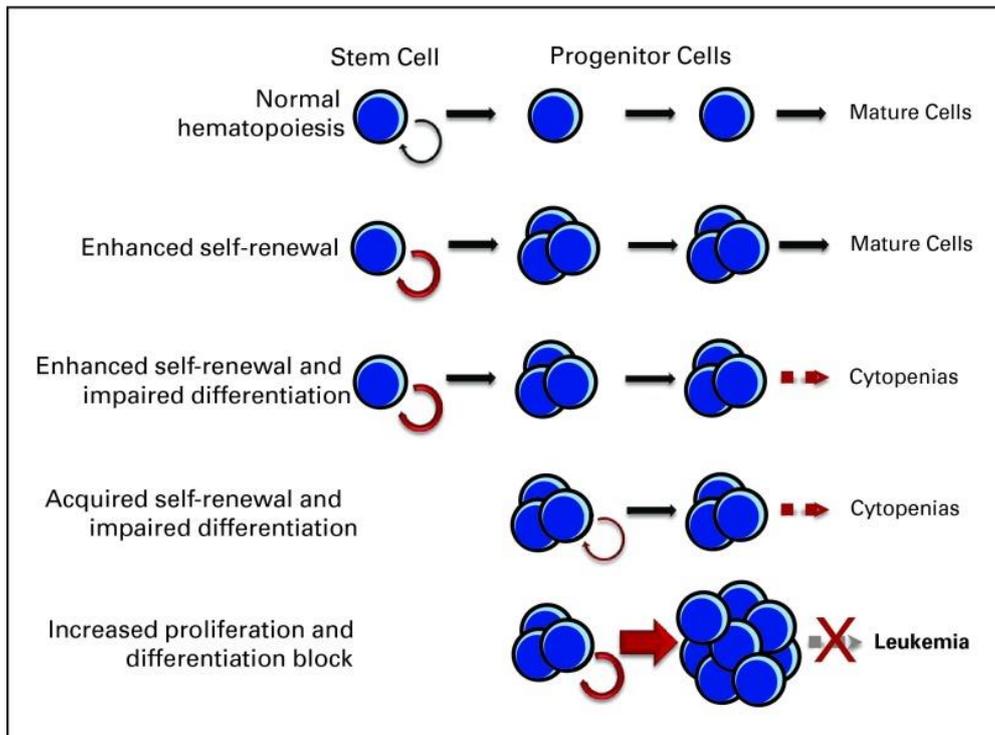


Figura 1 – Vias de transformação celular. Um conjunto heterogêneo de alterações genéticas e epigenéticas pode desencadear eventos celulares que originam fenótipos clínicos. O clone pode apresentar instabilidade genômica, com capacidade de autorrenovação, displasia e disfunção celular, como por exemplo, hematopoiese ineficaz e alteração da diferenciação. Adaptado de Bejar R, Levine R, Ebert BL. *Unravelling the Molecular Pathophysiology of Myelodysplastic Syndromes*. J Clin Oncol. 2011;29:504–15

3.1. Alterações cromossômicas

1) Deleções do Cromossoma 5q

Cerca de 50% dos doentes diagnosticados com SMD *de novo* apresentam alterações citogenéticas, das quais a deleção do braço longo do cromossoma 5 ou del(5q) é a mais comum. Em 10% dos casos representa a única alteração citogenética, associando-se a um prognóstico mais favorável. Nos 5-10% dos casos em que faz parte de um cariótipo complexo, caracterizado por três ou mais alterações citogenéticas, associa-se a um prognóstico mais reservado.(31)

As deleções do 5q são, universalmente, heterozigóticas. Apesar da sequenciação exaustiva, não foram identificadas mutações nos genes do alelo intacto remanescente e não se observa dissomia uniparental nos doentes com SMD. Estes achados sugerem que, em vez de ocorrer inativação bialélica do gene supressor tumoral, a haploinsuficiência de um ou mais genes no 5q é, provavelmente, patogénica. A análise dos pontos de quebra da região 5q em doentes com SMD permitiu identificar duas áreas de regiões comumente deletadas (*commonly deleted regions*, CDRs). A CDR mais distal, 5q33.1, associa-se a um fenótipo clínico denominado síndrome 5q-, que se caracteriza por anemia macrocítica grave, trombocitose ligeira, predomínio no sexo feminino e menor risco de progressão para LMA. A

CDR proximal, 5q31, associa-se a SMD relacionada com a terapêutica e a formas mais agressivas de SMD e LMA.(4)

Múltiplos genes na região 5q estão implicados na patogênese das SMD. Por exemplo, a perda parcial da função do gene *RPS14* (localizado na região 5q33), pode manifestar-se com a diseritropoiese característica de doentes com SMD com del(5q). Um estudo recente demonstra ainda que a sobreexpressão do gene *RPS14* permite a recuperação do defeito de diferenciação eritroide observado em doentes com Síndrome 5q- e estabelece o *RPS14* como um gene provavelmente promotor da doença.(32)

De forma semelhante, a perda de uma cópia dos genes que codificam os microRNA miR-145 e miR-146 (também localizados na região 5q33) pode fornecer alguma vantagem clonal e contribuir para a manutenção ou aumento do número de plaquetas. A haploinsuficiência de outros genes, incluindo *HSPA9*, *CTNNA1* e *EGR1*, também pode contribuir para o desenvolvimento da doença.(31)

Alguns estudos acerca do papel dos microRNA como reguladores da expressão genética e da diferenciação celular demonstram que estes regulam uma variedade de vias de sinalização, incluindo a via RAS, com efeitos antioncogénicos significativos. A identificação de miRNA específicos, expressos nas linhagens hematopoiéticas, pode auxiliar na compreensão do modo como a sua desregulação pode contribuir para o desenvolvimento de SMD.(33)

2) Deleções do Cromossoma 7 e 7q

Ao contrário das deleções do cromossoma 5q, a monossomia do cromossoma 7 e a perda intersticial do seu braço longo conferem mau prognóstico. Cerca de 10% dos doentes com SMD apresentam alterações no cromossoma 7, quer isoladas ou como parte integrante de um cariótipo complexo.(34) Esta frequência aumenta para perto de 50% em doentes com SMD relacionadas com a terapêutica com história prévia de tratamento com agentes alquilantes.(35) Além disso, a deleção do braço longo do cromossoma 7 (7q) associa-se igualmente a mutações no gene *AML1*, o que ajuda a explicar o incremento na frequência de transformação leucémica. De notar que alguns genes, cujo papel tem sido estudado na patogênese das SMD, localizam-se precisamente no braço longo do cromossoma 7, dos quais se destacam a *EPO*, o inibidor do ativador da plasmina, o recetor β da célula T, o gene da asparagina sintetase e da *phosphoinositide-3-kinase, catalytic, gamma polypeptide* (*PIK3CG*).

Foram identificadas três CDRs no 7q, mas o mecanismo de lesão molecular que leva ao desenvolvimento das SMD permanece por esclarecer. A descoberta relativamente recente

de mutações no gene *EZH2*, um gene localizado na região 7q36, responsável por codificar uma metiltransferase de histonas, pode ajudar a compreender as deleções frequentes desta região.(4) Esta metiltransferase de histonas atua como subunidade catalítica do *polycomb repressive complex 2 (PRC2)*, cuja atividade representa um evento epigenético associado a silenciamento genético. Em tumores sólidos, um incremento da expressão de *EZH2* foi associado a formas mais agressivas de doença e pior prognóstico. No entanto, em neoplasias hematológicas, a mutação de *EZH2* leva à perda da sua atividade catalítica. Demonstrou-se que a perda de função de *PRC2* aumenta a atividade da célula estaminal hematopoiética, o que pode ajudar a explicar o modo como as mutações *EZH2* promovem o desenvolvimento de neoplasias mieloides.(36)

3) Trissomia do Cromossoma 8

A trissomia 8 é a única amplificação cromossômica recorrente encontrada nas SMD. Encontra-se presente, isoladamente, em cerca de 8% dos doentes e é considerada uma alteração citogenética de risco intermédio, associando-se a uma sobrevivência inferior a metade da esperada em doentes com SMD com cariótipo normal.(34) No entanto, um subgrupo de doentes com trissomia 8 isolada responde de forma favorável a terapêutica imunossupressora. Estes doentes são, mais frequentemente, jovens, com anemia refratária de curta duração e com HLA-DR15.(37)

Um estudo revelou que células com trissomia 8 expressam níveis mais elevados de genes anti-apoptóticos e apresentam maior resistência à radiação, quando comparadas com células normais. Em contexto de autoimunidade, o clone com trissomia 8 tem maior probabilidade de apresentar vantagem seletiva comparativamente a precursores hematopoiéticos normais. Contudo, este mecanismo imunomediado, favorecedor do crescimento e disruptor da normal hematopoiese, também se encontra presente em doentes sem trissomia do cromossoma 8, mais comumente nas SMD de baixo risco, sobretudo se associadas a hipoplasia medular, que podem igualmente beneficiar de imunossupressão, embora com uma taxa de resposta mais reduzida.(38)

4) Cromossoma Y e deleções 20q

Doentes com alterações isoladas no cromossoma Y ou deleções 20q pertencem ao mesmo grupo de risco citogenético favorável dos doentes com cariótipo normal. Assim, não parece haver implicação da perda do cromossoma Y na patogénese das SMD.(39) A deleção isolada do cromossoma Y é encontrada em homens sem evidência de doenças hematológicas, ocorrendo aumento da incidência com a idade. Por outro lado, a deleção

intersticial do braço longo do cromossoma 20 aparenta ser patológica, não estando restrita, contudo, aos casos de SMD, também sendo encontrada em casos de neoplasias mieloproliferativas e na LMA.(40)

As CDR do 20q em doentes com SMD e LMA incluem 19 genes, nenhum destes implicados de forma conclusiva na patogénese das neoplasias mieloides. O risco citogenético favorável associado a 20q- sugere que esta desempenha um papel reduzido na modificação do curso da doença, embora a aquisição tardia de 20q- se associe a evolução do clone e possa conduzir a progressão da doença.(41)

Tal como sucede noutras alterações cromossómicas, tanto a deleção do cromossoma Y como do braço longo do cromossoma 20, podem ser úteis na confirmação da presença de hematopoiese clonal e como forma de monitorizar a resposta dos doentes à terapêutica. No entanto, nenhuma destas lesões apresenta evidência suficiente para fazer o diagnóstico de SMD de forma isolada.(39)

5) Alterações acometendo o cromossoma 3q26

Foram identificadas translocações recorrentes e inversões na região cromossómica 3q26 em doentes com LMA e, menos frequentemente, em alguns casos de SMD, nos quais se associavam a pior prognóstico.(34) Os pontos de quebra típicos incluem o *locus MDS1-EVI1 (MECOM)*, sendo que alterações cromossómicas nesta localização ativam, preferencialmente, a expressão isolada de *EVI1*, cujos produtos de transcrição desempenham funções distintas e potencialmente antagonistas. *EVI1* pode perturbar a atividade de diversos fatores de transcrição, incluindo *MDS1-EVI1*, *GATA1*, *PU.1* e *RUNX1*, contribuindo para hematopoiese ineficaz.(4,42) Mesmo em doentes sem alterações em 3q26, a sobreexpressão de *EVI1* associa-se a pior prognóstico.(34)

6) Outras alterações citogenéticas

Algumas alterações citogenéticas recorrentes, embora pouco frequentes, têm sido associadas a SMD. Na ausência de um diagnóstico alternativo, estas lesões cromossómicas podem levar à presunção de SMD em doentes com citopenias persistentes, mesmo perante evidência reduzida de displasia. Estas incluem variadas alterações no cromossoma 17 (presumivelmente com disrupção do gene *TP53*), no cromossoma Xq13 isodicêntrico (comumente associado à presença de sideroblastos em anel) e na translocação (6;9)(p23;q34), que gera o gene de fusão *DEK-NUP214* (também conhecido como *DEK-CAN*). (43)

As implicações prognósticas destes cariótipos raros não são consideradas como variáveis independentes em sistemas de *score* prognóstico, frequentemente, usados na prática clínica, como o *International Prognostic Scoring System* (IPSS). Estas alterações são incluídas no grupo de risco intermédio quando ocorrem de modo isolado ou com uma única alteração associada, à exceção da deleção do cromossoma 7 ou do seu braço longo. Os estudos recentes que associam o *outcome* às alterações citogenéticas incluem estas alterações pouco comuns, que podem predizer de forma mais acertada o prognóstico dos doentes com SMD.(4)

3.2. Mutações genéticas

Nas SMD encontram-se mutações genéticas a diferentes níveis (Tabela 1). De facto, podem ocorrer mutações ativadoras de proteínas da via de sinalização celular mediadas por recetores de tirosina-cinase, sendo que estas conferem aumento da capacidade proliferativa da célula. Por outro lado, podem igualmente ocorrer mutações que inativam genes codificantes de fatores de transcrição hematopoiéticos, que provocam alterações na diferenciação celular. Outras mutações são ainda capazes de inativar genes supressores tumorais, concedendo vantagem proliferativa às células mutadas.(2)

Tabela 1 – Mutações Somáticas Mais Comuns nas SMD (1)		
Função do gene	Gene	Frequência da mutação
Reguladores epigenéticos e fatores remodeladores da cromatina	<i>TET2</i> <i>ASXL1</i> <i>DNMT3a</i> <i>IDH1/2</i>	15-25% 10-20% 10% 5-10%
Fatores de <i>splicing</i> pré-mRNA	<i>SF3B1</i> <i>SRSF2</i> <i>U2AF1</i>	15-30% 10-15% 5-10%
Fatores de transcrição	<i>RUNX1</i> <i>TP53</i>	10-15% 5-10%
Moléculas sinalizadoras ¹	<i>NRAS/KRAS</i>	10%

¹Neste grupo, as mutações *NPM1* e as duplicações *FLT3* são raras nas SMD e sugerem progressão iminente para LMA. As mutações *JAK2* também são raras, ao contrário do que sucede nas neoplasias mieloproliferativas. SMD: Síndromes Mielodisplásicas; LMA: Leucemia Mieloide Aguda

1) Mutações *TET2*

O *tet methylcytosine dioxygenase 2* (*TET2*) é o gene mais frequentemente mutado nos doentes com SMD. Mutações neste gene encontram-se presentes em, aproximadamente, 20% dos doentes com SMD, também sendo encontradas em neoplasias mieloproliferativas (NMP) (10%) e LMA secundária (25%).(44)

O seu homólogo, o gene *TET1*, codifica uma enzima, a dioxigenase dependente de alfa-cetoglutarato, que converte a 5-metilcitosina em 5-hidroximetilcitosina, alterando a

epigenética criada pelas DNA metiltransferases.(45) O *TET2* partilha um alto nível de homologia com o *TET1*, incluindo o seu domínio catalítico, cuja capacidade enzimática tem sido igualmente demonstrada. As mutações *TET2* não se associam de forma consistente a outras mutações ou alterações citogenéticas. De facto, parecem estar associadas ao estabelecimento ou desenvolvimento clonal da célula promotora de doença, que representa uma etapa comum a todas as neoplasias mieloides em que são encontradas.(46)

A presença de fenótipos clínicos e biológicos característicos, tanto de SMD como de NMP, sugere que deve ocorrer, pelo menos, mais um evento sequencial, tal como mutações *JAK2 V617F* ou *MPL W515L*, que são responsáveis por algumas das características biológicas das NMP. Estudos sugerem que o gene *TET2 wild-type* desempenha um papel no controlo do equilíbrio entre sobrevivência, crescimento e diferenciação na hematopoiese normal.(3)

2) Mutações *ASXL1*

Mutações no gene *additional sex-comb like-1 (ASXL1)* foram descritas em cerca de 10% dos casos de SMD e NMP e em 17% dos casos de LMA.(47) Trata-se de um gene envolvido na regulação epigenética da expressão genética. Atua como coativador do recetor do ácido retinóico, mediando os seus efeitos através da interação direta com a histona acetiltransferase, codificada pelo gene *nuclear receptor coactivator 1 (NCOA1)*, ou com a histona demetilase, codificada pela *lysine-specific histone demethylase 1 (LSD1)*.(48)

Ao contrário das mutações no gene *TET2*, mutações no gene *ASXL1* parecem ser mutuamente exclusivas de outras alterações genéticas recorrentes. Por exemplo, mutações *ASXL1* foram descritas em doentes com Trombocitemia Essencial e Mielofibrose Primária, mas apenas nos que apresentavam *JAK2 wild-type*.(49) Num pequeno estudo em doentes com LMA, as mutações *ASXL1* excluía quase inteiramente mutações frequentes no exão terminal da nucleofosfomina (*NPM1*).⁽⁵⁰⁾ Pelo contrário, mutações *ASXL1* podem coexistir com mutações do *RUNX1* e *TET2*.⁽⁵¹⁾

3) Mutações *RUNX1*

O *runt-related transcription factor 1 (RUNX1)* é um membro da família de genes que codificam o *transcriptional core-binding factor* (também conhecido como *CBFA2* ou *AML1*) e representa o segundo gene mais comumente mutado nas SMD. Mutações neste gene são encontradas em 7-15% dos casos de SMD *de novo* e em maior número nos casos de SMD relacionados com a terapêutica. Representam um fator de mau prognóstico tanto nas SMD como na LMA.(35)

O *RUNX1* é um fator de transcrição *DNA-binding* que controla diretamente a expressão de genes reguladores de programas hematopoiéticos.(42) A proteína *RUNX1* contém um domínio homólogo *Runt* proximal, importante na ligação do DNA, e um domínio de transativação, distal, responsável por interações proteína-proteína e recrutamento de cofatores. Mutações *missense* do *RUNX1* encontram-se localizadas ao domínio *Runt*, enquanto mutações no codão stop e *frameshift mutations* são encontradas ao longo de todo o gene e provocam, quase inequivocamente, disrupção do domínio de transativação.(52) Esta distinção tem relevância fisiológica, uma vez que as mutações que ocorrem no domínio *Runt* podem implicar uma diminuição de atividade mais significativa do que as instigadas por mutações simples, com perda de função, num único alelo.(53) Quando há repressão da função do *RUNX1*, particularmente no domínio *Runt*, há destabilização e dissolução do complexo *DNA-RUNX1*, ocorrendo falência de ativação de genes necessários à normal mielopoiese.(42) Em doentes com SMD, as mutações *RUNX1* são frequentemente acompanhadas por ativação da via RAS ou por mutações nestes genes.(54)

4) Mutações *IDH1* e *IDH2*

Mutações nos genes codificadores das enzimas isocitrato desidrogenase 1 e 2 (*IDH1* e *IDH2*) foram identificadas primeiramente em doentes com glioma e glioblastoma secundário, pensando-se serem oncogenes específicos de tecidos do sistema nervoso central (SNC), dado não terem sido encontradas mutações em amostras de tumores sólidos fora do SNC.(55) Contudo, a posterior sequenciação do genoma de amostras de doentes com LMA levou à identificação de mutações em *IDH1* em 16 de 188 doentes com LMA.(56) Desde então, foram identificadas mutações em *IDH1* e *IDH2* em doentes com LMA, NMP e, menos comumente, SMD.(57)

As enzimas *IDH1* e *IDH2* convertem isocitrato em alfa-cetoglutarato e residem, respetivamente, no citoplasma e na mitocôndria. Estudos sugerem que as mutações em *IDH1* e *IDH2* provocam alterações funcionais na proteína mutada. Os perfis metabólicos de linhagens celulares com expressão de *IDH1* mutada revelaram elevados níveis de 2-hidroxi-glutarato. Este metabolito anormal também foi detetado em células leucémicas primárias com mutações em *IDH1* e *IDH2*. Isto sugere que as enzimas IDH mutadas apresentam diferente especificidade para o substrato, o que faz com que, em vez de gerarem moléculas NADPH, ao catalisarem a conversão de isocitrato em alfa-cetoglutarato, as IDH mutantes consomem NADPH, ao converterem alfa-cetoglutarato em 2-hidroxi-glutarato. Permanece controverso se o metabolito 2-hidroxi-glutarato é diretamente oncogénico ou se a influência na leucemogénese se deve à depleção de NADPH e alfa-cetoglutarato.(58)

5) Mutações em Tirosina Cinases, Genes *RAS* e *CBL*

Tirosina cinases (TK), importantes mediadores em vias de sinalização, encontram-se frequentemente mutadas em neoplasias mieloides. Contudo, são relativamente incomuns nas SMD, onde raras mutações no gene *colony stimulating factor 1 receptor (CSF1R)* foram descritas em conjunto com outras mutações em TK mais comumente encontradas noutras neoplasias mieloides.(4)

Em doentes com SMD são mais frequentes mutações ativadoras dos genes *RAS*, encontrando-se mutações *NRAS* em cerca de 10-15% dos doentes e mutações *KRAS* em 1-2% dos casos. Quando presentes de forma isolada, associam-se a pior prognóstico e progressão de SMD para LMA.(59) Outros membros desta via de sinalização que também podem apresentar mutações são os genes *BRAF*, *PTPN11* e *CBL*.(4)

O gene *CBL* representa uma ubiquitina ligase associada a TK, responsável por marcar produtos para degradação pelo proteossoma. Mutações no *CBL* têm como consequência um aumento dos níveis de recetores TK e da fosforilação de *STAT5*, que se crê mediar a hipersensibilidade destas células mutantes a uma grande variedade de fatores de crescimento e citocinas. Encontra-se mutado em menos de 5% dos casos de SMD. O seu papel no prognóstico de SMD permanece por clarificar.(60)

6) Mutação e Ativação do *TP53*

O gene *TP53*, localizado no cromossoma 17p, desempenha um papel supressor tumoral. O seu produto génico, *p53*, é ativado por uma série de indutores de stress celular e pode levar à cessação do ciclo celular, induzindo uma resposta de reparação celular e conduzindo células irremediavelmente danificadas à apoptose. Em casos de SMD com 5q-, a ativação do *p53* parece ser essencial para a ocorrência do defeito eritropoiético associado à haploinsuficiência de *RPS14*.(31)

As mutações no gene *TP53* associam-se a instabilidade genómica, sendo que, nas SMD, ocorrem em 5-10% dos doentes *de novo* e, mais comumente, em doentes com exposição prévia a agentes alquilantes ou a radiação. A perda do *p53 wild-type*, quer através de mutações pontuais ou por distúrbios no cromossoma 17p, associa-se a doença avançada, cariótipo complexo e resistência à terapêutica.(10) As mutações no gene *TP53* encontram-se entre as poucas mutações *single-gene* comprovadamente associadas a mau prognóstico nas SMD, após ajuste do grupo de risco pelo IPSS.(61)

3.3. Modificações epigenéticas

O termo “epigenética” refere-se ao componente herdado durante a divisão celular para além da sequência do DNA genómico. Tendo em conta que a maioria das células no organismo partilham um código genético idêntico, o estado epigenético de cada célula e a sua interação com o ambiente representam os maiores determinantes do seu comportamento. Os mediadores moleculares do estado epigenético mais relevantes na SMD são padrões de expressão génica regulados pela metilação de resíduos de citosina no DNA e modificação covalente das histonas.(4)

As DNA metiltransferases convertem bases de citosina em 5-metilcitosinas, particularmente, quando estas formam a primeira base num dinucleotídeo CpG. Estas ilhas CpG são comumente encontradas nas regiões promotoras de vários genes reguladores chave. A metilação das ilhas CpG pode alterar a sua interação com proteínas *DNA-binding*, tais como fatores de transcrição e enzimas modificadoras de histonas. Caracteristicamente, a metilação de ilhas CpG nas regiões promotoras leva a silenciamento dos genes vizinhos e representa um mecanismo potenciador da perda de função de genes supressores tumorais.(10)

A metilação das ilhas CpG é um processo reversível e a remoção do grupo metilo é catalisada pelas proteínas TET que, tal como previamente mencionado, são oxigenases dependentes de alfa-cetoglutarato, que é produzido a partir do citrato pelas IDH1 e 2. Estes genes (*TET2*, *IDH 1* e *2*), que desempenham um papel na metilação e desmetilação das ilhas CpG, podem estar mutados nas SMD, de que resulta metilação e função genética aberrantes.(30) Para além destes genes, outros genes-alvo na hipermetilação do DNA em SMD incluem os reguladores do ciclo celular *CDKN2A* (*p14* e *p16*) e *CDKN2B* (*p15*), *CTNNA1* e *E-caderina* (*CDH1*). (4)

Estes achados levaram ao desenvolvimento de agentes hipometilantes como terapêutica nas SMD. Os análogos dos nucleosídeos Azacitidina e Decitabina são inibidores das DNA metiltransferases, aprovados no tratamento das SMD de alto risco. Ambos os fármacos apresentam boas taxas de resposta, diminuindo as necessidades transfusionais. São usados principalmente em doentes com SMD de alto risco, visto que a Azacitidina prolonga a sobrevivência neste grupo de doentes, alterando a história natural da doença.(62)

A regulação epigenética não ocorre apenas ao nível da metilação do DNA, mas também é dependente de modificações pós-traducionais nas histonas, que incluem acetilação, metilação e ubiquitinação. Várias enzimas modificadoras de histonas encontram-se mutadas nas SMD (*ASXL 1*, *EZH2*). (30)

Histonas são proteínas associadas ao DNA que auxiliam na formação da estrutura de cromatina. Podem sofrer diversas modificações covalentes, o que altera a forma como interagem com o DNA, com consequências ao nível da transcrição de genes vizinhos. A acetilação de resíduos de lisina das histonas está relacionada com conformação aberta da cromatina e incremento da transcrição. As deacetilases das histonas (HDACs) podem remover estes grupos acetilo e silenciar genes vizinhos. Este mecanismo é crítico na regulação da expressão génica. Porém, quando sujeito a disrupções, pode promover o desenvolvimento tumoral.

Tal como os inibidores de DNA metiltransferases, fármacos capazes de inibir HDACs poderiam permitir a reexpressão de genes supressores tumorais inapropriadamente silenciados. Dado o sucesso do tratamento dirigido às DNA metiltransferases e à interação entre a metilação do DNA e a modificação das histonas, os inibidores de HDAC têm sido considerados promissores no tratamento de neoplasias mieloides.(4)

Um estudo analisou a regulação epigenética da EPO em diferentes linhagens celulares tumorais e em tecidos normais, comprovando a ocorrência de metilação aberrante do promotor da ilha CpG da EPO. Apesar destas alterações já terem sido previamente identificadas em casos de neuroblastoma e carcinoma hepatocelular, este estudo reportou que a hipermetilação da EPO também é frequente noutras neoplasias, tais como no carcinoma de células renais, tumores da cabeça e pescoço, na neoplasia pulmonar, do pâncreas, entre outras. Foi também demonstrado que a hipermetilação do promotor da ilha CpG da EPO é mais frequente nos tecidos tumorais, comparativamente aos tecidos normais dos doentes com neoplasia, o que parece indicar que a hipermetilação é específica de tecido.(63)

3.4. O papel do microambiente medular

Alterações no microambiente medular encontram-se bem documentadas em casos de SMD e outras neoplasias mieloides. Os níveis de fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e de diversas citocinas inflamatórias encontram-se elevados na medula de doentes com SMD.(64) Pensa-se que estas alterações serão o resultado da complexa interação entre as células hematopoiéticas disfuncionais e a resposta imune adaptativa gerada pelas citocinas. De facto, ocorre ativação do sistema imune inato e interações autócrinas, ou mediadas pelo contacto, entre as células e o estroma. Tais perturbações do microambiente podem influenciar negativamente a hematopoiese normal, representando uma potencial explicação para o surgimento de citopenias, mesmo quando as células de SMD ocupam apenas uma fração da medula.(4)

A insuficiência dos mecanismos de controlo imunológico também tem sido apontada como possível causa da anemia nas SMD. A identificação de expansões das células T

monoclonais ou oligoclonais de células efetoras CD8+/CD57+/CD28- foi reportada em cerca de metade dos doentes com SMD, o que sugere que a patogenicidade pode ter como causa uma disrupção do sistema imune. Estes achados constituem um fundamento teórico para o desenvolvimento e uso de fármacos imunomoduladores ou imunossupressores no tratamento das SMD.(27)

Contudo, as alterações estromais nem sempre surgem como consequência de hematopoiese ineficaz. Um estudo recente demonstrou o modo como uma alteração primária na célula estromal pode originar displasia em células hematopoiéticas normais, potenciando a malignização destas células.(65) A deleção seletiva do gene processador de microRNA, *dicer*, nas células osteoprogenitoras induz um fenótipo que se assemelha a SMD, com citopenias, displasia multilinhagem, hiper celularidade medular e apoptose aumentada. Outros estudos identificaram alterações cromossómicas adquiridas em células medulares não-hematopoiéticas, distintas das identificadas em clones de SMD. Estudos adicionais são necessários para compreender se o sobrecrescimento estromal surge como resultado de alterações genéticas nas células mesenquimatosas que, assim, estariam em vantagem.(66)

Por outro lado, um estudo recente realizado em doentes com SMD, demonstrou a presença de reatividade autoimune contra precursores eritroides num subgrupo de doentes com SMD em fase inicial, resultando em hiperplasia eritroide e hemólise ligeira no sangue periférico. Constatou-se que a presença de anticorpos anti-eritroblasto induziu um aumento da celularidade geral, aglomeração de eritroblastos e sinais de diseritropoiese (atipia nuclear, com múltiplos núcleos, inclusões nucleares e pontes intercitoplasmáticas). Estes achados sugerem que a reação autoimune resulta em crescimento diseritropoiético dos precursores medulares, em vez de produzir um efeito citopático. Para além disso, este estudo ainda permitiu constatar que a reação autoimune tem como alvos precursores eritroides em diferentes estádios de maturação. Doentes com SMD com autoanticorpos anti-eritroblasto apresentavam aumento da apoptose medular, o que sugere que a reação autoimune pode contribuir para o microambiente medular desfavorável à eritropoiese normal. Adicionalmente, foi sugerido que a reação autoimune pode estar dirigida à eliminação de precursores displásicos ou, em alternativa, que pode favorecer a seleção de clones malignos.(67)

3.5. Alterações das vias de sinalização celular

A hematopoiese ineficaz que caracteriza as SMD conduziu ao estudo das vias de sinalização celular que participam na transdução de sinais mediados pela EPO e por outros fatores de crescimento hematopoiéticos. A complexa cascata de eventos em que a EPO desempenha um papel central começa com a sua ligação ao seu recetor (EPOR), com subsequente ativação da cinase JAK2 associada ao recetor, presumivelmente por um

processo de transfosforilação. A JAK2 fosforila resíduos de tirosina no domínio citoplasmático do EPOR, o que gera locais para a ligação de moléculas de fosfotirosina.

As proteínas *signal transducer and activator of transcription 5* (STAT5) são as principais moléculas de sinalização do EPOR, sofrendo homodimerização após o seu recrutamento e fosforilação pelo complexo recetor-JAK2 (Figura 2). As STAT5 medeiam a sobrevivência eritroide, bem como os sinais para a sua proliferação e diferenciação. O EPOR ativa, igualmente, outras cascatas de sinalização, cujo papel na eritropoiese *in vivo* permanece menos claro comparativamente com o das proteínas STAT5. A ativação do STAT5, um dos fatores de transcrição mais importantes na sinalização da EPO, encontra-se alterada nas SMD, o que pode representar um possível mecanismo para o desenvolvimento das SMD.(68)

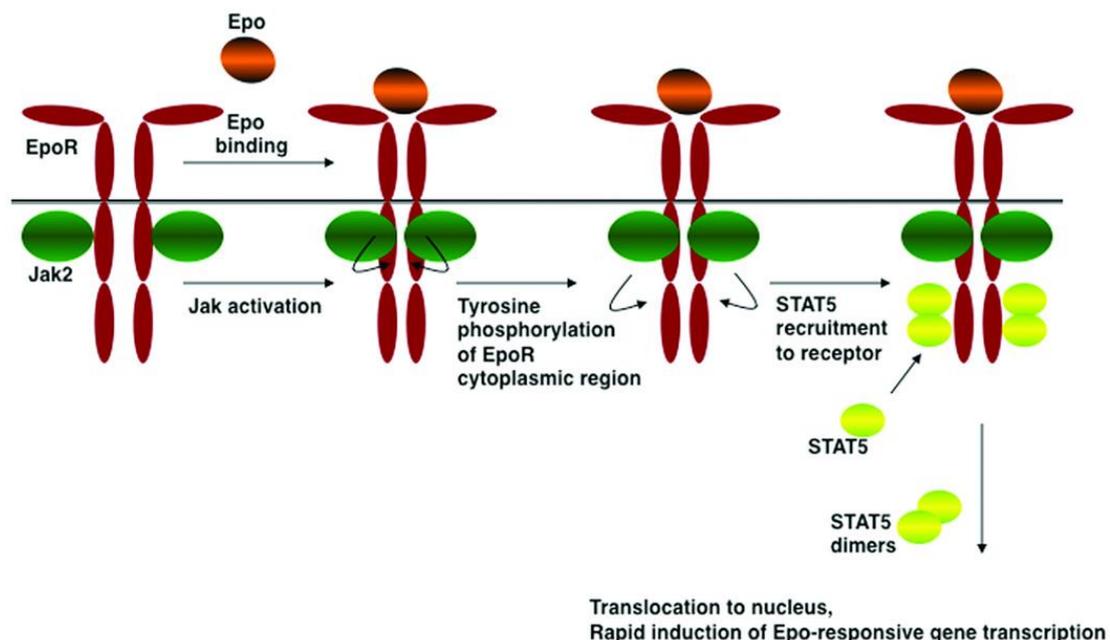


Figura 2 – Representação do mecanismo de ativação do EPOR. A ligação da EPO ao EPOR induz ativação da JAK2, com consequente fosforilação dos resíduos de tirosina do EPOR e recrutamento das proteínas STAT5. Posteriormente, ocorre translocação para o núcleo com rápida indução da transcrição génica. Adaptado de Watowich SS. *The erythropoietin receptor: Molecular structure and hematopoietic signalling pathways*. J Investig Med. 2011;59(7):1067–72.

De facto, as vias de sinalização responsáveis pela proliferação celular têm início com a ligação de fatores de crescimento a recetores de membrana, que desempenham, na sua maioria, função de TK, o que culmina na transcrição de genes com capacidade reguladora. Estes genes codificam proteínas envolvidas na diferenciação, proliferação e progressão do ciclo celular. Na hematopoiese, para além do EPOR, destacam-se os seguintes recetores: recetor *FMS-like tyrosine kinase 3* (*FLT3*), recetores *c-KIT*, *colony stimulating factor 1 receptor* (*CSF1R*) e *platelet-derived growth factor receptor* (*PDGFR*)(10).

A ativação do recetor pelo seu respetivo ligando pode desencadear, conseqüentemente, ativação de várias vias intracelulares, como a via do fosfatidil inositol-3-Cinase (PI3K)/AKT/mTOR, a via de sinalização das proteínas RAS-RAF-MEK-ERK ou via *mitogen-activated protein kinases* (MAPK), isto é, RAS/MAPK, para além da via da Fosfolipase C (PLC) e a via da JAK/STAT.(54,69–71)

A ativação da via RAS/MAPK acontece após ligação de um fator de crescimento ao seu recetor com atividade TK, resultando na sua autofosforilação, que ativa, subsequentemente, a proteína RAS. Por sua vez, esta vai ativar a RAF (proteína cinase serina/treonina) e a proteína MAPK/ERK (MEK). A MEK induz a ativação, através da fosforilação de resíduos treonina e tirosina, de proteínas que pertencem à família *extracellular signal-regulated kinase* (ERK). Posteriormente, a proteína ERK migra para o núcleo e ativa, por fosforilação, outras proteínas cinases e fatores de transcrição, tais como *ELK-1*, *c-JUN* e *c-MYC*, reguladores da transcrição de genes com papel na proliferação e na regulação do ciclo celular. Esta complexa cadeia de ativações sucessivas é, também, denominada por via RAS-RAF-MEK-ERK.(72)

A via do PI3K/AKT é, igualmente, ativada pelos recetores com atividade de TK, o que reforça a sua relevância na proliferação, crescimento e sobrevivência celular. Efetivamente, as proteínas RAS constituem um componente essencial na cascata de sinalização que conduz a proliferação celular, decorrente de variados estímulos extracelulares, como os fatores de crescimento.(70)

Alterações ao normal processo de apoptose, tais como mutações oncogénicas que bloqueiam a apoptose, têm sido apontadas como possíveis causas de diversas patologias, incluindo SMD, ao promoverem a formação de clones malignos e a sua progressão. As alterações na apoptose intramedular, nas fases precoces das SMD, são sugeridas pela citologia do aspirado medular, imunocitoquímica, citometria de fluxo e identificação de proteínas ativadas relacionadas com a apoptose.(10)

O aumento da apoptose nas fases iniciais da SMD, que cursa com citopenias periféricas e medula hipercelular, contrasta com o seu posterior decréscimo, o que pode ajudar a explicar a evolução da doença, em que se verifica acumulação de células progenitoras imaturas e/ou resistentes à apoptose. De facto, parece existir um aumento da apoptose nos estadios iniciais da SMD (28), o que poderá ser explicado pela sobreexpressão de reguladores negativos da hematopoiese, tais como o *tumour necrosis factor alpha* (TNF- α), o ligando FAS e o *TRAIL* (membro da superfamília dos TNF, que também induz morte celular seletiva), bem como dos seus respetivos recetores.(27)

Apesar do papel do antigénio FAS na fisiopatologia da apoptose nas SMD permanecer controverso, numerosos estudos já demonstraram o papel do TNF- α . De facto, níveis

elevados de TNF- α nas células mononucleares do sangue periférico de doentes com SMD parecem correlacionar-se positivamente com a apoptose, já tendo sido desenvolvidos fármacos capazes de bloquear o TNF- α (Etanercept) mas que, até agora, apresentaram resultados discordantes nos estudos efetuados. A apoptose induzida pelo *TRAIL*, apesar de menos estudada, parece ocorrer primariamente em células clonais, especialmente em doentes com SMD numa fase inicial.(27)

Outros estudos sugerem que a razão *c-MYC/BCL-2* é maior nas SMD em fases iniciais, sendo menor nas SMD em fases avançadas ou na LMA. Foi igualmente demonstrado que ocorre um aumento da razão *BAX/BCL-2* em fases iniciais das SMD. Estudos de citometria de fluxo revelaram que a proporção de células CD34+ na fase G1 é maior nos estadios mais precoces das SMD.(10)

Um estudo recente avaliou a ativação espontânea basal de ERK1/2, MAPK p38, STAT5 e caspase-3 em 60 casos de SMD primárias e a modulação desta ativação pela EPO e pelo G-CSF, usando um método de citometria de fluxo, que permitiu a quantificação da fosforilação em subpopulações distintas de células medulares mononucleares CD45+, CD34+ e CD71+CD45-. A ativação espontânea de ERK1/2, MAPK p38, STAT5 e caspase-3 diferiu marcadamente entre células normais e células displásicas, sendo altamente heterogénea nos casos das SMD e, igualmente, entre as diversas subpopulações de células estudadas em doentes com SMD. Isto deve-se ao facto de estarem presentes progenitores em diferentes estadios de diferenciação e genótipos distintos na medula destes doentes.

A intensidade da ativação do STAT-5, caspase-3 e p38, e o número de casos nos quais se observou ativação, foi maior nas células CD34+, o que sugere que esta é a subpopulação mais “ativa” nas SMD. Este aumento da sinalização pode contribuir para a depleção progressiva de células hematopoiéticas precoces, observada em doentes com SMD, devida à alteração nos processos de autorrenovação, diferenciação e quiescência.(73)

4. Características Clínicas

Nas SMD primárias, cerca de 20% dos doentes são inicialmente assintomáticos, sendo o diagnóstico estabelecido após a realização de um hemograma de rotina. Pelo contrário, em doentes que apresentam citopenias graves, elevada contagem de blastos (< 20%) no sangue periférico/medula ou alterações citogenéticas complexas, a clínica será sobreponível à de LMA. Contudo, a maioria dos doentes apresenta clínica compatível com insuficiência medular, predominando sinais e sintomas de anemia (80%), tais como astenia e intolerância ao exercício físico. Menos comumente (20%), podem manifestar-se por infeções bacterianas recorrentes (se neutropenia < 1.0 G/L) ou equimoses fáceis e espontâneas, se

trombocitopenia. Excepcionalmente, podem apresentar-se com febre não atribuível a infecção.(10)

Em certos casos, existe associação entre SMD e doenças de base imunológica, tais como artrite reumatoide, vasculites, hipotireoidismo, polimialgia reumática, entre outras. Nestes, as manifestações principais podem ser sintomas sistêmicos ou características típicas de doenças autoimunes, como artralguas de ritmo inflamatório.(74)

5. Diagnóstico e Classificação

De acordo com as *Guidelines* para o diagnóstico e tratamento de SMD do Nordic MDS Group,(75) o diagnóstico das SMD assenta principalmente nos achados morfológicos de displasia medular em doentes com evidência clínica de hematopoiese ineficaz, manifestada por citopenias [Hemoglobina <130 g/L (nos homens) ou <120 g/L (nas mulheres), contagem absoluta de neutrófilos <1.8 x 10⁹/L e plaquetas <150 x 10⁹/L).

A imunofenotipagem por citometria de fluxo representa uma ferramenta diagnóstica adicional, permitindo identificar padrões de expressão antigénica aberrantes ou populações patológicas de blastos, durante o diagnóstico ou no seguimento destes doentes. Alterações cromossómicas são detetadas em cerca de metade dos doentes recém-diagnosticados com SMD e o cariótipo deve ser realizado em todos os casos suspeitos. A deteção de mutações com recurso à sequenciação de nova geração (*Next Generation Sequencing* ou NGS) pode fornecer informação prognóstica adicional. Todavia, o diagnóstico baseia-se na integração de todos estes achados.

5.1. História Clínica e Exame Físico

Na realização da história clínica alguns aspetos revestem-se de particular importância, tais como história familiar detalhada, que deve recuar, pelo menos, duas gerações e que deve incluir antecedentes de neoplasias, insuficiência medular, doenças hepáticas ou pulmonares e mortes prematuras. Também devem ser colocadas questões acerca da exposição prévia a quimioterapia ou radioterapia, exposições ocupacionais, ingestão de álcool, exposição tabágica e medicação habitual, bem como tendência hemorrágica ou para infeções de repetição. O exame físico deverá ser minucioso e avaliar a presença de organomegalias, principalmente, esplenomegalia, assim como sinais secundários às citopenias.

5.2. Exames complementares de diagnóstico

As análises sanguíneas devem investigar diversos parâmetros, tais como os a seguir apresentados:

- Hemograma, que deve incluir hemoglobina, índices eritrocitários (volume globular médio e concentração de hemoglobina corpuscular média), contagem de reticulócitos, leucócitos com esfregaço de sangue periférico e contagem plaquetar;
- Doseamento de ácido fólico, cobalamina (homocisteína e ácido metilmalónico, se dúvidas) e ferritina;
- LDH, bilirrubina, haptoglobina, teste direto de antiglobulina (teste de Coombs), aminotransferase de alanina (ALT/TGP), aminotransferase de aspartato (AST/TGO), fosfatase alcalina, albumina, ácido úrico, magnésio, creatinina e eritropoietina sérica;
- Rastreio de HIV, Hepatite B e C;
- Reação em cadeia da polimerase (PCR) para parvovírus B19 na SMD hipoplásica;
- Perante suspeita de doença associada às telomerasas, considerar análise do comprimento das telomerasas e mutações específicas.

5.2.1. Citologia

O diagnóstico exige, de acordo com a classificação de 2016 da Organização Mundial de Saúde,(76) a avaliação dos esfregaços de sangue periférico e de medula óssea, de modo a averiguar a presença de displasia e a contagem de blastos, em conjunto com o exame histológico de uma amostra obtida por biópsia medular óssea. Podem ser necessárias repetições dos exames medulares após algumas semanas ou meses, de modo a estabelecer o diagnóstico de SMD, em casos duvidosos ou identificar casos com progressão rápida da doença. Nas situações em que os resultados genéticos são desfavoráveis, bem como quando há pancitopenia grave ou contagens elevadas de blastos, o tratamento não deve ser atrasado por estudos medulares adicionais. Os critérios morfológicos necessários para o diagnóstico são os seguintes:

- Displasia significativa em, pelo menos, uma linhagem (eritro-, granulo- ou megacariopoiese) e define-se como $\geq 10\%$ de células com características displásicas. Recomenda-se um limiar de 30% no caso dos megacariócitos;
- Contagem de blastos, que se deve basear na avaliação de, pelo menos, 500 células medulares nucleadas (incluindo eritroides) e 200 células nucleadas do sangue periférico;
- Histologia/Imunohistoquímica medulares: a avaliação de secções de medula providencia informação adicional, incluindo celularidade, evidência de fibrose e arquitetura medular, compreendendo infiltrados celulares ou aglomerados. Recomenda-se a imunohistoquímica do CD34 e do *p53* aquando do diagnóstico e

no seguimento. A presença de células com forte coloração de *p53* a nível nuclear pode indicar uma mutação subjacente do *TP53*.

5.2.2. Genética

A realização *standard* da citogenética pelo cariótipo convencional (ou por FISH na ausência de metáfases) deve ser feita em todos os doentes, de forma a permitir a correta classificação e avaliação prognóstica. O rastreio de mutações com recurso a NGS está recomendado em potenciais candidatos a transplante em todas as categorias de SMD, de modo a aprimorar a estratificação do risco e fortalecer o diagnóstico em casos *borderline*.(75)

5.3. Classificação segundo a OMS

Recomenda-se que todos os doentes sejam classificados de acordo com a classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS), cuja última revisão e modificação ocorreram em 2016 (Tabela 1). Esta integra a contagem de blastos no sangue periférico e na medula óssea, as linhagens celulares que apresentam alterações morfológicas displásicas em mais de 10% das células, a presença de sideroblastos em anel e bastonetes de Auer, para além de achados citogenéticos e moleculares. Nas classificações anteriores, as citopenias desempenhavam um papel importante na classificação e diagnóstico, e a nomenclatura fazia referência ao tipo específico da citopenia, ao contrário da nomenclatura atual que denomina e caracteriza mais adequadamente a doença. Contudo, a última classificação da OMS baseia-se, largamente, no grau de displasia e percentagem de blastos, desempenhando as citopenias específicas um impacto *minor* na classificação. Adicionalmente, na maior parte dos casos, não há coincidência entre a linhagem comprometida, com redução de produção, e a que apresenta displasia morfológica. Nas SMD em idade pediátrica, a terminologia citopenia refratária da infância permanece uma entidade provisória.(75)

Tabela 2 – Critérios de Classificação de SMD da OMS 2016 (75)

Tipo	Linhagens displásicas	Citopenias¹	SA com elementos eritroides medulares	Blastos	Citogenética
SMD com displasia unilinhagem	1	1 ou 2	SA < 15% (ou <5% ²)	SP<1% MO<5% Sem bastonetes de Auer	Qualquer, a não ser que preencha critérios de del(5q) isolada
SMD com displasia multilinhagem	2 ou 3	1-3	SA< 15% (ou <5% ²)	SP<1% MO<5% Sem bastonetes de Auer	Qualquer, a não ser que preencha critérios de del(5q) isolada
SMD com sideroblastos em anel e displasia unilinhagem	1	1 ou 2	SA≥15% (ou ≥5% ²)	SP<1% MO<5% Sem bastonetes de Auer	Qualquer, a não ser que preencha critérios de del(5q) isolada
SMD com sideroblastos em anel e displasia multilinhagem	2 ou 3	1-3	SA≥15% (ou ≥5% ²)	SP<1% MO<5% Sem bastonetes de Auer	Qualquer, a não ser que preencha critérios de del(5q) isolada
SMD com del(5q) isolada	1-3	1-2	Sem ou quaisquer	SP<1% MO<5% Sem bastonetes de Auer	del(5q) isolada ou com uma anormalidade adicional exceto - 7 ou del(7q)
SMD com excesso de blastos tipo 1	0-3	1-3	Sem ou quaisquer	SP 2-4% MO 5-9% Sem bastonetes de Auer	Qualquer
SMD com excesso de blastos tipo 2	0-3	1-3	Sem ou quaisquer	SP 5-19% MO 10-19% Sem bastonetes de Auer	Qualquer
SMD não-classificado com 1% de blastos	1-3	1-3	Sem ou quaisquer	SP=1% ³ MO<5% Bastonetes de Auer	Qualquer
SMD não-classificado com displasia unilinhagem e pancitopenia	1	3	Sem ou quaisquer	SP<1% MO<5% Sem bastonetes de Auer	Qualquer
SMD não-classificado baseado em anormalidade citogenética	0	1-3	< 15% ⁴	SP<1% MO<5% Sem bastonetes de Auer	Anormalidade definidora da SMD ⁵
Citopenia refratária da infância (entidade provisória)	1-3	1-3	Sem	SP<2% MO<5% Sem bastonetes de Auer	Qualquer

OMS: Organização Mundial de Saúde; SMD: Síndrome Mielodisplásica; SP: Sangue Periférico; MO: Medula Óssea; SA: Sideroblastos em Anel; ¹Citopenias: Hemoglobina<100 g/L; Plaquetas<100x10⁹/L; Contagem absoluta de neutrófilos<1,8x10⁹/L; Contagem absoluta de monócitos<1,0x10⁹/L; ²com mutação *SF3B1*; ³1% blastos no SP deve ser identificado em 2 observações diferentes; ⁴se com ≥15% de SA e displasia eritroide significativa e classificados como SMD com sideroblastos em anel e displasia em linhagens múltiplas; ⁵Não-equilibrada: perda do cromossoma 7 ou del(7q), del(5q), isocromossoma 17q ou t(17p), perda do cromossoma 13 ou del(13q), del(11q), del(12p) ou t(12p), del(9q), idic(X)(q13); Equilibrada: t(11;16)(q23.3;p13.3), t(3;21)(q26.2;q22.1), t(1;3)(p36.3;q21.2), t(2;11)(p21;q23.3), inv(3)(q21.3q26.2)/t(3;3)(q21.3;q26.2), t(6;9)(p23;q34.1)

6. Diagnóstico Diferencial

O diagnóstico pode ser difícil, em particular em doentes que apresentam apenas uma citopenia, displasia discreta e menos de 5% de blastos medulares. Nenhum achado morfológico faz o diagnóstico de SMD, sendo de salientar que, em certos casos, pode ser um diagnóstico de exclusão. Devem ser considerados os seguintes diagnósticos diferenciais, uma vez que cursam com displasia:

- Défice de vitamina B12 e folatos;
- Terapêutica citotóxica recente;
- Infecções por Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH), Vírus da Hepatite C (VHC), Vírus da Hepatite B (VHB), Parvovírus B19, Citomegalovírus (CMV) e Vírus Epstein-Barr (EBV);
- Anemia da doença crónica;
- Citopenia autoimune;
- Doença hepática crónica;
- Ingestão excessiva de álcool;
- Exposição a metais pesados;
- Citopenias induzidas por fármacos;
- Outros distúrbios das células estaminais, incluindo leucemia aguda (com displasia ou leucemia megacarioblástica), anemia aplásica, mielofibrose (se SMD com fibrose medular) e hemoglobinúria paroxística noturna (HPN);
- Outras neoplasias infiltrativas da medula óssea.

7. Tratamento

Atualmente, a decisão terapêutica baseia-se na aplicação de *scores* de prognóstico, sendo os mais amplamente utilizados e validados, o IPSS e, posteriormente, o *Revised International Prognostic Scoring System* (IPSS-R), sendo a maioria dos doentes pertencentes a categorias de baixo risco. Devido à heterogeneidade da doença, as opções terapêuticas podem variar desde vigilância isolada (com intuito de melhorar a qualidade de vida) até transplante alogénico de medula (para controlo da doença, nos raros doentes jovens com diagnóstico de SMD), sendo que o aumento do leque terapêutico melhorou significativamente a qualidade de vida e a sobrevivência destes doentes.⁽⁷⁷⁾ Recomenda-se que os doentes sejam avaliados, aquando do diagnóstico, relativamente à possibilidade de receberem tratamento principalmente curativo, uma vez que o transplante alogénico de medula, por exemplo, apresenta maus resultados na fase progressiva da SMD, embora seja uma opção pouco utilizada uma vez que esta patologia atinge preferencialmente a população mais

idosos.(1) Em seguida apresentam-se os algoritmos de tratamento das SMD de baixo e alto risco, de acordo com as recomendações do *Nordic MDS Group*.(75)

a. Algoritmo terapêutico das SMD de baixo risco

- Considerar tratamento potencialmente curativo (transplante alogénico de células estaminais) em doentes com IPSS-R intermédio, em particular se existirem fatores de risco, como características genéticas de alto risco, fibrose medular, necessidade transfusional e mutação *p53*.
- Em doentes com anemia com um score de 0 ou 1, de acordo com o modelo preditivo, deve ser considerado o tratamento com EPO±G-CSF (Tabela 3).
- Quando indicado, deve ser realizada transfusão, de acordo com as necessidades, e tratamento com quelante, se evidência de sobrecarga de ferro.
- Doentes com SMD com displasia unilinhagem ou SMD com displasia multilinhagem devem ser avaliados quanto à possibilidade de efetuarem tratamento imunossupressor.
- A terapêutica com Lenalidomida pode ser administrada a doentes com SMD com del(5q) isolada e IPSS-R baixo ou intermédio, cujo tratamento com fatores de crescimento não se revelou eficaz ou que não são elegíveis para este tratamento, de acordo com o modelo preditivo, e que não apresentam positividade para *p53* por métodos imunohistoquímicos. Recomenda-se ponderação cuidada no tratamento com Lenalidomida em doentes jovens que são potenciais candidatos ao transplante alogénico.
- Em doentes com citopenias graves e/ou dependência transfusional com falência de outras modalidades terapêuticas, pode ser considerado o uso de fármacos experimentais em contexto de ensaios clínicos.

b. Algoritmo terapêutico das SMD de alto risco

- Considerar a possibilidade de realizar tratamento potencialmente curativo com transplante alogénico.
- Avaliar as indicações para realização de tratamento com Azacitidina.
- Avaliar o doente no sentido de iniciar esquemas de quimioterapia usados na LMA, particularmente em doentes mais jovens com bons indicadores de resposta, para posterior transplante.
- Considerar as modalidades de tratamento de suporte isolado ou inclusão em ensaio clínico.

7.1. Tratamento de Suporte

O tratamento de suporte pode vir a ser necessário em todos os doentes com SMD, dada a progressão da doença, podendo ser o único tratamento a oferecer em alguns casos, a longo prazo, em particular na anemia dependente de transfusões sem resposta a outras terapêuticas.

1) Transfusões

Estudos recentes sugerem que, quando sintomática, a anemia deve ser rapidamente tratada, por forma a evitar transfusões e melhorar a qualidade de vida dos doentes.(77) Contudo, quando a necessidade transfusional é inevitável, valores-alvo de hemoglobina mais elevados associam-se a melhoria da qualidade de vida.(75)

De facto, em doentes com anemia refratária a outras modalidades terapêuticas, o seu controlo passa por transfusões de eritrócitos, que podem ser mais ou menos frequentes. Os valores-alvo de hemoglobina recomendados são de, pelo menos, 80 g/L a 90 g/L indo até 100 g/L, nos casos de doentes com comorbilidades agravadas pelo estado anémico ou se se verifica reduzida tolerância funcional e/ou qualidade de vida reduzida ou, ainda, em doentes idosos que se mantêm com uma vida significativamente ativa.(1)

2) Terapêutica quelante

Para além da sobrecarga de ferro inerente à eritropoiese ineficaz, que caracteriza esta doença, os doentes submetidos a múltiplas transfusões de concentrados eritrocitários também estão acrescidamente sujeitos à acumulação de ferro, com potencial dano tecidual, através da formação de radicais livres reativos.(78) O uso de quelantes do ferro encontra-se recomendado em doentes nos quais se prevê terapêutica transfusional a longo-prazo, em geral, doentes com *score* IPSS-R de muito baixo ou baixo risco. De referir que, nos doentes transfusão-dependentes candidatos a transplante alogénico futuro, é crucial evitar a sobrecarga de ferro, devendo a quelação do ferro ser considerada como preventiva e iniciada em fases precoces.(75)

A terapêutica quelante do ferro com deferasirox oral ou deferoxamina endovenosa/subcutânea pode ser útil em casos selecionados, mas o seu efeito prognóstico é controverso, sendo estes tratamentos caros (deferasirox) e inconvenientes pela sua administração parentérica (deferoxamina). Aguardam-se os resultados de um ensaio clínico randomizado (TELESTO; NCT00940602) de deferasirox *versus* placebo nas SMD de baixo risco com dependência transfusional e ferritina sérica superior a 1000 ng/mL.(78)

7.2. Tratamento das SMD de baixo risco

Alguns doentes apresentam citopenias ligeiras e são assintomáticos aquando do diagnóstico. Não se reconhecem benefícios, ao nível da prevenção da evolução clonal ou do prognóstico, em tratar precocemente estes doentes. Assim, a vigilância isolada pode ser apropriada em doentes de baixo risco assintomáticos, até desenvolverem sintomas ou até que ocorra agravamento das citopenias.

1) Tratamento da anemia com ESA

Nas SMD de baixo risco com anemia, devem ser avaliados dois parâmetros, dado serem importantes na decisão terapêutica. Primeiramente, devem ser determinados os níveis de eritropoietina sérica (S-EPO), que refletem a resposta renal endógena à anemia e são um forte preditor da resposta clínica aos ESA. Em segundo lugar, a presença de del(5q) deve ser considerada, uma vez que se associa a elevada taxa de resposta eritroide à Lenalidomida (65-70% de independência transfusional e 30-40% de remissão citogenética).(78)

O tratamento com EPO pode melhorar os níveis de hemoglobina e eliminar a necessidade transfusional nas SMD de baixo risco. A adição de G-CSF tem um efeito sinérgico nas células progenitoras eritroides e pode induzir resposta em doentes refratários à administração isolada de EPO. Estudos retrospectivos apontam para benefício na sobrevivência, mas sem impacto na transformação leucémica. A Darbepoetina apresenta maior semivida que a EPO, permitindo administrações menos frequentes, mas eficácia comparável. Têm indicação para tratamento os doentes com SMD de baixo risco (IPSS-R de risco muito baixo, baixo ou intermédio), na presença de anemia sintomática, devendo ser realizada uma avaliação individualizada, sendo pouco razoável iniciar tratamento se níveis de hemoglobina superiores a 100 g/L, e perante score preditivo de 0 ou 1 (Tabela 3).

Tabela 3 – Score Preditivo de Resposta aos ESA (75)			
Necessidade transfusional	Pontuação	S-EPO	Pontuação
<2 unidades concentrados de GV/mês	0	<500 U/L	0
≥2 unidades concentrados de GV/mês	1	≥500 U/L	1

Taxa de resposta prevista: 0 pontos – 74%; 1 ponto – 23%; 2 pontos – 7%

ESA: Agentes Estimuladores da Eritropoiese; GV: glóbulos vermelhos

Relativamente aos critérios para avaliação da resposta eritroide, estes podem ser divididos em duas categorias:

- Resposta eritroide parcial, que se define por estabilização da anemia, sem necessidade de transfusões adicionais, em doentes transfusão-dependentes, ou por aumento dos níveis de hemoglobina em ≥ 15 g/L, em doentes com anemia estável.

- Resposta eritroide completa, definida por estabilização dos níveis de hemoglobina em valores ≥ 115 g/L.

Perante níveis de hemoglobina < 120 g/L, deve ter início a **fase de indução**, com instituição de 30000 U por semana de EPO subcutânea, preconizando-se aumento para 30000 U, bissemanalmente, perante ausência de resposta após 8 semanas. Não estão recomendadas doses semanais superiores a 60000 U. A darbepoetina deve ser iniciada com dose de 300 μ g a cada 14 dias, ou 150 μ g por semana. Deverá ser aumentada para 300 μ g semanais, se ausência de resposta após 8 semanas. G-CSF deverá ser adicionado perante ausência de resposta, às 8 semanas, de doses máximas de EPO ou darbepoetina. Inicialmente, doses de 300 μ g (ou equivalentes), em administração única semanal, ou 120 μ g, de modo alternado, duas a três vezes por semana.

Perante resposta eritrocitária completa, na **fase de manutenção**, a dose deverá ser reduzida a cada 8 semanas, através da diminuição da dose em cada injeção ou do intervalo entre administrações. A dose semanal mediana de EPO é de 30000 U, com alguns doentes a responderem a valores entre 5000 e 10000 U. Nesta fase, recomenda-se monitorização regular da ferritina.

Perante **perda de resposta**, deverão ser avaliados défices de ferro ou vitamínicos e aumentadas as doses de EPO ou darbepoetina, após reavaliação medular para exclusão de doença progressiva (SMD de alto risco ou LMA). Perante ausência de resposta continuada, apesar da dose máxima, adicionar G-CSF e avaliar após 8 a 16 semanas a dose máxima. Recomenda-se avaliação medular, se ausência de resposta persistente ou sinais clínicos de progressão da doença (18-28% dos doentes mostram sinais de progressão aquando da perda de resposta).

2) Tratamento Imunossupressor

Vários estudos internacionais demonstraram taxas de resposta, que rondam os 30%, à terapêutica imunossupressora [globulina antitimócito (ATG) combinada, em alguns casos, com ciclosporina A (CyA)], em doentes com SMD com displasia unilinhagem ou multilinhagem. Medula hipoplásica, cariótipos classificados como favorável e intermédio, HLA-DR15 positivo, idade jovem e tratamento nos primeiros dois anos após o diagnóstico, bem como curta duração da dependência transfusional, permitem prever resposta positiva ao tratamento. Ainda não existem dados que suportem a adição de ciclosporina A à ATG, mas um estudo retrospectivo (79) demonstrou aumento da taxa de resposta de 27% para 51%.

Têm indicação para tratamento com ATG doentes com SMD com displasia unilinhagem ou multilinhagem, com anemia sintomática e/ou trombocitopenia e/ou

neutropenia, com suscetibilidade aumentada para infecções. Recomenda-se adição de prednisolona durante a terapêutica com ATG e profilaxia, durante 6 meses, com Sulfametoxazole/Trimetoprim. Deve ser considerada profilaxia com Fluconazol ou Aciclovir. De salientar que a resposta ao tratamento pode ser tardia, podendo ocorrer apenas 3 a 9 meses após o início da terapêutica, tal como se verifica com as anemias aplásticas.

3) Terapêutica com Lenalidomida

A Lenalidomida é um fármaco que se liga diretamente ao cereblon, componente de um complexo formado pelo anel culina e pela enzima ubiquitina ligase 3. Em células hematopoiéticas, recruta fatores de transcrição linfoides, levando à sua ubiquitinação e consequente degradação, de que resultam efeitos citotóxicos e imunomoduladores diretos. Em doentes com SMD de baixo risco com del(5q) e transfusão-dependentes, 43-56% atingem independência transfusional e 23-57% apresentam resposta citogenética. A duração da resposta é de, aproximadamente, dois anos e a incidência cumulativa de progressão para LMA, aos cinco anos, é de cerca de 35%.

Consideram-se elegíveis doentes com SMD de baixo risco com del(5q) isolada, cujo tratamento com EPO falhou, e que não apresentam mutação *TP53* ou marcação *p53* forte em progenitores medulares (devido ao risco aumentado de progressão para LMA). Deve ser evitada em candidatos elegíveis a transplante alogénico.

7.3. Tratamento das SMD de alto risco

1) Transplante Alogénico

O transplante alogénico de células estaminais é a única opção curativa conhecida nas SMD. Os dados publicados mostram taxas de sobrevivência livre de doença que variam entre 35-40%, mortalidade relacionada com o transplante entre 5-20% (dependente do tipo de dador) e taxas de recidiva entre 20-30%. A percentagem de blastos medulares, aquando do transplante, influencia significativamente o prognóstico.

Têm indicação para transplante alogénico todos os doentes considerados aptos, sem comorbilidades significativas e sem idade avançada. Esta indicação deve ser avaliada em conjunto com a disponibilidade de dadores, eventuais patologias concomitantes e *status* funcional/idade. Em casos selecionados, devem ser consideradas algumas mutações somáticas. Fatores de mau prognóstico identificados em doentes de risco baixo ou intermédio podem indicar a necessidade de transplantação precoce.

Geralmente administra-se quimioterapia citorrredutora previamente ao transplante, com intuito de reduzir o número de blastos medulares (<10% ou, idealmente, <5%), mas a sua validade permanece controversa, devido à falta de ensaios randomizados e dados

retrospectivos conclusivos, uma vez que a displasia permanece. No entanto, a quimioterapia de indução aumenta significativamente o risco de mortalidade e morbidade, que podem impedir o transplante. Devem ser considerados para terapêutica citorrredutora os doentes com risco intermédio, de acordo com o IPSS-R, com contagens crescentes de blastos $\geq 10\%$.

2) Terapêutica com Azacitidina

Doentes com SMD de alto risco podem recusar a transplantação ou não serem elegíveis para a mesma, devido a falta de compatibilidade com o dador, comorbidades ou idade avançada. Nestes doentes com SMD, classificada pela IPSS, como INT-2 e alto risco, a Azacitidina pode ser uma opção terapêutica.

Um estudo randomizado de fase III em doentes com SMD avançada, não primariamente elegíveis para tratamento curativo (transplante alogénico), comparou a Azacitidina ao melhor tratamento de suporte disponível. Foi demonstrada melhoria significativa na sobrevivência geral com Azacitidina (24 *versus* 15 meses, $p=0.0001$) e no tempo de transformação leucémica (24 *versus* 12 meses, $p=0.004$). Nesse mesmo estudo, 29% dos doentes tratados com Azacitidina apresentaram resposta parcial ou completa.

Duas publicações recentes sugerem que o tratamento com Azacitidina pode atuar como *bridging therapy* para transplante alogénico, parecendo não alterar o prognóstico pós-transplante. Com base nestes achados, a Azacitidina é geralmente recomendada, como primeira linha, em SMD de alto risco e na transformação leucémica (contagens de blastos entre 20-30%), excetuando doentes jovens, com características favoráveis para quimioterapia LMA-*like*.

3) Quimioterapia LMA-*like*

Esquemas de quimioterapia LMA-*like* encontram-se recomendados em doentes mais jovens com SMD de alto risco, IPSS-R intermédio e na SMD-LMA (contagens de blastos entre 20-30%). Tem como objetivo induzir remissão em doentes jovens, previamente ao transplante de células estaminais alogénico, e em doentes não elegíveis para transplante, se apresentam características favoráveis a resposta completa (níveis séricos de LDH normais e/ou contagens de leucócitos inferiores a $4.0 \times 10^9/L$ e risco citogenético bom ou intermédio) e se aparentam tolerar a quimioterapia de indução.

De salientar que, em doentes mais velhos com SMD de alto risco ou SMD/LMA, a Azacitidina está recomendada como primeira escolha e, se esta falha, pode ser tentada a quimioterapia LMA-*like*, se os doentes apresentam bom *performance status*, sem comorbidades e com características de bom prognóstico.

4) Quimioterapia em baixa dose

Não existe evidência suficiente para recomendar o uso de quimioterapia em baixa dose, por rotina. Contudo, em situações individualizadas, a quimioterapia com doses reduzidas de melfalano ou citosina arabinosida pode ser usada com o objetivo de reduzir contagens leucocitárias e de blastos medulares elevadas ou, então, como forma de melhorar a pancitopenia nas SMD.

Alguns estudos de fase 2 com melfalano, em doentes com SMD de alto risco, reportam uma taxa de resposta de até 30% em doentes selecionados, verificando-se melhoria nas contagens celulares e redução/suspensão da necessidade transfusional, com toxicidade ligeira. Sugere-se introdução de melfalano em doentes com SMD de alto risco ou SMD/LMA sintomáticos, com cariótipo normal e medula hipo- ou normocelular.

Um estudo randomizado de larga escala estabeleceu a comparação entre a citosina arabinosida de baixa dose e o tratamento de suporte, predominantemente em doentes com SMD de alto risco, mostrando taxa de resposta de, aproximadamente, 30% no braço da citosina arabinosida, mas sem benefício na sobrevivência global e na transformação leucêmica. Pode ser considerada na citopenia sintomática em casos pontuais de SMD de alto risco. Modelos preditivos sugerem que uma contagem plaquetar baixa e alterações cromossômicas ao diagnóstico se associam a baixa taxa de resposta.(75)

7.4. Novas Terapêuticas nas SMD

Os principais objetivos terapêuticos nas SMD de baixo risco são a melhoria da hematopoiese eficaz e a diminuição da dependência transfusional, incluindo a prevenção das complicações secundárias às citopenias. Os ESA, usados como terapêutica de primeira linha, em particular nos doentes sem del(5q), falham na indução de uma resposta sustentável em muitos casos. Desta forma, alguns estudos recentes têm proposto novos fármacos como potenciais alternativas ou associados às terapêuticas atuais.(80)

1) Luspatercept e Sotatercept

O Luspatercept e o Sotatercept são fármacos inibidores da via do fator de crescimento transformador β (TGF- β), que têm atraído cada vez mais atenção no tratamento da anemia nas SMD de baixo risco. A superfamília dos TGF- β , principalmente secretada pelas células estaminais mesenquimatosas e hematopoiéticas, desempenha um papel importante durante a sinalização no nicho de células estaminais hematopoiéticas medulares.

Na medula normal, a sinalização pelo TGF- β induz mielossupressão e inibe a diferenciação eritroide, através da indução de apoptose e cessação do ciclo celular nos eritroblastos. Contudo, a estimulação pela EPO, durante a maturação eritroide, inibe a

sinalização pelo TGF- β . Durante a miríade de acontecimentos que precede as SMD, ocorrem alterações a nível desta sinalização, alterando o microambiente medular onde residem as células estaminais hematopoiéticas. Deste modo, a sinalização aumentada pelo TGF- β verificada, também, nos fibroblastos medulares, promove o aumento da taxa de proliferação das células displásicas. Para além disso, parece ocorrer aumento dos valores plasmáticos de fator 11 de diferenciação de crescimento (GDF11), um regulador negativo de fases tardias do desenvolvimento eritrocitário, que se acentua no curso da doença, acompanhando a eritropoiese ineficaz, a sobrecarga de ferro e a hiperplasia eritroide.(80)

O Luspatercept liga-se ao *GDF11* e a elementos da superfamília dos TGF- β estruturalmente semelhantes, regulando a maturação e diferenciação celular dos precursores eritrocitários em fases avançadas. Este mecanismo de ação é distinto do da EPO, que estimula a proliferação de células precursoras dos eritrócitos em fases precoces.(27) Resultados preliminares após um período de tratamento com este fármaco são encorajadores, ocorrendo correção da anemia e atenuação da eritropoiese ineficaz em cerca de metade dos doentes com SMD de risco baixo e intermédio, com aumento dos níveis de hemoglobina e redução da necessidade transfusional nos primeiros meses após início do tratamento. Tal facto foi constatado tanto nos doentes a quem nunca tinham sido administrados ESA, como nos refratários a esta terapêutica, o que demonstra o impacto do Luspatercept nas fases mais evoluídas da eritropoiese.(81)

De forma semelhante, o Sotatercept, um antagonista do *GDF11*, permite o restabelecimento da eritropoiese eficaz, ao neutralizar reguladores negativos das fases tardias da maturação eritroide. Estes resultados são consistentes com os de um estudo prévio com este fármaco em doentes com β -talassémia, uma hemoglobinopatia na qual os ESA não constituem uma opção terapêutica eficaz.(82)

2) Panobinostat

O Panobinostat (LBH589) é um inibidor da HDAC (HDACi) de classe I/II, que demonstrou exercer atividade anti-tumoral promissora em modelos pré-clínicos e em doentes com leucemia, ao inibir a proliferação celular e induzir apoptose. Contudo, um estudo de fase 2 demonstrou toxicidade significativa em doentes mais idosos, o principal grupo afetado pelas SMD. Por outro lado, não demonstra atividade clínica significativa em doentes com SMD de baixo risco, pelo que se sugere o seu uso em combinação com agentes hipometilantes do DNA, como a Azacitidina. Necessita de investigação adicional.(83)

3) Adalimumab

Um caso clínico recente (84) reporta o tratamento bem sucedido com Adalimumab, um agente anti-TNF- α amplamente usado no tratamento da doença de Crohn. O racional para o seu uso surgiu após alguns estudos clínicos demonstrarem que a inibição do TNF- α com etanercept (recetor solúvel recombinante do TNF) e infliximab (anti-TNF- α) pode funcionar nas SMD, que podem ser ainda mais evidentes em combinação com outros tratamentos-padrão desta doença.

Um dos mecanismos que explica a hematopoiese ineficaz nas SMD prende-se com o aumento da apoptose das células hematopoiéticas induzida por citocinas. O TNF- α , citocina pró-inflamatória, atua como potente inibidor da hematopoiese normal, ao aumentar a apoptose. Culturas medulares in vitro submetidas a bloqueio do TNF- α mostraram aumentos significativos nas contagens de colónias hematopoiéticas, quando comparadas com células não submetidas a este bloqueio. Estes achados sugerem o potencial terapêutico do bloqueio do TNF- α .

O mesmo caso clínico sugere ainda o papel benéfico dos agentes trombomiméticos. Durante e após a administração do romiplostim, um agonista do recetor da trombopoietina, foi possível descontinuar os ESA, pela normalização do valor da hemoglobina.(84) Curiosamente, verificaram-se respostas hematológicas nas três linhagens celulares com o romiplostim e alguma atividade anticlonal com o eltrombopag (outro agonista do recetor da trombopoietina). Na anemia aplásica, o eltrombopag induziu melhorias nos níveis de hemoglobina e na resposta neutrofílica.(85)

8. Prognóstico

Nas últimas duas décadas, os hematologistas têm classificado as SMD de acordo com a categoria de risco prognóstico, calculada primeiramente de acordo com o IPSS e, posteriormente, com o IPSS-R (Tabela 2). Na prática clínica, o IPSS-R distribui os doentes em três grupos: baixo risco, risco intermédio e alto risco. A utilização de características diferenciadoras adicionais pode ter interesse principalmente na categorização dos doentes classificados pela IPSS-R como sendo de risco intermédio.(75) Fatores de prognóstico adicionais incluem:

- Comorbilidades: índice de comorbilidades específicas da SMD (MDS-CI), baseado nos tumores sólidos e na doença cardíaca, hepática, renal e pulmonar;
- Fibrose: graus 2 e 3 de fibrose medular conferem pior prognóstico;

- Mutações associadas a pior prognóstico: *TP53*, *EZH2*, *ETV6*, *RUNX1*, *NRAS* e *ASXL1*. Diversas mutações genéticas associam-se a fatores de risco clínicos específicos;
- Mutações associadas a maior contagem de blastos medulares e trombocitopenia: *TP53*, *RUNX1*, *ASXL1*, *SRSF2* e *NRAS*;
- Mutação *TP53* associa-se a baixa contagem de neutrófilos e a cariótipo complexo;
- EPO, quando elevada ao diagnóstico, considerada fator de mau prognóstico, com baixa resposta aos ESA, associada aos doentes que evoluem para LMA e a taxas de sobrevivência inferiores.(86)

Tabela 4 – Grupos de Prognóstico Citogenético do IPSS-R (76)		
Grupos de Prognóstico	Categorias Cromossómicas	Tempo médio de sobrevida (meses)
Muito Bom	del(11q); -Y	60.8
Bom	Normal; del(5q), anomalias duplas, incluindo del(5q), del(12p) e del(20q)	40.5
Intermédio	del(7q); +8; i(17q); +19; clones independentes	25.0
Mau	inv(3)/t(3q)/del(3q); -7; -7/7q; anomalias duplas, incluindo -7/7q-	15.0
Muito Mau	Cariótipos complexos com mais de 3 anomalias	5.7

IPSS-R: *Revised International Prognostic Scoring System*.

9. Progressão para LMA

A incidência de LMA em certas variantes histológicas ou citogenéticas das SMD é tão elevada, que estas podem ser consideradas como entidades pré-leucémicas. Tais variantes incluem a SMD com excesso de blastos 2 (SMD-EB-2) e as SMD que cursam com alterações citogenéticas associadas a mau prognóstico, de que são exemplos a monossomia do cromossoma 7, deleção 7q, trissomia 8 e deleção 17p. Nestes doentes em particular, o risco de transformação leucémica ronda os 50%. Pelo contrário, a incidência de LMA nas SMD com sideroblastos em anel (SMD-RS) é inferior a 5%.(14)

Um estudo efetuado em células mononucleares medulares de doentes com SMD (88) revelou que o perfil de expressão genética é *LMA-like* em, aproximadamente, 23% dos doentes, *SMD-like* em 50% e não-leucémico em 24%. Estes achados apoiam a existência de variantes intrinsecamente pré-leucémicas. Enquanto a assinatura genética *LMA-like* foi encontrada em 68% dos doentes com SMD-EB-2, 86% dos doentes com SMD-RS foram classificados como *SMD-like*. De modo expectável, doentes com SMD com assinatura genética *LMA-like* apresentavam uma baixa sobrevivência livre de leucemia, enquanto, nos doentes com assinatura não-leucémica não ocorreu qualquer caso de evolução para LMA num período de 5 anos.(87)

A Eritropoietina e o Recetor da Eritropoietina nas SMD e noutras neoplasias

Tal como mencionado anteriormente, as células da medula óssea de doentes com SMD apresentam alterações nas vias de transdução de sinal. Em particular, o EPOR encontra-se expresso em número normal nas células mielodisplásicas, mas a ativação do gene STAT5, que ocorre em resposta à estimulação por EPO, é deficitária. Este facto foi atribuído a defeitos intracelulares estruturais nos recetores da EPO de células mielodisplásicas, mas ainda não foi concretamente demonstrado.(73) Distúrbios nos progenitores eritroides primitivos e na sinalização do EPOR representam causas major de anemia nas SMD.(89)

De facto, poucos estudos têm sido conduzidos no sentido de averiguar a ativação basal de vias de sinalização proliferativas em progenitores medulares nas SMD. Recentemente, demonstrou-se alteração da MAPK p38 em casos de SMD.(73) No entanto, pouco se sabe acerca da ineficiência progressiva da hematopoiese no clone mielodisplásico, permanecendo relativamente incerto o papel desempenhado pelo EPOR.

Porém, a expressão de EPO e do seu recetor é já reconhecida numa variedade de neoplasias, com diversos estudos a demonstrarem a ação do eixo EPO/EPOR em eventos sinalizadores nas células cancerígenas, contribuindo para a progressão da doença. De facto, as células cancerígenas parecem possuir capacidade de subversão do eixo EPO/EPOR. Estudos pré-clínicos demonstraram ativação de diversas vias de sinalização celular (MAPK, PI3K-AKT, JAK-STAT e NFκB), mediada pela EPO, num elevado número de neoplasias. Esta ativação associa-se a progressão tumoral.

Adicionalmente, a administração de EPO recombinante (rEPO), como forma de tratar a anemia que surge em alguns doentes com cancro, parece induzir a proliferação de células cancerígenas e inibir a sua apoptose. Este aumento de expressão de EPO tem sido associado a redução da hipoxia tumoral e acentuação dos seus efeitos deletérios a nível do crescimento tumoral, metastização e resistência à terapêutica.(69)

A rEPO administrada a doentes com anemia no contexto de neoplasias, induz a ativação da via de transdução de sinal anti-apoptótica NF-κB em células tumorais com expressão de EPOR. Este constitui o mecanismo molecular responsável pela citoproteção contra o dano oxidativo em tecidos normais. Verificou-se um aumento acima dos 50% no número de clones tumorais em células com expressão de EPOR que foram estimuladas com rEPO, quando comparadas com células sem expressão de EPOR.(90)

Recentemente, um estudo (91) demonstrou que o tratamento com EPO pode ativar as vias de sinalização JAK2/STAT5, RAS/ERK e PI3K em linhagens celulares de carcinoma do

pulmão de não pequenas células. Os achados sugerem que a EPO induz fosforilação da JAK2, STAT5 e de outras proteínas que contêm tirosina na sua constituição.(9)

Ainda, um estudo multicêntrico em doentes com cancro da mama tratados com quimioterapia terminou prematuramente devido ao aumento da mortalidade, nos primeiros quatro meses, nos doentes cuja terapêutica incluía rEPO.(92) Outro estudo controlado por placebo em doentes com neoplasias da cabeça e pescoço a receber rEPO, demonstrou que estes apresentavam níveis mais elevados de hemoglobina do que os submetidos a placebo, mas que apresentavam taxas de progressão tumoral mais altas e menor sobrevivência.(93)

Por outro lado, em células de tumor do ovário, o EPOR encontra-se ativo e, ele próprio, ativa vias de sinalização celular que têm como mediadores JAK, STAT, AKT e ERK. Nestas células, a diminuição da expressão do EPOR resultaria numa diminuição da proliferação e invasão, através de um mecanismo independente da EPO. Existem estudos que demonstram existir uma menor expressão do EPOR em células de neoplasia da mama *versus* células normais, o que pode sugerir a existência de diferenças biológicas entre estes dois tipos de células. A distinção nas taxas de *turnover* pode ser explicada por uma diferença nos mecanismos de ativação. Enquanto a ativação do recetor induzida pela rEPO em células normais ativa, preferencialmente, a internalização clássica e processamento pelo sistema lisossomal, a ativação do recetor nas células neoplásicas mamárias pode escapar a estas vias. Isto ajuda a compreender que ocorra ativação do EPOR pela rEPO nas células normais, mas não nas células de cancro da mama.(94)

Dada a controvérsia em torno do uso de rEPO e da subsequente proliferação de células cancerígenas em alguns doentes com cancro, um estudo recente teve como objetivo produzir, caracterizar e validar um painel de anticorpos monoclonais anti-EPOR para serem utilizados pela comunidade científica, de modo a identificar os doentes que podem ser tratados com EPO em segurança. O estudo permitiu a identificação de múltiplas isoformas do EPOR nas células cancerígenas humanas, que podem modular os efeitos da rEPO nas células.(95)

Outro estudo reportou diferenças na deteção do EPOR em amostras de tecidos tumorais, utilizando diferentes anticorpos. Usando um anticorpo monoclonal anti-EPOR, não foram capazes de detetar o EPOR nas células humanas normais e nas suas contrapartes cancerígenas correspondentes. Isto pode sugerir que o epítipo reconhecido pelo anticorpo monoclonal poderá estar ausente nas isoformas de EPOR encontradas nas células neoplásicas.(96)

O desenvolvimento de anticorpos dirigidos contra a rEPO e aplasia eritroide pura concomitante foi reportado após administração de rEPO em doentes com doença renal crónica submetidos a hemodiálise. Porém, nem todos os doentes tratados com rEPO

apresentavam estes anticorpos anti-rEPO, o que sugere a presença de anticorpos anti-EPOR neste subgrupo de doentes com doença renal crónica. Embora permaneça por esclarecer se a produção de anticorpos anti-EPOR é induzida pela terapêutica com ESA, os anticorpos anti-EPOR podem estar presentes num subgrupo de doentes com doença renal crónica. De uma forma geral, os resultados deste estudo sugerem que os anticorpos anti-EPOR interferem com a diferenciação de células progenitoras eritroides medulares, levando ao desenvolvimento de anemia com hipoplasia eritroide.

Um estudo recente foi pioneiro a descrever a presença de autoanticorpos contra o EPOR na anemia com hipoplasia eritroide, demonstrando que os anticorpos anti-EPOR se ligam especificamente ao EPOR na superfície celular, inibindo a proliferação induzida pela EPO. Clinicamente, a presença de anticorpos anti-EPOR associa-se a anemia, reticulocitopenia e eritroblastopenia medular. Ademais, o número de anticorpos anti-EPOR correlaciona-se negativamente com o número de reticulócitos e eritroblastos medulares. Estes achados sugerem que os anticorpos anti-EPOR podem estar envolvidos na fisiopatologia da anemia imunomediada, ao inibirem a eritropoiese mediada pela EPO. Neste contexto, seria benéfica a determinação destes anticorpos antes de iniciar EPO ou após falha da mesma.(97)

Conclusão

As Síndromes Mielodisplásicas são um grupo heterogêneo de doenças clonais da células estaminal hematopoiética caracterizadas por displasia celular e hematopoiese ineficaz com citopenia(s) periférica(s), mas com medula hiper celular. Associam-se a elevado risco de progressão para LMA com sobrevivência global reduzida e resistência às terapêuticas convencionais. Representam as neoplasias hematológicas mais comuns nos idosos, com idade mediana ao diagnóstico de 70 anos, o que poderá refletir uma exposição prolongada a agentes leucemogénios.(86)

Apesar de não ser totalmente compreendida, a fisiopatologia das SMD compreende um processo longo, complexo e que requer múltiplas etapas. Fatores como a desregulação da capacidade de autorrenovação e proliferação da célula estaminal hematopoiética, bem como da sua diferenciação, instabilidade genética/epigenética, mecanismos anti-apoptóticos, evasão ao sistema imune e supressão da hematopoiese normal parecem desempenhar um papel na sua patogénese.(4,5,18,29–34)

O diagnóstico das SMD assenta principalmente nos achados morfológicos de displasia medular em doentes com evidência clínica de hematopoiese ineficaz, manifestada por citopenia(s) periférica(s). Destas destaca-se a anemia, a mais comumente encontrada, e cuja abordagem terapêutica pode ser complexa.(75)

Efetivamente, na atualidade, a decisão terapêutica baseia-se na aplicação de scores de prognóstico, sendo os mais amplamente utilizados e validados, o IPSS e o IPSS-R, com a maioria dos doentes pertencentes a categorias de baixo risco. Devido à heterogeneidade da doença, as opções terapêuticas podem variar desde vigilância isolada até transplante alogénico de medula.(77) Os principais objetivos terapêuticos, melhoria da hematopoiese eficaz e a diminuição da dependência transfusional, frequentemente com recurso a ESA, terapêutica de primeira linha, falham na indução de uma resposta sustentável em muitos casos.(80)

Mais recentemente tem sido questionada a contribuição do eixo EPO/EPOR na progressão tumoral. Por um lado, existem cada vez mais evidências de que o EPOR se encontra presente numa grande variedade de células e que a administração de doses elevadas de EPO pode resultar em sequelas que se estendem para além dos precursores eritroides medulares.(98) Por outro, um estudo mostrou existir uma correlação negativa entre os anticorpos anti-EPOR séricos e o número de reticulócitos e eritroblastos na medula, o que indica que estes anticorpos desempenham um papel funcional na indução da anemia. Adicionalmente, o desaparecimento dos anticorpos após tratamento imunossupressor e conseqüente aumento do número de reticulócitos e dos níveis da hemoglobina, enfatiza o papel destes anticorpos no desenvolvimento da anemia.(97)

Nos últimos anos têm sido feitos progressos ao nível do entendimento das vias de sinalização celular, do papel da eritropoietina e do seu recetor e do microambiente na patogénese das SMD, que têm permitido o desenvolvimento de novos fármacos promissores. Tendo em consideração a crescente esperança média de vida da população e a significativa prevalência das SMD em faixas etárias mais avançadas, bem como o seu impacto na vida destes doentes e a importante progressão para LMA, daqui se depreende a relevância da aposta contínua na investigação neste grupo de patologias.

Referências Bibliográficas

1. Fenaux P, Haase D, Sanz GF, Santini V, Buske C; ESMO Guidelines Working Group. Myelodysplastic syndromes: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2014;25 Suppl 3:iii57-iii69.
2. Amaral SI. Um olhar sobre a biologia e a clínica das síndromes mielodisplásicas - implicações no diagnóstico e avaliação do prognóstico. [dissertation]. Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra; 2012.
3. Tefferi A, Lim KH, Levine R. Mutation in TET2 in myeloid cancers. *N Engl J Med*. 2009;361(11):1117-8.
4. Bejar R, Levine R, Ebert BL, Research Building K, Cir B. Unraveling the Molecular Pathophysiology of Myelodysplastic Syndromes. *J Clin Oncol*. 2011;29:504–15.
5. Hellström-Lindberg E, van de Loosdrecht A. Erythropoiesis stimulating agents and other growth factors in low-risk MDS. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2013;26(4):401-410.
6. Pasqualetti P, Collacciani A, Casale R. Circadian rhythm of serum erythropoietin in myelodysplastic syndromes. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2000;4(5–6):111–5.
7. Sinclair AM, Todd MD, Forsythe K, Knox SJ, Elliott S, Begley CG. Expression and function of erythropoietin receptors in tumors: Implications for the use of erythropoiesis-stimulating agents in cancer patients. *Cancer*. 2007;110(3):477–88.
8. Wang L, Di L, Noguchi CT. Erythropoietin, a novel versatile player regulating energy metabolism beyond the erythroid system. *Int J Biol Sci*. 2014;10(8):921–39.
9. Laugsch M, Metzen E, Svensson T, Depping R, Jelkmann W. Lack of functional erythropoietin receptors of cancer cell lines. *Int J Cancer*. 2008;122(5):1005–11.
10. Cortesão E. Nutrição e Alterações Epigenéticas na Síndrome Mielodisplásica. 2010.
11. Steensma DP. Historical perspectives on myelodysplastic syndromes. *Leuk Res*. 2012;36(12):1441-52.
12. Nimer SD. Myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2008;111(10):4841-51.
13. Hellström-Lindberg E. Myelodysplastic Syndromes: An Historical Perspective. *Hematology*. 2008;2008(1):42–42.
14. Tefferi A, Vardiman JW. Myelodysplastic Syndromes. *N Engl J Med*. 2009;361(19):1872–85.
15. Neukirchen J, Schoonen WM, Strupp C, et al. Incidence and prevalence of myelodysplastic syndromes: data from the Düsseldorf MDS-registry. *Leuk Res*. 2011;35(12):1591-6.
16. Matsuda A, Germing U, Jinnai I, Misumi M, Kuendgen A, Knipp S, et al. Difference in clinical features between Japanese and German patients with refractory anemia in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2005;106(8):2633–40.

17. Qu S, Xu Z, Zhang Y, Qin T, Zhang T, Cui R, et al. Impacts of cytogenetic categories in the Revised International Prognostic Scoring System on the prognosis of primary myelodysplastic syndromes: Results of a single-center study. *Leuk Lymphoma*. 2012;53(5):940–6.
18. Ma X, Selvin S, Raza A, Foti K, Mayne ST. Clustering in the incidence of myelodysplastic syndromes. *Leuk Res*. 2007;31(12):1683–6.
19. Leone G, Fianchi L, Voso MT. Therapy-related myeloid neoplasms. *Curr Opin Oncol*. 2011;23(6):672–80.
20. Cardis E, Vrijheid M, Blettner M, Gilbert E, Hakama M, Hill C, et al. Risk of cancer after low doses of ionising radiation - Retrospective cohort study in 15 countries. *Br Med J*. 2005;331(7508):77–80.
21. Iwanaga M, Hsu WL, Soda M, Takasaki Y, Tawara M, Joh T, et al. Risk of myelodysplastic syndromes in people exposed to ionizing radiation: A retrospective cohort study of Nagasaki atomic bomb survivors. *J Clin Oncol*. 2011;29(4):428–34.
22. Nisse C, Haguenoer JM, Grandbastien B, Preudhomme C, Fontaine B, Brilllet JM, et al. Occupational and environmental risk factors of the myelodysplastic syndromes in the North of France. *Br J Haematol*. 2001;112(4):927–35.
23. Rigolin GM, Cuneo A, Roberti MG, Bardi A, Bigoni R, Piva N, et al. Exposure to myelotoxic agents and myelodysplasia: Case-control study and correlation with clinicobiological findings. *Br J Haematol*. 1998;103(1):189–97.
24. Rothman N, Smith MT, Hayes RB, Traver RD, Hoener BA, Campleman S, et al. Benzene poisoning, a risk factor for hematological malignancy, is associated with the NQ01 609C→T mutation and rapid fractional excretion of chlorzoxazone. *Cancer Res*. 1997;57(14):2839–42.
25. Mewawalla P, Dasanu CA. Immune alterations in untreated and treated myelodysplastic syndrome. *Expert Opin Drug Saf*. 2011;10(3):351–61.
26. Seiter K. Myelodysplasia: new approaches. *Curr Treat Options Oncol*. 2013;14(2):156–69.
27. Castelli R, Schiavon R, Rossi V, Deliliers GL. Management of anemia in low-risk myelodysplastic syndromes treated with erythropoiesis-stimulating agents newer and older agents. *Med Oncol*. 2018;35(5):76.
28. Spinelli E, Caporale R, Buchi F, Masala E, Gozzini A, Sanna A, et al. Distinct signal transduction abnormalities and erythropoietin response in bone marrow hematopoietic cell subpopulations of myelodysplastic syndrome patients. *Clin Cancer Res*. 2012;18(11):3079–89.

29. Alfinito F, Sica M, Luciano L, Pepa R Della, Palladino C, Ferrara I, et al. Immune dysregulation and dyserythropoiesis in the myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol*. 2010;148(1):90-98.
30. Meers S. The myelodysplastic syndromes: The era of understanding. *Eur J Haematol*. 2015;94(5):379-90.
31. Adema V, Bejar R. What lies beyond del(5q) in myelodysplastic syndrome? *Haematologica*. 2013;98(12).
32. Ebert BL, Pretz J, Bosco J, Chang CY, Tamayo P, Galili N, et al. Identification of RPS14 as a 5q-syndrome gene by RNA interference screen HHS Public Access. *Nature*. 2008;451(7176):335–9.
33. Shivdasani RA. MicroRNAs: regulators of gene expression and cell differentiation. *Blood*. 2006;108(12):3646-53.
34. Haase D, Germing U, Schanz J, Pfeilstöcker M, Nösslinger T, Hildebrandt B, et al. New insights into the prognostic impact of the karyotype in MDS and correlation with subtypes: Evidence from a core dataset of 2124 patients. *Blood*. 2007;110(13):4385–95.
35. Christiansen DH, Andersen MK, Pedersen-Bjergaard J. Mutations of AML1 are common in therapy-related myelodysplasia following therapy with alkylating agents and are significantly associated with deletion or loss of chromosome arm 7q and with subsequent leukemic transformation. *Blood*. 2004;104(5):1474–81.
36. Majewski IJ, Ritchie ME, Phipson B, Corbin J, Pakusch M, Ebert A, et al. Opposing roles of polycomb repressive complexes in hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood*. 2010;116(5):731–9.
37. Sloan EM, Wu CO, Greenberg P, Young N, Barrett J. Factors affecting response and survival in patients with myelodysplasia treated with immunosuppressive therapy. *J Clin Oncol*. 2008;26(15):2505–11.
38. Lim ZY, Killick S, Germing U, Cavenagh J, Culligan D, Bacigalupo A, et al. Low IPSS score and bone marrow hypocellularity in MDS patients predict hematological responses to antithymocyte globulin. *Leukemia*. 2007;21(7):1436–41.
39. Wiktor A, Rybicki BA, Piao ZS, Shurafa M, Barthel B, Maeda K, et al. Clinical significance of Y chromosome loss in hematologic disease. *Genes, Chromosom Cancer*. 2000;27(1):11–6.
40. Skoda R. The genetic basis of myeloproliferative disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2007;1–10.
41. Liu YC, Ito Y, Hsiao HH, Sashida G, Kodama A, Ohyashiki JH, et al. Risk factor analysis in myelodysplastic syndrome patients with del(20q): prognosis revisited. *Cancer Genet Cytogenet*. 2006;171(1):9–16.

42. Senyuk V, Sinha KK, Li D, Rinaldi CR, Yanamandra S, Nucifora G. Repression of RUNX1 activity by EVI1: A new role of EVI1 in leukemogenesis. *Cancer Res.* 2007;67(12):5658–66.
43. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood.* 2009;114(5):937-51.
44. Mullighan CG. TET2 mutations in myelodysplasia and myeloid malignancies. *Nat Genet.* 2009;41(7):766-7.
45. Tahiliani M, Koh KP, Shen Y, Pastor WA, Bandukwala H, Brudno Y, et al. Conversion of 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1. *Science.* 2009;324(5929):930–5.
46. Ko M, Huang Y, Jankowska AM, Pape UJ, Tahiliani M, Bandukwala HS, et al. Impaired hydroxylation of 5-methylcytosine in myeloid cancers with mutant TET2. *Nature.* 2010;468(7325):839–43.
47. Boultonwood J, Perry J, Pellagatti A, et al. Frequent mutation of the polycomb-associated gene ASXL1 in the myelodysplastic syndromes and in acute myeloid leukemia. *Leukemia.* 2010;24(5):1062-65.
48. Cho YS, Kim EJ, Park UH, Sin HS, Um SJ. Additional sex comb-like 1 (ASXL1), in cooperation with SRC-1, acts as a ligand-dependent coactivator for retinoic acid receptor. *J Biol Chem.* 2006;281(26):17588–98.
49. Carbuccia N, Murati A, Trouplin V, Brecqueville M, Adélaïde J, Rey J, et al. Mutations of ASXL1 gene in myeloproliferative neoplasms. *Leukemia.* 2009;23(11):2183–6.
50. Carbuccia N, Trouplin V, Gelsi-Boyer V, et al. Mutual exclusion of ASXL1 and NPM1 mutations in a series of acute myeloid leukemias. *Leukemia.* 2010;24(2):469-73.
51. Gelsi-Boyer V, Trouplin V, Adélaïde J, Bonansea J, Cervera N, Carbuccia N, et al. Mutations of polycomb-associated gene ASXL1 in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol.* 2009;145(6):788–800.
52. Tang JL, Hou HA, Chen CY, Liu CY, Chou WC, Tseng MH, et al. AML1/RUNX1 mutations in 470 adult patients with de novo acute myeloid leukemia: Prognostic implication and interaction with other gene alterations. *Blood.* 2009;114(26):5352–61.
53. Harada Y, Harada H. Molecular pathways mediating MDS/AML with focus on AML1/RUNX1 point mutations. *J Cell Physiol.* 2009;220(1):16–20.
54. Niimi H, Harada H, Harada Y, Ding Y, Imagawa J, Inaba T, et al. Hyperactivation of the RAS signaling pathway in myelodysplastic syndrome with AML1/RUNX1 point mutations. *Leukemia.* 2006;20(4):635–44.
55. Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, Yuan W, et al. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med.* 2009;360(8):765–73.

56. Mardis ER, Ding L, Dooling DJ, Larson DE, McLellan MD, Chen K, et al. Recurring mutations found by sequencing an acute myeloid leukemia genome. *N Engl J Med*. 2009;361(11):1058–66.
57. Thol F, Weissinger EM, Krauter J, Wagner K, Damm F, Wichmann M, et al. IDH1 mutations in patients with myelodysplastic syndromes are associated with an unfavorable prognosis. *Haematologica*. 2010;95(10):1668–74.
58. Ward PS, Patel J, Wise DR, Abdel-Wahab O, Bennett BD, Collier HA, et al. The Common Feature of Leukemia-Associated IDH1 and IDH2 Mutations Is a Neomorphic Enzyme Activity Converting α -Ketoglutarate to 2-Hydroxyglutarate. *Cancer Cell*. 2010;17(3):225–34.
59. Christiansen DH, Andersen MK, Desta F, Pedersen-Bjergaard J. Mutations of genes in the receptor tyrosine kinase (RTK)/RAS-BRAF signal transduction pathway in therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2005;19(12):2232–40.
60. Sanada M, Suzuki T, Shih LY, Otsu M, Kato M, Yamazaki S, et al. Gain-of-function of mutated C-CBL tumour suppressor in myeloid neoplasms. *Nature*. 2009;460(7257):904–8.
61. Kita-Sasai Y, Horiike S, Misawa S, Kaneko H, Kobayashi M, Nakao M, et al. International prognostic scoring system and TP53 mutations are independent prognostic indicators for patients with myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol*. 2001;115(2):309–12.
62. Garcia-Manero G, Fenaux P. Hypomethylating agents and other novel strategies in myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2011;29(5):516-23.
63. Steinmann K, Richter AM, Dammann RH. Epigenetic silencing of erythropoietin in human cancers. *Genes and Cancer*. 2011;2(1):65–73.
64. Bellamy WT, Richter L, Sirjani D, Roxas C, Glinsmann-Gibson B, Frutiger Y, et al. Vascular endothelial cell growth factor is an autocrine promoter of abnormal localized immature myeloid precursors and leukemia progenitor formation in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2001;97(5):1427–34.
65. Raaijmakers MHGP, Mukherjee S, Guo S, Zhang S, Kobayashi T, Schoonmaker JA, et al. Bone progenitor dysfunction induces myelodysplasia and secondary leukaemia. *Nature*. 2010;464(7290):852–7.
66. Lopez-Villar O, Garcia JL, Sanchez-Guijo FM, Robledo C, Villaron EM, Hernández-Campo P, et al. Both expanded and uncultured mesenchymal stem cells from MDS patients are genomically abnormal, showing a specific genetic profile for the 5q-syndrome. *Leukemia*. 2009;23(4):664–72.

67. Zaninoni A, Imperiali FG, Cattaneo A, Soverini G, Binda F, Porretti L, et al. Detection of erythroblast antibodies in mitogen-stimulated bone marrow cultures from patients with myelodysplastic syndromes. *Transfusion*. 2016;56(8):2037-2041.
68. Watowich SS. The erythropoietin receptor: Molecular structure and hematopoietic signaling pathways. *J Investig Med*. 2011;59(7):1067–72.
69. Lai SY, Grandis JR. Understanding the presence and function of erythropoietin receptors on cancer cells. *J Clin Oncol*. 2006;24(29):4675–6.
70. Roversi FM, Pericole FV, Machado-Neto JA, da Silva Santos Duarte A, Longhini AL, Corrocher FA, et al. Hematopoietic cell kinase (HCK) is a potential therapeutic target for dysplastic and leukemic cells due to integration of erythropoietin/PI3K pathway and regulation of erythropoiesis: HCK in erythropoietin/PI3K pathway. *Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis*. 2017;1863(2):450-61.
71. Follo MY, Marmiroli S, Faenza I, Fiume R, Ramazzotti G, Martelli AM, et al. Nuclear phospholipase C β 1 signaling, epigenetics and treatments in MDS. *Adv Biol Regul*. 2013; 53(1):2-7.
72. Mebratu Y, Tesfaigzi Y. How ERK1/2 activation controls cell proliferation and cell death is subcellular localization the answer? *Cell Cycle*. Taylor and Francis Inc. 2009;8(8):1168–75.
73. Spinelli E, Caporale R, Buchi F, Masala E, Gozzini A, Sanna A, et al. Distinct signal transduction abnormalities and erythropoietin response in bone marrow hematopoietic cell subpopulations of myelodysplastic syndrome patients. *Clin Cancer Res*. 2012;18(11):3079-89.
74. Montoro J, Gallur L, Merchán B, Molero A, Roldán E, Martínez-Valle F, et al. Autoimmune disorders are common in myelodysplastic syndrome patients and confer an adverse impact on outcomes. *Ann Hematol*. 2018;97(8):1349–56.
75. Astrid Olsnes Kittang, Lucia Cavelier, Ingunn Dybedal, Freja Ebeling EE, Lone Friis, Hege Garelius, Andreas Glenthøj, Kirsten Grønabæk, Mette Skov Holm M, Jädersten, Lars Kjeldsen, Eva Hellström Lindberg, Per Ljungman, Jan Maxwell Nørgaard L, Nilsson, Eira Poikonen, Anna Porwit, Klas Raaschou-Jensen LS. MDS and CMML Guidelines Guidelines for the diagnosis and treatment of Myelodysplastic Syndrome and Chronic Myelomonocytic Leukemia Nordic MDS Group. 2017.
76. He G, Hong M. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myelodysplastic syndromes. *J Transl Intern Med*. 2017;5(3).
77. Santini V. Treatment of low-risk myelodysplastic syndromes. *Hematology*. 2016(1): 462–9.
78. Steensma DP. Myelodysplastic syndromes current treatment algorithm 2018. *Blood Cancer J*. 2018;8:47.

79. Haider M, Al Ali N, Padron E, Epling-Burnette P, Lancet J, List A, et al. Immunosuppressive Therapy: Exploring an Underutilized Treatment Option for Myelodysplastic Syndrome. *Clin Lymphoma, Myeloma Leuk.* 2016;16:44-8.
80. Mies A, Platzbecker U. Increasing the effectiveness of hematopoiesis in myelodysplastic syndromes: erythropoiesis-stimulating agents and transforming growth factor- β superfamily inhibitors. 2017;54(3):141-6.
81. Platzbecker U, Germing U, Götze KS, Kiewe P, Mayer K, Chromik J, et al. Luspatercept for the treatment of anaemia in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes (PACE-MDS): a multicentre, open-label phase 2 dose-finding study with long-term extension study. *Lancet Oncol.* 2017;18(10):1338-47.
82. Komrokji R, Garcia-Manero G, Ades L, Prebet T, Steensma DP, Jurcic JG, et al. Sotatercept with long-term extension for the treatment of anaemia in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes: a phase 2, dose-ranging trial. *Artic Lancet Haematol.* 2018;5:63–72.
83. Platzbecker U, Al-Ali HK, Gattermann N, Haase D, Janzen V, Krauter J, et al. Phase 2 study of oral panobinostat (LBH589) with or without erythropoietin in heavily transfusion-dependent IPSS low or int-1 MDS patients. *Leukemia.* 2014; 28:696-98.
84. Prica A, Buckstein R. Myelodysplastic syndrome successfully treated with adalimumab. *Journal of Clinical Oncology.* 2015;33(2);4-6.
85. Olnes MJ, Scheinberg P, Calvo KR, Desmond R, Tang Y, Dumitriu B, et al. Eltrombopag and improved hematopoiesis in refractory aplastic anemia. *N Engl J Med.* 2012;367(1):11–9.
86. Cortesão E, Tenreiro R, Ramos S, Pereira M, César P, Carda JP, et al. Serum erythropoietin as prognostic marker in myelodysplastic syndromes. *Acta Med Port.* 2015;28(6):720-25.
87. Bernasconi P, Klersy C, Boni M, Cavigliano PM, Calatroni S, Giardini I, et al. World Health Organization classification in combination with cytogenetic markers improves the prognostic stratification of patients with de novo primary myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol.* 2007 May;137(3):193–205.
88. Mills KI, Kohlmann A, Williams PM, Wieczorek L, Liu WM, Li R, et al. Microarray-based classifiers and prognosis models identify subgroups with distinct clinical outcomes and high risk of AML transformation of myelodysplastic syndrome. *Blood.* 2009;114(5):1063–72.
89. Komrokji RS, List AF. Lenalidomide for Treatment of Myelodysplastic Syndromes: Current Status and Future Directions. *Hematol Clin NA.* 24:377–88.
90. Pajonk F, Weil A, Sommer A, Suwinski R, Henke M. The erythropoietin-receptor pathway modulates survival of cancer cells. *Oncogene.* 2004;23(55):8987–91.

91. Dunlop EA, Percy MJ, Boland MP, Maxwell AP, Lappin TR. Induction of Signalling in Non-Erythroid Cells by Pharmacological Levels of Erythropoietin. *Neurodegener Dis* [Internet]. 2006 May [cited 2020 Mar 3];3(1–2):94–100.
92. Leyland-Jones B, BEST Investigators and Study Group. Breast cancer trial with erythropoietin terminated unexpectedly. *Lancet Oncol*. 2003;4(8):459–60.
93. Henke M, Laszig R, Rube C, Schäfer U, Haase KD, Schilcher B, et al. Erythropoietin to treat head and neck cancer patients with anaemia undergoing radiotherapy: Randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2003;362(9392):1255–60.
94. Reinbothe S, Larsson AM, Vaapil M, Wigerup C, Sun J, Jögi A, et al. EPO-independent functional EPO receptor in breast cancer enhances estrogen receptor activity and promotes cell proliferation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014;445(1):163–9.
95. Maxwell P, Melendez-Rodríguez F, Matchett KB, Aragonés J, Ben-Califa N, Jaekel H, et al. Novel antibodies directed against the human erythropoietin receptor: Creating a basis for clinical implementation. *Br J Haematol*. 2015;168(3):429–42.
96. Elliott S, Swift S, Busse L, Scully S, Van G. Epo Receptors Are Not Detectable in Primary Human Tumor Tissue Samples. *PLoS One*. 2013;8(7):68083.
97. Hara A, Furuichi K, Higuchi M, Iwata Y, Sakai N, Kaneko S, et al. Autoantibodies to erythropoietin receptor in patients with immune-mediated diseases: relationship to anaemia with erythroid hypoplasia. *Br J Haematol*. 2013;160(2):244–50.
98. Bunn HF. New agents that stimulate erythropoiesis. *Blood*. 2007;109(3):868–73.