



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
FACULDADE DE MEDICINA**

**ALINE CAROLINA CASTRO MOTA
PAULO AFONSO SANTOS CAMPELO**

**AVALIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS *FAS -670A/G* E *FASL -
124A/G* EM PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIA E
LINFOMA**

**Belém
2022**

**ALINE CAROLINA CASTRO MOTA
PAULO AFONSO SANTOS CAMPELO**

**AVALIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS *FAS -670A/G* E *FASL -
124A/G* EM PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIA E
LINFOMA**

**Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado na Faculdade de Medicina
da UFPA como requisito básico para a
conclusão do Curso de Medicina.**

**Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos
Rosário Vallinoto**

Co-orientador: Prof. Dr. Rommel Burbano

Belém

2022

**ALINE CAROLINA CASTRO MOTA
PAULO AFONSO SANTOS CAMPELO**

**AVALIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS *FAS -670A/G* E *FASL -
124A/G* EM PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIA E
LINFOMA**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para obtenção do grau em
Medicina pela Universidade Federal do Pará.**

Banca examinadora:

Profº Dr Antônio Carlos Rosário Vallinoto
Universidade Federal do Pará (UFPA)

Profª Dra Maria Alice Freitas Queiroz
Universidade Federal do Pará (UFPA)

Profª Dra Izaura Maria Vieira Cayres Vallinoto
Universidade Federal do Pará (UFPA)

Aprovado em: ____ / ____ / ____.

Conceito: _____

Aos meus pais, ao meu irmão, à minha avó, ao meu namorado e aos meus amigos, dedico este trabalho que representa grande parte de minha jornada na faculdade. Foi realizado com muito carinho, esforço e dedicação. Agradeço a estes por todo amor, compreensão e incentivo que recebo diariamente e que me ajudam a me manter confiante nesta caminhada.

Aline Mota.

Dedico esse trabalho primeiramente a Deus, que muito me deu forças para continuar nesta jornada árdua e que me guia em todos meus caminhos. Dedico também aos meus maiores incentivadores, meus pais Paulo e Eronilde, que nunca duvidaram de mim e que são minha força motriz nos estudos. À minha família nas pessoas de minhas tias, primos e avó, pelo alento, carinho e incentivo nos dias mais difíceis, sempre me fazendo lembrar que não estou sozinho nessa jornada. A todos meus amigos que mesmo sem saberem, foram peças fundamentais e uma grande rede de apoio para chegar onde estou. Ao Rammon Cohén, pelo companheirismo, paciência e carinho e que tornou todo esse processo mais leve com inúmeras risadas.

Paulo Afonso Campelo.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Rosário Vallinoto pelo auxílio e orientação na criação deste trabalho. Agradecemos por toda paciência e conhecimento compartilhado conosco e por ter aberto as portas do Laboratório de Virologia (LABVIR) para a realização de nossa pesquisa.

Ao Prof. Dr. Rommel Burbano pelo auxílio na obtenção de nosso banco de dados.

À Dra. Maria Alice Queiroz pela valiosa ajuda na coleta de dados, na análise estatística dos dados e por todas as sugestões sempre pertinentes.

À Profa. Izaura Vallinoto pelo apoio durante os seis anos de faculdade e por aceitar compor nossa Banca Avaliadora.

A todos que de forma direta ou indireta colaboraram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Introdução: Diversos polimorfismos dos genes *FAS* e *FASL* estão sendo associados a um aumento na susceptibilidade a várias patologias, como síndrome linfoproliferativa, lúpus eritematoso sistêmico, esclerose múltipla, tireodite de Hashimoto e variados tipos de câncer, por exemplo, de próstata, mama e pulmão. Logo, neste trabalho, objetiva-se avaliar a presença e descrever a ocorrência e a prevalência dos polimorfismos *FAS -670A/G* e *FASL -124A/G* em pacientes diagnosticados com leucemia ou linfoma. Material e método: O estudo em questão é do tipo transversal e de caráter descritivo com uma abordagem quantitativa dos dados obtidos. A coleta de material biológico de pacientes oncológicos com diagnóstico de leucemia e linfomas se deu no banco de dados do Hospital Ophir Loyola (HOL), e analisado no Laboratório de Virologia (LABVIR) da Universidade Federal do Pará (UFPA). A identificação dos genótipos dos polimorfismos foi realizada pela técnica de PCR em tempo real. Os dados obtidos foram armazenados e agrupados por meio de tabelas e os cálculos de prevalência e de associação entre os polimorfismos nos genes *FAS* e *FASL* e o diagnóstico de leucemia/linfoma foram realizados por meio dos testes de Qui-Quadrado e Teste G. Resultados: Os polimorfismos dos genes *FAS* e *FASL* foram pesquisados em um grupo populacional composto por 221 amostras de pacientes, onde 205 tinham o diagnóstico de leucemia e 16 o de linfoma. Para efeito comparativo, utilizou-se a prevalência genotípica desses polimorfismos encontrados numa amostra de população saudável (controle) no estudo de Santana et al. (2013). Porém, não se observou relevância estatística na frequência genotípica e nem na frequência alélica na análise de ambos os polimorfismos. Discussão: No presente estudo avaliamos a possível associação entre os polimorfismos dos genes *FAS* e *FASL* com o desenvolvimento de leucemias e linfomas, porém sem observarmos resultados significantes. Ao que diz respeito a esta pesquisa, as características de distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos do gene *FAS -670* e do gene *FASL -124* observadas nesse estudo apresentaram semelhança com outros resultados obtidos na literatura. É preciso levar em consideração algumas limitações presentes neste estudo, como o número pequeno de amostras estudadas, além da falta de dados mais específicos sobre os pacientes e suas doenças, o que poderia contribuir para uma maior análise do envolvimento dos polimorfismos. As diferenças das frequências alélicas e genotípicas observadas ao compararmos os resultados do presente estudo com aquelas descritas em outras pesquisas podem ser devidas as diferenças de composição étnica das populações estudadas, considerando que a população de Belém tem uma composição híbrida constituída da mistura de brancos, negros e índios. Conclusão: Assim sendo, nossos resultados não nos permite sugerir qualquer relação entre os polimorfismos de *FAS/FASL* e a ocorrência de leucemias e linfomas, sendo necessário para isso uma abordagem mais ampla e com um maior número de amostras, sempre levando em consideração as diferenças étnicas das populações.

Palavras-chave: Leucemia; Linfoma; Polimorfismo.

ABSTRACT

Introduction: Several polymorphisms of *FAS* and *FASL* genes are being associated with an increase in susceptibility to various pathologies, such as lymphoproliferative syndrome, systemic lupus erythematosus, multiple sclerosis, Hashimoto's thyroiditis, and various types of cancer, for example, prostate, breast, and lung. Therefore, this study aims to assess the presence and describe the occurrence and prevalence of *FAS* -670A/G and *FASL* -124A/G polymorphisms in patients diagnosed with leukemia or lymphoma. **Material and method:** The study in question is cross-sectional and descriptive with a quantitative approach to the data obtained. The collection of biological material from cancer patients diagnosed with leukemia and lymphomas took place in the database of Hospital Ophir Loyola (HOL) and was analyzed at the Laboratory of Virology (LABVIR) of the Universidade Federal do Pará (UFPA). The identification of the genotypes of the polymorphisms was performed by the real-time PCR technique. The data obtained were stored and grouped using tables, and calculations of prevalence and association between polymorphisms in the *FAS* and *FASL* genes and the diagnosis of leukemia/lymphoma were performed using the Chi-Square and G Tests. **Results:** Polymorphisms of *FAS* and *FASL* genes were investigated in a population group composed of 221 patient samples, where 205 were diagnosed with leukemia and 16 with lymphoma. For comparative purposes, we used the genotypic prevalence of these polymorphisms found in a healthy population sample (control) in the study by Santana et al. (2013). However, no statistical relevance was observed in the genotypic frequency or the allele frequency in the analysis of both polymorphisms. **Discussion:** In the present study, we evaluated the possible association between *FAS* and *FASL* gene polymorphisms with the development of leukemias and lymphomas, but without observing significant results. Concerning this research, the genotypic and allelic distribution characteristics of the *Fas* -670 gene and the *FasL* -124 gene polymorphisms observed in this study were similar to other results obtained in the literature. It is necessary to take into account some limitations present in this study, such as the small number of samples studied, in addition to the lack of more specific data on patients and their diseases, which could contribute to a greater analysis of the involvement of polymorphisms. The differences in allelic and genotypic frequencies observed when comparing the results of the present study with those described in other studies may be due to differences in the ethnic composition of the populations studied, considering that the population of Belém has a hybrid composition consisting of a mixture of whites, blacks, and Indians. **Conclusion:** Therefore, our results cannot suggest any relationship between *FAS/FASL* polymorphisms and the occurrence of leukemias and lymphomas, requiring a broader approach with a greater number of samples, always taking into account ethnic differences of populations.

Key-words: Leukemia; Lymphoma; Polymorphism.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
1.2. OBJETIVOS.....	9
1.2.1. Geral.....	9
1.2.2. Objetivos específicos.....	9
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	9
2.1. O CÂNCER.....	9
2.1.1. Mecanismos de oncogênese.....	11
2.1.2. Leucemia.....	12
2.1.3. Linfoma.....	16
2.2. APOPTOSE.....	17
2.2.1. Mecanismos de apoptose.....	18
2.3. O RECEPTOR APOPTÓTICO <i>FAS</i> E SEU LIGANTE (<i>FASL</i>).....	21
2.3.1. O receptor <i>Fas</i>	21
2.3.2. O ligante de <i>Fas</i> (<i>FasL</i>).....	22
2.3.3. Biologia Molecular do receptor <i>Fas</i> e seu ligante <i>FasL</i>	22
2.3.3.1. Caracterização dos genes <i>Fas</i> e <i>FasL</i>	22
2.3.3.2. Polimorfismos genéticos de <i>Fas</i> e <i>FasL</i>	23
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1. LOCAL.....	24
3.3. TIPO DE ESTUDO.....	24
3.4. GENOTIPAGEM DE <i>FAS</i> -670A/G E <i>FASL</i> -124A/G.....	24
3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	25
4. RESULTADOS.....	25
5. DISCUSSÃO.....	29
6. CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS.....	32

1. INTRODUÇÃO

Câncer é o nome dado aos mais de 100 diferentes tipos de doenças malignas que possuem em comum o crescimento desordenado de células. Tais células se dividem rapidamente, sendo agressivas e incontroláveis, levando à formação de tumores, que podem invadir tecidos adjacentes ou órgãos à distância, processo chamado de metástase. A metástase é a principal causa de morte por câncer (INCA, 2020; OPAS, 2020). O câncer é um problema de saúde pública e a segunda principal causa de morte no mundo, sendo responsável por 9,6 milhões de mortes em 2018 (OPAS, 2018).

Dentre as diversas formas de câncer, as leucemias constituem o tipo de câncer mais comum em crianças menores de 15 anos, correspondendo de 25% a 35% de todos os tipos. No Brasil, o percentual médio é de 29%. Essa é uma forma de câncer que ocorre nos glóbulos brancos (Leucócitos), sendo na maioria das vezes de origem desconhecida (REIS et al., 2009).

Enquanto isso, o linfoma é um tipo de câncer que tem origem nas células do sistema linfático e que se espalha de maneira não ordenada. O sistema linfático faz parte do sistema imunológico, que ajuda o corpo a combater doenças. Como o tecido linfático é encontrado em todo o corpo, o linfoma pode começar em qualquer lugar. Pode ocorrer em crianças, adolescentes e adultos (COLLEONI, 2009).

Ao se falar em neoplasias, é muito importante levar em consideração a genética e suas particularidades. Nesse sentido, muito se tem estudado sobre a proteína *Fas*, a qual é um receptor transmembrânico do tipo I pertencente à superfamília dos receptores de *TNF*, também conhecida como *APO-1* ou *CD95*, expressada na superfície de diversos tipos celulares, como linfócitos, fibroblastos, células epiteliais e células endoteliais. Ela é responsável por desencadear o processo de morte celular nestas células, através da interação com o anticorpo anti-*Fas* ou por meio de seu ligante natural, denominado ligante de *Fas* (*FasL*) (ITOH et al., 1991; OEHM et al., 1992; AMEISEN, 1994; NAGATA, 1999; BADLEY et al., 2000). O *FasL* tem, portanto, participação na proteção de diversos órgãos da inflamação, através da ativação da apoptose, além de ser um importante mediador da ação citolítica de linfócitos T CD8+ e das células natural killer (FERGUSON & GRIFFITH, 2006; GREEN & FERGUSON, 2001; ASHKENAZI & DIXIT, 1998).

Diversos polimorfismos desses genes estão sendo associados a um aumento na susceptibilidade a várias patologias, incluindo síndrome linfoproliferativa, lúpus eritematoso sistêmico, esclerose múltipla, tireodite de Hashimoto e variados tipos de câncer, por exemplo, de próstata, mama e pulmão (RIEUX-LAUCAT et al., 1995; HUANG et al., 2000; CHEN et al., 2005; DEL REY et al., 2006; ZHANG et al., 2007; CREW et al., 2007; KANG et al., 2008; WANG et al., 2012; SUNG et al., 2011; SHAO et al., 2011).

Conhecer os fatores de risco, os componentes genéticos envolvidos, a incidência, a morbidade hospitalar e a mortalidade dos variados tipos de neoplasia são medidas de controle importantes para desenvolvimento de tratamentos e políticas públicas de prevenção e controle de câncer no Brasil. Além disso, tendo em vista os avanços obtidos no tratamento dessas doenças malignas, diversos desafios persistem na compreensão de sua biologia e na determinação de alternativas que maximizem a eficácia terapêutica. Este estudo investiga a associação de polimorfismos dos genes *Fas* e *FasL* com a ocorrência de leucemias e linfomas em uma população da região norte do Brasil.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Geral:

- Avaliar a presença dos polimorfismos *FAS -670A/G* e *FASL -124A/G* em pacientes diagnosticados com leucemia ou linfoma

1.2.2. Objetivos específicos:

- Descrever a ocorrência e a prevalência dos polimorfismos *FAS -670A/G* e *FASL -124A/G* em pacientes com diagnóstico clínico de leucemia e/ou linfoma

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O Câncer

O desenvolvimento do câncer se dá com a ativação anormal ou mutação dos genes relacionados a diversos processos celulares, os quais resultam em divisão celular aumentada e/ou morte celular reduzida (STOETERAU, 2019).

O câncer é um problema de saúde pública, configurando a segunda principal causa de morte no mundo. Estima-se que uma em cada seis mortes são relacionadas à essa patologia maligna (OPAS, 2018). De acordo com estimativas da

Organização Mundial da Saúde para 2019, o câncer é a primeira ou segunda causa de morte antes dos 70 anos na maioria dos países. Em 2020, registrou-se uma incidência de aproximadamente 19 milhões de casos de câncer em todo mundo, sendo 10 milhões de mortes. O câncer de Mama ultrapassou o câncer de Pulmão, pela primeira vez, em número de incidência global, enquanto o câncer colorretal ultrapassou o câncer de próstata, em 2018 (SUNG et al., 2021).

No Brasil, o número de casos novos foi de 522.212, atingindo aproximadamente 260.000 mortes por câncer em 2020 (SUNG et al., 2021). No país, os tipos de câncer que mais acometem homens são: câncer de próstata (29,2%), de cólon e reto (9,1%) e de traqueia, brônquio e pulmão (7,9%). Enquanto isso, os sítios primários mais comuns em mulheres são: mama (29,7%), cólon e reto (9,2%) e colo uterino (7,5%) (INCA, 2021). Por outro lado, em crianças até 15 anos, as neoplasias malignas mais frequentes são as leucemias, tumores do sistema nervoso central e linfomas (CÂNCER, 2004).

Os tumores malignos possuem variadas causas, as quais podem ser externas ou internas ao organismo e estão interrelacionadas. As mutações podem ocorrer por acaso, mas as chances de estas ocorrerem aumentam quando o organismo é exposto a agentes mutagênicos químicos (cigarro, corante de anilina), físicos (abrasão, radiação ionizante) e biológicos (vírus, alimentação), além da tendência hereditária ao câncer (GUYTON, 2017).

Na maioria dos casos, ocorre uma combinação entre fatores genéticos e ambientais no desenvolvimento da doença. 80% a 90% estão associados a fatores ambientais. Apesar de o fator genético exercer papel importante na oncogênese, os casos de câncer exclusivamente associados a fatores hereditários, familiares e étnicos são raros, sendo a interação entre os fatores modificáveis e os não modificáveis que determinam o risco individual de câncer (STOETERAU, 2019; INCA, 2022).

A apresentação tardia do câncer e o diagnóstico e tratamento inacessíveis são comuns e provocam piores resultados, causando também impacto econômico, o qual é significativo e está aumentando (OPAS, 2018).

2.1.1. Mecanismos de oncogênese

O funcionamento adequado de uma célula envolve diversos mecanismos, como divisão celular, apoptose, reparo do dano ao DNA, angiogênese, diferenciação e sinalização (GUYTON, 2017). Todas as células priorizam a manutenção da estabilidade do genoma para apoiar os mecanismos de sobrevivência e de reprodução. Logo, alterações na sequência de bases genéticas podem interromper os processos biológicos celulares, prejudicar as funções celulares e, por vezes, induzir a carcinogênese ou a morte celular. A instabilidade genômica promove a oncogênese por meio de uma cascata envolvendo proto-oncogenes que são continuamente acionados ou anti-oncogenes que são suprimidos (HUANG E ZHOU, 2021).

A instabilidade genômica é uma característica comum da maioria das células cancerosas. No desenvolvimento do câncer, duas classes de genes são relevantes, os oncogenes e os genes supressores tumorais. Os oncogenes são derivados mutantes dos proto-oncogenes, que são responsáveis por codificar as proteínas responsáveis pela regulação do crescimento celular. Essa mutação pode resultar em falhas na divisão celular, pois gera defeitos nas proteínas de comunicação, como os fatores de crescimento, receptores e proteínas citoplasmáticas (STOETERAU, 2019). EGFR (epiderm growth factor receptor), MYC e as famílias RAS são exemplos conhecidos de proto-oncogenes, enquanto o TP53 é um gene supressor de tumor comumente reconhecido (HUANG E ZHOU, 2021).

A carcinogênese ocorre em três fases principais: a iniciação, a promoção e a progressão. A iniciação é caracterizada pela transformação ou dano permanente ao material genético produzido por mutação. Esta transformação ocorre rapidamente e deve ser seguida pela ação de um promotor, o qual permite a expressão do câncer. Na fase de promoção, a célula é transformada em maligna de forma lenta e gradual, sendo necessário um longo e continuado contato com o agente cancerígeno promotor. Nessa fase, as células proliferam e escapam dos mecanismos de controle, formando uma neoplasia. A última fase, chamada de progressão é caracterizada pela multiplicação descontrolada e irreversível das células alteradas, com agregação e crescimento do neoplasma maligno (GRANT; HAMILTON, 2013; STOETERAU, 2019)

Para minimizar a possibilidade de desregulação da estabilidade do genoma, as células desenvolveram vias de sinalização relacionadas à estabilidade do genoma e modificações pós-traducionais, que avaliam a precisão do metabolismo do DNA e previnem o acúmulo de mutações no DNA (HUANG E ZHOU, 2021).

Espécies reativas de oxigênio (EROs), como peróxido de hidrogênio ($H_2 O_2$) e o radical superóxido (O_2^-), são ânions reativos que podem produzir radicais livres ou ser ativados por eles. São produzidas naturalmente no organismo como resultado do metabolismo oxidativo, mas em excesso causam danos às membranas das células e ao DNA. Um aumento na geração de oxidantes, redução da produção de antioxidantes e/ou falha na reparação do dano, caracterizam o estresse oxidativo (LITCHFORD, 2013), que são capazes de gerar mutações em bases, quebras de cadeias, recombinação cromossômica (LIU, 2004) e ativação de carcinógenos na fase de inicial da carcinogênese (DOS SANTOS et al., 2014).

2.1.2. Leucemia

As leucemias constituem o tipo de câncer mais comum em crianças menores de 15 anos, correspondendo de 25% a 35% de todos os tipos. No Brasil, o percentual médio é de 29%. A leucemia é uma forma de câncer que ocorre nos glóbulos brancos, sendo na maioria das vezes de origem desconhecida (REIS et al., 2009; OLIVEIRA e NETO, 2004).

Essa doença começa na medula óssea e se espalha para outras partes do corpo. A medula óssea é um tecido esponjoso localizado na cavidade central do osso, onde ocorre o desenvolvimento de células sanguíneas a partir das células-tronco hematopoiéticas, num processo chamado de hematopoese (BRUTUS et al., 2019). É na medula óssea que são formadas as células sanguíneas, que são os glóbulos brancos (Leucócitos), glóbulos vermelhos (hemácias ou eritrócitos) e plaquetas. Dessa forma, a leucemia prejudica ou impede a produção dos glóbulos vermelhos, causando anemia; dos glóbulos brancos, causando infecções; e o das plaquetas, causando hemorragia. Depois de instalada, a doença se desenvolve rapidamente pelo corpo (SANTOS et al., 2014).

O termo leucemia refere-se a um grupo de doenças complexas e diferentes que afetam a produção dos leucócitos (HAMERSCHLAK, 2008). A leucemia é uma

propagação neoplásica generalizada ou um acúmulo de células hematopoiéticas, podendo envolver ou não o sangue periférico (SILVA et al., 2006).

Os leucócitos possuem vários subtipos e, por isso, existe variação entre os tipos de leucemia. A característica comum a todas as leucemias é uma proliferação desregulada de uma célula hematopoiética na medula óssea. A célula leucêmica cresce mais que os elementos normais, substituindo-os em todas as áreas da medula hematopoiética. Essa célula também prolifera no fígado e no baço, locais extramedulares de antiga hematopoiese fetal, e, nas leucemias linfocíticas, nos linfonodos. Outrossim, as células leucêmicas podem invadir e proliferar dentro de órgãos e tecidos não hematopoiéticos, tais quais: sistema nervoso central, testículos, trato gastrointestinal e pele (SANTOS et al., 2014).

As leucemias são classificadas de acordo com o tipo celular e o nível de maturação das células. A maior incidência é em células da série de células brancas, atingindo, por vezes, a linhagem megacariocítica e, raramente, a linhagem eritróide. Essa patologia, normalmente, se divide em dois principais tipos: as leucemias linfocíticas ou mielóides, que podem se apresentar nas formas crônica ou aguda. Dessa forma, elas podem ser classificadas em leucemia mielóide aguda (LMA), leucemia linfóide aguda (LLA), leucemia mielóide crônica (LMC) e leucemia linfóide crônica (LAGO & PETRONI, 2017; GUIMARÃES, 2015).

Nas leucemias agudas, a mutação na célula progenitora hematopoiética, iniciadora do processo leucemogênico, causa a perda da capacidade de maturação celular, ocasionando acúmulo de células imaturas, chamadas blastos na medula óssea e sangue periférico. Por outro lado, nas leucemias crônicas, a mutação mantém a capacidade de diferenciação e maturação celular, resultando em acúmulo de células maduras na medula óssea, sangue periférico e tecidos linfóides, levando a um quadro de leucocitose. Pode-se ainda observar a migração das células leucêmicas para outros órgãos como baço, fígado e sistema nervoso central (SNC) (OLIVEIRA e NETO, 2004).

A Leucemia linfóide aguda (LLA) afeta as células linfóides, agrava-se rapidamente e é o tipo mais comum em crianças. A LLA é responsável por 80% dos casos infantis e 20% de adultos com diagnóstico de leucemia. A faixa etária mais prevalente são crianças entre 2 e 5 anos, com sobrevida atual de cerca de 75% dos casos (CÂNCER, 2004; MOREIRA et al., 2018). Os principais sinais e sintomas são

astenia, palidez cutânea/mucosa, neutropenia, febre, adenomegalia e a dor óssea, que pode ser o primeiro indício da doença, principalmente em crianças (SCHMIEGELOW et al., 2008; ABREU et al., 2021).

Leucemia mieloide aguda (LMA) corresponde a mais de 80% das leucemias agudas em adulto, podendo ocorrer em crianças, e também avança rapidamente. Essa leucemia é caracterizada pela proliferação anormal dos precursores granulocitários da linhagem mielóide da medula óssea. É possível observar sinais e sintomas clínicos de anemia, plaquetopenia e neutropenia (GALDINO & MORAIS, 2016; CARVALHO; PEDROSA; SEBASTIÃO, 2011; HAMERSCHLAK, 2008).

Nas leucemias crônicas, o infiltrado medular contém maior proporção de células diferenciadas e, no início da doença, as células leucêmicas conseguem fazer o trabalho dos glóbulos brancos normais, sendo essa forma descoberta, geralmente, no hemograma. A leucemia crônica se agrava lentamente e, à medida que as células leucêmicas aumentam, aparecem inchaços nos linfonodos (linfadenopatia ou “ínguas”) ou infecções. Na leucemia crônica não tratada, o número de leucócitos no sangue periférico é alto, quase sem exceção, pois os leucócitos maduros têm menor coesão e podem entrar rapidamente no sangue periférico (SOSSELA et al., 2017).

A leucemia linfóide crônica afeta as células linfóides e se desenvolve vagarosamente, sendo que a maioria das pessoas diagnosticadas com esse tipo de doença possui mais de 55 anos, raramente afetando crianças. A leucemia mielóide crônica afeta as células mielóides e se desenvolve vagarosamente no começo e acomete principalmente adultos (SANTOS et al., 2014).

A leucemia de células pilosas (cabeludas) é uma afecção maligna crônica cujo diagnóstico necessita da demonstração, por biópsia de medula óssea, de uma proliferação linfocítica. A observação de linfócitos com projeções citoplasmáticas acentuadas, chamados de células pilosas, em esfregaço de sangue periférico, pode fornecer a primeira indicação para o diagnóstico. A maior parte dos pacientes com leucemia de células pilosas caracteriza-se por uma afecção de células B. Porém, raros casos de pacientes com leucemia de células pilosas de origem em células T foram descritos e associados a infecção pelo HTLV-2. Não se sabe porque esta afecção com causa aparentemente diferente e diferente linhagem celular tem as mesmas características clínicas que o tipo comum de leucemia de células pilosas (BRAND et al., 2009; BITTENCOURT et al., 2006).

Os sintomas da leucemia estão relacionados à piora do estado geral. Além disso, há sintomas relacionados à diminuição da atividade das células da medula óssea. Ocorre perda de apetite, perda de peso não planejada e quadro gripal com duração de muitos dias. As manifestações da leucemia aguda são secundárias à proliferação excessiva de células imaturas da medula óssea, que infiltram os tecidos dos organismos, tais como: amígdalas, linfonodos, pele, baço, rins e sistema nervoso central (SNC). A fadiga, palpitação e anemia acontecem devido à redução da produção dos eritrócitos pela medula óssea. Verificam-se, também, tendências a sangramentos pela diminuição das plaquetas, além de dores nos ossos e nas articulações causadas pela infiltração das células leucêmicas nos ossos (REIS et al., 2009).

A suspeita das leucemias pode ser levantada pelo médico a partir da anamnese e de um exame físico completo alterados. O diagnóstico e a classificação das leucemias são baseados nos testes citoquímicos e na estrutura morfológica das células neoplásicas (FARIAS; CASTRO, 2004).

Além disso, exames laboratoriais e de imagem, como radiografia e tomografia computadorizada, podem ser realizados para completar a avaliação da doença. Na análise laboratorial, o hemograma estará alterado, permitindo visualizar células imaturas e maduras, porém, o diagnóstico é confirmado no aspirado da medula óssea (mielograma), na qual retira-se menos de um mililitro do material esponjoso de dentro do osso e examinam-se as células ali encontradas. Somente a biópsia da medula óssea ou de um gânglio é que dará o diagnóstico definitivo. Pode ser necessária, também, uma punção do líquido. Na citogenética, são feitas análises dos cromossomas de células colhidas de amostras de sangue periférico, de medula óssea ou de gânglios linfáticos, e ajudam a definir o melhor tratamento e prognóstico da doença (REIS et al., 2009; SANTOS et al., 2014; HAMERSCHLAK, 2008).

O tratamento dá-se por meio de quimioterapia, radioterapia, transplante de medula óssea ou uso de Mesilato de Imatinibe, medicamento indicado para o tratamento de leucemia crônica. A escolha entre estes vai depender do quadro clínico do paciente, da idade e principalmente dos fatores citogenéticos (SANTOS et al., 2014; HAMERSCHLAK, 2008).

2.1.3. Linfoma:

O linfoma é um tipo de câncer que tem origem nas células do sistema linfático e que se espalha de maneira não ordenada. O sistema linfático faz parte do sistema imunológico, que ajuda o corpo a combater doenças. Como o tecido linfático é encontrado em todo o corpo, o linfoma pode começar em qualquer lugar. O surgimento dos linfomas se dá quando um linfócito se transforma de uma célula normal em uma célula maligna, capaz de crescer descontroladamente e disseminar-se, o que acarreta o aparecimento indolor de linfonodos aumentados de tamanho, conhecidos popularmente como “ínguas”. Tradicionalmente são divididos em linfomas de Hodgkin (LH) e linfomas não-Hodgkin (LNH), que correspondem respectivamente a 20% e 80% dos casos. Pode ocorrer em crianças, adolescentes e adultos (COLLEONI, 2009; FERRI et al., 2020).

O linfoma de Hodgkin é capaz de se espalhar de forma ordenada, através dos vasos linfáticos e de um grupo de linfonodos para outro grupo. Pescoço e mediastino são os principais sítios de origem dessa patologia. O LH pode ocorrer em qualquer faixa etária, mas é mais prevalente em adolescentes e adultos jovens (15 a 29 anos), adultos (30 a 39 anos) e idosos (75 anos ou mais), atingindo principalmente o sexo masculino. A incidência de novos casos se manteve estável nas últimas cinco décadas, enquanto a mortalidade caiu mais de 60% desde o início dos anos 1970, devido aos avanços no tratamento dessa doença (HORTA et al., 2020; INCA, 2021).

O linfoma não Hodgkin, por sua vez, tem origem nas células do sistema linfático e se espalha de maneira não ordenada, existindo mais de 20 tipos diferentes. O número de casos de LNH duplicou nos últimos 25 anos, principalmente entre pessoas com mais de 60 anos, por razões ainda desconhecidas. É o tipo de linfoma mais incidente na infância, atingindo principalmente o sexo masculino (INCA, 2021).

Segundo o INCA, são esperados 6.580 casos de linfoma não Hodgkin em homem e 5.450 em mulheres para cada ano do triênio 2020-2022. Por outro lado, o número de casos novos de linfoma de Hodgkin será de 1.590 casos em homens e de 1.050 em mulheres (INCA, 2021).

De um modo geral, o diagnóstico do linfoma se baseia na biópsia do linfonodo ou da massa tumoral extranodal. A biópsia, que pode ser feita por técnicas como aspirado com agulha fina, *core-biopsy*, biópsia em cunha e biópsia excisional, deve

ter o seu material examinado por patologista experiente que irá classificar a doença de acordo com critérios morfológicos e imunohistoquímicos. O patologista faz a suspeita a partir da análise inicial dos cortes histológicos obtidos da biópsia de linfonodo, corados pelo método de hematoxilina e eosina. A partir daí, deve dispor de um painel de anticorpos monoclonais que serão utilizados em diversas reações de imunohistoquímica para identificar a presença de proteínas no citoplasma ou núcleo das células tumorais capazes de definir: o tipo de tumor (linfoma ou carcinoma), o tipo de linfoma (LNH ou LH), a origem celular do LNH (células B ou T) e o subtipo de LNH (MUGNAINI e GHOSH, 2016; COLLEONI, 2009).

Para estabelecer as melhores estratégias no tratamento dos linfomas, deve-se conhecer o tipo histológico, classificar e estadiar a doença e estabelecer os fatores prognósticos. O manejo do linfoma de Hodgkin se baseia na poliquimioterapia, radioterapia, anticorpos monoclonais e transplante de células tronco hematopoiéticas, podendo ser utilizados de maneira isolada ou combinada (CONITEC, 2020; RIBEIRO et al., 2021). A terapêutica do LNH mais usual é a quimioterapia, podendo a radioterapia ser utilizada em casos restritos. Ainda, em casos mais graves e sem resposta aos tratamentos, pode-se optar pela imunoterapia, como o uso de anticorpo monoclonal Rituximab, que promove reações imunológicas que levam à apoptose das células tumorais (PASQUALETTO et al., 2018).

2.2. Apoptose

A apoptose é um mecanismo fisiológico de morte celular programada usado por organismos multicelulares para eliminar células indesejadas em uma diversidade de ambientes (TAYLOR et al., 2008). A função normal da apoptose é crítica para o desenvolvimento, homeostase do tecido, terminação celular e resposta imune, e sua interrupção está associada a condições patológicas, como defeitos do desenvolvimento, doenças neurodegenerativas, doenças autoimunes, e tumorigênese (HO e HARRINGTON, 2010).

As células nesse processo apresentam diversas alterações típicas, como a condensação da cromatina, degradação internucleossômica do DNA, destruição do citosqueleto, alterações na assimetria de fosfolípidos de membrana plasmática, diminuição do volume citoplasmático, entre várias outras. As organelas

citoplasmáticas continuam intactas, enquanto a membrana celular forma vesículas, os corpúsculos apoptóticos, que contêm fragmentos do núcleo e algumas organelas. Tais corpúsculos são reconhecidos, englobados por fagócitos e/ou células adjacentes e degradados pelos lisossomos (MORGAN, 2002; ELMORE, 2007)

Diferente da apoptose, a necrose é um processo patológico e passivo de morte celular, em que ocorre aumento do volume citoplasmático e consequente perda da integridade da membrana, levando à liberação de conteúdos celulares enzimaticamente degradados ao tecido circunvizinho, resultando em reação inflamatória (TRUMP et al., 1997). Como não ocorre essa liberação de constituintes celulares na apoptose, não há reação inflamatória (SAVILL & FADOK, 2000; KUROSAKA et al., 2003).

2.2.1. Mecanismos de apoptose

Os mecanismos de apoptose são complexos e envolvem uma cascata de eventos moleculares dependentes de energia (ELMORE, 2007). A ativação da apoptose pode ser iniciada de duas maneiras: pela via extrínseca (citoplasmática) ou pela via intrínseca (mitocondrial). A via intrínseca é ativada por estresse intracelular ou extracelular, como a privação de fatores de crescimento, danos no DNA, alterações nas vias metabólicas, drogas, toxinas. Na presença destes sinais, ocorre a translocação de proteínas pró-apoptóticas do citosol para a mitocôndria, a qual é responsável por liberar moléculas pró-apoptóticas nela presentes (GRIVICICH et al., 2007; SAELENS, 2004; THORBURN, 2004; SCHWARZ et al., 2007).

A via extrínseca está relacionada a interações mediadas por receptores transmembrana, os quais são conhecidos como receptores de morte. Estes receptores são membros da superfamília dos receptores de fator de necrose tumoral (TNF) (LOCKSLEY et al., 2001). Os membros dessa superfamília compartilham domínios extracelulares ricos em cisteína e possuem um domínio citoplasmático denominado de domínio de morte, o qual possui um importante papel na transdução do sinal de morte para o meio intracelular. Dentre os ligantes e seus receptores de morte mais caracterizados nesse contexto, encontra-se o *FasL/Fas* (ASHKENAZI e DIXIT, 1998).

Essas duas vias levam à ativação de proteases, as denominadas caspases, que são responsáveis por uma cascata de eventos que culminam no aparecimento

das alterações celulares características de todas as células em apoptose. A ação destas proteases cisteínicas culmina em uma via efetora comum independente da via estimulante, sendo essenciais ao processo de morte celular (NUNEZ et al., 1997; THORNBERRY, 1998; ALNEMRI et al., 1996).

As caspases são sintetizadas no interior das células a partir das pró-caspases, que funcionam como precursores inativos, portanto, requerem um processamento para atingir a forma ativa. Esse processo de ativação ocorre com a remoção de uma estrutura comum às pró-caspases, o pró-domínio, composto por uma subunidade grande e outra pequena, as quais se juntam e formam um heterodímero. Posteriormente, dois heterodímeros se associam e originam uma caspase ativa (LAUNAY et al., 2005; NICHOLSON & THORNBERRY, 1997).

As caspases associadas ao processo de apoptose são classificadas de acordo com a diversidade entre os pró-domínios em iniciadoras e executoras. As iniciadoras (caspases 2, 8, 9 e 10) têm pró-domínio longo e agem como reguladores e iniciadores do processo de apoptose. Enquanto isso, as executoras (caspases 3, 6 e 7) possuem pró-domínio curto e realizam a fragmentação nuclear, participando da execução propriamente dita da apoptose (FAN et al., 2005).

Na via intrínseca, sinais de estresse intracelular que resultem em disfunção mitocondrial – como lesão do DNA, alterações nas vias metabólicas (aumento do cálcio intracelular, redução do pH, estresse oxidativo), drogas, toxinas ou privação dos fatores de crescimento – iniciam o processo. Ocorre então a translocação de proteínas pró-apoptóticas do citosol para a mitocôndria (SAELENS et al., 2004). Tais proteínas são membros da família BCL-2, que exerce função reguladora da apoptose, sendo composta por membros pró- apoptóticos (BAX, BKA, BAD, BID, BIK, BCL-X S) e anti-apoptóticos (BCL-2, BCL-X L, BCL-W, MCL-1). Essa translocação para a mitocôndria provoca a liberação do citocromo-c para o citosol, onde se associa às proteínas Apaf-1 (fator de ativação de protease apoptótica-1) e pró-caspase 9, formando o apoptossomo. Na presença de ATP ocorre a ativação da caspase 9, a qual desencadeia a ativação das pró-caspases executoras 3 e 7 promovendo o processo de apoptose (HERMES, 2008).

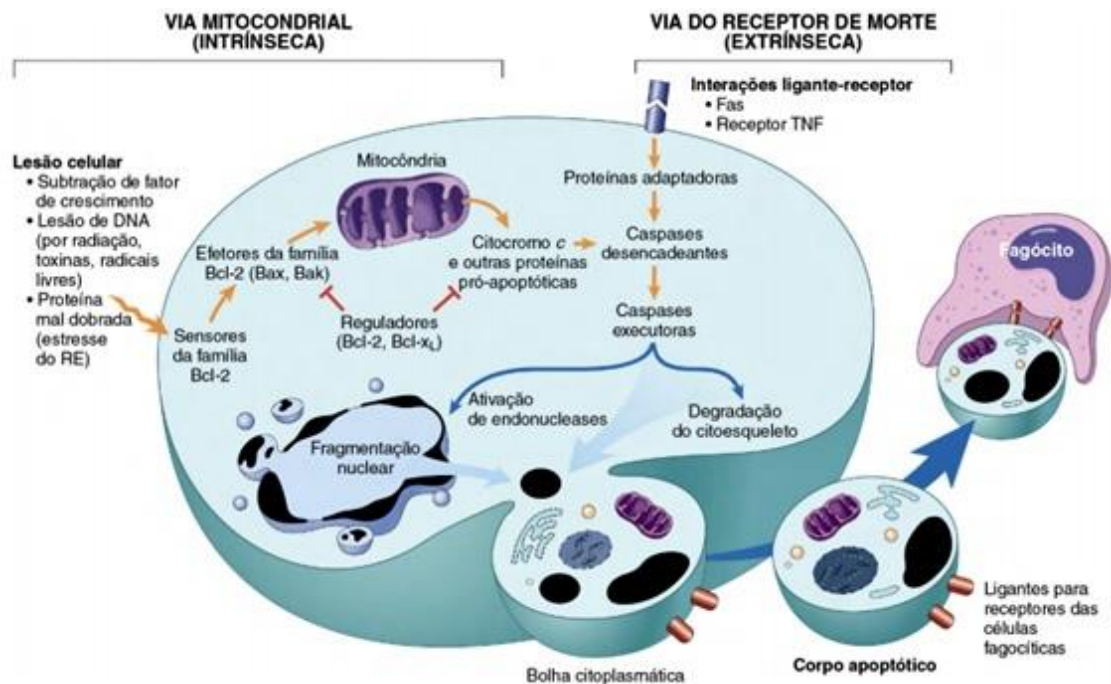
Por outro lado, na via extrínseca, a apoptose é mediada por receptores transmembrana - os receptores de morte - que são membros da superfamília dos receptores de fator de necrose tumoral (TNF) (LOCKSLEY et al., 2001), que

compartilham domínios extracelulares ricos em cisteína e um domínio citoplasmático denominado de domínio de morte, que atua na transdução do sinal de morte para o meio intracelular (ASHKENAZI & DIXIT, 1998). Os ligantes mais caracterizados neste contexto e os seus respectivos receptores de morte incluem *FasL/Fas*, *TNF- α /TNFR1*, *Apo3L/DR3*, *Apo2L/DR4* e *Apo2L/DR5* (CHICHEPORTICHE et al., 1997; ASHKENAZI & DIXIT, 1998; PETER & KRAMER, 1998; SULIMAN et al., 2001, ELMORE, 2007).

Os modelos de interação entre *FasL/Fas* e *TNF- α /TNFR1* são melhor caracterizados em relação à sequência de eventos que definem a via extrínseca da apoptose (Figura 1). Nesse processo, ocorre o acoplamento entre ligante e seu receptor, que se ligam ao domínio de morte de proteínas adaptadoras no citosol. No modelo de acoplamento de *FasL/Fas*, há a ligação do conjunto no domínio de morte da proteína *FADD* (domínio de morte associado ao *Fas*) (HERMES, 2008). Posteriormente, a proteína *FADD* associa-se com a pró-caspase 8 para formar um complexo de sinalização indutor de morte (DISC), que ativa a enzima iniciadora caspase 8, que por sua vez ativa a enzima efetora caspase 3 (KISCHKEL et al., 1995; SALVESEN, 2000; BUDIHARDJO et al., 1999).

Outra via de ativação da caspase 3 é através da proteína BID, que é translocada à superfície da mitocôndria e interage as proteínas externas da membrana mitocondrial, resultando na formação de poros, os quais permitem a liberação do citocromo-c e a ativação da enzima iniciadora caspase 9, que por sua vez ativa a caspase executora 3 (KUWANA et al., 2002). A caspase executora 3 atua na degradação de proteínas celulares e reguladores da apoptose e na decomposição do DNA cromossômico (WOO et al., 1998). Assim, a célula passa a apresentar alterações bioquímicas e morfológicas características da apoptose. Dessa forma, observa-se uma via final comum em ambos modelos de estimulação do processo (NUNEZ et al., 1998).

Figura 1- Mecanismos de Apoptose



Fonte: KUMAR; ABBAS; ASTER, 2016.

2.3. O receptor apoptótico *Fas* e seu ligante (*FasL*)

2.3.1. O receptor *Fas*

O *Fas*, também conhecida como CD95 ou APO-1, é um receptor transmembrânico do tipo I pertencente à superfamília dos receptores de TNF. É caracterizada pela presença de um a seis domínios ricos em cisteína em suas porções extracelulares, as quais são responsáveis pela ligação com *FasL* (CD95L/APO-1L). Trata-se de uma proteína monomérica de aproximadamente 48 kDa, com 355 aminoácidos e, assim como todos os demais membros da família que a compõe, possui um domínio extracelular com três repetições ricas em cisteína, um domínio transmembrana e um domínio intracelular citoplasmático, onde se localiza o domínio de morte (ITOH et al., 1991; OEHM et al., 1992).

O receptor *Fas* é uma proteína expressada na superfície de diversos tipos celulares, como linfócitos, fibroblastos, células epiteliais e algumas células endoteliais, sendo responsável por desencadear o processo de morte celular (LEITHAUSER et al., 1993). Os padrões de expressão deste receptor na superfície variam de acordo com o tipo celular, por exemplo, apresenta-se altamente expressado em linfócitos, mas em linfócitos T a expressão é maior que em linfócitos

B (DIGIUSEPPE et al., 1996). Além disso, pode-se observar que, em linfócitos T de memória ativados, há maior quantidade de *Fas* em relação aos linfócitos T virgens não estimulados (SALMON et al., 1994; KRUEGER et al., 2003).

2.3.2. O ligante de *Fas* (*FasL*)

O ligante de *Fas* é uma proteína transmembrana tipo II de 40 kDa, que, assim como o seu receptor, pertence à superfamília de proteínas *TNF* (SUDA et al., 1993). É uma proteína trimérica, formada por uma região N-terminal, encontrada no citoplasma, e uma região C terminal que se entende para o espaço extracelular. Além de ser encontrado na membrana celular, pode ser observado na forma solúvel (28 kDa), resultante da clivagem da proteína de 40 kDa por uma metaloprotease dependente de zinco (MARIANI et al., 1995; KAYAGAKI et al., 1995).

O *FasL* foi descrito primeiramente como uma proteína expressada somente em células T ativadas, sendo um dos principais efetores de linfócitos T citotóxicos CD8+ e células natural killer, mas atualmente sabe-se que pode ser encontrado em diversos outros tipos celulares de diversos órgãos, como macrófagos, cérebro, olhos, placenta, baço e testículos, mas também em uma variedade de tumores como melanomas, astrocitomas, linfomas e carcinomas e os ajuda na evasão do sistema imune (POULAKI et al., 2001; MEDINA, 2011). Esse ligante está associado ao mecanismo de “immune privilege”, protegendo estes órgãos de inflamação por meio da ativação apoptótica. O acoplamento de *FasL/Fas* resulta na ligação do domínio de morte da proteína *FADD* (domínio de morte associado ao *Fas*) ao receptor *Fas*, resultando em uma cascata de eventos que envolvem as proteínas caspases, que tem como fim a apoptose.

2.3.3. Biologia Molecular do receptor *Fas* e seu ligante *FasL*

2.3.3.1. Caracterização dos genes *Fas* e *FasL*

O gene responsável pela codificação do receptor *Fas* está localizado no braço longo do cromossomo 10 humano na posição 10q24.1 (INAZAWA et al., 1992). Esse gene é composto por 9 éxons e 8 íntrons, medindo aproximadamente 25 kb. O éxon 1 codifica a região 5' não traduzida e os 10 primeiros aminoácidos que forma a sequência sinalizadora. A região extracelular da molécula consiste de três domínios ricos em cisteína, sendo codificada pelos éxons 2, 3, 4 e 5. O éxon 6 codifica a

região transmembrânica; os éxons 7 e 8 codificam parte da porção citoplasmática próxima à membrana, que é complementada pelo éxon 9. O éxon 9 codifica o restante da porção citoplasmática, inclusive o domínio de morte, assim como codifica a região 3' não traduzida.

O gene codificador do ligante de *Fas*, gene *FasL*, foi isolado em 1994, por meio da hibridização in situ por fluorescência, e localizado no braço longo do cromossomo humano 1, na posição 1q23. Esse gene mede cerca de 8 kb, e é formado por uma região promotora, quatro éxons e três íntrons (TAKAHASHI et al., 1994).

2.3.3.2. Polimorfismos genéticos de *Fas* e *FasL*

Foram descritos diversos polimorfismos tanto nos genes *Fas* quanto no seu ligante *FasL* e associados a diversas patologias (CREW et al., 2007).

No gene *Fas*, os dois principais polimorfismos foram descritos na região promotora. O primeiro encontra-se na posição -670 e leva a uma substituição de adenina (A) para guanina (G), gerando os alelos A, selvagem, e G, mutante, criando um sítio de restrição para a endonuclease MvaI. Como este polimorfismo está no sítio de ligação de transdução de sinal e de ativadores de transcrição (STAT), pode ter papel funcional na regulação do gene (HUANG et al., 1997; 1999).

Outro polimorfismo descrito na região promotora do gene *Fas* ocorre na posição -1377, por uma substituição de guanina (G) para adenina (A), levando à alteração na sequência de ligação ao fator de transcrição SP-1, assim o alelo mutante A não se ligará ao mesmo, podendo estar associado à alteração funcional do receptor *Fas* (HUANG & MANOLLIS, 2000). Na região codificante do gene, polimorfismos adicionais têm sido descritos nos éxons 2, 3 e 7 (HORIUCHI et al., 1999; KOSHKINA et al., 2007).

Considerando o gene *FasL*, os principais polimorfismos descritos localizam-se no segundo e no terceiro íntron do gene. O polimorfismo localizado no segundo íntron é denominado IVS2nt-124, e ocorre devido uma substituição de A para G no nucleotídeo 124 bases antes da primeira base do terceiro éxon. Outro polimorfismo, conhecido como IVS3nt169, ocorre no terceiro íntron e resulta da deleção de uma timina (T) na posição 169 após a última base do terceiro éxon. Até o momento não

se sabe se estes polimorfismos estão associados à alteração na expressão gênica (PINTI et al., 2002; ZHANG et al., 2006).

Na região promotora do gene *FasL* há um polimorfismo descrito na posição -844, resultante da incorporação errônea de timina (T) no lugar de citosina (C), e sugere-se que esta alteração influencie tanto na expressão do ligante como na sinalização mediada pelo mesmo (WU et al., 2003). Até o momento não há relatos de polimorfismos existentes na região codificadora do gene.

Diversos destes polimorfismos estão sendo associados a um aumento na susceptibilidade a várias patologias, incluindo síndrome linfoproliferativa, lúpus eritematoso sistêmico, esclerose múltipla, tireodite de Hashimoto, variados tipos de câncer, entre outras (Rieux-Laucat et al., 1995; Huang et al., 2000; Chen et al., 2005; Del Rey et al., 2006; Zhang et al., 2007; Crew et al., 2007; Kang et al., 2008).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local

A coleta de material biológico se deu no banco de dados do Núcleo de Pesquisa em Oncologia, localizado no Hospital Ophir Loyola (HOL), em Belém do Pará. A análise desse material foi realizada no Laboratório de Virologia (LABVIR) do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal do Pará (UFPA).

3.2. População e amostra

A população da amostra foi composta por pacientes oncológicos com diagnóstico de leucemia e linfomas, de ambos os sexos, que possuíam blocos de parafina armazenadas e autorizadas para uso no Hospital Ophir Loyola (HOL) no setor de Patologia, sob a guarda do Prof. Dr. Rommel Burbano. A amostragem foi determinada pelo número disponível de amostras de ácidos nucleicos extraídas de biópsias e autorizadas para utilização no presente estudo.

3.3. Tipo de estudo

O estudo em questão é do tipo transversal e de caráter descritivo com uma abordagem quantitativa dos dados obtidos.

3.4. Genotipagem de *Fas* -670A/G e *FasL* -124A/G

A identificação dos genótipos dos polimorfismos foi realizada pela técnica de PCR em tempo real através do uso do aparelho StepOnePLUSTM Real-Time PCR System (Thermo Fisher, Carlsbad, Califórnia, EUA). As reações consistiram na

utilização de ensaios TaqMan™ obtidos comercialmente: *FAS* rs1800682 (C_9578811_10) e *FASL* rs5030772 (C_32334221_10), contendo primers e sondas específicos para a amplificação da sequência alvo (Thermo Fisher, Carlsbad, Califórnia, EUA). A reação conteve 1X MasterMix, H₂O, 20X assay C_11537906_20 e 50 ng de DNA e foi submetida às seguintes condições de ciclagem: 10 minutos a 95°C e 40 ciclos de 15 segundos a 95°C e 1 minuto a 60°C.

3.5. Análise estatística

Os dados obtidos foram armazenados e agrupados por meio de tabelas organizadas com o auxílio dos programas Microsoft Excel 2013 e Microsoft Word 2013. Os cálculos de prevalência e de associação entre os polimorfismos nos genes *FAS* e *FASL* e a presença de leucemia/linfoma foram realizados por meio dos testes de Qui-Quadrado e Teste G, com auxílio do programa estatístico BioEstat 5.0 (AYRES et al, 2007). Os resultados foram analisados e representados por meio de tabelas e gráficos. O valor de p considerado para resultados com relevância estatística foi de abaixo de 0,05.

4. RESULTADOS

Os polimorfismos dos genes *Fas* e *FasL* foram pesquisados em um grupo populacional composto por 221 amostras de pacientes, onde 205 tinham o diagnóstico de leucemia e 16 o de linfoma. Para efeito comparativo, utilizou-se a prevalência genotípica desses polimorfismos encontrados numa amostra de população saudável (controle) no estudo de Santana et al. (2013).

No total, ao se estudar o polimorfismo *FAS* -670, se observou uma maior prevalência do genótipo AG (49%) em detrimento dos demais genótipos observados (AA 29% e GG 22%, respectivamente). A maior prevalência do genótipo AG também foi observada na população controle, a qual correspondeu a 49,4% das amostras. A análise das frequências alélicas demonstrou a presença dos alelos A e G numa frequência de 0,53 e 0,47 respectivamente nos indivíduos estudados. Entretanto, as diferenças observadas não apresentaram valores estatísticos significantes, tanto na frequência genotípica ($p= 0,1100$) quanto na frequência alélica ($p= 0,3961$) (Tabela 1).

Por sua vez, ao se avaliar o polimorfismo *FASL* -124, o genótipo mais frequente foi AA, correspondente a 88% das amostras, com os genótipos AG e GG

representando 11% e 4%, respectivamente. Prevalência semelhante à encontrada na população controle, contudo esse resultado se mostrou sem diferença estatística relevante ($p= 0,1214$). A frequência alélica mostrou os alelos A e G numa frequência de 0,91 e 0,09 respectivamente, sem diferença estatística ($p= 0,8048$), (Tabela 2).

Tabela 1- Avaliação das frequências genotípicas e alélicas para o polimorfismo *FAS* -670A/G entre os pacientes com leucemia/linfoma e um grupo controle.

FAS-670	LEUCEMIAS/LINFOMA	Controle**	p
	N= 221	N=235	
	n (%)	n (%)	
AA	64 (29%)	51 (21,7%)	0,1100
AG	108 (49%)	116 (49,4%)	
GG	49 (22%)	68 (28,9%)	
*A	0,53	0,46	0,3961
*G	0,47	0,54	

** Santana et al. (2013), Teste Qui-Quadrado

Tabela 2- Avaliação das frequências genotípicas e alélicas para o polimorfismo *FASL* -124A/G entre os pacientes com leucemia/linfoma e um grupo controle.

FASL-124	LEUCEMIAS/LINFOMA	Controle**	p
	N= 218	N= 235	
	n (%)	n (%)	
AA	186 (85%)	198 (84,3%)	0,1214
AG	25 (11%)	35 (14,9%)	
GG	07 (4%)	02 (0,8%)	
*A	0,91	0,91	0,8048
*G	0,09	0,09	

** Santana et al. (2013); Teste G, Teste Qui-Quadrado

De um modo geral, a maior parte das amostras estudadas foi composta por pacientes com diagnóstico de leucemias em seu amplo espectro de acometimento, os quais não foram analisados especificamente nesse estudo. Entretanto, na análise do polimorfismo *FAS* -670 nos pacientes com esse diagnóstico se observou uma

maior prevalência do genótipo AG (48%) ao se comparar com os genótipos AA (29%) e GG (23%), resultado diferente observado no grupo controle, em que o genótipo AG foi o mais prevalente (49,4%), contudo o GG foi mais prevalente que AA (28,9% e 21,7% respectivamente), porém esses dados não tiveram relevância estatística significativa ($p= 0,1319$). Os alelos A e G foram observados numa frequência de 0,53 e 0,47 respectivamente, sem relevância estatística ($p= 0,3961$) (Tabela 3).

Tabela 3- Avaliação das frequências genotípicas e alélicas para o polimorfismo *FAS* -670A/G entre os pacientes com leucemia e um grupo controle.

FAS-670	LEUCEMIAS N= 205 n (%)	Controle** N=235 n (%)	P
AA	60 (29%)	51 (21,7%)	0,1319
AG	98 (48%)	116 (49,4%)	
GG	47 (23%)	68 (28,9%)	
*A	0,53	0,46	0,3961
*G	0,47	0,54	

** Santana et al. (2013); Teste Qui-Quadrado

Já na análise do polimorfismo *FASL* -124 nesse grupo houve uma maior prevalência de genótipo AA (86%), assim como ocorreu no grupo controle, onde essa prevalência foi de 84,3%. A frequência alélica de A e G foi respectivamente de 0,91 e 0,09. Não se observou relevância estatística na frequência genotípica ($p=0,0813$) e nem na frequência alélica ($p=0,8048$) (Tabela 4).

Tabela 4- Avaliação das frequências genotípicas e alélicas para o polimorfismo *FASL -124A/G* entre os pacientes com leucemia e um grupo controle.

FASL-124	LEUCEMIA N= 205 n (%)	Controle** N= 235 n (%)	P
AA	176 (86%)	198 (84,3%)	0,0813
AG	22 (11%)	35 (14,9%)	
GG	7 (3%)	02 (0,8%)	
*A	0,91	0,91	0,8048
*G	0,09	0,09	

** Santana et al. (2013); Teste G, Teste Qui-Quadrado.

Os pacientes diagnosticados com linfoma foram a menor parcela do estudo (7,2%), e nesse grupo o genótipo mais frequente do polimorfismo *FAS -670* foi AG (62,5%), assim como no grupo controle (49,4%), entretanto esse dado não apresentou relevância estatística ($p=0,3247$). A frequência alélica foi de 0,56 e 0,44 para A e G respectivamente, com um valor de p de 0,2030 (Tabela 5).

Tabela 5- Avaliação das frequências genotípicas e alélicas para o polimorfismo *FAS -670A/G* entre os pacientes com linfoma e um grupo controle.

FAS-670	LINFOMA N= 16 n (%)	Controle** N=235 n (%)	p
AA	4 (25%)	51 (21,7%)	0,3247
AG	10 (62,5%)	116 (49,4%)	
GG	2 (12,5%)	68 (28,9%)	
*A	0,56	0,46	0,2030
*G	0,44	0,54	

** Santana et al. (2013); Teste G, Teste Qui-Quadrado

Uma semelhança entre a prevalência do genótipo AA para o *FASL - 124* entre os indivíduos com linfomas e o grupo controle também foi observada. Enquanto no grupo de indivíduos com linfoma a frequência de AA foi de 81%, assim sendo o mais prevalente, no grupo controle essa prevalência foi de 84,3%. Ainda nesse grupo, não

se observou o genótipo GG, o qual apresentava baixa prevalência no grupo controle também. Não houve significância estatística nesses resultados (p : 0,8840). A frequência alélica para A e G foi de 0,9 e 0,1 respectivamente, com valor de p de 1,0 (Tabela 6).

Tabela 6- Avaliação das frequências genotípicas e alélicas para o polimorfismo *FASL -124A/G* entre os pacientes com linfoma e um grupo controle

FASL-124	LINFOMA N= 16 n (%)	Controle** N= 235 n (%)	p
AA	13 (81%)	198 (84,3%)	0,8840
AG	3 (19%)	35 (14,9%)	
GG	0	02 (0,8%)	
*A	0,9	0,91	1,0000
*G	0,1	0,09	

** Santana et al. (2013); Teste G, Teste Qui-Quadrado

Ao se comparar a frequência genotípica geral do estudo entre os grupos de indivíduos com leucemia ou linfoma, observou-se para o polimorfismo *FAS -670* uma maior prevalência do genótipo AG em todos os grupos, incluindo o controle, com um valor de p de 0,4751, sem relevância estatística. Por outro lado, o polimorfismo *FASL -124*, o genótipo mais frequente entre os grupos foi AA, dado com valor de p de 0,4754. Além disso, observou-se a mesma frequência alélica (0,91) para o alelo A nos 3 grupos observados, contudo esse achado não apresentou significância estatística ($p=0,8048$).

5. DISCUSSÃO

No presente estudo avaliamos a possível associação entre os polimorfismos dos genes *FAS* e *FASL* com o desenvolvimento de leucemias e linfomas, porém sem observarmos resultados significantes. Os polimorfismos dos genes *FAS* e *FASL* são alvo de inúmeros estudos atualmente e estão inseridos nos mais diversos contextos e questionamentos. Por estarem diretamente relacionados com a via apoptótica, diversas pesquisas buscam sua relação com os variados tipos de câncer, como o gástrico, colorretal, de bexiga, ovariano e até sua interação com a

quimioterapia proposta para as doenças (GRYCO et al., 2011; SZARYNSKA et al., 2017; CEYLAN et al., 2018; GORMUS et al., 2009; MORALES & PIQUERAS, 2012).

Ao que diz respeito a esta pesquisa, as características de distribuição genotípica e alélica dos polimorfismos dos genes *Fas -670* e *FasL -124* observadas nesse estudo apresentaram semelhança com outros resultados obtidos na literatura.

Em um estudo realizado entre a população egípcia por Seleit e colaboradores (2018) para avaliar a associação entre os genes *Fas -670A/G* e *FasL -124A/G* com a ocorrência de alopecia areata, observou-se uma maior prevalência do genótipo AG (61,7%) em detrimento de AA (15%) e GG (23,3%) para o gene *Fas -670*. Além disso, o alelo mais frequente foi G (54,2%), enquanto em nosso estudo houve um maior predomínio do alelo A.

Annuar et al. (2021), avaliaram a associação do polimorfismo *Fas -670* com a resposta ao tratamento medicamentoso de pacientes com leucemia mielóide crônica e encontraram uma maior frequência do alelo G (0,56) na população estudada, assim como maior prevalência do genótipo AG (58,1%), contudo sem mostrar relevância estatística entre esses dados. Para o mesmo polimorfismo, Han et al. (2018), encontraram uma frequência alélica de 0,43 para o alelo G em pacientes com abortos recorrentes. Nesse mesmo estudo, observou-se também uma maior prevalência do genótipo AG (55,2%), apesar do valor de p não ter sido significativo.

Ainda sobre o *Fas -670*, Rehman e colaboradores observaram em uma investigação com indivíduos com anemia aplásica uma prevalência de 0,38 e 0,62 para os alelos G e A respectivamente, assim como uma maior prevalência do genótipo AG (62,4%), apresentando relevância estatística. Islam e colaboradores, 2018, em seu estudo em Bangladesh com indivíduos com síndrome de Guillain-Barré, encontraram uma prevalência do genótipo AA (45%), enquanto os genótipos AG e GG corresponderam a 38% e 17% das amostras respectivamente.

O estudo de Huang et al., 2015, não encontrou relação entre a presença do polimorfismo *Fas -670* e o risco de desenvolvimento de leucemia mielóide crônica, onde o genótipo AG foi o mais prevalente entre a população com a doença (54,1%), enquanto a prevalência desse mesmo genótipo no grupo controle foi de 50,3%, apresentando baixo significado estatístico. Assim como o estudo de Valibeigi e colaboradores não encontrou relação entre a presença dos polimorfismos *Fas -670* e *Fas -1377* e o risco de desenvolver leucemia linfoblástica aguda. As frequências

alélicas obtidas para -670 foram de 0,58 e 0,42 para A e G respectivamente. Esse mesmo estudo sugeriu uma possível relação entre a presença do genótipo -670 GG e um melhor prognóstico para o indivíduo.

É preciso levar em consideração algumas limitações presentes neste estudo, como o número pequeno de amostras estudadas, além da falta de dados mais específicos sobre os pacientes e suas doenças, o que poderia contribuir para uma maior análise do envolvimento dos polimorfismos.

Uma metanálise realizada em 2015 por Chen e colaboradores, sugeriu que não havia relação entre os polimorfismos de *Fas/FasL*, incluindo -670, e uma maior susceptibilidade de desenvolver leucemia, contudo algumas limitações foram levadas em consideração como a diferença étnica entre os estudos, o que faz com que pesquisas com pequenos grupos de amostras não sejam decisivas.

As diferenças das frequências alélicas e genotípicas observadas ao compararmos os resultados do presente estudo com aquelas descritas em outras pesquisas podem ser devidas as diferenças de composição étnica das populações estudadas, considerando que a população de Belém tem uma composição híbrida constituída da mistura de brancos, negros e índios (SANTOS et al., 1999). A relevância da questão étnica no estudo destes polimorfismos ficou muito evidente no trabalho de Han et al. (2018), que não encontrou relação entre alguns polimorfismos de *Fas* e *FasL* e abortos recorrentes na população coreana, apesar de estudos com outras populações sugerirem essa relação.

Assim sendo, nossos resultados não nos permitem sugerir qualquer relação entre os polimorfismos de *Fas/FasL* e a ocorrência de leucemias e linfomas, sendo necessário para isso uma abordagem mais ampla e com um maior número de amostras, sempre levando em consideração as diferenças étnicas das populações.

6. CONCLUSÃO

As frequências genotípica e alélica dos polimorfismos *FAS -670A/G* e *FASL -124A/G* observadas não mostraram associação com o desenvolvimento da leucemia e linfoma na amostra estudada. Contudo, se deve levar em consideração limitações importantes, como o tamanho da amostra e a variação genotípica e étnica do estudo.

REFERÊNCIAS

- ABREU, G.M.; DE SOUSA, S.C.; GOMES, E.V. Leucemia Linfóide e Mieloide: Uma breve revisão narrativa. **Brazilian Journal of Development**. Curitiba; v.7, n.8, p. 80666-80681. Ago 2021. DOI:10.34117/bjdv7n8-333.
- ALNEMRI, E.S. et al. Human ICE/CED-3 protease nomenclature. **Cell**, v. 87, p. 171 1996.
- ANNUAR, A.A. et al. Impact of Fas/FasL Gene Polymorphisms on Susceptibility Risk and Imatinib Mesylate Treatment Response in Chronic Myeloid Leukaemia Patients. **APJCP**, v. 22, n. 2, p. 565. 2021.
- ASHKENAZI, A.; DIXIT, V.M. Death receptors: signaling and modulation. **Science**, 281, p. 1305–1308, 1998.
- BITTENCOURT, AL; PRIMO, J; OLIVEIRA, MFP. Manifestações infanto-juvenis da infecção pelo vírus linfotrópico de células T humanas (HTLV-I). **J Pediatr**. Rio Janeiro: 2006.
- BOLSTAD, A.I. et al. Fas and Fas ligand gene polymorphisms in primary Sjögren's syndrome. **The Journal of rheumatology**, v. 27, p. 2397-2405, 2000.
- BRAND, H. et al, N. Leucemia de células T do adulto. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter**. 2009.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Instituto Nacional De Câncer. **Estatísticas de câncer**. 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/numeros-de-cancer>>. Acesso em: 03 mar 2022.
- BRUTUS, J.N.; DO CARMO, E.J.; SOARES, G.M. **Diagnósticos da leucemia linfóide aguda: uma revisão de literatura**. Boletim Informativo Unimotrisaúde em Sociogerontologia - BIUS - Faculdade de Educação Física e Fisioterapia - FEF da Universidade Federal do Amazonas – UFAM. 2019.
- BUDIHARDJO, I. et al. Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. **Annual review of cell and developmental biology**, v. 15, p. 269-290, 1999.
- CÂNCER no Brasil: presente e futuro. Editorial. **Rev. Assoc. Med. Bras**. 2004. <https://doi.org/10.1590/S0104-42302004000100001>.
- CARVALHO, Q.G.S.; PEDROSA, W.A.; SEBASTIÃO, Q.P. Leucemia mielóide aguda versus ocupação profissional: perfil dos trabalhadores atendidos no Hospital de Hematologia de Recife. **Revista da escola de Enfermagem da USP**. São Paulo, v.45, n.6, p.1446-1451, 2011.
- CEYLAN, C. et al. Emphasis of FAS/FASL gene polymorphism in patients with non-muscle invasive bladder cancer. **Irish Journal of Medical Science**, v. 187, n. 4, p. 1115-1119, 2018.
- CHEN, J.Y. et al The -844C/T polymorphism in the Fas ligand promoter associates with Taiwanese SLE. **Genes and immunity**, v.6, p. 123-128, 2005.
- CHEN, Y. et al. Association between Fas/FasL polymorphism and susceptibility to leukemia: a meta-analysis. **International journal of clinical and experimental medicine**, v. 8, n. 3, p. 3817, 2015.
- CHEN, J. et al. Fas signaling induces stemness properties in colorectal cancer by regulation of Bmi1. **Molecular carcinogenesis**, v. 56, n. 10, p. 2267-2278, 2017.
- CHICHEPORTICHE, Y. et al. A new secreted ligand in the tumor necrosis factor family that weakly induces apoptosis. **The Journal of biological chemistry**, 272: 32401–32410, 1997.
- COLLEONI, G.W.B. et al. **Linfomas: diagnóstico e tratamento: Uma reciclagem e a interface com a Infectologia**. 2009.

Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde – CONITEC. Coordenação de Gestão de Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas. Ministério da Saúde. **Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas do Linfoma de Hodgkin**. 2020.

COSSARIZZA, A. Genetic polymorphisms of Fas (CD95) and Fas ligand (CD178) influence the rise in CD4+ T cell count after antiretroviral therapy in drug-naïve HIV-positive patients. **Immunogenetics**, v. 57, p. 628-635, 2005.

CREW, K.D. et al Genetic polymorphisms in the apoptosis-associated genes FAS and FASL and breast cancer risk. **Carcinogenesis**, v. 28, p. 2548-51, 2007.

DIGIUSEPPE, J.A. et al. Multiparameter flow-cytometric analysis of bcl-2 and Fas expression in normal and neoplastic hematopoiesis. **American journal of clinical pathology**, v. 106, p. 345-351, 1996.

DOS SANTOS, A.C.A. et al. Potencial antioxidante de antocianinas em fontes alimentares: revisão sistemática. **Revista Interdisciplinar**, v. 7, n. 3, p. 149-156, 2014.

GREEN, D.R.; FERGUSON, T.A. The role of fas ligand in immune privilege. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 2, n. 12, p. 917–924, 2001.

ELMORE, S. Apoptosis: a review of programmed cell death. **Toxicologic pathology**, v. 35, p. 495–516, 2007.

FAN, T.J. et al. Caspase family proteases and apoptosis. **Acta biochimica et biophysica Sinica**, v. 37, p. 719-727, 2005.

FARIAS, M. G.; CASTRO, S. M. Diagnóstico laboratorial das leucemias linfoides agudas. **Jornal Brasileiro de Patologia Médica Laboratorial**. Rio de Janeiro, v.40, n.2, p.91-98, Abr. 2004.

FERGUSON, T.A.; GRIFFITH, T.S. A vision of cell death: Fas ligand and immune privilege 10 years later. **Immunological Reviews**, v. 213, n. 1, p. 228–238, 2006.

FERRI, L.F. et al. Avaliação Clínico-Epidemiológica dos Linfomas de Hodgkin e não Hodgkin no Hospital do Câncer de Londrina no ano de 2018. **UNINGÁ Journal**, v. 58, eUJ3511, 2021. doi.org/10.46311/2318-0579.58.eUJ3511.

GALDINO, M.V.M.; MORAIS, A.M.B. Caracterização de leucemia mielóide aguda em adultos: uma revisão bibliográfica. **Temas em Saúde**, v. 16, n 3. João Pessoa: 2016.

GRANT, B. L.; HAMILTON, K. K. Terapia Nutricional Médica para Prevenção, Tratamento e Recuperação do câncer In: MAHAN, L. Kathleen; ESCOTT STUMP, Sylvia; RAYMOND, Janice L. Krause alimentos, nutrição e dietoterapia. Amsterdam: **Elsevier**, p. 832-863, 2013.

GRYKO, M. et al. Correlation between Fas and FasL proteins expression in normal gastric mucosa and gastric cancer. **Folia Histochemica et Cytobiologica**, v. 49, n. 1, p. 142-147, 2011.

GORMUS, U. et al. Fas-1377A/G and FasL-844 T/C gene polymorphisms and epithelial ovarian cancer. **Anticancer research**, v. 27, n. 2, p. 991-994, 2007.

GRIVICICH, I.; REGNER, A.; DA ROCHA, A.B. Morte celular por apoptose. **Revista brasileira de cancerologia**, v. 53, n. 3, p. 335-343, 2007.

GUIMARÃES, L. O. **Caracterização de subpopulações de Leucemia Mieloide Aguda portadora do rearranjo MLL quanto à resposta diferencial ao tratamento em longo prazo com Citarabina**. 2015. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2015.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. Elsevier Brasil, 2017.

- HAMERSCHLAK, N. Manifestações reumáticas associadas a doenças oncohematológicas. **Einstein**, São Paulo, v. 6, supl. 1, p. S89-S97, set. 2008.
- HAN, A.R. et al. Fas and FasL genetic polymorphisms in women with recurrent pregnancy loss: a case-control study. **Human Fertility**, v. 22, n. 3, p. 198-203, 2019.
- HO, K.L.; HARRINGTON, H.A. Bistability in apoptosis by receptor clustering. **PLoS computational biology**, v. 6, n. 10, p. e1000956, 2010.
- HORIUCHI, T. et al. Association of Fas/Apo-1 gene polymorphism with systemic lupus erythematosus in Japanese. **Rheumatology**, v. 38, p. 516-520, 1999.
- HUANG, Y. et al. Fas-670A> G polymorphism is not associated with an increased risk of acute myeloid leukemia development. **Biomedical Reports**, v. 4, n. 2, p. 153-160, 2016.
- HORTA, R.D. et al. Prevalência de Linfoma de Hodgkin numa população brasileira. **Braz. J. of Develop.**, Curitiba, v. 6, n. 7, p. 46004-46012, 2020. ISSN 2525-8761DOI:10.34117/bjdv6n7-287.
- HUANG, Q.R. et al. Evaluation of a new Apo-1/Fas promoter polymorphism in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus patients. **Rheumatology** (Oxford, England), v. 38, p. 645-651, 1999.
- HUANG, Q.R.; MANOLIOS, N. Investigation of the -1377 polymorphism on the Apo-1/Fas promoter in systemic lupus erythematosus patients using allele-specific amplification. **Pathology**, v. 32, p. 126-130, 2000.
- HUANG, Q.R.; MORRIS, D.; MANOLIOS, N. Identification and characterization of polymorphisms in the promoter region of the human Apo-1/Fas (CD95) gene. **Molecular Immunology**, v. 34, p. 577-582, 1997.
- HUANG, R.; ZHOU, PK. DNA damage repair: historical perspectives, mechanistic pathways and clinical translation for targeted cancer therapy. **Sig Transduct Target Ther**, v. 6, p. 254, 2021. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00648-7>
- INAZAWA, J. et al. Assignment of the Fas antigen gene (FAS) to 10q.24.1. **Genomics**, v. 14, p. 821-822, 1992.
- ISLAM, Z. et al. FAS promoter polymorphisms and serum sFas level are associated with increased risk of nerve damage in Bangladeshi patients with Guillain-Barré syndrome. **PLoS One**, v. 13, n. 2, p. e0192703, 2018.
- ITOH, N. et al. The polypeptide encoded by the cDNA for human cell surface antigen Fas can mediate apoptosis. **Cell**, n. 66, p. 233-243, 1991.
- KAYAGAKI, N. et al. Metalloproteinase-mediated release of human Fas ligand. **The Journal of Experimental Medicine**, n. 182, p. 1777-1783, 1995.
- KISCHKEL, F.C. et al. Cytotoxicity dependent APO-1 (Fas/CD95)- associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor. **The EMBO journal**, n. 14, p. 5579-5588, 1995.
- KOSHKINA, N.V. et al. Exploratory analysis of Fas gene polymorphisms in pediatric osteosarcoma patients. **Journal of pediatric hematology/oncology**, n. 29, p. 815-21, 2007.
- KRUEGER, A. et al. The role of CD95 in the regulation of peripheral T-cell apoptosis. **Immunological reviews**, n. 193, p. 58-69, 2003.
- KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; ASTER, J.C. **Bases Patológicas das Doenças**. 9 ed. Elsevier: 2016
- KUROSAKA, K. et al. Silent cleanup of very early apoptotic cells by macrophages. **Journal of Immunology**, n. 171, p. 4672-4679, 2003.

KUWANA, T. et al. BID, BAX, and lipids cooperate to form supramolecular openings in the outer mitochondrial membrane. **Cell**, n. 111, p. 331-342, 2002.

LAUNAY, S. et al. Vital functions for lethal caspases. **Oncogene**, n. 24, p. 5137-5148, 2005.

LITCHFORD, M. D. Clínico: Avaliação bioquímica In: MAHAN, L. Kathleen; ESCOTT STUMP, Sylvia; RAYMOND, Janice L. Krause alimentos, nutrição e dietoterapia. Amsterdam: **Elsevier**, p.191-208, 2013.

LAGO, C; PETRONI, TF. Fisiopatologia e Diagnóstico da Leucemia Mieloide Crônica. Araçatuba: **Revista Saúde UniToledo**, v. 01, n. 01, p. 121-133, 2017.

LEITHAUSER, F. et al. Constitutive and induced expression of APO-I, a new member of the nerve growth factor/tumor necrosis factor receptor superfamily, in normal and neoplastic cells. **Laboratory Investigation**, n. 69, p. 415-429, 1993.

LIU, R. H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. **The Journal of nutrition**, v. 134, n. 12, p. 3479S-3485S, 2004.

LOCKSLEY, R.M., KILLEEN, N., LENARDO, M.J. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. **Cell**, n. 104, p. 487-501, 2001.

MARIANI, S.M. et al. Regulation of cell surface APO-1/Fas (CD95) ligand expression by metalloproteases. **European Journal of Immunology**, n. 25, p. 2303-2307, 1995.

McCLOSKEY, T.W. et al. Expression of the Fas antigen in patients infected with human immunodeficiency virus. **Citometry**, n. 22, p. 111-114, 1995.

MEDINA, L.P. **Modulação da morte mediada por FAS em células tipo I e tipo II**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2011

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Instituto Nacional do Câncer (INCA). **O que é câncer?**. 2020. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer#:~:text=C%C3%A2ncer%20%C3%A9%20um%20termo%20que,adjacentes%20ou%20%C3%B3s%20a%20dist%C3%A2ncia.>>. Acesso em: 12 mar 2022.

MOREIRA, A. et al. Diagnósticos de leucemias linfoides agudas: Uma revisão. **Revista saúde em foco**, 10 ed., 2018.

MORGAN, D. The cell cycle and programmed cell death. In: Molecular biology of the cell. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Roff, M., Roberts, K. Walter, P. (eds) New York: **Garland Science Publishing**, p. 1007-1008, 2002.

MUGNAINI, E.N.; GHOSH, N. Lymphoma. **Primary Care: Clinics in Office Practice**, v. 43, n. 4, p. 661-675, 2016.

NAGATA, S. Fas ligand-induced apoptosis. **Annual reviews of genetics**, n. 33, p. 29-55, 1999.

NICHOLSON, D.W.; THORBERRY, N.A. Caspases: killer proteases. **Trends in biochemical sciences**, n. 22, p. 299-306, 1997.

NUNEZ, G., BENEDICT, M.A., HU, Y., INOHARA, N. Caspases: the proteases of the apoptotic pathway. **Oncogene**, n. 17, p. 3237-3245, 1998.

OEHM, A. et al. Purification and molecular cloning of the APO-1 cell surface antigen, a member of the tumor necrosis factor/nerve growth factor receptor superfamily. Sequence identity with the Fas antigen. **The journal of biological chemistry**, n. 267, p. 10709-10715, 1992.

OLIVEIRA, R. A. G.; NETO, A. P. **Anemias e leucemias: conceitos básicos e diagnóstico por técnicas laboratoriais**. 1 ed. 421 p. São Paulo: Roca, 2004.

- ONCOGUIA. **Estimativas no Mundo.** 2015. Disponível em: <<http://www.oncoguia.org.br/conteudo/estimativas-no-mundo/1706/1/>>. Acesso em: 13 mar 2022.
- Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS). Organização Mundial da Saúde. **Câncer: Folha Informativa.** 2020. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/topicos/cancer#:~:text=Folha%20informativa%20atualizada%20em%20outubro%20de%202020&text=Uma%20caracter%C3%Adstica%20que%20define%20o,%C3%B3rg%C3%A3os%2C%20processo%20referido%20como%20met%C3%A1stase.>>>. Acesso em: 10 mar 2022.
- ORGANIZAÇÃO PAN AMERICANA DE SAÚDE (OPAS). **Folha informativa – Câncer. 2018.** Disponível em: <https://www.paho.org/bra.../index.php?option=com_content&view=article&id=5588:folha-informativa-cancer&Itemid=839>. Acesso em: 29 dez 2018.
- PASQUALETTO, F.C.; SORIANO, L.R.M.; STUCHI, N.M.M. Novas condutas terapêuticas para o Linfoma não Hodgkin. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 11, n. 2, p. e187, 29 dez. 2018.
- PETER, M.E.; KRAMMER, P.H. Mechanisms of CD95 (APO-1/Fas)- mediated apoptosis. **Current opinion in immunology**, n. 10, p. 545–551, 1998.
- PINTI, M. et al. Genetic polymorphisms of Fas (CD95) and FasL (CD178) in human longevity: studies on centenarians. **Cell death and differentiation**, n. 9, p. 431-438, 2002.
- POULAKI, V; MITSIADES, C.S.; MITSIADES, N. The role of Fas and FasL as mediators of anticancer chemotherapy. **Drug Resistance Updates**, v. 4, n. 4, p. 233-242, 2001.
- REHMAN, S. et al. Single-nucleotide polymorphisms of FAS and FASL genes and risk of idiopathic aplastic anemia. **Immunological Investigations**, v. 47, n. 5, p. 484-491, 2018.
- REIS, R.S. et al. Childhood Leukaemia Incidence in 16 Brazilian Population-Based Cancer Registries. **Br J Cancer**. 2009.
- RIBEIRO, A.R. et al. Linfoma de Hodgkin: Análise de desfechos em óbito no Brasil, na região Norte e no Amapá em uma década. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, e3310110880, 2021.
- RIEUX-LAUCAT, F. et al Mutations in Fas associated with human lymphoproliferative syndrome and autoimmunity. **Science**, n. 268, p. 1347-1349, 1995.
- SAELENS, X. et al. Toxic proteins released from mitochondria in cell death. **Oncogene**, v. 23, n. 16, p. 2861-2874, 2004.
- SALVESEN, G.S. Caspase 8: Igniting the death machine. **Structure**, n. 7, p. 225-229, 1999.
- SANTOS, C.C.; TEIXEIRA, J.; RIBEIRO, J.T. **Leucemia- sociedade em riscos.** Trabalho de curso apresentado a faculdade São Paulo, com requisito para avaliação da disciplina de metodologia científica no curso de farmácia. Rolim de Moura: 2014.
- SANTOS, S.E.B. et al. Differential contribution of indigenous men and women to the formation of an urban population in the Amazon region as revealed by mtDNA and Y-DNA. **Am J Phys Anthropol**, v. 109, n. 2, p. 175-180, 1999
- SAVILL, J.; FADOK, V. Corpse clearance defines the meaning of cell death. **Nature**, n. 40, p. 784–788, 2000.
- SCHMIEGELOW, K. et al. Etiology of common childhood acute lymphoblastic leukemia: the adrenal hypothesis. **Leukemia**, v. 22, n. 12, p. 2137-2141, 2008
- SCHWARZ, M., ANDRADE-NAVARRO, M.A., GROSS, A. Mitochondrial carriers and pores: Key regulators of the mitochondrial apoptotic program? **Apoptosis**, v. 12, p. 869-876, 2007.

- SELEIT, I. et al. Polymorphism of FAS and FAS ligand genes in alopecia areata: A case–control study in Egyptian population. **Indian Journal of Dermatology**, v. 63, n. 3, p. 220, 2018.
- SHAO, P. et al. “Functional polymorphisms in cell death pathway genes FAS and FAS ligand and risk of prostate cancer in a Chinese population,” **Prostate**, v. 71, n. 10, p. 1122–1130, 2011.
- SILVA, G.C. et al. Diagnóstico laboratorial das leucemias mieloides agudas. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 42, p. 77-84, 2006.
- SOSSELA, F.R.; ZOPPAS, B.C.A.; WEBER, L.P. Leucemia Mieloide Crônica: aspectos clínicos, diagnóstico e principais alterações observadas no hemograma. **Revista RBAC**. 2017. DOI: 10.21877/2448-3877.201700543
- STOETERAU, I. Antocianinas e Carcinogênese: Uma revisão narrativa. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**, ed. 12, v. 4, p. 171-190, 2019.
- SUDA, T. et al. Molecular cloning and expression of the Fas ligand, a novel member of the tumor necrosis factor family. **Cell**, v. 75, p. 1169-1178, 1993.
- SULIMAN, A. et al. Intracellular mechanisms of TRAIL: apoptosis through mitochondrial-dependent and -independent pathways. **Oncogene**, v. 20, p. 2122–2133, 2001.
- SUNG, H. et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, 2021.
- SUNG, W. et al. “A polymorphic -844T/C in FasL promoter predicts survival and relapse in non-small cell lung cancer”. **Clinical Cancer Research**, v. 17, n. 18, p. 5991– 5999, 2011.
- SZARYNSKA, M. et al. FasR and FasL in colorectal cancer. **International journal of oncology**, v. 51, n. 3, p. 975-986, 2017.
- TAKAHASHI, T. et al. Human Fas ligand: gene structure, chromosomal location and species specificity. **International Immunology**, v. 6, p. 1567-1574, 1994.
- TAYLOR, R.C.; CULLEN, S.P.; MARTIN, S. J. Apoptosis: controlled demolition at the cellular level. **Nature reviews Molecular cell biology**, v. 9, n. 3, p. 231-241, 2008.
- THORBURN, A. Death receptor-induced cell killing. **Cellular signaling**, v. 16, p. 139-144, 2004.
- THORNBERRY, N.A. Caspases: key mediators of apoptosis. **Chemistry & Biology**, v. 5, p. 97-103, 1998.
- TRUMP, B.F. et al. The pathways of cell death: oncosis, apoptosis, and necrosis. **Toxicology Pathologic**, v. 25, p. 82–88, 1997.
- VALIBEIGI, B. et al. Fas gene variants in childhood acute lymphoblastic leukemia and association with prognosis. **Pathology & Oncology Research**, v. 20, n. 2, p. 367-374, 2014.
- VILLA-MORALES, M; FERNÁNDEZ-PIQUERAS, J. Targeting the Fas/FasL signaling pathway in cancer therapy. **Expert opinion on therapeutic targets**, v. 16, n. 1, p. 85-101, 2012.
- WANG, W., et al. Polymorphisms of the FAS and FASL genes and risk of breast cancer. **Oncology Letters**, v. 3, n. 3, p. 625–628, 2012.
- WOO, M. et al. Essential contribution of caspase 3/CPP32 to apoptosis and its associated nuclear changes. **Genes & Development**, v. 12, p. 806-819, 1998.

WU, J. et al. A novel polymorphic CAAT/enhancer-binding protein beta element in the FasL gene promoter alters Fas ligand expression: a candidate background gene in African American systemic lupus erythematosus patients. **Journal of immunology**, v. 170, p. 132-138, 2003.

ZEPEDA-NUNO, J.S. et al. Expression of ADAM10, Fas, FasL and soluble FasL in patients with oral squamous cell carcinoma (OSCC) and their association with clinicalpathological parameters. **Pathol Oncol Res**, v. 23, p. 345–353, 2017.

ZHANG, D.F. et al. Quantitative assessment of the relationship between Fas/FasL genes polymorphisms and head and neck cancer risk. **Medicine**, v. 97, n. 6, 2018.

ZHANG, Z. et al. Polymorphisms of FAS and FAS ligand genes involved in the death pathway and risk and progression of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, v. 12, p. 5596-5602, 2006.