



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – ICB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA BÁSICA
E APLICADA - PPGIBA



CARACTERIZAÇÃO DOS POLIMORFISMOS NOS GENES DO COMPLEXO INFLAMASSOMA NA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

FABÍOLA SILVA ALVES HANNA

Manaus – AM

2024



CARACTERIZAÇÃO DOS POLIMORFISMOS NOS GENES DO COMPLEXO INFLAMASSOMA NA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Amazonas como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Imunologia Básica e Aplicada.

Discente: Fabíola Silva Alves Hanna

Orientador (a): Prof^o. Dr. Allyson Guimarães da Costa

Coorientador (a): Prof^a. Dra. Adriana Malheiro Alle Marie

Prof^a. Dra. Alessandra Pontillo

Área de concentração: Imunologia Básica e Aplicada

Linha de Pesquisa: Genômica, imunogenética e epidemiologia de doenças infecciosas e inflamatórias

Manaus – AM

2024

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Hanna, Fabíola Silva Alves
H243c Caracterização dos polimorfismos nos genes do complexo
 inflamassoma na leucemia linfoblástica aguda / Fabíola Silva Alves
 Hanna . 2024
 192 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Allyson Guimarães da Costa
Coorientadora: Adriana Malheiro Alle Marie
Coorientadora: Alessandra Pontillo
Tese (Doutorado em Imunologia Básica e Aplicada) -
Universidade Federal do Amazonas.

1. Leucemia linfoblástica aguda. 2. Receptores do tipo NOD. 3.
Inflamassoma. 4. Polimorfismo. I. Costa, Allyson Guimarães da. II.
Universidade Federal do Amazonas III. Título

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – ICB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA
BÁSICA E APLICADA - PPGIBA

FABÍOLA SILVA ALVES HANNA

CARACTERIZAÇÃO DOS POLIMORFISMOS NOS GENES DO
COMPLEXO INFLAMASSOMA NA LEUCEMIA
LINFOBLÁSTICA AGUDA

Orientador (a): Prof^o. Dr. Allyson Guimarães da Costa

Coorientador (a): Prof^a. Dra. Adriana Malheiro

Prof^a. Dra. Alessandra Pontillo

BANCA EXAMINADORA COMPOSTA POR:

Prof. Dr. Allyson Guimarães da Costa – Presidente

Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

Profa. Dra. Aya Sadahiro – Membro Titular Interno

Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

Prof. Dr. José Pereira de Moura Neto – Membro Titular Interno

Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

Prof. Dr. Rajendranath Ramasawmy – Membro Titular Externo

Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HDV)

Prof. Dr. Dhemerson Souza de Lima – Membro Titular Externo

Universidade de Vermont (UVM)

Dedico este trabalho a Deus, que me presenteia todos os dias com o fôlego da vida, que me dá forças e coragem para atingir meus objetivos.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Rosangela e Edmilson, por todo incentivo na minha formação.

Ao meu esposo, Rafael, por toda paciência e companheirismo durante essa jornada.

Ao meu orientador, Allyson Guimarães, por acreditar em mim e me ensinar a ter amor pela pesquisa e nos incentivar a fazer sempre o nosso melhor. Por toda paciência e ensinamentos durante todos esses anos. Muito Obrigada!

À Dra. Adriana Malheiro, pelo apoio e colaboração para que esse projeto pudesse ser realizado.

À Dra. Alessandra Pontillo, referência na área dos inflamassomas, por toda paciência e aprendizado durante o período de mobilidade. Agradeço também aos alunos do Laboratório de Imunogenética do ICB-USP pela colaboração.

Aos alunos de iniciação científica e mestrado que tive o prazer de compartilhar ensinamentos durante esses anos: Gláucia, Letícia, Daniele, Juniel, Glenda, Joey, Amanda, Vitória, Larissa, Luca e Laysa. Vocês me ensinaram muito mais do que podem imaginar.

Aos colaboradores do Laboratório Genômica, pela disponibilidade do laboratório e por todo o apoio oferecido para que os projetos sejam realizados com excelência.

À Universidade de São Paulo (USP) pela parceria nessa pesquisa.

À Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM) que permitiu a realização dessa pesquisa através da cooperação de inclusão de pacientes com leucemia linfoblástica aguda.

À Universidade Federal do Amazonas (UFAM) pela oportunidade de fazer parte do programa de Pós-graduação em Imunologia Básica e Aplicada e contribuir para a divulgação de pesquisa nessa área que muito há a ser explorada.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pelo concedimento da bolsa e apoio financeiro para realização deste trabalho.

A todos os demais que contribuíram para a realização desse projeto. Muito obrigada!

DECLARAÇÃO DE AGÊNCIAS FINANCIADORAS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudos concedida por meio do Programa Programas de Pós-Graduação da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) através de mobilidade nacional sob o processo de nº401045/2019-6, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) que financiou indiretamente esta pesquisa e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), por meio das resoluções de nº 002/2008, 007/2018 e 005/2019 (Programa PRÓ-ESTADO).

RESUMO

Inflamassomas são mediadores cruciais da resposta inflamatória, e certos polimorfismos em genes deste complexo podem influenciar a transcrição de genes alvo e contribuir para o desenvolvimento e progressão de neoplasias hematológicas. Todavia, são escassos os estudos que exploram essa relação na leucemia linfoblástica aguda (LLA). Dessa forma, nós realizamos uma revisão bibliográfica sobre o papel dos inflamassomas nas leucemias e revisão sistemática com meta-análise sobre o papel do polimorfismo *IL1B* -511 no desenvolvimento de neoplasias hematológicas. Além disso, um estudo caso-controle com 210 pacientes com LLA e 205 indivíduos saudáveis foi realizado a fim de descrever o papel dos polimorfismos *AIM2* rs1103577, *IFI16* rs1633266, *CASP1* rs570685 e *CARD8* rs2043211A no risco ou proteção para LLA e desfecho clínico. Além disso, também avaliamos sua influência nas concentrações séricas das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF. A genotipagem foi realizada através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR) usando sondas *Taqman* e a dosagem das citocinas pela técnica *Cytometric Bead Array* (CBA). Em nossa revisão sistemática e meta-análise não identificamos associação entre o polimorfismo *IL1B* -511 com o risco de alguma neoplasia hematológica. Por outro lado, em nosso estudo experimental, o modelo sobredominante do polimorfismo *AIM2* rs1103577 foi associado a um menor risco ao desenvolvimento de leucemia linfoblástica aguda em nossa população (OR_{adj} : 0.56 95% CI_{adj} : 0.35 – 0.90, $p_{adj}=0.003$), bem como, o modelo codominante com menor chance de óbito (OR_{adj} : 0.47, 95% CI_{adj} : 0.24 – 0.93, $p_{adj}=0.018$). Não observamos associação entre os genótipos dos polimorfismos em estudo na secreção das citocinas quando avaliadas na medula óssea e sangue periférico. Por fim, destacamos que este é o primeiro estudo que investigou a relação dos polimorfismos *AIM2* rs1103577, *IFI16* rs1633266, *CASP1* rs570685 e *CARD8* rs2043211 no desenvolvimento e desfecho clínico de pacientes diagnosticados com LLA da Amazônia Brasileira. Uma compreensão mais profunda das variações genéticas dos genes do complexo inflamassoma nos permitirá identificar biomarcadores moleculares de prognóstico precoce e contribuir para o aperfeiçoamento dos tratamentos da doença.

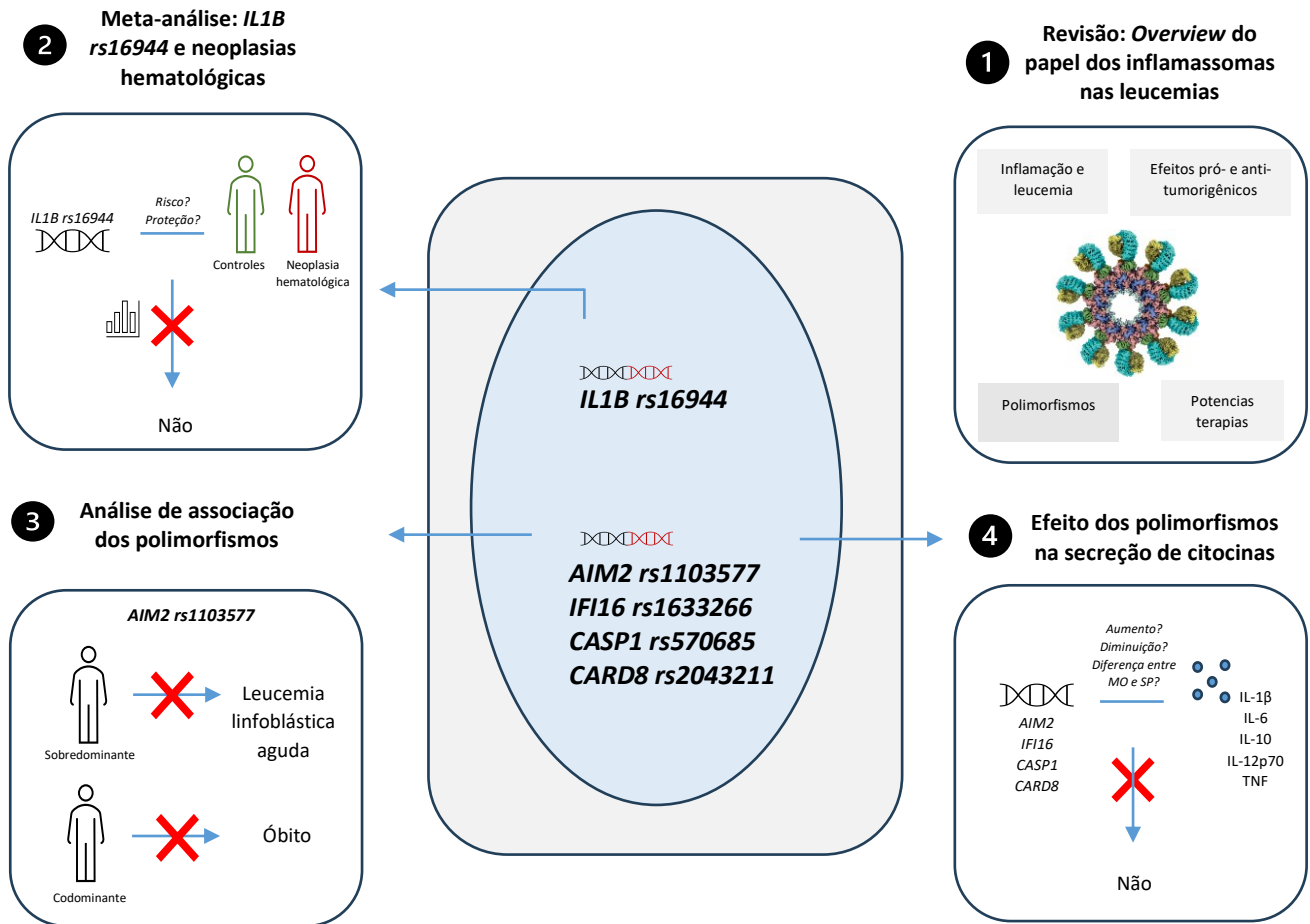
Palavras-chave: leucemia linfoblástica aguda; receptores do tipo NOD; inflamassoma, polimorfismo

ABSTRACT

Inflammasomes are crucial mediators of the inflammatory response, and certain polymorphisms in genes of this complex can influence the transcription of target genes and contribute to the development and progression of hematologic malignancies. However, studies exploring this relationship in acute lymphoblastic leukemia (ALL) are scarce. Therefore, we performed a literature review on the role of inflammasomes in leukemias and a systematic review with meta-analysis on the role of the IL1B -511 polymorphism in the development of hematologic malignancies. In addition, a case-control study with 210 patients with ALL and 205 healthy individuals was performed to describe the role of *AIM2* rs1103577, *IFI16* rs1633266, *CASP1* rs570685 and *CARD8* rs2043211A polymorphisms in the risk or protection for ALL and clinical outcome. Furthermore, we also evaluated its influence on serum concentrations of the cytokines IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 and TNF. Genotyping was performed using the Real-Time Polymerase Chain Reaction (qPCR) technique using Taqman probes and cytokine measurement using the Cytometric Bead Array (CBA) technique. In our systematic review and meta-analysis, we did not identify an association between the IL1B -511 polymorphism and the risk of any hematologic neoplasia. On the other hand, in our experimental study, the overdominant model of the *AIM2* rs1103577 polymorphism was associated with a lower risk of developing acute lymphoblastic leukemia in our population (OR_{adj} : 0.56 95% CI_{adj} : 0.35–0.90, $p_{adj}=0.003$), as well as the codominant model with a lower chance of death (OR_{adj} : 0.47, 95% CI_{adj} : 0.24–0.93, $p_{adj}=0.018$). We did not observe an association between the genotypes of the polymorphisms under study in the secretion of cytokines when evaluated in the bone marrow and peripheral blood. Finally, we highlight that this is the first study that investigated the relationship of *AIM2* rs1103577, *IFI16* rs1633266, *CASP1* rs570685 and *CARD8* rs2043211 polymorphisms in the development and clinical outcome of patients diagnosed with ALL from the Brazilian Amazon. A deeper understanding of the genetic variations of the inflammasome complex genes will allow us to identify molecular biomarkers of early prognosis and contribute to the improvement of treatments for the disease.

Keywords: acute lymphoblastic leukemia; NOD-like receptors; inflammasome, polymorphism

RESUMO GRÁFICO



LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg	Microgram (Micrograma)
µl	Microliter (Microlitro)
ng/µL	Nanogram per microliter (Nanogramas por microlitro)
ActA	Activin A (Ativina A)
AHR	Aryl hydrocarbon receptor (Receptor de hidrocarboneto arílico)
ALRs	Absent in melanoma 2-like receptors (Ausente em receptores do tipo melanoma 2)
AIM2	Absent in Melanoma 2 (Ausente em melanoma 2)]
AIC	Akaike criteria information (Critério de informação de Akaike)
Arg1	Arginase 1
PYCARD	Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (Proteína semelhante à partícula associada à apoptose contendo domínio CARD)
BCM-LLA	Biomarcadores celulares e moleculares na leucemia linfoblástica aguda
BFM	Berlin-Frankfurt-Munich
BMDMs	Bone-marrow-derived macrophage (Macrófagos derivados da medula óssea)
CARD8	Caspase recruitment domain-containing protein 8 (Domínio de recrutamento de caspase contendo a proteína 8)
CASP1	Caspase-1
CASP8	Caspase-8
CBA	Cytometric Bead Array (Matriz de esferas citométricas)
CDKN2A	Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A (Inibidor de quinase dependente de ciclina 2A)
CEBPE	CCAAT Enhancer Binding Protein Epsilon (Proteína de ligação intensificadora CCAAT Epsilon)
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
cGAS	Cyclic GMP-AMP synthase (Sintase GMP-AMP cíclica)
CREB	cAMP response element-binding protein (Proteína de ligação ao elemento de resposta cAMP)
CT	Cycle Threshold (Limite do ciclo)
CTSB	Cathepsin B (Catepsina B)
cDNA	Complementary DNA (Fita de DNA Complementar)

MDSCs	Myeloid-derived suppressor cells (Células supressoras derivadas mieloides)
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CCL2	Monocyte chemoattractant protein-1 (Proteína quimioatraente de monócitos-1)
CCL5	Chemokine (C-C motif) ligand 5 (Ligante 5 de quimiocina [C-C])
CXCL1	C-X-C Motif Chemokine Ligand 1 (Ligante 1 de quimiocina [C-X-C])
CXCL8	C-X-C Motif Chemokine Ligand 8 (Ligante 8 de quimiocina [C-X-C])
CXCL10	C-X-C Motif Chemokine Ligand 10 (Ligante 10 de quimiocina com [C-X-C])
CXCL12	C-X-C Motif Chemokine Ligand 12 (Ligante 12 de quimiocina [C-X-C])
CXCR2	CXC chemokine receptor 2 (Receptor 2 de quimiocina [C-X-C])
CXCR4	CXC chemokine receptor 4 (Receptor 4 de quimiocina [C-X-C])
D0	Dia do diagnóstico
D8	Décimo oitavo dia após o diagnóstico
D15	Décimo quinto dia após o diagnóstico
D35	Trigésimo quinto dia após o diagnóstico ou final da terapia de indução
D84	Octogésimo quarto dia após o diagnóstico ou final da terapia de remissão
DAMPs	Damage-associated molecular pattern (Padrões Moleculares Associados ao Dano)
DNA	Deoxyribonucleic acid (Ácido desoxirribonucleico)
DRM	Doença Residual Mínima
ETV	ETS translocation variant (Variante de translocação ETS)
FC	Fold Change (Mudança de dobra)
GAPDH	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (Gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase)
GATA3	GATA Binding Protein 3 (Proteína de Ligação GATA 3)
HEMOAM	Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas
HLA	Human Leukocyte Antigen (Antígeno Leucocitário Humano)
HSCs	Hematopoietic Stem Cells (Células-tronco e Progenitoras Hematopoiéticas)
HSPCs	Hematopoietic Stem and Progenitor Cells (Células-tronco e Progenitoras Hematopoiéticas)
iNOS	Induced nitric oxide synthase (Óxido Nítrico Sintase Induzida)

IARC	International Agency for Research in Cancer (Agência Internacional de Pesquisa em Câncer)
IDH	Índice de desenvolvimento humano
IFI16	<i>Gamma-interferon-inducible protein 16</i> (Proteína 16 induzida por interferon gama)
IFN- α	Interferon alpha (Interferon alfa)
IFN- γ	Interferon gamma (Interferon gama)
IL-1 α	Interleukin-1 alpha (Interleucina-1 alfa)
IL-1 β	Interleukin-1 beta (Interleucina-1 beta)
IL-2	Interleukin-2 (Interleucina-2)
IL-4	Interleukin-4 (Interleucina-4)
IL-6	Interleukin-6 (Interleucina-6)
IL-10	Interleukin-10 (Interleucina-10)
IL-12	Interleukin-12 (Interleucina-12)
IL-18	Interleukin-18 (Interleucina-18)
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IRE1 α	Inositol-requiring transmembrane kinase/endoribonuclease 1 α (Quinase transmembranar dependente de inositol / endoribonuclease 1 α)
GBTLI	Grupo Brasileiro de Tratamento das Leucemias Infantis
HMGB1	High mobility group box 1 (Caixa de grupo de alta mobilidade-1)
HTLV-1	Human T Lymphotropic Virus (Vírus Linfotrópico T Humano)
KIRs	Killer-cell immunoglobulin-like receptors (Receptores semelhantes a imunoglobulina de células assassinas)
LLA	Leucemia linfoblástica aguda
LLC	Leucemia linfoide crônica
LMA	Leucemia mieloide aguda
LMC	Leucemia mieloide crônica
LPS	Lipopolysaccharide (Lipopolissacarídeo)
MAF	Minor allele Frequency (Frequência do alelo menor)
TAMs	Tumor-associated macrophages (Macrófagos associados ao tumor)
MeSH	Medical Subject Headings (Títulos de assuntos médicos)
mg	Milligram (Miligrama)
mL	Milliliter (Mililitro)

MO	Medula óssea
NF-κB	Nuclear Factor Kappa B (Fator Nuclear Kappa B)
Ng	Nanogram (Nanograma)
NLRP1	NOD-like receptor family pyrin domain containing protein 1 (Receptor do tipo NOD, domínio pirina contendo proteína 1)
NLRP3	NOD-like receptor family pyrin domain containing protein 3 (Receptor do tipo NOD, domínio pirina contendo proteína 3)
nm	Nanometre (Nanômetros)
OD	Optic density (Densidade óptica)
OMS	Organização Mundial da Saúde
P53	Tumor protein p53 (Proteína tumoral p53)
P2X7R	Purinergic receptor P2X 7 (Receptor purinérgico P2X7)
PAMPs	Pathogen-associated molecular pattern (Padrões Moleculares Associados a Patógenos)
PAX5	Paired box 5 (Caixa Pareada 5)
PRRs	Pattern Recognition Receptors (Receptores de Reconhecimento Padrão)
qPCR	Polymerase chain reaction quantitative real time (Reação em Cadeia da Polimerase Quantitativa em Tempo Real)
RC	Remissão Completa
RCBP	Registro de câncer de base populacional
RNA	Ribonucleic acid (Ácido desoxirribonucleico)
ROS	Reactive Oxygen Species (Espécies Reativas de Oxigênio)
rpm	Revolutions per minute (Rotações por minuto)
rs	Reference sequence (Sequência de referência)
RUNX	<i>Runt-related transcription factor 1</i> (Fator de transcrição 1 relacionado à RUNT)
SAME	Setor de Atendimento Médico e Estatístico
SNC	Sistema Nervoso Central
SNVs	Single Nucleotide-Variant (Variante de Nucleotídeo Único)
SP	Sangue periférico
TALE	Termo de Assentimento Livre e Esclarecido
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TGF β	Transformation growth factor beta (Fator de crescimento transformador beta)
Th1	Type 1 T helper (Linfócito T Auxiliar 1)
Th2	Type 2 T helper (Linfócito T Auxiliar 2)
TLRs	Toll like-receptors (Receptores do Tipo <i>Toll</i>)
TNF- α	Tumor necrosis factor-alfa (Fator de necrose tumoral alfa)

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Aspecto microscópico do sangue observado por John Hughes Bennet.....	29
Figura 02	Taxas de incidência estimadas para leucemia, ambos os sexos, 0-19 anos (caso/100.000 habitantes)	32
Figura 03	O modelo de Mel Greaves baseado no sistema imunológico para o desenvolvimento da leucemia em crianças.....	36
Figura 04	A inflamação e o desenvolvimento da leucemia	37
Figura 05	A célula pré-leucêmica no nicho da medula óssea	38
Figura 06	Estrutura e ativação da ativação canônica do inflamassoma	41
Figura 07	O papel dinâmico do inflamassoma no desenvolvimento do câncer.....	44
Figura 08	Fluxograma de trabalho	53
Figura 09	Exemplo curva de amplificação gerada para o polimorfismo no gene <i>AIM2 rs1103577 T>C</i> . A – Curvas de amplificação de 96 amostras. B - Homozigoto selvagem TT (■). C – Homozigoto polimórfico CC (■). D – Heterozigoto TC (■)	57
Figura 10	Visão geral das vias de ativação do inflamassoma	65
Figura 11	Modelo de desenvolvimento da leucemia baseado na inflamação.	69
Figura 12	Efeitos do inflamassoma na progressão e inibição tumoral na leucemia	72
Figura 13	Fluxograma para identificação, triagem e seleção dos estudos	92
Figura 14	Gráficos de floresta para comparação do alelo mutante A) versus alelo selvagem, B) alelo selvagem versus alelo mutante, C) mutante homozigoto versus mutante homozigoto e D) mutante selvagem homozigoto versus mutante homozigoto do polimorfismo <i>IL1B -511 C>T (rs16944)</i> e malignidades hematológicas	97
Figura S01	Gráficos de funil para viés de publicação em A) M versus m, B) m versus M, C) MM versus mm, D) mm versus MM, E) MM versus mm/Mm e F) Mn versus mm/Mn	98

Figura 15	Concentração das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF no <i>sangue periférico</i> de controles (■) e pacientes com LLA ao diagnóstico (■) de acordo com o modelo codominante	118
Figura 16	Concentração das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF na <i>medula óssea</i> de controles (■) e pacientes com LLA ao diagnóstico (■) de acordo com o modelo codominante	119
Figura S02	Concentração das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF no <i>sangue periférico</i> de controles (■) e pacientes com LLA ao diagnóstico (■) de acordo com os modelos genéticos	120
Figura S03	Concentração das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF na <i>medula óssea</i> de controles (■) e pacientes com LLA ao diagnóstico (■) de acordo com os modelos genéticos	121
Figura S04	Concentração das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF na <i>medula óssea</i> e <i>sangue periférico</i> de pacientes que não foram à óbito (■) e pacientes com óbito confirmado (■) de acordo com o modelo codominante	122
Figura S05	Concentração das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF na <i>medula óssea</i> e <i>sangue periférico</i> de pacientes que não foram à óbito (■) e pacientes com óbito confirmado (■) de acordo com os modelos genéticos	122

LISTA DE QUADROS

Quadro 01	Fatores prognósticos para Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) conforme o Protocolo do Grupo Brasileiro de Tratamento das Leucemias Infantis (GBTLI) 2009	34
Quadro 02	Informações dos polimorfismos selecionados para o estudo	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Classificação da Leucemia Linfoblástica Aguda conforme a Organização Mundial da Saúde (OMS) 2022	31
Tabela 02	Efeito funcional dos polimorfismos de nucleotídeo único nos genes do complexo inflamassoma nas leucemias	49
Tabela 03	Efeito funcional de polimorfismos nos genes do complexo inflamassoma nas leucemias	77
Tabela 04	Potenciais alvos terapêuticos direcionados ao inflamassoma.....	79
Tabela 05	Características dos estudos selecionados para a meta-análise	93
Tabela S01	Classificação detalhada da avaliação da qualidade	94
Tabela 06	Meta-análise da associação entre o polimorfismo IL1B -511 C>T (rs16944) e o risco de malignidades hematológicas (comparações alélicas e genotípicas; e análise estratificada)	96
Tabela S02	Valores de viés de publicação para a associação entre o polimorfismo <i>IL1B -511 C>T</i> e o risco de malignidades hematológicas	99
Tabela 07	Dados demográficos e clínicos da população em estudo	111
Tabela 08	Análise multivariada ajustada para sexo e idade para a associação dos polimorfismos em estudo com leucemia linfoblástica aguda ...	113
Tabela 09	Análise multivariada ajustada por sexo e idade para a associação dos polimorfismos em estudo com o risco de óbito em pacientes com leucemia linfoblástica aguda	113
Tabela S03	Análise multivariada ajustada por sexo e idade para a associação dos polimorfismos em estudo com o risco de leucemia linfoblástica aguda	114
Tabela S04	Análise multivariada ajustada por sexo e idade para a associação dos polimorfismos em estudo com o óbito de leucemia linfoblástica aguda	115

Tabela S05	Análise multivariada ajustada por sexo e idade para a associação dos polimorfismos em estudo com o recaída de leucemia linfoblástica aguda	116
Tabela S06	Frequência alélica dos polimorfismos em estudo de acordo com as variáveis recaída e óbito	117
Tabela S07	Sondas TaqMan utilizadas no estudo.....	128

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	25
2. REFERENCIAL TEÓRICO	28
2.1 História da leucemia	28
2.2 Leucemias	29
2.2.1 Leucemia linfoblástica aguda.....	30
2.2.2 Classificação.....	30
2.2.3 Epidemiologia	31
2.2.4 Tratamento	33
2.3 Fatores etiológicos	34
2.3.1 O Papel da Exposição Microbiana na Infância e a Hipótese Higiênica na Causalidade da Leucemia.....	35
2.3.2 A inflamação e o desenvolvimento do clone pré-leucêmico.....	36
2.4 Inflamassomas.....	39
2.4.1 Absent in melanoma 2 (AIM2)	41
2.4.2 Interferon gamma-inducible protein 16 (IFI16)	42
2.4.3 Caspase recruitment domain-containing protein (CARD8) e Caspase-1 (CASP1)	43
2.5 O papel dos inflamassomas no câncer	43
2.6 O papel do inflamassoma na leucemia.....	45
2.6.1 Efeitos pró-tumorigênicos	45
2.6.2 Efeitos anti-tumorigênicos	47
2.6.3 Polimorfismos em genes do complexo inflamassoma	47
3. OBJETIVOS	51
3.1 Objetivo geral.....	51
3.2 Objetivos específicos	51
4. MATERIAL E MÉTODOS	53

4.1 Fluxograma de trabalho	53
4.2 Modelo do estudo.....	53
4.3 Revisão Sistemática e Meta-análise.....	54
4.4 Aspectos éticos.....	54
4.5 Critérios de elegibilidade	54
4.5.1 Critérios de inclusão.....	54
4.5.2 Critérios de não inclusão	55
4.5.3 Critérios de exclusão	55
4.6 Coleta e processamento das amostras	55
4.7 Extração de ácido desoxirribonucleico	56
4.8 Genotipagem.....	56
4.9 Dosagem de citocinas	57
4.10 Coleta de dados.....	58
4.11 Análise estatística.....	58
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
5.1 Publicação de artigo 01 – Insights Regarding the Roles of Inflamassomes in Leukemia: What Do We Know?.....	60
5.2 Publicação de artigo 02 – Association of <i>IL1B</i> -511 polymorphism with the risk of hematologic malignancies: data from a meta-analysis	88
5.3 Publicação de Artigo 03 – Single-Nucleotide Variants no gene AIM2 - Ausente no Melanoma 2 (rs1103577) associado à proteção contra leucemia linfoblástica aguda na Amazônia Brasileira a ser submetido a Frontiers in Oncology (FI: 3.5)	108
6. CONCLUSÃO.....	135
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	138
8. ANEXOS.....	148
8.1 Apoio financeiro	148
8.2 Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).....	149
8.3 Artigos publicados da Tese.....	151

8.3.1 Publicação 01	151
8.3.2 Publicação 02	166
8.4 Artigos completos publicados em periódicos como primeiro autor no período do Doutorado	174
8.5 Artigos completos publicados em periódicos como coautor no período do Doutorado	177
8.6 Resumos publicados em anais de eventos no período do Doutorado	187

Introdução

1. INTRODUÇÃO

A leucemia linfóide aguda (LLA) é uma neoplasia hematopoiética caracterizada pela proliferação descontrolada de blastos na medula óssea (MO), podendo acometer órgãos como o fígado e o baço. No contexto mundial, a LLA é considerada o câncer que mais acomete crianças do sexo masculino e de cor parda representando 80% dos casos (1).

As leucemias (agudas e crônicas) representam o 11º câncer mais incidente no mundo. No Brasil, para cada ano do triênio 2023-2025, foram estimados 6.250 novos casos de leucemia (agudas e crônicas) em homens e 5.290 em mulheres (2). Em um estudo realizado no Estado do Amazonas, por SILVA-JÚNIOR et al (2019), foi demonstrado que a maioria dos pacientes com LLA atendidos na Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM) entre os anos de 2005-2015 eram do sexo masculino e pertenciam à faixa etária <10 anos de idade. Além disso, ao avaliar o número de casos por município, as cidades de Tefé e Maués destacaram-se nesse estudo (3). No ano de 2011, a capital Manaus apresentou um dos maiores índices de ocorrência da doença com 76,8 casos por milhão de habitantes (4), havendo em 2016 um aumento para 87,1 casos (5).

A LLA é considerada uma doença multifatorial desencadeada pela interação de fatores genéticos e ambientais. Entretanto, menos de 10% dos casos são atribuídos à hereditariedade (6). No geral, estima-se que fatores ambientais, dietéticos, infecções e alergias exerçam influência na etiologia da doença (7). Atualmente, a hipótese de Mel Greaves aponta para uma relação entre a desregulação do sistema imunológico frente a infecções e o desenvolvimento de LLA sendo baseado no tempo de exposição e na estimulação do sistema imunológico da criança (8,9). A presença de clones pré-leucêmicos com alterações genéticas antes do nascimento (Ex: *ETV6::RUNX1*) seguida da aquisição de novas mutações a partir de uma resposta inflamatória exacerbada a patógenos pode influenciar no desenvolvimento da doença (10,11).

O processo inflamatório pode ser desencadeado por diversos mecanismos imunológicos, dentre eles, a ativação da via interferon, dos *Toll like-receptors* (TLRs) e a formação de inflamassomas a partir da ativação de receptores do tipo NOD da imunidade inata, por exemplo (12). Os inflamassomas são complexos moleculares de alto peso molecular, formados no citoplasma em resposta a estímulos endógenos e exógenos

que promovem a ativação de caspases inflamatórias, bem como, o processamento e ativação das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e IL-18 (13).

Single-Nucleotide Variants (SNVs) em genes do complexo inflamassoma como *AIM2*, *CARD8*, *CASP1*, *CTSB*, *NLRP3*, *IL1B* e *IL18* causam, em sua maioria, a ativação desregulada e estão associados na literatura ao desenvolvimento de doenças autoinflamatórias, autoimunes e câncer (14). Estudos apontam que a ativação desregulada de inflamassomas no microambiente tumoral pode influenciar na suscetibilidade a novas alterações genéticas que contribuem para o desenvolvimento neoplásico, bem como, na progressão da doença através do aumento da secreção de citocinas pró-inflamatórias (15).

Uma vez que polimorfismos em genes desse complexo podem aumentar a secreção de IL-1 β e IL-18 e outros mediadores inflamatórios relacionados, torna-se necessário estudos que visem identificar o papel desses polimorfismos no desenvolvimento da doença e no prognóstico. É importante notar que, as crianças da Amazônia brasileira possuem um risco maior de desenvolvimento de LLA devido à alta predominância da ancestralidade ameríndia, o que já foi demonstrado em estudos anteriores envolvendo outros genes desse complexo. Portanto, o presente estudo visa caracterizar o papel dos SNVs em genes do complexo inflamassoma na regulação de genes alvo e na secreção de citocinas pró-inflamatórias em pacientes com LLA na região amazônica, especificamente no Estado do Amazonas, a fim de compreender o impacto na progressão e desfechos clínicos da doença, além de contribuir para a identificação de possíveis biomarcadores moleculares de prognóstico que futuramente poderão auxiliar na estratificação de grupos de risco e consequente diminuição das taxas de recaída.

Referencial teórico

2. REFERENCIAL TEÓRICO

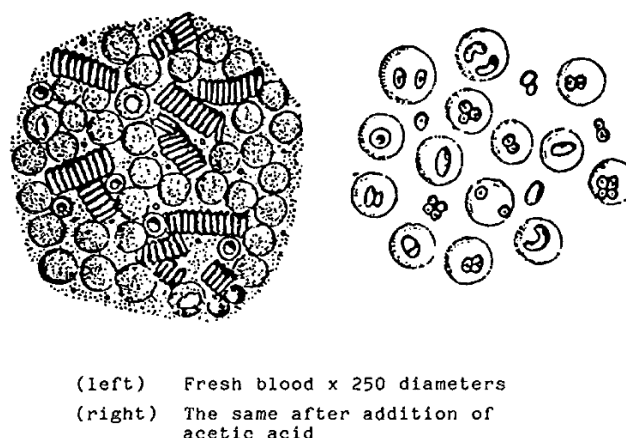
2.1 História da leucemia

No início do século XIX, na Europa, foram observadas alterações incomuns no sangue de diversos pacientes que evoluíam com rapidez ao óbito. O médico francês Alfred Velpeau, em 1827, descreveu o caso de uma senhora de 63 anos, que desenvolveu uma condição patológica caracterizada pelo aumento do volume do fígado e baço, além de fraqueza. Na autópsia, Velpeau descreveu o aspecto do sangue como “grosso como um mingau, de modo que não poderia se perguntar se não era um pus louvável do quê sangue”⁽¹⁶⁾. Em 1839, Alfred Donné, em Paris, ao analisar uma amostra de sangue de um paciente sob a mesma condição, notou que o excesso de glóbulos brancos se assemelhava a material purulento ou pus, associado na época à inflamação local^(17,18).

Posteriormente, Donné relatou muito mais sobre a leucemia: “Existem condições em que as células brancas parecem estar em excesso no sangue. Eu encontrei este fato tantas vezes, é tão evidente em certos pacientes, que eu não posso conceber a menor dúvida a este respeito [...] O sangue desse paciente mostrou um número tão grande de células brancas que eu pensei que seu sangue estava misturado com pus”. Desta forma, até meados do século XIX, a ideia de pus e inflamação perdurou sem compreensão científica⁽¹⁸⁾.

Em 1845, o médico patologista John Hughes Bennet, na Escócia, a partir do uso da microscopia clínica, observou que a alteração do sangue era independente da inflamação e que a transformação ocorria em todo o sistema sanguíneo, descrevendo assim pela primeira vez a leucemia como uma doença relacionada ao sangue de forma completa e científica. Na análise, ele observou grande quantidade de glóbulos brancos e diversidade morfológica (**Figura 01**), sendo as primeiras imagens de células do sangue de um paciente com leucemia^(19,20).

Figura 01. Aspecto microscópico do sangue observado por John Hughes Bennet



Fonte: Piller (2001)

Após seis semanas, o médico patologista Rudolf Virchow, em Berlim, ao analisar uma amostra de sangue no microscópio, observou baixa quantidade de glóbulos vermelhos em relação aos brancos, especificando outra vez que o excesso de células não se tratava de secreção purulenta, mas originária do sangue ⁽²¹⁾.

Em 1847, Virchow publicou um segundo caso e pela primeira vez usou o termo “*leukhemia*” do grego “*leukos*” = branco e “*heima*” = sangue, que significa “sangue branco”, referindo-se ao aumento de glóbulos brancos no sangue ⁽²²⁾. Em 1872, Ernst Neumann, ao realizar a autópsia de um paciente que morreu com leucemia, observou que a cor vermelha de aspecto normal da medula óssea transformara-se em “verde-amarelo sujo”, apontando assim que algo anormal na medula óssea era responsável pela doença ⁽²³⁾. No ano de 1850, o médico Henry Fuller, em Londres, descreveu o primeiro caso de leucemia infantil ⁽²⁰⁾.

2.2 Leucemias

As leucemias são um grupo heterogêneo de neoplasias caracterizadas pelo comprometimento de uma célula-tronco hematopoiética, distinguindo-se em quatro grandes grupos pela linhagem celular acometida, aspectos imunofenotípicos e clínicos, sendo assim classificadas em: leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia mieloide crônica (LMC), leucemia linfoblástica aguda (LLA) e leucemia linfóide crônica (LMC) ^(24,25).

2.2.1 Leucemia linfoblástica aguda

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é uma neoplasia hematopoiética de rápida evolução caracterizada pela proliferação clonal de linfócitos imaturos anormais na medula óssea, que pode acometer o sangue periférico (SP), sistema nervoso central (SNC) e órgãos extramedulares, como fígado e baço ⁽²⁶⁾.

A LLA é considerada o tipo de câncer mais comum em crianças e adolescentes, correspondendo a 1 de cada 3 casos. Embora afete todos os grupos etários, cerca de 85% dos casos acontecem em menores de 15 anos de idade e do gênero masculino. Além disso, apresenta um pico de incidência após os 50 anos ^(27,28).

As manifestações clínicas da LLA derivam do acúmulo de linfoblastos anormais na medula óssea e infiltração em outros órgãos, que comprometem a produção de hemácias, leucócitos e plaquetas, caracterizando assim, os primeiros sintomas da doença: fraqueza, anemia, infecções e hemorragias, além de aumento do fígado e baço, principalmente ⁽²⁹⁾.

2.2.2 Classificação

A LLA pode ser classificada de acordo com a linhagem celular envolvida (B, T ou NK) e maturação celular (aguda ou crônica), além de alterações genéticas e/ou moleculares. Em 1976, foi realizada a primeira classificação baseada em critérios morfológicos (tamanho celular, citoplasma, nucléolos, vacuolização e basofilia) pelo grupo Britânico-Americano-Francês (FAB) em L1, L2 e L3 ⁽³⁰⁾.

Ao longo dos anos, a Organização Mundial da Saúde (OMS) tem aperfeiçoado essa classificação, inserindo o perfil citogenético dos blastos leucêmicos em 1997 ⁽³¹⁾ e anormalidades genéticas recorrentes em 2008 ⁽³²⁾ e mais recentemente em 2022 ⁽²⁶⁾ (**Tabela 1**).

Tabela 1. Classificação da Leucemia Linfoblástica Aguda conforme a Organização Mundial da Saúde (OMS) 2022.

Linfoma/Leucemia linfoblástica-B
LLA-B com anormalidades genéticas recorrentes
LLA-B com t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR::ABL1</i> com envolvimento apenas linfoide com envolvimento de várias linhagens
LLA-B com t(v;11q23.3)/ <i>KMT2A</i> rearranjado
LLA-B com t(12;21)(p13.2;q22.1)/ <i>ETV6::RUNX1</i>
LLA-B, hiperdiploide
LLA-B, hipodiploide baixo
LLA-B, quase haploide
LLA-B com t(5;14)(q31.1;q32.3)/ <i>IL3::IGH</i>
LLA-B com t(1;19)(q23;p13.3)/ <i>TCF3::PBX1</i>
LLA-B, <i>BCR::ABL1-like</i> , classe <i>ABL-1</i> rearranjada
LLA-B, <i>BCR::ABL1-like</i> , <i>JAK-STAT</i> ativado
LLA-B, <i>BCR::ABL1-like</i> , NOS
LLA-B com <i>iAMP21</i>
LLA-B com <i>MYC</i> rearranjado
LLA-B com <i>DUX4</i> rearranjado
LLA-B com <i>MEF2D</i> rearranjado
LLA-B com <i>ZNF384(362)</i> rearranjado
LLA-B com <i>NUTM1</i> rearranjado
LLA-B com <i>HLF</i> rearranjado
LLA-B com <i>UBTF::ATXN7L3/PAN3, CDX2</i> (“ <i>CDX2/UBTF</i> ”)
LLA-B com <i>IKZF1 N159Y</i> mutado
LLA-B com <i>PAX5 P80R</i> mutado
Entidade provisória: LLA-B, <i>ETV6::RUNX1-like</i>
Entidade provisória: LLA-B com alteração <i>PAX5</i>
Entidade provisória: LLA-B com <i>ZEB2</i> (p.H1038R)/ <i>IGH::CEBPE</i>
Entidade provisória: LLA-B com <i>ZNF384</i> rearranjado-like
Entidade provisória: LLA-B com <i>KMT2A</i> rearranjado-like
LLA-B, NOS
Linfoma/Leucemia linfoblástica-T
Precursor de células T precoce LLA com <i>BCL11B</i> rearranjo
Precursor de células T precoce LLA, NOS
LLA-T, NOS
Entidade provisória: LLA-B de NK

Fonte: Adaptado de Arber (2022)

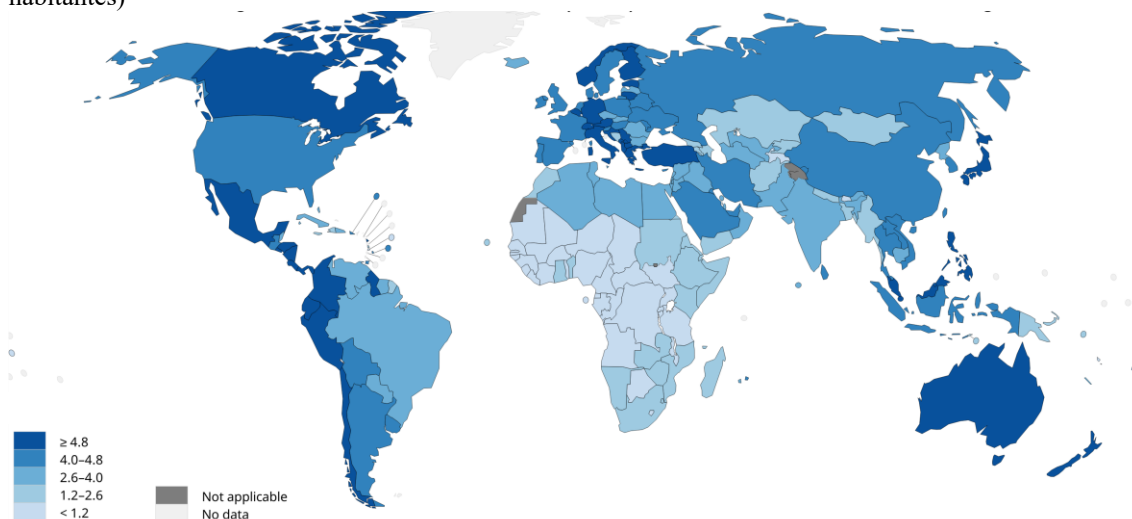
2.2.3 Epidemiologia

No contexto mundial, as leucemias agudas são o grupo de neoplasias hematopoiéticas mais incidente em crianças e adolescentes entre 0-19 anos, seguidas dos tumores no sistema nervoso central (SNC) e linfomas ^(33,34). De acordo com a *International Agency for Research in Cancer* (IARC), os países desenvolvidos da

Oceania, América do Norte e Europa destacam-se com as maiores taxas de incidência de leucemia (todos os subtipos) (**Figura 02**) ⁽³⁵⁾.

A diferença nas taxas entre países pode ser parcialmente atribuída ao acesso ao diagnóstico nos diferentes sistemas de saúde no mundo, bem como aos diferentes métodos utilizados. Além disso, as diferenças epidemiológicas na interação de fatores genéticos e ambientais podem explicar a disparidade das taxas de incidência ⁽³⁶⁾.

Figura 02. Taxas de incidência estimadas para leucemia, ambos os sexos, 0-19 anos (caso/100.000 habitantes)



Fonte: GLOBOCAN 2020. Disponível em: <http://gco.iarc.fr/today>.

No Brasil, sem considerar os tumores de pele não melanoma, a leucemia em homens é o sexto tipo de câncer mais frequente na Região Norte (4,53/100 mil habitantes) e em mulheres ocupa a sexta posição (3,64/100 mil habitantes) ⁽³⁷⁾. Entre os anos de 1997-2004, a capital Manaus apresentou a maior taxa de incidência ajustada por idade (AAIR) em ambos os sexos dos casos de leucemia pediátrica (76,8 casos/milhão de habitantes), seguida de Goiânia, Cuiabá e Curitiba ⁽³⁸⁾. Além disso, quando a AAIR foi avaliada em crianças menores de 5 anos de idade, Manaus foi considerada a terceira capital do país mais incidente para leucemia pediátrica entre 2001-2005 (87,19 casos/milhão de habitantes) ⁽³⁹⁾.

Em um estudo realizado por Silva-Júnior et al., (2019), no Estado do Amazonas, que buscou mapear os casos de leucemia entre os anos de 2005-2015, a maioria dos pacientes com LLA atendidos na Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do

Amazonas (HEMOAM), era do sexo masculino e pertencia à faixa etária <10 anos de idade. Além disso, os pacientes com 11-20 anos apresentaram duas vezes mais chance de ir a óbito ⁽³⁾.

A taxa de mortalidade de leucemias linfoides em ambos os sexos apresentou uma tendência crescente entre os anos de 2000-2018 em 14 estados brasileiros, onde na região Norte destacaram-se os estados do Amazonas (1,08%), Pará (0,88%) e Rondônia (0,67%) ⁽⁴⁰⁾. O Brasil possui grandes estados e, principalmente nas regiões com menor IDH (Índice de Desenvolvimento Humano), localizadas nas regiões Norte e Nordeste, o acesso ao diagnóstico e a falta de informação sobre as doenças atrasam o diagnóstico e o tratamento, além de influenciar na prevalência de óbitos nessas regiões ⁽⁴¹⁾.

2.2.4 Tratamento

O tratamento da LLA é composto por três fases denominadas: indução, consolidação e manutenção. O objetivo da indução é a obtenção do estado de remissão completa (RC), determinado por <5% de blastos e >25% de celularidade na medula óssea, características de uma medula saudável. A consolidação/intensificação tem por objetivo erradicar qualquer célula leucêmica remanescente e diminuir o risco de recaída. Por fim, a fase de manutenção é administrada, geralmente, em uma dose menor, para reduzir ainda mais o risco de recaída, com o objetivo de sobrevivência a longo prazo ⁽⁴²⁾.

O protocolo de tratamento internacional colaborativo para crianças e adolescentes, conhecido como BFM (*Berlin-Frankfurt-Munster*), é um dos mais utilizados mundialmente. Em 1993, no Brasil, foi criado o Protocolo do Grupo Brasileiro de Tratamento das Leucemias Infantis (GBTLI), que se encontra atualmente na versão 2009 ⁽⁴³⁾. Em ambos, o esquema terapêutico usado pode ser menos ou mais intenso a depender do subtipo de LLA e outros fatores prognósticos. No **Quadro 1**, estão demonstrados os principais fatores prognósticos utilizados na estratificação de risco.

Quadro 01. Fatores prognósticos para leucemia linfoblástica aguda (LLA) conforme o Protocolo do Grupo Brasileiro de Tratamento das Leucemias Infantis (GBTLI) 2009.

Crítérios	Baixo Risco	Alto Risco
Idade	> 1 ano e < 9 anos	< 1 ano e > 9 anos
Gênero	Feminino	Masculino
Leucócitos ao diagnóstico	< 50.000/mm ³	>50.000/mm ³
Imunofenótipo	Linhagem de Células B	Linhagem de Células T ou com coexpressão mieloide
Envolvimento do SNC	Não	Sim
Citogenética	<i>ETV6::RUNX,TCF3::PBX1</i> e Trissomia dos cromossomos 4, 10 ou 17	<i>BCR::ABL</i> , rearranjos do gene <i>MLL</i> e hipoploidia <46 cromossomos
Resposta ao tratamento	- SP ao D8 <1,000 blastos/μL - MO ao D15: M1 com DRM-CF <0,01% e ao D35 DRM-PCR <10 ⁻³	- SP ao D8 > 1,000 blastos/μL - MO ao D15: M3 e/ou MO M2/M3 ao D35 e/ou infiltração extramedular

Fonte: BRANDALISE (2010)

A terapia de indução tem duração de 35 dias, sendo considerada a principal fase do tratamento. Ao diagnóstico (D0), quinze dias após o diagnóstico (D15) e ao final da terapia de indução (D35), é realizada a coleta de medula óssea para identificação de blastos, avaliação da Doença Residual Mensurável (DRM), bem como estratificação de risco. Além disso, ao oitavo dia após o diagnóstico (D8), também é realizada uma estratificação levando em consideração apenas a contagem de leucócitos e blastos no sangue periférico ⁽⁴³⁾.

Esse esquema permite a identificação de um grupo de pacientes de alto risco de falha indutória que serão conduzidos a um esquema terapêutico mais agressivo, ao contrário dos com condições biológicas e clínicas que receberão uma terapia menos tóxica, o que, ao longo dos anos, contribuiu consideravelmente para a diminuição das taxas de recaída. É importante ressaltar que o Brasil apresenta a maior porcentagem de pacientes classificados como alto risco e a menor sobrevida global quando comparado à literatura internacional ⁽⁴⁴⁾.

2.3 Fatores etiológicos

Embora vários fatores ambientais, étnicos, socioeconômicos e biológicos tenham sido avaliados como potenciais contribuintes para a leucemogênese, as etiologias

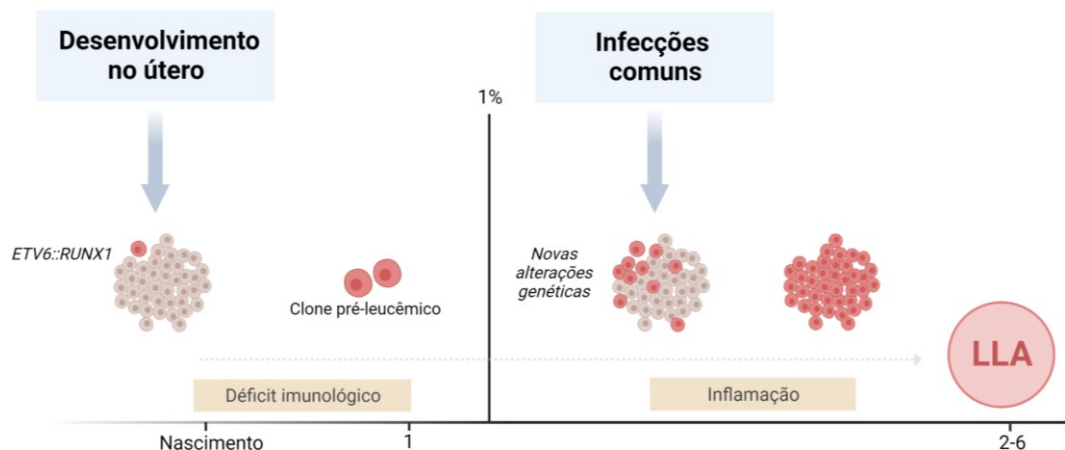
subjacentes da maioria dos casos de LLA pediátrica permanecem desconhecidas. Até o presente momento, a exposição à radiação ionizante e benzeno, infecção pelo vírus HTLV-I (*Human T-lymphotropic virus I*) e Epstein-Barr são fatores que podem contribuir para o desenvolvimento de algum tipo de leucemia, todavia, somente a radiação ionizante está intrinsecamente associada à LLA e LMA ⁽⁴⁵⁾.

2.3.1 O Papel da Exposição Microbiana na Infância e a Hipótese Higiênica na Causalidade da Leucemia

Há pelo menos um século, a presença de infecção em determinadas fases da vida é apontada como um possível mecanismo causal da leucemia, embora saibamos que não há um microrganismo específico associado ^(16,46). Todavia, a hipótese atual leva em consideração que o principal fator de risco para leucemia, na verdade, é o déficit de exposição microbiana na primeira infância, em vez de uma infecção específica, que leva a uma resposta imunológica desregulada nesse sistema “despreparado”. Essa ideia de que o desenvolvimento do sistema imunológico e a exposição a infecções podem contribuir para o desenvolvimento da LLA baseia-se na hipótese de Mel Greaves conhecida como “Hipótese Higiênica”, a qual sugere um modelo baseado no tempo de exposição e na estimulação do sistema imunológico da criança ^(8,9,47).

Greaves descreve esse modelo em dois *hits* (etapas), como pode ser observado na **Figura 03**. O primeiro *hit* seria a aquisição de uma alteração genética produzida no útero (Ex: *ETV6::RUNX1* ou hiperploidia), possivelmente no fígado fetal, que originaria uma célula pré-leucêmica. A partir da baixa estimulação do sistema imunológico na primeira infância ou deficiência de “*priming* imunológico”, a exposição a patógenos comuns, posteriormente, seria responsável pelo desencadeamento de uma resposta imunológica exacerbada nesse sistema “despreparado” e culminaria na indução de alterações genéticas secundárias (principalmente alterações no número de cópias) em pelo menos 1% das crianças com clones pré-leucêmicos ⁽¹⁰⁾.

Figura 03. O modelo de Mel Greaves baseado no sistema imunológico para o desenvolvimento da leucemia em crianças.



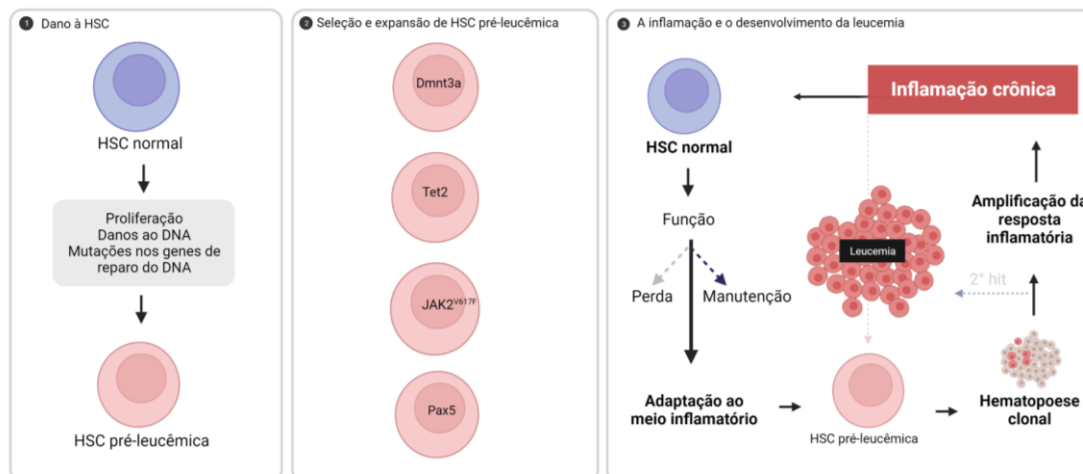
Fonte: Adaptado de GREAVES et al. (2018).

2.3.2 A inflamação e o desenvolvimento do clone pré-leucêmico

A inflamação é definida como uma resposta imune protetora à infecção e dano tecidual mediada por ação pró-inflamatória de citocinas, quimiocinas e células efetoras que orquestram uma resposta sistêmica e/ou local ⁽⁴⁸⁾. No microambiente medular, as *hematopoietic stem cells* (HSCs) são conhecidas como células-chave em respostas inflamatórias sistêmicas capazes de integrar estímulos inflamatórios em respostas celulares e estabelecer um eixo adaptado à demanda entre estresse periférico e resposta hematopoiética na medula óssea ⁽⁴⁹⁾.

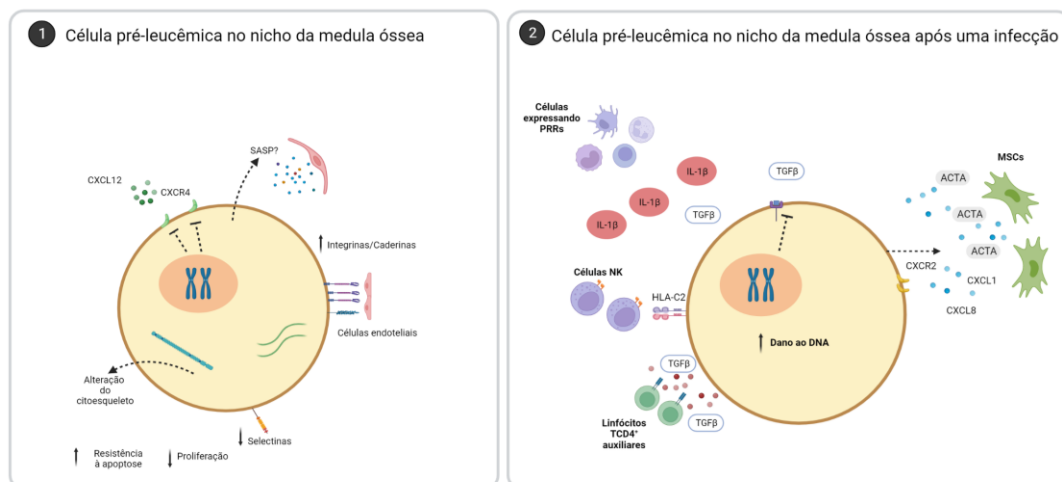
Embora seja importante para a manutenção no nicho hematopoiético, a inflamação pode contribuir para o surgimento de mutações e conferir vantagens seletivas para certos clones devido à exposição prolongada ⁽⁴⁸⁾. Na **Figura 04**, resumimos alguns mecanismos que sugerem que a pressão seletiva imposta por inflamação no *pool* de HSCs pode induzir mutações genéticas e selecionar clones mutantes adaptados à inflamação que podem, potencialmente, evoluir para leucemia ⁽⁴⁹⁾⁽⁵⁰⁾.

Figura 04. A inflamação e o desenvolvimento da leucemia.



Fonte: Adaptado de CAIADO et al. (2021).

Além de contribuir com a instabilidade genômica, a inflamação coopera com a prevenção da vigilância imunológica do tumor ⁽⁵¹⁾. O clone pré-leucêmico adquirido no primeiro *hit*, conforme descrito por Greaves, pode causar alterações no citoesqueleto, desregular a expressão de moléculas de adesão (como integrinas, caderinas e selectinas) e modificar a migração celular e as propriedades de adesão de células pré-leucêmicas, comprometendo o eixo CXCL12-CXCR4 e aumentando a capacidade de aderir a células endoteliais. Além disso, essas células podem ativar um fenótipo secretor associado a senescência (SASP) capaz de influenciar o microambiente circundante, estimulando a proliferação endotelial, por exemplo ⁽⁴⁹⁾⁽⁵²⁾. Na **Figura 05**, resumimos os efeitos do clone pré-leucêmico na medula óssea.

Figura 05. A célula pré-leucêmica no nicho da medula óssea

Fonte: Adaptado de RATAJCZAK et al. (2020)

Já no segundo *hit*, estudos demonstram que as citocinas pró-inflamatórias IL-6, TNF- α e IL-1 β , secretadas em resposta a infecções por células que expressam receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), como os *Toll-like* receptor e inflamassomas, cooperam com células estromais mesenquimais (MSCs) para criar um nicho favorável para células pré-leucêmicas, predispondo-as à transformação maligna através do aumento do dano ao DNA ⁽⁵²⁾. Nesse contexto, as MSCs secretam ligantes CXCR2 (por exemplo, CXCL1 e CXCL8), atraindo células pré-leucêmicas (Ex: *ETV6::RUNX1*+) de maneira dependente de CXCR2 e Ativina (AcTA), um membro da família TGF- β ⁽⁵³⁾.

Em estudos anteriores, as células pré-leucêmicas mostraram sensibilidade reduzida à inibição da proliferação mediada por TGF- β e Ativina A. Além disso, foi proposto que as células T auxiliares (Th) podem contribuir para o crescimento e a sobrevivência de células pré-leucêmicas, também por meio da liberação de citocinas, incluindo TGF β ⁽⁵⁴⁾. A ligação do HLA-C2 à ativação de receptores do tipo imunoglobulina killer (KIRs) nas células Natural Killer (NK) também torna hiporresponsivas, facilitando assim o escape imunológico e o desenvolvimento de leucemia ⁽⁵⁵⁾.

As células tumorais também podem secretar substâncias que contribuem para a sobrevivência do clone. Num modelo pré-leucêmico murino, as MSCs desreguladas foram capazes de liberar DAMPs S100A8/9 para induzir disfunção mitocondrial, estresse oxidativo e danos ao DNA em HSCs e promover a transformação maligna ⁽⁵⁶⁾. No caso da LLA-B, foi demonstrado que as próprias células leucêmicas têm a capacidade de

produzir e secretar fatores inflamatórios, incluindo TNF- α , IL-1 β e IL-12, contribuindo assim para a criação de um microambiente pró-inflamatório que pode ser prejudicial para a hematopoiese normal a longo prazo ⁽⁵⁷⁾.

Como parte do sistema de vigilância imunológica, várias vias imunes inatas interagem com componentes liberados por células tumorais. Um importante mediador envolvido nesse processo é a ativação de complexos inflamassomas. Os inflamassomas são reguladores críticos da imunidade inata que desempenham papéis duplos na tumorigênese. Por um lado, eles promovem o crescimento e a metástase ao contribuir para um microambiente imunossupressor, enquanto, por outro, estimulam a proliferação de células tumorais ⁽⁵⁸⁾.

2.4 Inflamassomas

Os inflamassomas são complexos proteicos oligoméricos que se formam no citosol após a detecção de Padrões Moleculares Associados a Patógenos (PAMPs) ou Padrões Moleculares Associados ao Dano (DAMPs). Embora existam diferenças fundamentais entre inflamassomas dependentes de estímulos, em geral, os inflamassomas canônicos têm como principal função recrutar o zimogênio inativo pró-caspase-1, que após ativado será responsável pela maturação e secreção das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e IL-18, além de induzir o processo de morte celular denominado piroptose pela clivagem da gasdermina D (GSDMD) ⁽¹³⁾.

A maioria dos inflamassomas canônicos é formado por sensores citosólicos, um componente adaptador e um componente efetor, como a caspase-1, -4 e -5 em humanos e a caspase-4 em murinos. Os componentes do sensor, os quais os nomes dos inflamassomas são frequentemente designados, detectam PAMPs e DAMPs e recrutam adaptadores, que por sua vez recrutam e ativam as caspases. A proteína adaptadora mais comum é denominada ASC (*apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD*).

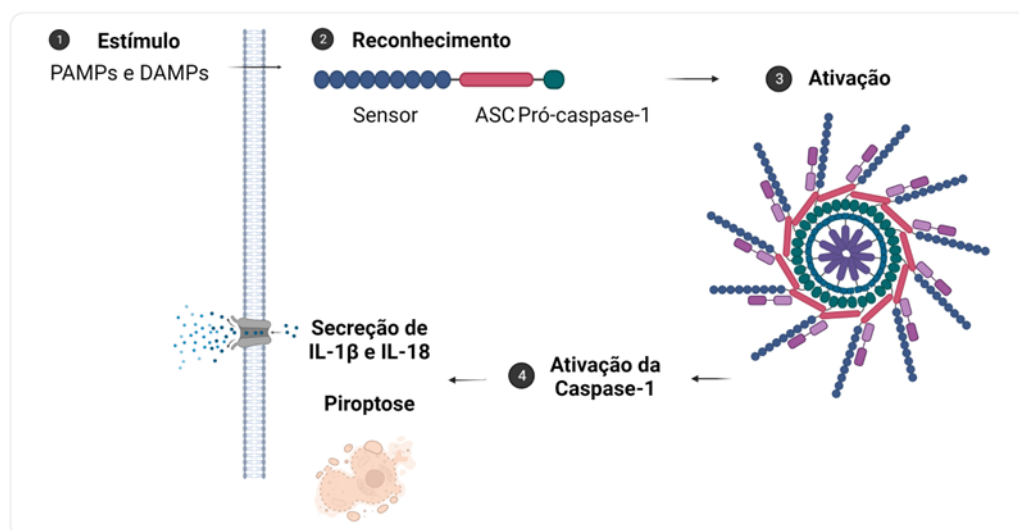
Os inflamassomas canônicos podem ser formados a partir da ativação de duas famílias de moléculas sensoras: receptores semelhantes a NOD (NLRs) e receptores semelhantes a AIM2 (ALRs). O genoma humano codifica 22 proteínas citosólicas pertencentes à família dos NLRs, mas apenas NLRP1, NLRP3, NLRP6, NLRP7, NLRP12 e o complexo NLRC4 são capazes de montar seus respectivos inflamassomas

⁽⁵⁹⁾. Já AIM2 (*Absent in Melanoma 2*) e IFI16 (*Interferon Gamma Inducible Protein 16*) pertencem à família PYHIN (*PYD-like and HIN domain-containing proteins*) e são responsáveis pelo reconhecimento de DNA citosólico ^(60–62).

Os sensores NLRs (exceto NLRP1) possuem um domínio C-terminal rico em repetições de leucina (LRR), que são responsáveis pelo reconhecimento de um ligante, similar ao domínio rico em leucina dos TLRs. Além disso, possuem um domínio central de ligação a nucleotídeos (NACHT ou NBD), responsável pela oligomerização do receptor após sua ativação, e um domínio efetor PYD na porção N-terminal, o qual desencadeia a função efetora do receptor recrutando proteínas para formar complexos de sinalização. A proteína adaptadora ASC é constituída pelos domínios PYD e CARD, atuando no recrutamento da pró-caspase-1 através de interações homotípicas dos domínios CARD-CARD. A interação entre as pró-caspases resulta na formação do complexo que induz sua ativação por autoproteólise ^(63–67).

Um exemplo da montagem do inflamassoma pode ser observado na **Figura 06**. A montagem do complexo inflamassoma ativa a caspase-1 por autoproteólise, que então cliva as citocinas precursoras IL-1 β e IL-18 em suas formas maduras. Além disso, a caspase-1 ativa pode induzir piroptose, uma forma inflamatória de morte celular, ao clivar a gasdermina D (GSDMD). A clivagem da GSDMD libera seu domínio N-terminal, que forma poros na membrana plasmática, resultando em desequilíbrios osmóticos, inchaço celular, perda da integridade da membrana e ruptura celular ⁽⁶⁸⁾.

Figura 06. Estrutura e ativação da ativação canônica do inflamassoma.



Fonte: Adaptado de ZHENG et al. (2020)

Além dos inflamassomas canônicos, existe uma via não canônica na qual as caspases-11 e -4 detectam diretamente o lipopolissacarídeo citosólico (LPS) de bactérias Gram-negativas. As caspases-11 e -4 ativas, assim como a caspase-1, clivam a GSDMD para induzir piroptose. Durante a piroptose, as citocinas IL-1β e IL-18 são liberadas no espaço extracelular, desencadeando uma forte resposta inflamatória ao ativar o eixo IL-1R/IL-18R-MyD88-NFκB ⁽⁶⁸⁾. DAMPs e alarminas, como HMGB1 e IL-1α, liberados durante a piroptose, também amplificam a resposta inflamatória ^(69,70).

2.4.1 Absent in melanoma 2 (AIM2)

O inflamassoma AIM2 é um membro da família ALRs responsável pela detecção de DNA no citosol, sendo um mecanismo crítico na defesa do hospedeiro contra infecções bacterianas e virais ⁽⁷¹⁾. O AIM2 foi identificado pela primeira vez como um gene que estava ausente em linhas de células de melanoma e, desde então, sua função permaneceu desconhecida por mais de uma década até que estudos o descobriam como um receptor citosólico para DNA fita dupla (dsDNA). Sendo assim, o AIM2 se tornou o primeiro membro da família de proteínas ALR a ser caracterizado ⁽⁷²⁾.

O AIM2 é expresso no citosol, onde pode se ligar diretamente ao dsDNA microbiano e ao próprio de maneira independente de sequência. A ligação do DNA ao AIM2 ativa a montagem do complexo inflamassoma AIM2 canônico, como descrito anteriormente. Atualmente, o mecanismo exato de como a ligação do DNA ao domínio

HIN leva ao recrutamento de ASC por meio do domínio PYD não está claro. Um modelo sugere que, uma vez que o dsDNA se liga ao domínio HIN, ocorre uma mudança conformacional, e o domínio PYD é deslocado do domínio HIN e se torna acessível ao domínio PYD do ASC. Além disso, o complexo AIM2-ASC também demonstrou ativar a caspase-8, levando à apoptose ^(73,74).

O inflamassoma é ativado em resposta a vários tipos de estresse celular, como irradiação, quebra da membrana nuclear e danos ao DNA ⁽⁷⁵⁾. Embora a capacidade do AIM2 de reconhecer DNA de várias espécies de patógenos seja benéfica para o hospedeiro, a falta de especificidade de sequência não permite a distinção entre DNA microbiano e DNA próprio. Portanto, a ativação do AIM2 em resposta ao DNA próprio tem implicações importantes na autoimunidade ⁽⁷⁶⁾.

2.4.2 Interferon gamma-inducible protein 16 (IFI16)

IFI16 foi originalmente identificado como uma proteína antiproliferativa e de resposta a danos no DNA no núcleo ⁽⁷⁷⁾. Posteriormente, foi reconhecido como receptor de dsDNA citosólico que induz a produção de interferon ⁽⁷⁸⁾ e, mais recentemente como formador de inflamassomas que detectam vírus de DNA que se replicam no núcleo ⁽⁷⁹⁾.

IFI16 é caracterizado pela presença de dois domínios HIN e um domínio de pirina (PYD) em seu domínio N-terminal. A expressão da proteína IFI16 é predominantemente nuclear (tanto no nucléolo quanto no nucleoplasma), citoplasma ou ambos ⁽⁸⁰⁾. Essa arquitetura proteica única coloca IFI16 em uma posição para cumprir diversas funções dentro do sistema imunológico. O complexo IFI16-ASC é formado quando a proteína IFI16 interage com o ASC por meio do PYD. O N-terminal da proteína possui um domínio PYD, o que sugere que ela participa da via apoptótica controlando a atividade de fatores de transcrição relacionados à morte celular no núcleo ⁽⁸¹⁾⁽⁸²⁾.

Estudos demonstram que IFI16- β , uma variação de mRNA humano de IFI16, inibe o inflamassoma AIM2 ⁽⁸³⁾. Os mecanismos pelos quais um hospedeiro usa AIM2 e IFI16 de diversas maneiras para combater infecções ainda requerem mais explicações. No geral, o IFI16 é crucial na defesa do hospedeiro contra infecções virais, como *human immunodeficiency virus* (HIV) e *herpes simplex virus* (HSV). O IFI16 serve como um sensor de DNA para induzir a produção de IFN tipo I ⁽⁷⁸⁾, e coopera com o *Cyclic GMP-AMP synthase* (cGAS) na detecção de DNA ^(84,85).

2.4.3 Caspase recruitment domain-containing protein (CARD8) e Caspase-1 (CASP1)

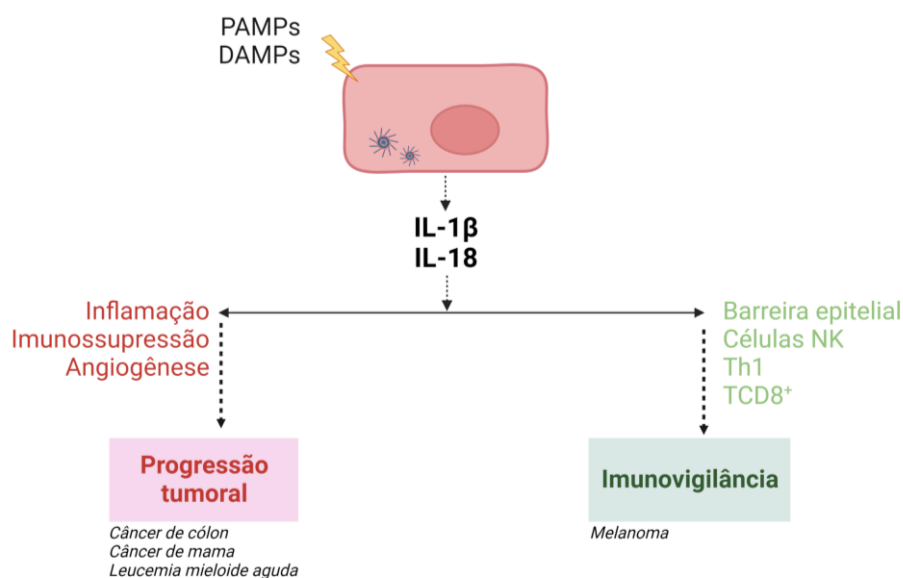
CARD8 e CASP1 são componentes da formação do complexo inflamassoma. CARD8 é responsável pela sinalização envolvida na regulação da caspase-1 e ativação de NF-kappaB. A proteína 8 contendo domínio de recrutamento de caspase (CARD8) é um membro da família CARD composta de um domínio de função N-terminal para encontrar (FIIND) e um domínio CARD C-terminal ⁽⁸⁶⁾.

Recentemente, o CARD8 se juntou ao grupo de sensores do inflamassoma. O CARD8 e o NLRP1 são ativados pela atividade da protease viral visando sua região amino-terminal, todavia, a ativação de CARD8 ocorre independentemente da proteína adaptadora ASC, levando principalmente à piroptose em vez da ativação e secreção de citocinas pró-inflamatórias. CARD8 também demonstrou ter atividade anti-inflamatória e antiapoptótica. CARD8 é capaz de inibir várias proteínas envolvidas na inflamação e morte celular, como o sensor de inflamassoma NLRP3, proteínas caspase-1 e -9 contendo CARD, domínio de oligomerização de ligação de nucleotídeo contendo 2 (NOD2) e fator nuclear kappa B (NF-κB) ⁽⁸⁷⁾.

2.5 O papel dos inflamassomas no câncer

Estudos têm demonstrado que os inflamassomas regulam a patogênese de uma variedade de doenças, incluindo obesidade, diabetes, aterosclerose, gota e colite ulcerosa ⁽⁸⁸⁾. Notavelmente, a sinalização do inflamassoma está envolvida em praticamente todos os aspectos do desenvolvimento do tumor, atuando em funções supressoras de tumor ou pró-tumorigênicas ⁽⁸⁹⁾. Na **Figura 07**, é possível observar alguns mecanismos pró- e anti-tumorigênicos dos inflamassomas na tumorigênese.

Figura 07. O papel dinâmico do inflamassoma no desenvolvimento do câncer.



Fonte: Adaptado de KANTONO et al. (2020)

O inflamassoma pode contribuir para a tumorigênese através da manutenção do inflamatório crônico, o qual é frequentemente mediado pela ação da citocina IL-1 β . No TME, as principais células que produzem IL-1 β são macrófagos associados ao tumor (TAMs) e fibroblastos associados ao câncer (CAFs) ⁽⁵⁸⁾. De uma forma geral, no câncer, a IL-1 β mediada pela ativação de inflamassoma é responsável pelo i) aumento da proliferação de células malignas, ii) recrutamento de células supressoras derivadas mieloide (MDSCs) para o TME que promovem imunossupressão, iii) indução da expressão de moléculas de adesão nas células endoteliais e iv) produção da citocina tumorigênica IL-22 pelos linfócitos TCD4⁺ ⁽⁹⁰⁾.

O desenvolvimento do tumor depende do equilíbrio entre sua capacidade de escapar da imunovigilância e das respostas imunes antitumorais. As citocinas IL-18 e IL-1 β dependente de inflamassoma desempenham um papel central no antitumoral imunidade. No TME, de uma forma geral, a ativação do inflamassoma pode i) suprimir a proliferação celular e promover a homeostase tecidual e diferenciação celular, ii) contribuir para a atividade antitumoral através da ativação das células NK e linfócitos TCD8⁺ mediado pela citocina IL-18, ii) aumentar a eficácia dos inibidores de *checkpoint* e iv) amplificar a resposta anti-tumoral através do reconhecimento de vários DAMPs e moléculas imunoestimulantes que são liberados durante a da piroptose ⁽⁵⁸⁾.

Como os sensores do inflamassoma regulam várias vias de sinalização, é essencial compreender os mecanismos moleculares governados por eles em neoplasias específicas. Além disso, as propriedades pró-tumorigênicas e antitumorigênicas dos inflamassomas são amplamente determinadas pelos tipos de células, tecidos e órgãos envolvidos. Logo, a relação entre inflamassomas e câncer fornece um caminho promissor para explorar novas terapias antineoplásicas ⁽⁹¹⁾.

2.6 O papel do inflamassoma na leucemia

2.6.1 Efeitos pró-tumorigênicos

Embora o papel do inflamassoma esteja bem descrito para alguns tipos de câncer, como cólon e melanoma, nas leucemias ainda são poucos os trabalhos que descrevem os mecanismos de promoção neoplásica na doença. Na LLA, o *NLRP3* e *ASC* estão superexpressos em amostras de diagnóstico ⁽⁹²⁾ e recaída ⁽⁹³⁾. Em células leucêmicas linfóides resistentes a glicocorticoides, há diminuição da metilação do promotor *CASP1* e do *NLRP3*, o que resulta em transcrição aumentada, ativação constitutiva de NLRP3 e clivagem do receptor de glicocorticoide mediada por caspase-1, sendo essa a primeira linha de tratamento da doença.

Ainda, sob a ação de quimioterápicos, pela primeira vez foi demonstrado a ativação de NLRP3 em células LLA-B primárias humanas. A indução de células LLA-B com doxorrubicina levou a um aumento da transcrição de *NLRP3* e *CASP1* e consequente aumento da produção da citocina IL-1 β quando comparado ao controle ⁽⁹⁴⁾.

Em relação à IL-1 β , seu papel ainda é controverso na LLA. Um aumento de 40 vezes na expressão do gene da *ILB* foi observado em blastos de LLA-B cultivados com fatores de crescimento hematopoiéticos (57), todavia, a baixa expressão do mesmo foi associada com menor taxa de sobrevida e sobrevida livre de eventos, sendo considerado como preditor de recaída ⁽⁹⁵⁾.

A expressão do gene *NLRP1* é ausente em células hematopoiéticas blásticas CD34⁺ enquanto durante a diferenciação dessas, este é expresso em granulócitos. Na medula óssea de pacientes com LMA, o gene *NLRP1* está superexpresso, sendo dependente da proteína CREB para atividade transcricional. Quando a expressão de uma forma dominante negativa de CREB foi utilizada, observou-se redução da expressão

NLRP1. Logo, a regulação de *NLRP1* pela via CREB em células mieloides pode contribuir para modular a resposta dessas células aos estímulos inflamatórios ⁽⁹⁶⁾.

Na LMA, foi demonstrado em modelo murino que a presença da mutação *KrasG12D* é responsável pela ativação de *NLRP3* através da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) pela via Kras-RAC. Além disso, a deleção de *NLRP3* foi responsável pela redução da proliferação de blastos LMA e restauração da hematopoiese normal ⁽⁹⁷⁾. A HMGB1, um importante DAMP liberado durante o processo inflamatório, parece estar envolvida diretamente na ativação de *NLRP3* e contribui para a progressão da LMA via o eixo HMGB1/*NLRP3*/IL-1 β ⁽⁹⁸⁾.

Em amostras de LMA *de novo*, foi observado um aumento da expressão de *NLRP3* quando comparado aos controles e pacientes em remissão, sendo correlacionado com o aumento da expressão de AHR (*Aryl hydrocarbon receptor*). O AHR está envolvido na modulação do sistema imune, especificamente na diferenciação de linfócitos T auxiliares. Nesse estudo, também se observou um desequilíbrio das subpopulações de linfócitos T auxiliares com aumento do perfil Th22 e diminuição de Th1 em pacientes LMA *de novo*, o que nos leva a pensar que *NLRP3* juntamente com AHR podem cooperar para o desenvolvimento da LMA e influenciar na diferenciação de linfócitos T ⁽⁹⁹⁾.

Na LLC, o silenciamento do gene *NLRP3* aumentou a expressão de P2X7R e promoveu crescimento celular. Pelo contrário, a superexpressão de *NLRP3* induziu à apoptose ⁽¹⁰⁰⁾. Logo, a expressão *NLRP3* parece regular negativamente o receptor de P2X7 (P2X7R), inibir a proliferação de células LLC e induzir à apoptose, sendo um importante promissor de alvos terapêuticos.

Na LMC, o inflamassoma *NLRP1* parece desenvolver um importante papel. Em modelo *in vitro*, o *NLRP1* é expresso em níveis elevados nas células K562 ⁽⁹⁶⁾ e, em pacientes com LMC, foi associado com a resistência à Imatinib ⁽¹⁰¹⁾. Além disso, a proteína IRE1 α , um sensor de estresse do retículo endoplasmático envolvido na progressão da LMA, pode aumentar a expressão de *NLRP1* na LMC. Em células primárias de pacientes com LMC, foi observada uma superexpressão de *IRE1 α* e *NLRP1* que levou à proliferação celular e inibição da apoptose. Além disso, a inibição dessa via levou à sensibilização de células LMC à apoptose mediada por Imatinib ⁽¹⁰¹⁾.

2.6.2 Efeitos anti-tumorigênicos

A atividade anti-tumoral dos inflamassomas pode variar a depender do tipo celular que está sendo ativado e de interações com células do TME. Na LMA, o *knockout* de NLRP3 em células leucêmicas *in vivo* foi capaz de diminuir a proliferação de blastos na medula óssea, fígado e baço através da neutralização da citocina IL-1 β ⁽⁹⁹⁾. Logo, a regulação da atividade do inflamassoma NLRP3, especialmente com foco na IL-1 β , pode contribuir para uma nova abordagem de terapia na LMA.

No TME da LMA, os linfócitos do perfil Th1 e IFN- γ estão regulados negativamente. Em um estudo realizado, a ativação de NLRP3 em macrófagos derivados da medula óssea (BMDMs) promoveu a diferenciação de TCD4⁺ no perfil Th1 através da secreção de IL-1 β . Logo, elevados níveis de células Th1 promoveram a apoptose e inibiram a proliferação de células leucêmicas via secreção de IFN- γ *in vitro* e *in vivo* ⁽¹⁰²⁾. Desta forma, os BMDMs ativados por NLRP3 promovem a proliferação de células Th1 produtoras de IFN- γ com efeitos anti-leucêmicos e podem fornecer informações sobre a base da imunoterapia para leucemia em pacientes com LMA.

Já na LLC, foi observado um aumento da expressão de *NLRP3* com capacidade de inibir a proliferação celular e induzir as células LLC à apoptose ⁽¹⁰⁰⁾. Enquanto na LMC, os níveis de *NLRP3* e *IL1B* foram significativamente diminuídos, todavia, devido à escassez de estudos, não é possível ainda afirmar quais os mecanismos anti-leucêmicos da ativação dos inflamassomas na doença ⁽¹⁰³⁾.

2.6.3 Polimorfismos em genes do complexo inflamassoma

O *Genome Wide Association (GWA)* tem identificado variações germinativas que são frequentes, entretanto demonstram baixa penetrância. Estas são em sua maioria *Single-Nucleotide Variants (SNVs)*, os quais cumulativamente podem fornecer um alto risco para o desenvolvimento da LLA ⁽¹⁰⁴⁾. SNV é uma variação de um único nucleotídeo na sequência de DNA da linhagem germinativa que está presente em pelo menos 1% da população ⁽¹⁰⁵⁾.

Embora esses alelos de risco individualmente produzam um menor efeito e possam ter um significado clínico limitado, em conjunto, eles podem aumentar em até

nove vezes o aumento do risco de leucemia com alelos de risco em múltiplos genes em comparação com indivíduos sem alelos de risco. Os genes envolvidos incluem *IKZF1*, *CDKN2A*, *PIP4K2A*, *LHPP*, *ELK3*, *GATA3*, *ARID5B*, *CEBPE*, *MYC*, *ERG* e *TP63*, sendo alguns desses associados a subtipos distintos de LLA ⁽¹⁰⁶⁾.

No Brasil, o *background* genético da população é caracterizado principalmente pela população europeia, africana e nativa americana ⁽¹⁰⁷⁾. A população da Região Amazônica, localizada principalmente na região Norte (80%), possuem um alto grau de miscigenação interétnica devido ao intenso processo de miscigenação ocorrido na região e à forte influência indígena. Nessa região, a ascendência nativa sul-americana é predominantemente encontrada na população ⁽¹⁰⁸⁾.

Estudos relatam que as crianças com mistura de ancestralidade possuem maior risco de desenvolver LLA devido à existência de polimorfismos *INDEL* característicos dos Nativos Sul-Americanos. Uma associação entre polimorfismos do tipo *INDEL* investigados nos genes *CASP8*, *CYP19A1* e *XRCC1* no desenvolvimento de LLA de células B foi encontrada em pacientes pediátricos do Estado do Pará ⁽¹⁰⁹⁾. Além disso, um estudo realizado por ⁽¹¹⁰⁾ demonstrou uma associação com o polimorfismo *IL1B* -511 C>T com o desenvolvimento de LLA em pacientes pediátricos da região amazônica.

Polimorfismos envolvendo genes do complexo inflamassoma podem estar associados com o desenvolvimento de tumores, doenças inflamatórias e autoimunes, todavia, seu papel ainda é pouco caracterizado nas neoplasias hematológicas, com escassos estudos descritos na literatura ^(111,112). Na **Tabela 02**, podemos observar os achados dos polimorfismos em genes do complexo inflamassoma nas leucemias.

Tabela 02. Efeito funcional dos polimorfismos de nucleotídeo único nos genes do complexo inflamassoma nas leucemias.

Gene	Variação	rs	Efeito	Principais Achados	Ref.
<i>NLRP1</i>	c.464 A>T p.L155H	rs12150220	Aumento do processamento de IL-1 β ; Aumento da expressão de <i>NLRP1</i>	Proteção contra doenças infecciosas em pacientes pediátricos com LLA da Amazônia Brasileira	(91)
<i>NLRP3</i>	c.2113 C>A p. Q705K	rs35829419	Aumento da produção de IL-1 β e IL-18	Risco de LMA na população asiática	(92)
	N/A	rs4353135		Risco de LLA na população asiática	(93)
<i>P2X7</i>	A>C p. Glu496Ala	rs3751143	Perda de função	Maior sobrevida livre de eventos em pacientes com LLC na Suécia	(94)
<i>IL1B</i>	c. -511 C>T	rs16944	Aumento da transcrição de IL-1 β	Risco de desenvolvimento de LLA em crianças da Amazônia brasileira	(91)
				Aumento da transcrição de <i>NLRP3</i> e <i>ASC</i> na LLA na população asiática	(95)
				Citogenética de bom prognóstico na LMA	(92)
				Aumento do risco de LLA em crianças asiáticas	(93)
<i>IL18</i>	c. -137 G>C	rs187238	Aumento da transcrição de IL-18	Risco de LLC na Turquia	(97)
	c. -607 C>A	rs1946518		Aumento da secreção de IL-18 na LLA na população asiática	(98)
				Risco de LLA pediátrica na população asiática	(93)

Objetivos

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Investigar o impacto dos polimorfismos nos genes do complexo inflamassoma *AIM2 rs1103577*, *IFI16 rs1633266*, *CARD8 rs2043211* e *CASP1 rs570685* na suscetibilidade, prognóstico e secreção de citocinas em pacientes leucemia linfoblástica aguda e controles atendidos na Fundação HEMOAM;

3.2 Objetivos específicos

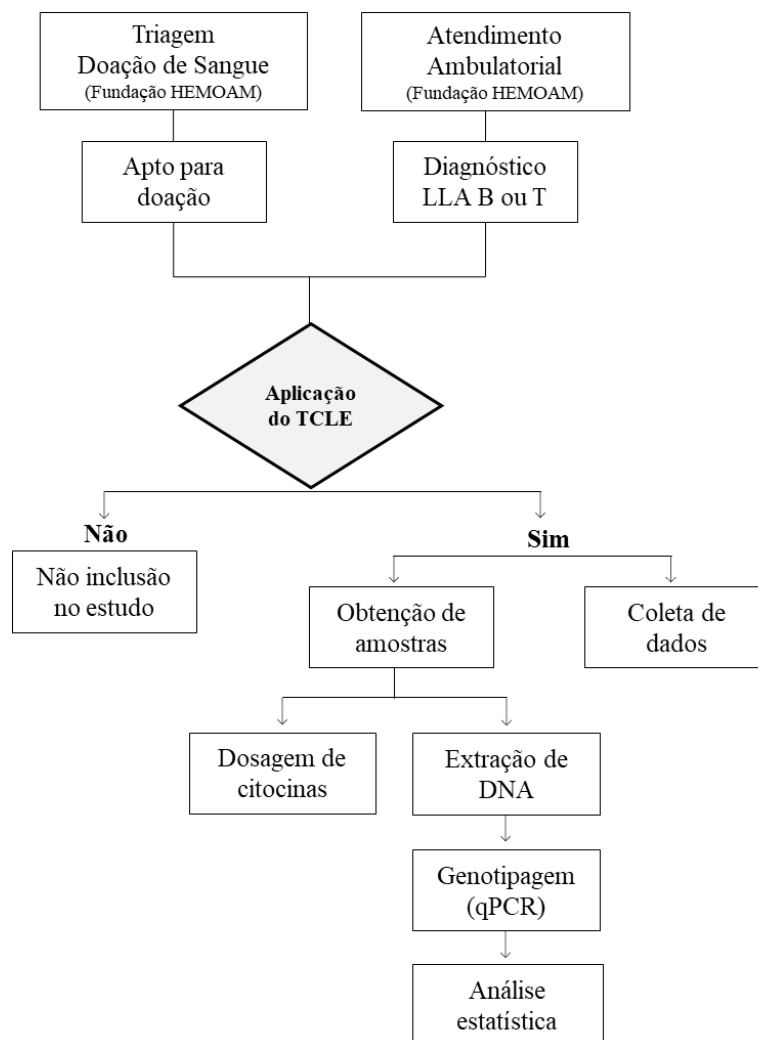
- Realizar uma revisão bibliográfica e sistemática do papel dos polimorfismos nos genes do complexo inflamassoma nas leucemias;
- Estimar a frequência alélica e genotípica dos polimorfismos em estudo em pacientes com leucemia linfoblástica aguda e controles;
- Investigar a associação entre os polimorfismos em estudo quanto ao risco ou proteção para o desenvolvimento da leucemia linfoblástica aguda;
- Avaliar a concentração de IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF na medula óssea e sangue periférico de pacientes com leucemia linfoblástica aguda e controles e se estes estão relacionados com os genótipos dos polimorfismos selecionados para o estudo;
- Avaliar a concentração de IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF na medula óssea e sangue periférico de pacientes com leucemia linfoblástica aguda para recaída e óbito e se estes estão relacionados com os genótipos dos polimorfismos selecionados para o estudo;

Material e Métodos

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Fluxograma de trabalho

Figura 08. Fluxograma de trabalho.



4.2 Modelo do estudo

Trata-se de um estudo caso-controle e longitudinal a fim de caracterizar o papel dos polimorfismos nos genes *AIM2* rs1103577, *IFI16* rs1633266, *CARD8* rs2043211 e *CASP1* rs570685 em pacientes com leucemia linfoblástica aguda diagnosticados na Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM) e controles.

4.3 Revisão Sistemática e Meta-análise

Foi realizada uma revisão sistemática a fim de avaliar a associação do polimorfismo *IL1B* -511 C>T com o risco de neoplasias hematológicas, conforme as diretrizes recomendadas pelo PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) ⁽¹²⁰⁾. Nas plataformas de banco de dados eletrônicos (*PubMed*, *Web of Science* e *Google Acadêmico*), serão pesquisadas as seguintes palavras-chave combinadas ou *medical subject headings* (MeSH): “polymorphism”, “rs16944”, “inflammasome” and “cancer”. Não houve restrição de idioma na busca estratégica e todos os estudos publicados antes de 30 de novembro de 2022 foram incluídos. Além disso, os estudos foram incluídos conforme os seguintes critérios: *i*) estudos que avaliem a associação entre o polimorfismo *IL1B* -511 C>T (rs16944) e o risco de alguma neoplasia hematológica; *ii*) estudos do tipo caso-controle e *iii*) estudos com dados de genótipo para ambos os grupos caso e controle. Serão excluídos estudos duplicados ou sem dados de genótipos.

4.4 Aspectos éticos

Esse projeto faz parte de um projeto maior intitulado “*Biomarcadores celulares e moleculares envolvidos na resposta imunológica de pacientes com Leucemia Linfoblástica Aguda: Novas abordagens aplicadas ao diagnóstico, prognóstico e terapêutica*”, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (CEP-HEMOAM) sob o seguinte número de parecer 4.982.395 em 17/09/2021.

4.5 Critérios de elegibilidade

4.5.1 Critérios de inclusão

a) Ensaio de genotipagem

Pacientes: Foram incluídos através de demanda espontânea indivíduos que procuraram atendimento na Fundação HEMOAM e foram diagnosticados com LLA-B e -T, de faixa etária geral, de ambos os sexos e não aparentados, durante o período de setembro de 2021 a junho de 2024. Além disso, foram incluídas amostras retrospectivas de DNA de pacientes com LLA do Biorrepositório BCM-LLA da Fundação HEMOAM.

Controles: Foram incluídos no grupo controle através de demanda espontânea 205 doadores de sangue da Fundação HEMOAM que concordaram em participar da pesquisa, de ambos os sexos e não aparentados, durante o período de setembro de 2021 a junho de 2024. Além disso, foram incluídas amostras retrospectivas de DNA e plasma de doadores de sangue do Biorrepositório BCM-LLA da Fundação HEMOAM.

b) Ensaio para dosagem de citocinas

Pacientes: Foram incluídos 81 pacientes com LLA da nossa população de estudo que possuíam amostras viáveis e dados de genotipagem para todos os SNVs em estudo.

Controles: Foram incluídos 61 indivíduos saudáveis da nossa população de estudo que possuíam amostras viáveis e dados de genotipagem para todos os SNVs em estudo.

4.5.2 Critérios de não inclusão

Não foram incluídos no estudo pacientes com leucemia bifenotípica, histórico de transplante de medula óssea e aparentados.

4.5.3 Critérios de exclusão

Pacientes que durante o decorrer do estudo realizaram transplante de medula óssea e foram diagnosticados com outra neoplasia hematológica, foram sendo excluídos do estudo.

4.6 Coleta e processamento das amostras

Após consentimento em participar da pesquisa, foram coletados aproximadamente 2 mL de aspirado de sangue periférico e medula óssea (procedimento de rotina para esses pacientes) ao diagnóstico (D0) pela equipe multidisciplinar da Fundação HEMOAM. As amostras foram centrifugadas e o plasma foi armazenado a -80°C até o momento da dosagem de citocinas.

4.7 Extração de ácido desoxirribonucleico

A extração de DNA (sangue periférico) foi realizada por meio do kit *PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific)*, seguindo as recomendações do fabricante. Após a extração, os ácidos nucleicos estão sendo avaliados por leituras a 260 nm com o espectrofotômetro NanoDrop™ 2000/2000c (*Thermo Scientific™*). Foi considerada uma unidade de Densidade Ótica (DO) como equivalente a 50 ng/μL de DNA. A absorbância de 260/280 (faixa de absorção de proteínas) e 260/230 (faixa de absorção de compostos orgânicos, açúcares, ureia e sais) foram utilizadas para avaliar a pureza dos ácidos nucleicos.

4.8 Genotipagem

Os SNVs foram selecionados a partir de estudos previamente publicados em neoplasias hematológicas e bancos de dados públicos (*HapMap* e *SNPbrower*) com MAF > 0,3. No **Quadro 02**, estão descritas as informações dos SNVs em estudo.

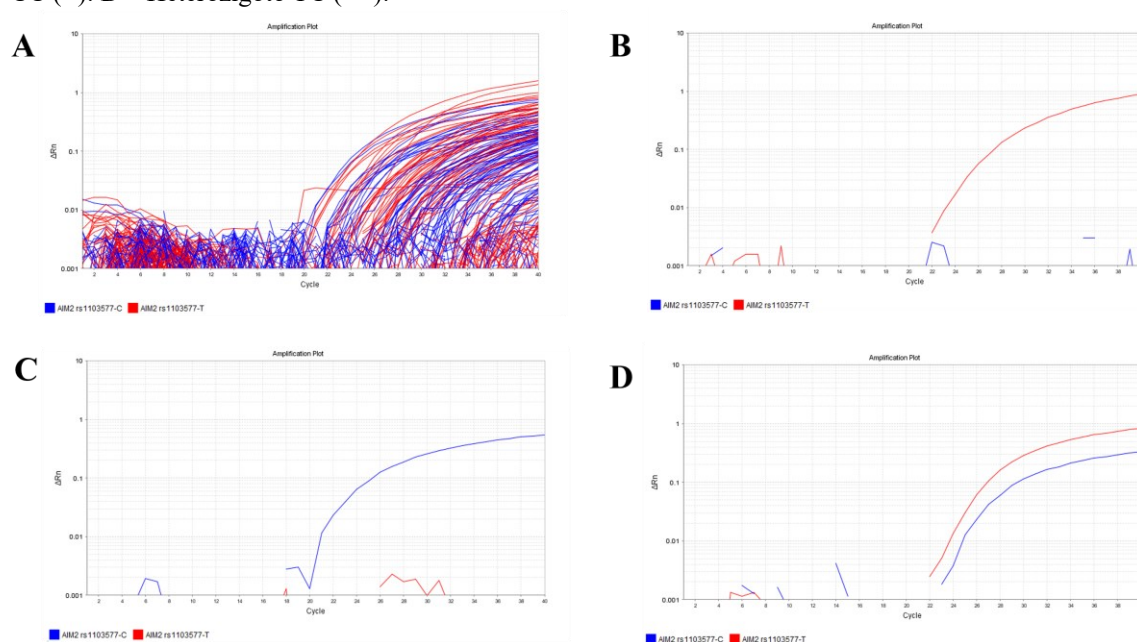
Quadro 02. Informações dos polimorfismos selecionados para o estudo.

Gene	SNV ID	Localização cromossômica	Tipo de variante	MAF Global	VIC/FAM	ID ensaio
<i>AIM2</i>	rs1103577	Chr1:159130525	<i>intron</i>	0,50	T/C	C#341888_10
<i>IF16</i>	rs1633266	Chr1:159036187	<i>intron</i>	0,49	C/T	C#7478866_10
<i>CARD8</i>	rs2043211	Chr19:48234449	<i>Stop Gained</i>	0,50	A/T	C#962600_10
<i>CASPI</i>	rs570685	Chr11:105033257	<i>intron</i>	0,50	A/C	C#11708080_1_

A genotipagem dos polimorfismos foi realizada através da técnica de *Real-Time Quantitative PCR* (qPCR) em equipamento *StepOnePlus Real-Time PCR System* utilizando sondas fluorescentes de hidrólise *TaqMan* alelo-específicas. As reações foram realizadas em microplacas de 96 poços com 1.375 μL de água ultrapura, 2,5μL do *Genotyping Master Mix* (20x), 0,125μL de ensaio *TaqMan®* (40x) e 1μL (100 ng/μL) de DNA genômico com volume final de 5μL. A amplificação das sequências de interesse está sendo realizada sob as seguintes condições: 60°C por 30 segundos, 95°C por 10 minutos, 40 ciclos a 92°C por 15 segundos, 40 ciclos a 60°C por 90 segundos e 60°C por 30 segundos.

Para cada reação, foi incluído um controle negativo contendo todos os reagentes descritos anteriormente, com exceção do DNA, a fim de garantir ausência de contaminação. A interpretação dos resultados foi realizada com o *StepOnePlus Real-Time PCR System Software v.2.3*, a partir da curva de amplificação gerada com os fluoróforos VIC e FAM. Os genótipos foram classificados em homozigoto para o alelo normal, homozigoto para o alelo polimórfico ou heterozigoto. Na **Figura 09**, demonstramos um exemplo de resultado de genotipagem com a curva de amplificação.

Figura 09. Exemplo curva de amplificação gerada para o polimorfismo no gene *AIM2* rs1103577 T>C. **A** – Curvas de amplificação de 96 amostras. **B** - Homozigoto selvagem TT (■). **C** – Homozigoto polimórfico CC (■). **D** – Heterozigoto TC (■ ■).



4.9 Dosagem de citocinas

A dosagem das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF em amostras de plasma dos controles (sangue periférico) e pacientes com LLA ao D0 (medula óssea e sangue periférico) foi realizada pela técnica de *Cytometric Bead Array (CBA)*, utilizando o kit BD™ *Human Inflammatory Cytokine* (Biosciences, San Diego, CA, USA), conforme as recomendações do fabricante. As amostras foram adquiridas no citômetro de fluxo FACSCantoII (BD® Biosciences, San Jose, CA, EUA) e o software *FCAP Array v3* (Soft Flow Inc., EUA) foi usado para determinar as concentrações em pg/mL e Intensidade Média de Fluorescência (MFI) de cada citocina.

4.10 Coleta de dados

Os dados foram coletados através de busca em prontuários da Fundação HEMOAM através do setor de atendimento médico e estatístico (SAME), sistema iDoctor e setor de estatística, sendo eles: dados sociodemográficos (Idade, gênero, procedência), laboratoriais (hemograma e imunofenótipo) e clínicos (protocolo de tratamento, grupo de risco ao D0 e recaída pós-indução, óbito). Nesse estudo, consideramos como recaída pós-indução o resultado de mielograma ao D35 como M2 ($> 5\%$ de blastos e $<25\%$ de celularidade) e M3 ($> 10\%$ de blastos) e levamos em consideração os óbitos ocorridos até a finalização desse estudo.

4.11 Análise estatística

Os dados foram tabulados e armazenados em planilhas digitais no *software Microsoft Excel®*, cujos materiais e sua completude foram apresentados em tabelas. Todas as variáveis numéricas foram expressas por mediana e intervalo interquartil. As variáveis categóricas foram expressas por valor absoluto (n) e frequência relativa (%).

A análise alélica foi realizada usando um teste exato de Fisher e as associações entre as frequências alélicas/genotípicas entre os pacientes de acordo com a recidiva e óbito foram examinadas sob quatro modelos genéticos: codominante, dominante, recessivo e sobredominante, usando o pacote “*SNPassoc*” versão 2.1.0 (<https://cran.r-project.org/web/packages/SNPassoc/index.html>) para o *software R* versão 4.4.0 (www.r-project.org). O melhor modelo genético foi utilizado conforme o critério de informação de Akaike (AIC). O equilíbrio de *Hardy-Weinberg* (HW) foi determinado para todos os SNVs. A correção de Bonferroni para múltiplos testes foi realizada e o valor de p ajustado foi destacado em caracteres itálicos e em negrito. Os resultados foram mostrados como razão de chances (OR) e intervalos de confiança de 95% (IC de 95%) de análises de regressão logística multivariada. Para evitar potenciais fatores de confusão, valores de OR ajustados (OR_{adj}) para idade e sexo foram fornecidos.

Para comparar múltiplas médias de concentrações de citocina, o teste de variância não paramétrico ANOVA (*Kruskal-Wallis*) seguido do teste post-hoc de Dunn ajustado para múltiplas comparações foram utilizados. Um valor de p menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

Resultados e Discussão

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Publicação de artigo 01 – Insights Regarding the Roles of Inflamassomes in Leukemia: What Do We Know?

Nesta revisão bibliográfica, publicada no *Journal of Immunology Research* (doi: 10.1155/2023/5584492, Fator de Impacto: 4.493), resumimos o conhecimento atual sobre mecanismos genéticos e moleculares do inflamassoma no desenvolvimento da leucemia e propusemos uma nova visão de possíveis contribuições e mecanismos do inflamassoma na doença. Diante de várias terapias visando o inflamassoma atualmente em desenvolvimento clínico, esperamos que este estudo possa aumentar nossa compreensão da complexidade da relação entre inflamação e leucemogênese e sirva como base para estudos promissores no campo da oncohematologia.

Insights of inflammasome role in leukemia: what do we know?

Fabíola Silva Alves-Hanna^{1,2}, Juniel Assis Crespo-Neto¹, Glenda Menezes Nogueira^{2,3}, Daniele Sá Pereira², Amanda Barros Lima^{1,2}, Thaís Lohana Pereira Ribeiro^{2,3}, Vitória Giovanna Rodrigues Santos², Joey Ramone Ferreira Fonseca², Fábio Magalhães-Gama^{2,4}, Allyson Guimarães Costa^{1,2,3,4,5*}

1. Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil;

2. Diretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, AM, Brazil;

3. Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, AM, Brazil;

4. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Instituto René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ-Minas), Belo Horizonte, MG, Brazil;

5. Escola de Enfermagem de Manaus, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil;

***Autor correspondente:** Escola de Enfermagem de Manaus (EEM), Rua Terezina, 495, Adrianópolis, CEP: 69057-070, Manaus, AM, Brazil. Phone: +55 (92) 98153-5233. E-mail: allyson.gui.costa@gmail.com.

Resumo

A inflamação é um mecanismo fisiológico da resposta imune com importante papel na manutenção do nicho de células hematopoiéticas na medula óssea. Durante esse processo, observa-se a participação de moléculas produzidas por células da imunidade inata em resposta a uma variedade de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e padrões moleculares associados ao dano (DAMPs). No entanto, a inflamação crônica está intrinsecamente associada com a leucemogênese, criando um ambiente inflamatório com exposição das células-tronco hematopoiéticas (HSCs) e gerando células com mutações. Vários fatores influenciam na transformação maligna dentro do microambiente hematopoiético, tendo os inflamassomas um papel crucial nesse processo, além de atuar na regulação da hematopoiese e sua homeostase. Os inflamassomas são complexos multiméricos intracelulares responsáveis pela secreção e maturação das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e IL-18 e pelo processo de morte celular denominado piroptose. Logo, uma desregulação da ativação desses complexos pode ser um fator para o desencadeamento de várias doenças, inclusive as leucemias, o que tem sido objeto de vários estudos na área. Nesta revisão, nós resumimos o atual conhecimento da inflamação mediando a leucemogênese, em particular, o papel dos inflamassomas nos diferentes tipos de leucemias, descrevendo, ao final, potenciais alvos terapêuticos direcionados aos inflamassomas no contexto leucêmico.

Palavras-chave: Inflamassoma, Polimorfismo, Interleukin-1 β , Interleukin-18, leucemia.

Introdução

As leucemias são um grupo heterogêneo de neoplasias com um amplo espectro clínico caracterizadas pelo comprometimento de uma célula-tronco hematopoiética e bloqueio da diferenciação em várias etapas do processo de maturação, sendo assim divididas em: leucemia mieloblástica aguda (LMA), leucemia mieloblástica crônica (LMC), leucemia linfoblástica aguda (LLA) e leucemia linfoblástica crônica (LMC) ⁽¹⁾. As taxas de incidência para leucemias diferem entre os subgrupos, onde nas leucemias crônicas há uma tendência de aumento de casos em indivíduos de faixas etárias adultas. Logo, a LLA é a mais incidente em pacientes pediátricos (< 15 anos), embora tenha um pico depois dos 50 anos. Por outro lado, os outros subtipos (LLC, LMC e LMA) ocorrem com mais frequência em adultos acima de 65 anos ⁽²⁾.

A inflamação crônica já foi descrita como um fator-chave para o desenvolvimento de leucemia e outras neoplasias hematológicas, uma vez que limita a proliferação de células-tronco hematopoiéticas (HSCs) normais e contribui para o crescimento de células com mutações ⁽³⁾. Dessa forma, estudos descrevem que vários fatores intrínsecos e extrínsecos influenciam na transformação maligna dentro do microambiente inflamatório. Os fatores intrínsecos englobam principalmente alterações genéticas em vias de sinalização celular que regulam a inflamação (como NF- κ B). Enquanto os fatores extrínsecos incluem as vias inflamatórias ativadas pelo microambiente da medula óssea e incluem quimiocinas, citocinas e moléculas de adesão ⁽⁴⁾.

Nos últimos anos, estudos destacaram um importante papel dos inflamassomas na homeostase hematopoiética através da regulação dos processos de manutenção e diferenciação de HSCs e senescência ⁽⁵⁾. Os inflamassomas são complexos multiméricos intracelulares formados durante a resposta imune sistêmica e inflamação, tendo como principais funções a secreção das citocinas interleucina-1 β (IL-1 β) e interleucina-18 (IL-18), além do processo de induzir a morte celular denominada piroptose por meio da ativação da caspase-1. A secreção de IL-1 β também é responsável por estimular outras citocinas inflamatórias como, por exemplo, IL-1 α , fator de necrose tumoral (TNF)- α e IL-6, amplificando a cascata inflamatória ⁽⁶⁾.

A exposição crônica das HSCs à IL-1 β pode levar ao comprometimento do nicho hematopoiético, exaustão das HSCs e falha na regeneração ⁽⁷⁾. Nas leucemias, observa-se uma superprodução das citocinas IL-1 β e de outras citocinas inflamatórias como TNF- α e IL-6 ^(8,9), o que pode estar associado a progressão tumoral. Atualmente, o papel dos inflamassomas está bem elucidado em alguns tumores sólidos, como no câncer de cólon ⁽¹⁰⁾, todavia, nas leucemias, seu papel ainda é bastante controverso. Tendo em vista isso, nós realizamos uma revisão aprofundada da literatura e resumimos os principais achados dos inflamassomas nas leucemias, a fim de servir de base para o direcionamento de alvos terapêuticos baseados em componentes dos inflamassomas que possam auxiliar os pacientes com leucemia.

Inflamassomas

Os inflamassomas são complexos proteicos oligoméricos que se formam no citosol após a detecção de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e padrões moleculares associados ao dano (DAMPs). Embora existam diferenças fundamentais entre inflamassomas dependentes de estímulos, em geral, os inflamassomas têm como principal função recrutar o zimogênio inativo pró-caspase-1, que após ativado será responsável pela maturação e secreção das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e IL-18, além de induzir o processo de morte celular denominado piroptose ⁽¹¹⁾.

Estes são formados por sensores citosólicos, um componente adaptador e um componente efetor, como a caspase-1, -4 e -5 em humanos e a caspase-11 em murinos. Os componentes do sensor, os quais os nomes dos inflamassomas são frequentemente designados, detectam PAMPs e DAMPs, além de recrutarem adaptadores, que por sua vez recrutam e ativam as caspases. A montagem da plataforma do inflamassoma é um processo crítico e bem-organizado que envolve várias partes principais, como: os sensores que reconhecem os sinais de ativação, moléculas adaptadoras, sendo a mais comum a ASC (*apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD*) e a molécula efetora caspase-1 ⁽¹²⁾.

Os inflamassomas canônicos podem ser formados após a ativação de duas famílias de moléculas sensores: receptores semelhantes a NOD (NLRs) e receptores semelhantes a AIM2 (ALRs). O genoma humano codifica 22 proteínas citosólicas pertencentes à família dos NLRs, mas apenas NLRP1, NLRP3, NLRP6, NLRP7, NLRP12 e o complexo NAIP/NLRC4 são capazes de montar seus respectivos

inflamassomas ⁽¹³⁾. Já AIM2 (*Absent in Melanoma 2*) e IFI16 (*Interferon Gamma Inducible Protein 16*) pertencem à família PYHIN (*PYD-like and HIN domain-containing proteins*) ⁽¹⁴⁻¹⁶⁾.

Os sensores NLRs (exceto NLRP1) possuem um domínio C-terminal rico em repetições de leucina (LRR), que são responsáveis pelo reconhecimento de um ligante, similar ao domínio rico em leucina dos *Toll-like receptors* (TLRs). Além disso, possuem um domínio central de ligação a nucleotídeos (NACHT ou NBD), responsável pela oligomerização do receptor após sua ativação, e um domínio efetor PYD na porção N-terminal, o qual desencadeia a função efetora do receptor recrutando proteínas para formar complexos de sinalização.

O NLRP1 (*NOD-like receptors, pyrin-domain-containing proteins 1*) é formado por um domínio interno FIIND (*function-to-find domain*) e um domínio CARD na região C-terminal. O NLRC4 (*NLR family CARD domain-containing protein 4-like*) possui um domínio CARD na porção N-terminal ^(14,17), enquanto, os sensores AIM2 e IFI16 possuem um domínio efetor PYD N-terminal e um domínio HIN200 (*hematopoietic interferon inducible nuclear - antigen with 200 amino-acid repeat*) C-terminal, responsável por reconhecer o ligante ^(18,19).

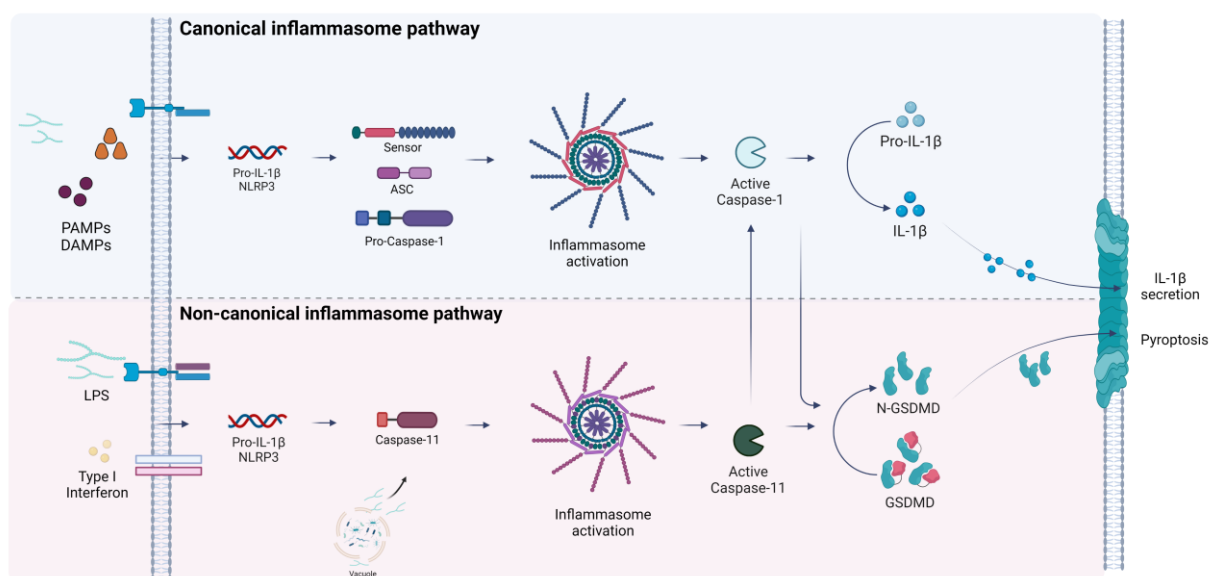
A proteína adaptadora ASC é constituída pelos domínios PYD e CARD, atuando no recrutamento da pró-caspase-1 através de interações homotípicas dos domínios CARD-CARD. A interação entre as pró-caspases resulta na formação do complexo que induz sua ativação por autoproteólise ⁽²⁰⁻²⁴⁾. Classicamente, a ativação canônica do inflamassoma é iniciada por dois tipos de sinais e regulada nos níveis transcricional e pós-traducional. O “Sinal 1” é o sinal de iniciação e está associado à ativação da via TLR/NF- κ B ou espécies reativas de oxigênio (ROS) derivadas da mitocôndria que ativam a via de sinalização TLR4/MyD88. O “sinal 2” pode ser induzido por vários estímulos, incluindo PAMPs, DAMPs, trifosfato de adenosina (ATP) e cristais de ácido úrico ⁽⁵⁾.

Após a formação do complexo, a oligomerização das proteínas pró-caspase-1 induz sua clivagem autoproteolítica em caspase-1 ativada. Quando ativada, a caspase-1 (subunidades p20/p10) cliva as formas precursoras inativas de pró-IL-1 β e pró-IL-18, levando à maturação das citocinas IL-1 β e IL-18. Além disso, a ativação de caspase-1 também pode causar morte celular denominada de piroptose, por meio da ativação da proteína gasdermina-D que se deposita na membrana celular. Esse processo é

caracterizado pelo inchaço das células, perda da integridade da membrana plasmática e liberação de mediadores inflamatórios devido a formação de poros na membrana ^(25,26).

Embora a via final comum da ativação do inflamassoma canônico envolva o recrutamento de caspase-1 em resposta a múltiplos PAMPs e DAMPs, o inflamassoma não canônico sinaliza independentemente da caspase-1. Na via não canônica, o sensor reconhece diretamente o LPS intracelular de bactérias gram-negativas através do domínio CARD das caspases -4 e -5 (em humanos) e caspase-11 (em camundongos). No entanto, até o momento ainda faltam evidências convincentes do envolvimento dessas caspases no processo de maturação e clivagem das citocinas pró-IL-1 β e pró-IL-18, sendo esta função específica da caspase-1. Portanto, nessa via, observa-se somente a clivagem de gasdermina-D, sendo suficiente para promover a lise celular e ativar a via canônica do inflamassoma ⁽¹²⁾. Na **Figura 10**, é possível observar de forma resumida as vias de ativação do inflamassoma.

Figura 10. Visão geral das vias de ativação do inflamassoma.



Legenda: Após o reconhecimento de PAMPs ou DAMPs pelos sensores, ocorre a oligomerização do complexo que induz a clivagem da pró-caspase-1 em caspase-1 ativada. Quando ativada, a caspase-1 cliva as formas precursoras inativas pró-IL-1 β e pró-IL-18, levando à maturação e secreção das citocinas IL-1 β e IL-18 para o meio extracelular. Além disso, também ocorre a clivagem de gasdermina-D que se deposita na membrana celular, levando à formação de poros e causando um processo de morte celular denominado piroptose. Na via não canônica, o sensor reconhece diretamente o LPS citosólico e, por meio da oligomerização, ativa as caspases -4 e -5 (em humanos) e caspase-11 (em camundongos) responsáveis pela clivagem de gasdermina-D e morte celular. AIM2, interferon-inducible protein AIM2; DAMPs, damage-associated molecular patterns; GSDMD, gasdermin-D; LPS, lipopolysaccharide; N-GSDMD, amino-terminal cell death domain; NLRC4, NLR Family CARD Domain Containing 4; NLRP1, NOD-like receptor protein 1; NLRP3, NOD-like receptor protein 3; PAMPs, pathogen-associated molecular pattern molecules.

O papel do inflamassoma na regulação da hematopoese

As células hematopoiéticas normais são organizadas hierarquicamente por um pool de células-tronco quiescentes e pluripotentes com capacidade de autorrenovação, responsáveis pela geração de células sanguíneas maduras. Esse processo é regulado pela coordenação simultânea de diversos mecanismos internos e externos dentro do nicho osteoblástico (ou endósteo) e vascular ⁽²⁷⁾.

O nicho osteoblástico, composto por osteoblastos, células nervosas e macrófagos, contribui para a manutenção do estado de quiescência das células-tronco a longo prazo. Ao mesmo tempo, os componentes do nicho vascular, como células endoteliais (EC), células estromais mesenquimais (MSC) e megacariócitos, suportam a manutenção, proliferação, diferenciação e mobilização ⁽²⁷⁾. Esses nichos são regulados por uma ampla variedade de hormônios glicoproteicos, incluindo o fator de células-tronco (SCF), fator estimulador de colônias de granulócitos-macrófagos (GM-CSF), trombopoietina e IL-3 ⁽²⁸⁾. Além disso, durante uma crescente demanda por reabastecimento de células mieloides de curta duração durante um processo inflamatório, há uma enorme quantidade de estresse proliferativo no sistema hematopoiético para geração de novas células ^(29,30).

Para iniciar as respostas hematopoiéticas características, as células-tronco hematopoiéticas e progenitoras (HSPCs) são ativadas por meio de mecanismos diretos ou indiretos. De forma direta, as HSPCs podem ser ativadas por meio dos receptores do tipo Toll expressos em sua superfície, células endoteliais, osteoblastos e células-tronco mesenquimais (MSCs) ^(31–33). A ativação indireta de HSPCs é mediada principalmente pelas moléculas pró-inflamatórias secretadas pelas células imunes inatas ativadas. Além disso, estudos apontam que o inflamassoma está envolvido em diferentes estágios da hematopoiese e vários tipos de seus componentes demonstraram contribuir para a manutenção e diferenciação das HSPCs ⁽⁵⁾. Tanto a regulação positiva quanto negativa das proteínas do inflamassoma podem levar a alterações fisiológicas na homeostase, sugerindo que sua ativação pode ser necessária para preservar cuidadosamente a hematopoiese ⁽⁵⁾.

O inflamassoma NLRP1 desempenha um papel fisiológico nas células HSPCs, levando à diferenciação mieloide por meio do fator de transcrição GATA-1, e sua deleção é responsável pela diminuição da linhagem mieloide e aumento da linhagem eritroide ⁽³⁴⁾.

Sob influência da radiação, o inflamassoma AIM2 é responsável por mediar a morte de HSPCs e causar aplasia medular em camundongos. Do contrário, sua deleção resulta em isenção da falha hematopoiética induzida por radiação, pois AIM2 atua como um sensor de DNA de fita dupla que medeia a morte celular em resposta a dano de DNA induzido por radiação ⁽³⁵⁾. Concomitante a isso, a exposição à radiação ionizante foi responsável pelo aumento dos níveis de NLRP3 em células THP-1 e elevação dos níveis de ROS ⁽³⁶⁾. Além disso, a sinalização de IL-1 β mediada por inflamassoma NLRP3 em macrófagos sob estresse metabólico parece contribuir para o aumento da produção de HSPCs ⁽³⁷⁾. A regulação positiva de NLRP12, limita funcionalmente a apoptose de HSPC induzida por TNF, todavia, quando há deleção de NLRP12, há apoptose de HSPC, bem como reconstituição imune periférica defeituosa. Logo, a mielopoiese e a reconstituição das células imunes é acelerada pela superexpressão de NLRP12 ⁽³⁸⁾.

O papel fisiológico dos inflamassomas na mediação das linhagens mielóide e linfóide já está comprovado. Todavia, o aumento da demanda de células imunes durante o processo inflamatório pode contribuir para a cronicidade de doenças inflamatórias, especialmente em doenças metabólicas crônicas ⁽³⁸⁾. Além disso, a adaptação de HSPCs à inflamação também provou ser um evento crítico durante a resposta do hospedeiro à infecção, estresse ou inflamação estéril no desenvolvimento de doenças ⁽³⁹⁾. Nota-se ainda que a ativação do inflamassoma induz a morte celular via piroptose e secreção de IL-1 β e IL-18, mediada principalmente pela ativação de caspase-1. Além disso, o acúmulo de mutações somáticas no DNA de células hematopoiéticas resulta em vantagens proliferativas, levando à expansão clonal de HSPCs aberrantes. A combinação dessas alterações patológicas comumente ocorre no sistema hematopoiético e, em última análise, constitui a base de vários tipos de doenças hematológicas ⁽⁴⁰⁾.

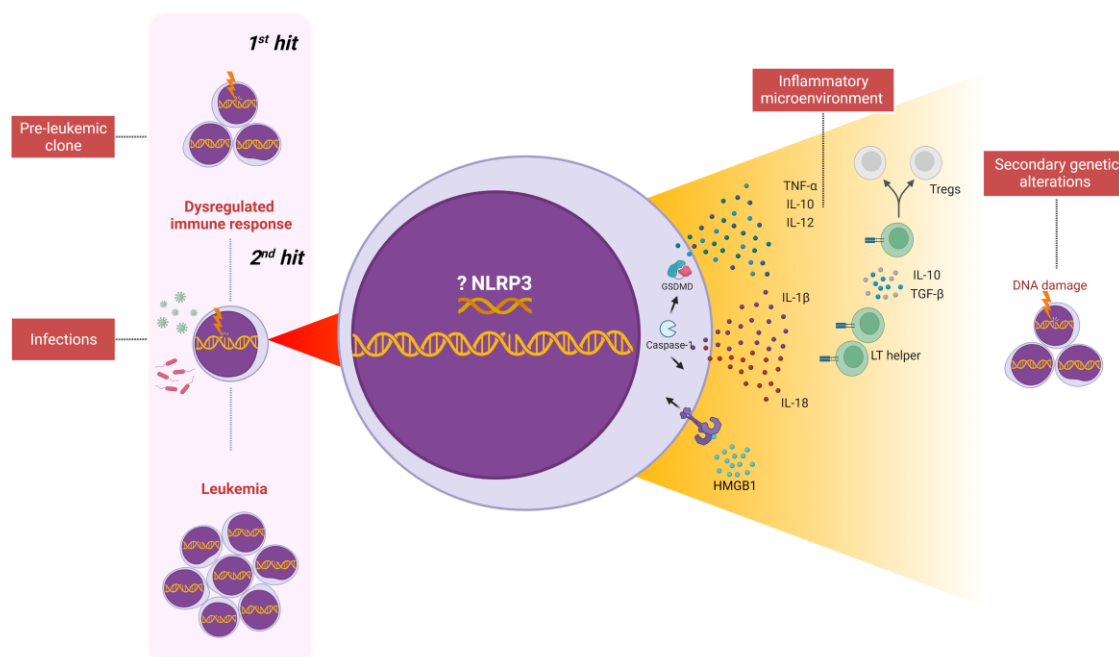
A inflamação como desencadeadora da leucemia

A inflamação é definida como uma resposta imune protetora à infecção e dano tecidual mediada por ação pró-inflamatória de células efetoras, citocinas e quimiocinas, que orquestram uma resposta sistêmica e/ou local ⁽⁴¹⁾. As *hematopoietic stem cells* (HSCs) são conhecidas como células-chave em respostas inflamatórias sistêmicas capazes de integrar estímulos inflamatórios em respostas celulares e estabelecer um eixo adaptado à demanda entre estresse periférico e resposta hematopoiética na medula óssea ⁽⁴²⁾. Embora

seja importante para a manutenção no nicho hematopoiético, a inflamação pode contribuir para o surgimento de mutações e conferir vantagens seletivas para certos clones devido à exposição prolongada ⁽³³⁾. A pressão seletiva imposta por inflamação no pool de HSCs pode induzir mutações genéticas e selecionar clones mutantes adaptados à inflamação que podem, potencialmente, evoluírem para um quadro leucêmico ^(4,42).

Tendo isso em vista, Mel Greaves descreve que a resposta imune exacerbada a patógenos comuns na primeira infância seria responsável por induzir alterações genéticas que levariam ao surgimento da leucemia. A chamada “hipótese higiênica” baseia-se na relação direta entre o desenvolvimento do sistema imunológico e a exposição a infecções na patogênese da doença, sendo demonstrada na **Figura 11**. Greaves descreve o modelo em dois hits, sendo o primeiro a aquisição de uma alteração genética produzida no útero (Ex: *ETV6::RUNX1* ou hiperploidia), que originaria uma célula pré-leucêmica. A partir da baixa estimulação do sistema imunológico na primeira infância ou deficiência de “*priming imunológico*”, a infecção a patógenos comuns, posteriormente, seria responsável pelo desencadeamento de uma resposta imunológica exacerbada e culminaria na indução de alterações genéticas secundárias ^(43–45).

Figura 11. Modelo de desenvolvimento da leucemia baseado na inflamação.



Legenda: Uma alteração genética produzida ainda no útero seria responsável pela criação de um clone leucêmico. Após o nascimento, a partir da baixa estimulação do sistema imunológico, ocorria uma resposta imune desregulada frente a patógenos comuns, culminando em uma resposta inflamatória exacerbada. Os inflamassomas destacam-se como importantes mediadores da inflamação na imunidade inata através do reconhecimento de PAMPs e DAMPs que levam à maturação e secreção das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e IL-18 e pelo processo de morte celular denominado piroptose. A citocina IL-1 β possui funções pleiotrópicas no tumor e pode ser secretada tanto por células leucêmicas como estromais, sendo responsável pelo recrutamento de MDSCs que secretam IL-10 e TGF β e induzem a diferenciação de linfócitos TCD4 $^{+}$ em Tregs, promovendo a imunossupressão. Além disso, a ligação com o receptor IL1R promove um looping positivo de secreção autócrina/parácrina dessa citocina em células leucêmicas e, através da ativação da via NF- κ B, leva à transcrição de outros mediadores inflamatórios como TNF- α , IL-10 e IL-12 que são secretados no TME. Em conjunto, esses mecanismos são responsáveis por induzir disfunção mitocondrial, estresse oxidativo e danos ao DNA persistentes, levando à aquisição de alterações genéticas secundárias que contribuem para o desenvolvimento da leucemia. DAMPs, damage-associated molecular patterns; DNA, deoxyribonucleic acid; IL-10, interleukin-10; IL-12, interleukin-12; IL-18, interleukin-18; IL-1 β , interleukin-1 β ; PAMPs, Pathogen-associated molecular pattern molecules (PAMPs); TCD4 $^{+}$, lymphocyte CD34 $^{+}$; TGF β , transforming growth factor β ; TME, tumor microenvironment; TNF- α , tumor necrosis factor- α ; Tregs, regulatory T cells.

Além de contribuir com a instabilidade genômica, a inflamação também pode cooperar com a prevenção da vigilância imunológica de células leucêmicas ⁽⁴⁶⁾. Logo, o clone pré-leucêmico adquirido no primeiro *hit*, conforme descrito por Greaves, poderia causar alterações no citoesqueleto, desregular a expressão de moléculas de adesão (como integrinas, caderinas e selectinas), modificar a migração celular e as propriedades de adesão de células pré-leucêmicas, comprometendo o eixo CXCL12/CXCR4 e aumentando a capacidade de aderir a células endoteliais ^(42,47).

Já no segundo *hit*, estudos demonstram que as citocinas pró-inflamatórias IL-6, TNF- α e IL-1 β , secretadas em resposta a infecções por células que expressam receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), como os TLRs e inflamassomas, cooperam com MSCs para criar um nicho favorável para células pré-leucêmicas, predispondo-as à transformação maligna através do aumento do dano ao DNA ⁽⁴⁷⁾. Nesse contexto, as MSCs secretam ligantes CXCR2 (por exemplo, CXCL1 e CXCL8), atraindo células pré-leucêmicas (Ex: *ETV6::RUNX1+*) de maneira dependente de CXCR2 e Ativina (AcTA), um membro da família TGF- β ⁽⁴⁸⁾.

Após a infecção ou lesão, a citocina IL-1 β é encontrada em altos níveis medulares em monócitos e células endoteliais, promovendo a diferenciação mielóide através da ativação da via NF- κ B que resulta na expansão de HSPCs ⁽⁴⁹⁾. A exposição crônica à IL-1 β prejudica significativamente a autorrenovação e a capacidade de diferenciação das HSPCs na linhagem linfóide e eritroide ⁽⁵⁰⁾. Portanto, a inflamação crônica sustentada pode provocar um estresse celular induzindo um estado de estresse oxidativo crônico com níveis elevados de espécies reativas de oxigênio (ROS) e este, em um processo de looping positivo, amplifica a resposta inflamatória por meio da ativação de NLRP3 através do reconhecimento de DAMPs nesse meio (ATP e HMGB1, por exemplo) ⁽⁵¹⁾, criando assim um microambiente de alto risco para indução de alterações genéticas devido ao dano oxidativo induzido por inflamação persistente ao DNA em células hematopoiéticas ⁽⁵²⁾.

A ação da citocina IL-1 β no microambiente tumoral é mediada pela ativação de complexos inflamassomas. No microambiente tumoral (TME), as principais células que produzem IL-1 β são macrófagos associados ao tumor (TAMs) e fibroblastos associados ao câncer (CAFs) ⁽⁵³⁾. De uma forma geral, nas leucemias, a IL-1 β tem sido associada com i) aumento da proliferação de células leucêmicas ⁽⁵⁴⁻⁵⁸⁾ e ii) recrutamento de células

supressoras derivadas mieloide (MDSCs) para o TME através da superregulação da via NF- κ B, que promove imunossupressão e favorece a sobrevivência do clone leucêmico ^(59,60). As MDSCs são responsáveis pela secreção de IL-10 e TGF- β , que contribuem para a expansão de Tregs nas leucemias (61). Dessa forma, foi proposto que as células Tregs podem suportar o crescimento e a sobrevivência de células pré-leucêmicas, também por meio da liberação de citocinas, incluindo TGF- β ⁽⁶²⁾.

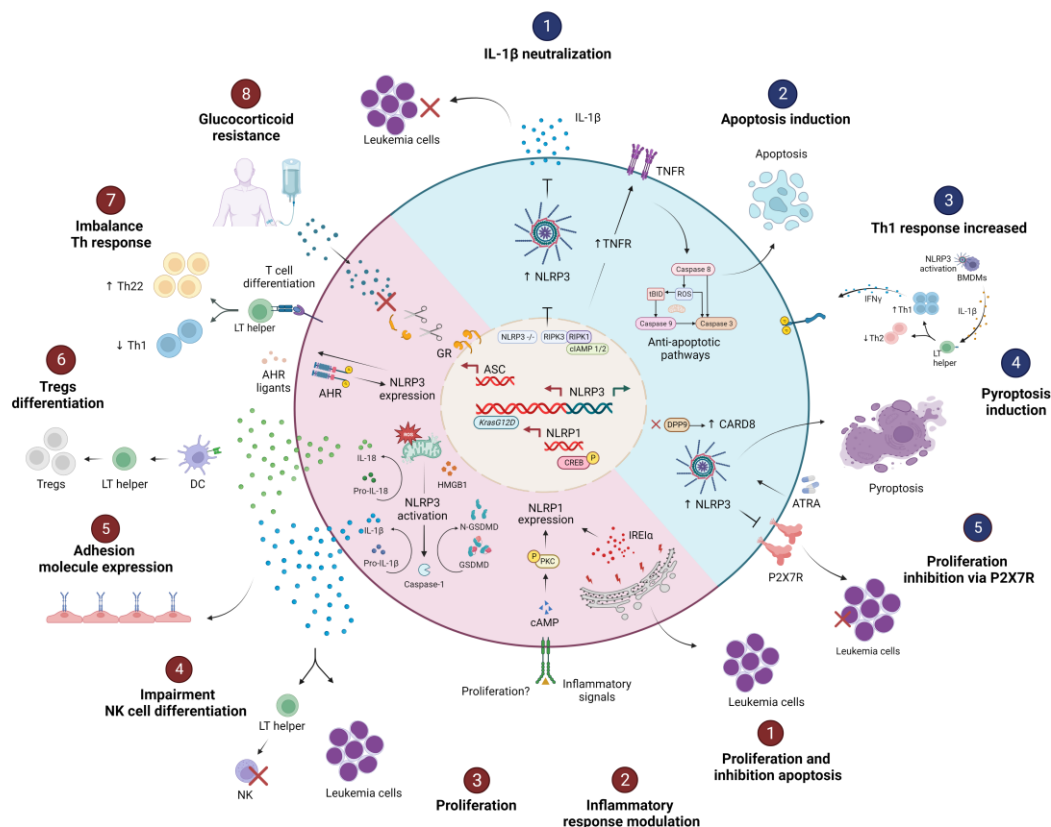
As células tumorais também podem secretar substâncias que contribuem para a sobrevivência do clone. Num modelo de camundongo de distúrbio pré-leucêmico, as MSCs desreguladas foram capazes de liberar DAMPs (S100A8/9) para induzir disfunção mitocondrial, estresse oxidativo e danos ao DNA em HSCs, via ativação de p53 de maneira parácrina e promover a transformação maligna ⁽⁶³⁾. No caso da LLA-B, foi demonstrado que as próprias células leucêmicas têm a capacidade de produzir e secretar fatores inflamatórios, incluindo TNF- α , IL-1 β , IL-10 e IL-12, contribuindo assim para a criação de um microambiente pró-inflamatório que pode ser prejudicial para a hematopoiese normal a longo prazo ⁽⁶⁴⁾.

Papel dos inflamassomas na leucemia

5.1 Efeitos pró-tumorigênicos

Embora o papel do inflamassoma esteja bem descrito para alguns tipos de câncer, como cólon e melanoma, nas leucemias temos muitas lacunas e os poucos trabalhos descrevem apenas os mecanismos de promoção neoplásica na doença. Na **Figura 12**, estão descritos os mecanismos pró- e anti-tumorigênicos envolvendo os componentes do inflamassoma nas leucemias. Na LLA, o NLRP3 e ASC estão superexpressos nas amostras de diagnóstico ⁽⁶⁵⁾ e recaída ⁽⁶⁶⁾. Além disso, foi demonstrado que em células leucêmicas linfoides resistentes a glicocorticoides há diminuição da metilação do promotor CASP1 e do NLRP3, o que resulta em transcrição aumentada, ativação constitutiva de NLRP3 e clivagem do receptor de glicocorticoide mediada por caspase-1 ⁽⁶⁶⁾, sendo este um possível mecanismo de falha no tratamento inicial.

Figura 12. Efeitos do inflamassoma na progressão e inibição tumoral na leucemia.



Legenda: Pró-tumorigênicos: 1) a proteína IRE1 α aumenta a expressão de NLRP1 em células leucêmicas e contribui para a proliferação e sobrevivência; 2) a via PKC-CREB regula a expressão de NLRP1 em células leucêmicas e possivelmente contribui para a proliferação; 3) a citocina IL-1 β estimula o aumento da proliferação celular e 4) impede a diferenciação de linfócitos TCD4 $^{+}$ em células NK; além disso, também 5) estimula a expressão de moléculas de adesão para promover o recrutamento de células leucêmicas pelas células epiteliais; 6) as DCs ativadas pela citocina IL-18 promovem a diferenciação de linfócitos TCD4 $^{+}$ em Tregs; 7) NLRP3 colabora com AHR para o desbalanço na resposta de perfil Th1; 8) a transcrição aumentada de CASP1 e NLRP3 resulta na clivagem dos receptores de glicocorticóides. Anti-tumorigênicos: 1) a deleção de NLRP3 em células leucêmicas é capaz de diminuir a proliferação de blastos por meio da neutralização da citocina IL-1 β ; 2) a proteína RIPK3 suprime a proliferação de células leucêmicas através da ativação de NLRP3 e induz apoptose via TNFR; 3) a ativação de NLRP3 em BMDMs via secreção de IL-1 β promove a proliferação de células Th1 produtoras de IFN- γ com efeitos anti-leucêmicos e 4) a superexpressão de NLRP3 regula negativamente o receptor P2X7R inibindo a proliferação de células leucêmicas e induzindo à apoptose. $\perp$ = Inibição; $\downarrow$ = Ativação; AHR, Aryl hydrocarbon receptor; ASC, apoptosis-associated speck-like protein; BMDMs, bone-marrow-derived macrophage; cAMP, cyclic adenosine monophosphate; CREB, cAMP-response element binding protein; DC, dendritic cell; GR, glucocorticoid receptor; GSDMD, gasdermin-D; GSDMD-N, GSDMD amino-terminal cell death domain; IFN- γ , interferon gamma; IL-18, interleukin-18; IL-1 β , interleukin-1 β ; IRE1 α , endoplasmic reticulum stress sensor; LT, lymphocyte; NK, natural killer cell; NLRP1, NOD-like receptor protein 1; NLRP3, NOD-like receptor protein 3; P, phosphorylation P2X7R, purinergic P2X7 receptor; PKC, protein kinase C ROS, reactive oxygen species; tBID, pro-apoptotic protein; Th1, type 1 T helper (Th1); Th22, type 22 T helper (Th22); TNFR, tumor necrosis factor receptor; Tregs, regulatory T cells

Recentemente, foi demonstrado pela primeira vez a ativação de NLRP3 em células LLA-B primárias humanas induzida por quimioterápicos. A indução de células LLA-B com doxorubicina levou a um aumento da transcrição de *NLRP3* e *CASP1* e consequente aumento da produção da citocina IL-1 β quando comparado ao controle ⁽⁶⁷⁾.

Em relação à IL-1 β , seu papel ainda é controverso na LLA, sendo observado aumento de 40 vezes na expressão do gene da *IL1B* em blastos de LLA-B cultivados com fatores de crescimento hematopoiéticos ⁽⁶⁴⁾ e em MSCs de pacientes ao diagnóstico ⁽⁶⁸⁾, todavia, a baixa expressão do mesmo foi associada com menor taxa de sobrevida geral e sobrevida livre de eventos, sendo considerado como preditor de recaída ⁽⁶⁹⁾. O gene *IL1B* é altamente polimórfico e diversas variações de nucleotídeo único (SNVs) têm sido associadas com o aumento ou diminuição da secreção da citocina IL-1 β ⁽⁷⁰⁾, sendo uma possível causa para a diferença na expressão em populações devido a variações étnicas/geográficas.

A expressão do gene *NLRP1* é ausente em células hematopoiéticas blásticas CD34⁺, enquanto durante a diferenciação dessas, este é expresso em granulócitos. Estudos demonstram que os níveis de NLRP1 estão aumentados em amostras de medula óssea de alguns pacientes com leucemia aguda, mas não em amostras de tumores sólidos. Logo, foi descrito que a indução de NLRP1 por um ativador de PKC (proteína quinase C) ou análogos de cAMP é mediada por CREB (*cAMP-response-element-binding protein*), um fator de transcrição que regula vias de respostas celulares, incluindo proliferação, sobrevivência e diferenciação. Quando a expressão de uma forma dominante negativa de CREB foi utilizada, observou-se redução da expressão NLRP1. Logo, a regulação de NLRP1 pela via CREB em células mieloides pode contribuir para modular a resposta dessas células aos estímulos inflamatórios e favorecer a sobrevivência do clone leucêmico ⁽⁷¹⁾.

Na LMA, foi demonstrado em modelo murino que a presença da mutação *KrasG12D* é responsável pela ativação de NLRP3 através da produção de ROS pela via Kras-RAC. Além disso, a deleção do gene *NLRP3* foi responsável pela redução da proliferação de blastos na LMA e restauração da hematopoiese normal ⁽⁷²⁾. A HMGB1, um importante DAMP liberado durante o processo inflamatório, parece estar envolvida diretamente na ativação de NLRP3 e contribui para a progressão da LMA via o eixo HMGB1/NLRP3/IL-1 β ⁽⁵⁵⁾. Além disso, estudos demonstram que a secreção de IL-1 β

pelos blastos de LMA pode modular a diferenciação de células CD34⁺ em precursores de células natural killers (NK) ⁽⁷³⁾ e estimular a expressão de moléculas de adesão para promover o recrutamento pelas células epiteliais ⁽⁷⁴⁾.

Em amostras de pacientes recém-diagnosticados com LMA, foi observado um aumento da expressão de *NLRP3* quando comparado aos controles e pacientes em remissão, sendo correlacionado com o aumento da expressão de AHR (*Aryl hydrocarbon receptor*). O AHR está envolvido na modulação do sistema imune, especificamente na diferenciação de linfócitos T auxiliares. Nesse estudo, também se observou um desbalanço das subpopulações de linfócitos T auxiliares com aumento do perfil Th22 e diminuição de Th1 em pacientes LMA de novo, o que nos leva a pensar que *NLRP3* juntamente com AHR podem cooperar para o desenvolvimento da LMA e influenciar na diferenciação de linfócitos T ⁽⁷⁵⁾.

No plasma de pacientes com LMA de novo, a citocina IL-18 foi encontrada em níveis séricos elevados ⁽⁵⁶⁾, e a expressão dos genes *IL18* e *ASC* voltou ao normal após os pacientes alcançarem a remissão ⁽⁷⁵⁾. Em modelo *in vivo*, um estudo demonstrou que as células dendríticas derivadas de IL-18 foram capazes de promover a diferenciação de linfócitos Tregs CD4⁺CD25⁺ ⁽⁷⁶⁾. Concomitante a isso, podemos hipotetizar que a IL-18 poderia facilitar a polarização de Tregs, e no TME poderia suprimir a resposta imune e promover o desenvolvimento de LMA.

Na LMC, em modelo *in vitro*, o gene *NLRP1* é expresso em níveis elevados por células K562 ⁽⁷¹⁾ e em pacientes com LMC foi associado com a resistência à imatinib ⁽⁷⁷⁾. Além disso, a proteína IRE1 α , um sensor de estresse do retículo endoplasmático envolvido na progressão da LMA, pode aumentar a expressão de *NLRP1* na LMC. Em células primárias de pacientes com LMC, foi observada uma superexpressão de IRE1 α e *NLRP1* que levou à proliferação celular e inibição da apoptose. Além disso, a inibição dessa via levou à sensibilização de células LMC à apoptose mediada por imatinib ⁽⁷⁷⁾. Na LMC, altos níveis da citocina IL-1 β são associados com pior prognóstico e menor sobrevida ⁽⁷⁸⁾ e na LLC, a secreção de IL-1 β é capaz de induzir diferenciação e ativação de células leucêmicas ⁽⁷⁹⁾.

5.2 Efeitos anti-tumorigênicos

A atividade antitumoral dos inflamassomas pode variar a depender do tipo celular que está sendo ativado e de interações com células do TME. Na LMA, o knockout de NLRP3 em células leucêmicas *in vivo* foi capaz de diminuir a proliferação de blastos na medula óssea, fígado e baço através da neutralização da citocina IL-1 β ⁽⁵⁶⁾. Logo, a regulação da atividade do inflamassoma NLRP3, especialmente com foco na IL-1 β , pode contribuir para uma nova abordagem de terapia na LMA (**Figura 12**).

No TME da LMA, os linfócitos do perfil Th1 e a produção de IFN- γ estão “*down*” regulados. Para avaliar a função desses componentes, foi demonstrado por Liu et al. (2021), que a ativação de NLRP3 em macrófagos derivados da medula óssea (BMDMs) promoveu a diferenciação de linfócitos TCD4+ no perfil Th1 através da secreção de IL-1 β . Logo, elevados níveis de células Th1 promoveram a apoptose e inibiram a proliferação de células leucêmicas via secreção de IFN- γ *in vitro* e *in vivo* ⁽⁸⁰⁾. Desta forma, os BMDMs ativados por NLRP3 promovem a proliferação de células Th1 produtoras de IFN- γ com efeitos anti-leucêmicos e podem fornecer informações sobre a base da imunoterapia para leucemia em pacientes com LMA.

Além disso, a proteína quinase 3 de interação com o receptor (RIPK3) pode promover a diferenciação de células iniciadoras de leucemia (LICs) por meio da ativação do inflamassoma. RIPK3 suprime a mieloproliferação maligna, ativando o inflamassoma, promovendo assim a diferenciação. Além disso, RIPK3 a jusante do TNFR1 é responsável por induzir a morte celular. A ativação de RIPK3 é regulada pelo status de ubiquitinação de RIPK1, que por sua vez é controlado pelo inibidor celular das proteínas de apoptose 1 e 2 (cIAP1/2). Em pacientes recém-diagnosticados com LMA, a expressão de RIPK3 é frequentemente reduzida para evitar que as células leucêmicas entrem em apoptose ⁽⁸¹⁾.

O trifosfato de adenosina (ATP) é um importante DAMP que se acumula nos locais de lesão tecidual e inflamação, sendo um dos principais responsáveis pela ativação do complexo inflamassoma. O receptor purinérgico P2X7 (P2X7R) é um canal iônico controlado por ATP amplamente expresso em HSCs e desempenha papéis importantes na promoção do câncer e na regulação do sistema imune. Na hematopoiese, o crescimento e a diferenciação dos linfócitos são modulados pelo P2X7R, sendo este superexpresso em amostras de LLC. Nesta, o silenciamento do gene *NLRP3* foi responsável pelo aumento

da expressão de P2X7R e promoveu crescimento celular. Pelo contrário, a superexpressão de NLRP3 induziu à apoptose ⁽⁸²⁾. Logo, a expressão *NLRP3* parece regular negativamente o P2X7R, inibir a proliferação de células LLC e induzir à apoptose, sendo um alvo terapêutico promissor para essa doença. Nas leucemias crônicas, o inflamassoma parece exercer funções distintas, porém ainda não elucidadas. Enquanto na LLC a expressão de NLRP3 pode estar associada a um bom prognóstico, na LMC, este encontra-se “*down*” regulado junto com IL1B ⁽⁸³⁾. Porém, devido aos escassos estudos funcionais dos inflamassomas nas leucemias crônicas, não é possível estimar com clareza qual o seu papel na doença.

5.3 Polimorfismos

Além das mutações germinativas raras que são altamente penetrantes, os estudos de *Genome Wide Associations* (GWAs) têm identificado variações germinativas que são frequentes, entretanto apresentam baixa penetrância, como os *Single-Nucleotide Variants* (SNVs), os quais cumulativamente podem fornecer um alto risco para o desenvolvimento da LLA ⁽⁸⁴⁾. SNV é uma variação de um único nucleotídeo na sequência de DNA da linhagem germinativa que está presente em pelo menos 1% da população ⁽⁸⁵⁾. Embora esses alelos de risco individualmente produzam um baixo efeito modesto e possam ter um significado clínico limitado, em conjunto, eles podem aumentar em até nove vezes o aumento do risco de leucemia com alelos de risco em múltiplos genes em comparação com indivíduos sem alelos de risco. Os genes envolvidos incluem *IKZF1*, *CDKN2A*, *PIP4K2A*, *LHPP*, *ELK3*, *GATA3*, *ARID5B*, *CEBPE*, *MYC*, *ERG* e *TP63*, sendo que alguns desses estão associados a subtipos distintos de LLA ⁽⁸⁶⁾.

Está bem estabelecido que a etnia tem influência direta na incidência de neoplasias hematológicas ⁽⁸⁷⁾. De acordo com estudos anteriores, os descendentes americanos são mais suscetíveis a desenvolver linfoma de Hodgkin e não Hodgkin, mieloma múltiplo, leucemia mieloblástica e linfoblástica aguda ⁽⁸⁸⁾, enquanto os descendentes de sul-asiáticos e africanos possuem menor risco ^(87,89). A disparidade da incidência de neoplasias hematológicas tem influência principalmente de determinantes sociais (Ex: barreiras estruturais de acesso ao cuidado) e fatores biológicos (Ex: ancestralidade, estilo de vida etc.). Estudos relatam que as crianças com mistura de ancestralidade possuem maior risco de desenvolver LLA devido à existência de

polimorfismos do tipo *INDEL*, característicos dos nativos sul-americanos nos genes *CASP8*, *CYP19A1* e *XRCC1* ⁽⁹⁰⁾. De etiologia multifatorial, é importante investigar a associação de polimorfismos nas leucemias, principalmente em genes de vias inflamatórias, uma vez que estão intrinsecamente relacionadas com o desenvolvimento da doença. A **Tabela 03** mostra os principais achados de polimorfismos em genes do complexo inflamassoma nas leucemias.

Tabela 03. Efeito funcional de polimorfismos nos genes do complexo inflamassoma nas leucemias.

Gene	Variação	rs	Efeito	Principais Achados	Ref.
<i>NLRP1</i>	c.464 A>T	rs12150220	Aumento do processamento de IL-1 β ;	Proteção contra doenças infecciosas em pacientes pediátricos com LLA da Amazônia Brasileira	(91)
	p.L155H		Aumento da expressão de		
<i>NLRP1</i>					
<i>NLRP3</i>	c.2113 C>A	rs35829419	Aumento da produção de IL-1 β e IL-18	Risco de LMA na população asiática	(92)
	p. Q705K			Risco de LLA na população asiática	(93)
	N/A	rs4353135			
<i>P2X7</i>	A>C p. Glu496Ala	rs3751143	Perda de função	Maior sobrevida livre de eventos em pacientes com LLC na Suécia	(94)
<i>IL1B</i>	c. -511 C>T	rs16944	Aumento da transcrição de IL-1 β	Risco de desenvolvimento de LLA em crianças da Amazônia brasileira	(91)
				Aumento da transcrição de <i>NLRP3</i> e <i>ASC</i> na LLA na população asiática	(95)
				Citogenética de bom prognóstico na LMA	(92)
				Aumento do risco de LLA em crianças asiáticas	(93)
	c. -137 G>C	rs187238		Risco de LLC na Turquia	(97)
<i>IL18</i>	c. -607 C>A	rs1946518	Aumento da transcrição de IL-18	Aumento da secreção de IL-18 na LLA na população asiática	(98)
				Risco de LLA pediátrica na população asiática	(93)

Legenda: p., proteína alterada; c., alelo alterado; rs, sequência de referência; LLA, leucemia linfoblástica aguda; LMA, leucemia mieloblástica aguda; LLC, leucemia linfoblástica crônica, LMC, leucemia mieloide crônica; Ref., referências.

5. Conclusão e Perspectivas

Nos últimos anos, houve um aumento dos estudos envolvendo os inflamassomas nas neoplasias hematológicas, com o objetivo de entender os efeitos duplos que esses complexos exercem na regulação fisiológica e maligna da hematopoiese. As funções dos inflamassomas nos diferentes tipos de leucemias são muito distintas, podendo contribuir para a progressão e inibição do surgimento do clone pré-leucêmico. Esses mecanismos parecem depender de vários fatores, como tipo celular envolvido, nível de expressão, estágio da tumorigênese, mutações e polimorfismos, bem como a influência das células estromais. Logo, o conhecimento desses alvos nos revela potenciais implicações clínicas. Aqui listamos algumas opções terapêuticas potenciais por meio da modulação/inibição direcionada de inflamassomas específicos que podem auxiliar a manter/restaurar a homeostase hematopoiética adequada (**Tabela 04**).

A sinalização aumentada da via de ativação dos inflamassomas é um evento comum nas leucemias, logo, o conhecimento de mecanismos genéticos e moleculares da atuação dos inflamassomas na doença nos permitirá determinar o verdadeiro potencial do seu direcionamento como terapia e suas complicações relacionadas. Desta forma, considerando a contribuição dos inflamassomas para a homeostase hematopoiética e desenvolvimento das leucemias, mais investigações devem ser realizadas acerca desse complexo na doença, visando identificar componentes celulares e moleculares que possam ser utilizados como possíveis biomarcadores de grupo de risco de tratamento, presença de doença residual mínima, recaída pós-indução e óbito nesses pacientes. Além disso, a descoberta de novos alvos terapêuticos com base na via dos inflamassomas parece ser um caminho promissor nas próximas décadas para a área da oncologia.

Tabela 04. Potenciais alvos terapêuticos direcionados ao inflamassoma.

Potencial terapêutico	Descrição	Alvos	Fase	Ref./NTC number
Inibição do receptor IL1RAP	Apesar do progresso, ainda há necessidade de fornecer estratégias adicionais para pacientes com LMA refratário. Esse estudo visa avaliar os efeitos da imunoterapia para células LMA refratárias que expressam IL1RAP usando células T receptoras de antígenos quiméricos	IL1RAP	Fase I	NCT04169022
Inibição do receptor de IL-1R α	Esse estudo visa avaliar os efeitos da administração subcutânea do antagonista do receptor da IL-1 β no quadro clínico de pacientes com hemorragia subaracnóidea aneurismática	IL-1R α	Fase III	NCT03249207
Diminuição de danos ao DNA	O dano ao DNA causado por radiação ativa o inflamassoma AIM2 na medula óssea além de aumentar a expressão de NLRP12 em células hematopoiéticas deficientes do gene de reparo de DNA <i>Fanca</i> melhorando a função de repovoamento e prevenindo a apoptose quando expostas à radiação	AIM2 NLRP12	Potencial	(38,99,100)
Inibição de NLRP3	Usando vários modelos de tumores pré-clínicos, a ativação de células T CD8 ⁺ em resposta ao bloqueio da morte celular programada 1 (PD-1) induziu a ativação de NLRP3 levando ao recrutamento de células supressoras derivadas de mieloides granulocíticas (PMN-MDSCs) em tecidos tumorais, diminuindo a resposta imune antitumoral. A inibição genética e farmacológica de NLRP3 suprimiu a infiltração do tumor PMN-MDSC e aumentou significativamente a eficácia da imunoterapia com anticorpos anti-PD-1. Esta via, portanto, representa um mecanismo intrínseco do tumor de resistência adaptativa à imunoterapia com inibidor de checkpoint anti-PD-1.	NLRP3	Pré-clínico	(101,102)
Melhorando o homing de HSPCs em modelos de transplante	A sinalização do inflamassoma NLRP3 regula o direcionamento, enxerto e o tráfico de células-tronco hematopoiéticas (HSPCs) podendo ser útil nos transplantes.	NLRP3	Potencial	(103,104)
Proteção contra GVHD	A sinalização mediada pelo inflamassoma NLRP3 desempenha um papel crítico na iniciação de GVHD por meio da secreção da citocina pró-inflamatória IL-1 β em células dendríticas. Logo, a diminuição da expressão de NLRP3 foi responsável por amenizar a GVHD em um modelo murino resultando em sobrevida aumentada do enxerto.	NLRP3	Pré-clínico	(105,106)

Legenda: IL1RAP, interleukin 1 receptor accessory protein; LMA, leucemia mieloblástica crônica; DNA, deoxyribonucleic acid; T CD8⁺, linfócitos T CD8⁺; IL-1R α , Interleukin 1 receptor type I; morte celular programada 1 (PD-1), PMN-MDSCs, células supressoras derivadas de mieloides granulocíticas; HSPCs, células-tronco hematopoiéticas; GVHD, Graft-versus-host Disease.

Referências

1. Arber DA, Orazi A, Hasserjian RP, Borowitz MJ, Calvo KR, Kvasnicka HM, et al. International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. *Blood*. 2022;140(11):1200–28.
2. Miranda Filho A, Piñeros M, Ferlay J, Soerjomataram I, Monnereau A, Bray F. Epidemiological patterns of leukaemia in 184 countries: a population-based study. *Lancet Haematol* [Internet]. 2018;5(1):14–24. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S2352-3026\(17\)30232-6](http://dx.doi.org/10.1016/S2352-3026(17)30232-6)
3. Chavez JS, Rabe JL, Loeffler D, Higa KC, Hernandez G, Mills TS, et al. PU.1 enforces quiescence and limits hematopoietic stem cell expansion during inflammatory stress. *J Exp Med*. 2021;218(6).
4. Krawczyk J, O'Dwyer M, Swords R, Freeman C, Giles FJ. The role of inflammation in Leukaemia. *Adv Exp Med Biol*. 2014;816:335–60.
5. Yang L, Hu M, Lu Y, Han S, Wang J. Inflammasomes and the maintenance of hematopoietic homeostasis: New perspectives and opportunities. *Molecules*. 2021;26(2).
6. Dinarello CA. A clinical perspective of IL-1 β as the gatekeeper of inflammation. *Eur J Immunol*. 2011;41(5):1203–17.
7. Mitchell CA, Verovskaya E V., Calero-Nieto FJ, Olson OC, Swann JW, Wang X, et al. Stromal niche inflammation mediated by IL-1 signalling is a targetable driver of haematopoietic ageing. *Nat Cell Biol* [Internet]. 2023 Jan 17;25(1):30–41. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41556-022-01053-0>
8. Craver BM, El Alaoui K, Scherber RM, Fleischman AG. The critical role of inflammation in the pathogenesis and progression of myeloid malignancies. *Cancers (Basel)*. 2018;10(4):1–18.
9. Magalhães-Gama F, Kerr MWA, De Araújo ND, Ibiapina HNS, Neves JCF, Hanna FSA, et al. Imbalance of Chemokines and Cytokines in the Bone Marrow Microenvironment of Children with B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Oncol*. 2021;2021.
10. Keshavarz Shahbaz S, Koushki K, Ayati SH, Bland AR, Bezsonov EE, Sahebkar A. Inflammasomes and Colorectal Cancer. *Cells* [Internet]. 2021 Aug 24;10(9):2172. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4409/10/9/2172>
11. Broz P, Dixit VM. Inflammasomes: Mechanism of assembly, regulation and signalling. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2016;16(7):407–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nri.2016.58>
12. Zheng D, Liwinski T, Elinav E. Inflammasome activation and regulation: toward a better understanding of complex mechanisms. *Cell Discov* [Internet]. 2020;6(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41421-020-0167-x>
13. Lu A, Wu H. Structural mechanisms of inflammasome assembly. *FEBS J* [Internet]. 2015 Feb;282(3):435–44. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/febs.13133>

14. Yu C, Moecking J, Geyer M, Masters S. Mechanisms of NLRP1-Mediated Autoinflammatory Disease in Humans and Mice. *J Mol Biol.* 2018;430(2):142–52.
15. Place DE, Kanneganti TD. Recent advances in inflammasome biology. *Curr Opin Immunol.* 2018;50:32–8.
16. Torre-Minguela C, del Castillo PM, Pelegrín P. The NLRP3 and pyrin inflammasomes: Implications in the pathophysiology of autoinflammatory diseases. *Front Immunol.* 2017;8(JAN).
17. Strowig T, Henao-Mejia J, Elinav E, Flavell R. Inflammasomes in health and disease. Vol. 481, *Nature.* 2012. p. 278–86.
18. Roberts TL, Idris A, Dunn JA, Kelly GM, Burnton CM, Hodgson S, et al. HIN-200 proteins regulate caspase activation in response to foreign cytoplasmic DNA. *Science* (80-). 2009;323(5917):1057–60.
19. Bürckstümmer T, Baumann C, Blüml S, Dixit E, Dürnberger G, Jahn H, et al. An orthogonal proteomic-genomic screen identifies AIM2 as a cytoplasmic DNA sensor for the inflammasome. *Nat Immunol.* 2009;10(3):266–72.
20. Srinivasula SM, Poyet JL, Razmara M, Datta P, Zhang Z, Alnemri ES. The PYRIN-CARD protein ASC is an activating adaptor for caspase-1. *J Biol Chem.* 2002;277(24):21119–22.
21. Proell M, Gerlic M, Mace PD, Reed JC, Riedl SJ. The CARD plays a critical role in ASC foci formation and inflammasome signalling. *Biochem J.* 2013;449(3):613–21.
22. Gumucio DL, Diaz A, Schaner P, Richards N, Babcock C, Schaller M, et al. Fire and ICE: The role of pyrin domain-containing proteins in inflammation and apoptosis. *Clin Exp Rheumatol.* 2002;20(4 SUPPL. 26).
23. Liepinsh E, Barbals R, Dahl E, Sharipo A, Staub E, Otting G. The death-domain fold of the ASC PYRIN domain, presenting a basis for PYRIN/PYRIN recognition. *J Mol Biol.* 2003;332(5):1155–63.
24. Lu A, Magupalli VG, Ruan J, Yin Q, Atianand MK, Vos MR, et al. Unified polymerization mechanism for the assembly of ASC-dependent inflammasomes. *Cell.* 2014;156(6):1193–206.
25. Liu X, Zhang Z, Ruan J, Pan Y, Magupalli VG, Wu H, et al. Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores. *Nature.* 2016;535(7610):153–8.
26. Labbé K, Saleh M. Cell death in the host response to infection. *Cell Death Differ.* 2008;15(9):1339–49.
27. Di Giacomo F, Fiore D, W. Kyriakides P, Inghirami G. A Sanctuary for cancer cells: Microenvironment in T-cell acute lymphoblastic leukemia survival and drug resistance. *Clin Diagnostic Pathol.* 2017;1(2):1–6.
28. Thomas D, Vadas M, Lopez A. Regulation of haematopoiesis by growth factors - Emerging insights and therapies. *Expert Opin Biol Ther.* 2004;4(6):869–79.
29. Schultze JL, Mass E, Schlitzer A. Emerging Principles in Myelopoiesis at Homeostasis and during Infection and Inflammation. *Immunity* [Internet]. 2019;50(2):288–301. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.01.019>

30. Manz MG, Boettcher S. Emergency granulopoiesis. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2014;14(5):302–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nri3660>
31. Takizawa H, Boettcher S, Manz MG. Demand-adapted regulation of early hematopoiesis in infection and inflammation. *Blood*. 2012;119(13):2991–3002.
32. Granick JL, Simon SI, Borjesson DL. Hematopoietic Stem and Progenitor Cells as Effectors in Innate Immunity. *Bone Marrow Res*. 2012;2012:1–8.
33. Ho NPY, Takizawa H. Inflammation Regulates Haematopoietic Stem Cells and Their Niche. *Int J Mol Sci*. 2022;23(3).
34. Tyrkalska SD, Pérez-Oliva AB, Rodríguez-Ruiz L, Martínez-Morcillo FJ, Alcaraz-Pérez F, Martínez-Navarro FJ, et al. Inflammasome Regulates Hematopoiesis through Cleavage of the Master Erythroid Transcription Factor GATA1. *Immunity*. 2019;51(1):50-63.e5.
35. Hu B, Jin C, Li HB, Tong J, Ouyang X, Cetinbas NM, et al. The DNA-sensing AIM2 inflammasome controls radiation-induced cell death and tissue injury. *Science* (80-). 2016;354(6313):765–8.
36. Li X, Gong Y, Li D, Xiang L, Ou Y, Jiang L, et al. Low-Dose Radiation Therapy Promotes Radiation Pneumonitis by Activating NLRP3 Inflammasome. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* [Internet]. 2020;107(4):804–14. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2020.02.643>
37. Frame JM, Kubaczka C, Long TL, Esain V, Soto RA, Hachimi M, et al. Metabolic Regulation of Inflammasome Activity Controls Embryonic Hematopoietic Stem and Progenitor Cell Production. *Dev Cell* [Internet]. 2020;55(2):133-149.e6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2020.07.015>
38. Linz BML, Neely CJ, Kartchner LB, Mendoza AE, Khoury AL, Truax A, et al. Innate Immune Cell Recovery Is Positively Regulated by NLRP12 during Emergency Hematopoiesis. *J Immunol* [Internet]. 2017 Mar 15;198(6):2426–33. Available from: <https://journals.aai.org/jimmunol/article/198/6/2426/106084/Innate-Immune-Cell-Recovery-Is-Positively>
39. Chavakis T, Mitroulis I, Hajishengallis G. Hematopoietic progenitor cells as integrative hubs for adaptation to and fine-tuning of inflammation. *Nat Immunol* [Internet]. 2019;20(7):802–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41590-019-0402-5>
40. Karan D. Inflammasomes: Emerging Central Players in Cancer Immunology and Immunotherapy. *Front Immunol*. 2018;9(December):1–8.
41. Abbas KA, Lichtman AH, Pillai S. *Imunologia celular e molecular*. Elsevier. Rio de Janeiro; 2015.
42. Caiado F, Pietras EM, Manz MG. Inflammation as a regulator of hematopoietic stem cell function in disease, aging, and clonal selection. *J Exp Med*. 2021;218(7):1–19.
43. Greaves MF. Aetiology of acute leukaemia. *Lancet*. 1997;349(9048):344–9.
44. Greaves M. Infection, immune responses and the aetiology of childhood leukaemia. *Nat Rev Cancer*. 2006;6(3):193–203.

45. Greaves M. A causal mechanism for childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Nat Rev Cancer*. 2018;18(8):471–84.
46. Ratajczak MZ, Bujko K, Cymer M, Thapa A, Adamiak M, Ratajczak J, et al. The Nlrp3 inflammasome as a “rising star” in studies of normal and malignant hematopoiesis. *Leukemia*. 2020;34(6):1512–23.
47. Dander E, Palmi C, D’amico G, Cazzaniga G. The bone marrow niche in b-cell acute lymphoblastic leukemia: The role of microenvironment from pre-leukemia to overt leukemia. *Int J Mol Sci*. 2021;22(9).
48. Palmi C, Fazio G, Savino AM, Procter J, Howell L, Cazzaniga V, et al. Cytoskeletal regulatory gene expression and migratory properties of B-cell progenitors are affected by the ETV6-RUNX1 rearrangement. *Mol Cancer Res*. 2014;12(12):1796–806.
49. Arranz L, Arriero M del M, Villatoro A. Interleukin-1 β as emerging therapeutic target in hematological malignancies and potentially in their complications. *Blood Rev* [Internet]. 2017;31(5):306–17. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.blre.2017.05.001>
50. Bent R, Moll L, Grabbe S, Bros M. Interleukin-1 beta—A friend or foe in malignancies? *Int J Mol Sci*. 2018;19(8).
51. He X, Wan J, Yang X, Zhang X, Huang D, Li X, et al. Bone marrow niche ATP levels determine leukemia-initiating cell activity via P2X7 in leukemic models. *J Clin Invest*. 2021;131(4):1–15.
52. Hasselbalch HC. Chronic inflammation as a promotor of mutagenesis in essential thrombocythemia, polycythemia vera and myelofibrosis. A human inflammation model for cancer development? *Leuk Res* [Internet]. 2013;37(2):214–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.leukres.2012.10.020>
53. Lillo S, Saleh M. Inflammasomes in Cancer Progression and Anti-Tumor Immunity. *Front Cell Dev Biol*. 2022;10(April):1–11.
54. Luciano M, Krenn PW, Horejs-Hoeck J. The cytokine network in acute myeloid leukemia. *Front Immunol*. 2022;13(September):1–13.
55. Liu N, Wu Y, Wen X, Li P, Lu F, Shang H. Chronic stress promotes acute myeloid leukemia progression through HMGB1 / NLRP3 / IL-1 β signaling pathway. *J Mol Med*. 2021;99:403–14.
56. Zhong C, Wang R, Hua M, Zhang C, Han F, Xu M, et al. NLRP3 Inflammasome Promotes the Progression of Acute Myeloid Leukemia via IL-1 β Pathway. *Front Immunol*. 2021;12(June):1–15.
57. Beaupre D, Talpaz M, Marini F, Cristiano R, Roth J, Estrov Z, et al. Autocrine interleukin-1beta production in leukemia: evidence for the involvement of mutated RAS. *Cancer Res*. 1999;15(59):2971–80.
58. Estrov Z, Kurzrock R, Wetzler M, Kantarjian H, Blake M, Harris D, et al. Suppression of chronic myelogenous leukemia colony growth by interleukin-1 (IL-1) receptor antagonist and soluble IL-1 receptors: A novel application for inhibitors of IL-1 activity. *Blood* [Internet]. 1991;78(6):1476–84. Available from: <http://dx.doi.org/10.1182/blood.V78.6.1476.1476>

59. Bizymi N, Bjelica S, Kittang AO, Mojsilovic S, Velegraki M, Pontikoglou C, et al. Myeloid-Derived Suppressor Cells in Hematologic Diseases: Promising Biomarkers and Treatment Targets. *HemaSphere*. 2019;3(1).
60. Bunt SK, Clements VK, Hanson EM, Sinha P, Ostrand-Rosenberg S. Inflammation enhances myeloid-derived suppressor cell cross-talk by signaling through Toll-like receptor 4. *J Leukoc Biol*. 2009;85(6):996–1004.
61. Magalhães-Gama F, Alves-Hanna FS, Araújo ND, Barros MS, Silva FS, Catão CLS, et al. The Yin-Yang of myeloid cells in the leukemic microenvironment: Immunological role and clinical implications. *Front Immunol* [Internet]. 2022 Dec 1;13(December):1–15. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.1071188/full>
62. Bürgler S, Nadal D. Pediatric precursor B acute lymphoblastic leukemia: are T helper cells the missing link in the infectious etiology theory? *Mol Cell Pediatr*. 2017;4(1).
63. Zambetti NA, Ping Z, Chen S, Kenswil KJG, Mylona MA, Sanders MA, et al. Mesenchymal Inflammation Drives Genotoxic Stress in Hematopoietic Stem Cells and Predicts Disease Evolution in Human Pre-leukemia. *Cell Stem Cell* [Internet]. 2016;19(5):613–27. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2016.08.021>
64. Vilchis-Ordoñez A, Contreras-Quiroz A, Vadillo E, Dorantes-Acosta E, Reyes-López A, Quintela-Nuñez Del Prado HM, et al. Bone marrow cells in acute lymphoblastic leukemia create a proinflammatory microenvironment influencing normal hematopoietic differentiation fates. *Biomed Res Int*. 2015;2015.
65. Hu Z, Sporn M, Letterio J. Targeting NLRP3 Inflammasome-Induced Therapy Resistance in ALL. *Blood*. 2020;136:46.
66. Paugh SW, Bonten EJ, Savic D, Ramsey LB, Thierfelder WE, Gurung P, et al. NALP3 inflammasome upregulation and CASP1 cleavage of the glucocorticoid receptor cause glucocorticoid resistance in leukemia cells. *Nat Genet*. 2015;
67. Toia L, Mariano J, Winte M, Shand J. Intrinsic Activation of the NLRP3 Inflammasome in Primary Human ALL Cells Is Regulated By Endogenous HMGB1 and Bone Marrow Macrophages. *Blood*. 2017;130(1):2559.
68. Shipounova IN, Petinati N, Bigildeev A, Drize NI, Sorokina T, Kuzmina LA, et al. Mesenchymal Stromal Precursor Cells from the Bone Marrow of Acute Myeloid and Lymphoid Leukemia Patients: Characteristics in Newly Diagnosed, before and after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Blood* [Internet]. 2014 Dec 6;124(21):4362–4362. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article/124/21/4362/91886/Mesenchymal-Stromal-Precursor-Cells-from-the-Bone>
69. Fitter S, Bradey AL, Kok CH, Noll JE, Wilczek VJ, Venn NC, et al. CKLF and IL1B transcript levels at diagnosis are predictive of relapse in children with pre-B-cell acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 2021;193(1):171–5.
70. Hall SK, Perregaux DG, Gabel CA, Woodworth T, Durham LK, Huizinga TWF, et al. Correlation of polymorphic variation in the promoter region of the interleukin-1 β gene with secretion of interleukin-1 β protein. *Arthritis Rheum*. 2004;50(6):1976–83.

71. Sanz C, Calasanz MJ, Andreu E, Richard C, Prosper F, Fernandez-Luna JL. NALP1 is a transcriptional target for cAMP-response-element-binding protein (CREB) in myeloid leukaemia cells. *Biochem J*. 2004;384(2):281–6.
72. Hamarsheh S, Osswald L, Saller BS, Unger S, Feo D De, Vinnakota JM, et al. Oncogenic KrasG12D causes myeloproliferation via NLRP3 inflammasome activation. *Nat Commun* [Internet]. 2020;11:1–17. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-15497-1>
73. Chow MT, Sceneay J, Paget C, Wong CSF, Duret H, Tschopp J, et al. NLRP3 Suppresses NK Cell–Mediated Responses to Carcinogen-Induced Tumors and Metastases. *Cancer Res* [Internet]. 2012 Nov 15;72(22):5721–32. Available from: <https://aacrjournals.org/cancerres/article/72/22/5721/576037/NLRP3-Suppresses-NK-Cell-Mediated-Responses-to>
74. Stucki A, Rivier AS, Gikic M, Monai N, Schapira M, Spertini O. Endothelial cell activation by myeloblasts: Molecular mechanisms of leukostasis and leukemic cell dissemination. *Blood* [Internet]. 2001;97(7):2121–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1182/blood.V97.7.2121>
75. Jia YAN, Zhang C, Hua M, Wang MIN, Chen P, Ma D. Aberrant NLRP3 inflammasome associated with aryl hydrocarbon receptor potentially contributes to the imbalance of T - helper cells in patients with acute myeloid leukemia. *Oncol Lett*. 2017;14:7031–44.
76. Oertli M, Sundquist M, Hitzler I, Engler DB, Arnold IC, Reuter S, et al. DC-derived IL-18 drives Treg differentiation, murine *Helicobacter pylori* - Specific immune tolerance, and asthma protection. *J Clin Invest*. 2012;122(3):1085–96.
77. Xu Z, Wang H, Wei S, Wang Z, Ji G. Inhibition of ER stress-related IRE1 α /CREB/NLRP1 pathway promotes the apoptosis of human chronic myelogenous leukemia cell. *Mol Immunol* [Internet]. 2018;101(83):377–85. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2018.07.002>
78. Wetzler M, Kurzrock R, Estrov Z, Kantarjian H, Gisslinger H, Underbrink MP, et al. Altered levels of interleukin-1 β and interleukin-1 receptor antagonist in chronic myelogenous leukemia: Clinical and prognostic correlates. *Blood* [Internet]. 1994;84(9):3142–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1182/blood.V84.9.3142.3142>
79. Katayama I, Takeuchi H. Interleukin 1 (IL-1 α and IL-1 β) induces differentiation/activation of B cell chronic lymphoid leukemia cells. *Cytokine*. 1994;6(3):243–6.
80. Liu Q, Hua M, Zhang C, Wang R, Liu J, Yang X, et al. NLRP3-activated bone marrow dendritic cells play antileukemic roles via IL-1 β / Th1 / IFN- γ in acute myeloid leukemia. *Cancer Lett* [Internet]. 2021;520:109–20. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2021.06.014>
81. Höckendorf U, Yabal M, Herold T, Munkhbaatar E, Rott S, Jilg S, et al. RIPK3 Restricts Myeloid Leukemogenesis by Promoting Cell Death and Differentiation of Leukemia Initiating Cells. *Cancer Cell*. 2016;30(1):75–91.
82. Salaro E, Rambaldi A, Falzoni S, Amoroso FS, Franceschini A, Sarti AC, et al. Involvement of the P2X7-NLRP3 axis in leukemic cell proliferation and death. *Sci Rep* [Internet]. 2016;6(1):1–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/srep26280>

83. Zhang A, Yu J, Yan S, Zhao X, Chen C, Zhou Y, et al. The genetic polymorphism and expression profiles of NLRP3 inflammasome in patients with chronic myeloid leukemia. *Hum Immunol*. 2018;79(1):57–62.
84. Rüchel N, Jepsen VH, Hein D, Fischer U, Borkhardt A, Gössling KL. In Utero Development and Immunosurveillance of B Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Curr Treat Options Oncol*. 2022;23(4):543–61.
85. Ismail S, Essawi M. Genetic polymorphism studies in humans. *Middle East J Med Genet*. 2012;1(2):57–63.
86. Xu H, Yang W, Perez-Andreu V, Devidas M, Fan Y, Cheng C, et al. Novel susceptibility variants at 10p12.31-12.2 for childhood acute lymphoblastic leukemia in ethnically diverse populations. *J Natl Cancer Inst*. 2013;105(10):733–42.
87. Shirley MH, Sayeed S, Barnes I, Finlayson A, Ali R. Incidence of haematological malignancies by ethnic group in England, 2001-7. *Br J Haematol*. 2013;163(4):465–77.
88. Kirtane K, Lee SJ. Racial and ethnic disparities in hematologic malignancies. *Blood*. 2017;130(15):1699–705.
89. Tran HN, Li Y, Udaltsova N, Armstrong MA, Friedman GD, Klatsky AL. Risk of cancer in Asian Americans: a Kaiser Permanente cohort study. *Cancer Causes Control*. 2016;27(10):1197–207.
90. Carvalho DC, Wanderley A V., Amador MAT, Fernandes MR, Cavalcante GC, Pantoja KBCC, et al. Amerindian genetic ancestry and INDEL polymorphisms associated with susceptibility of childhood B-cell Leukemia in an admixed population from the Brazilian Amazon. *Leuk Res*. 2015;39(11):1239–45.
91. Alves FS, Xabregas LA, Kerr MWA, Souza GL, Pereira DS, Magalhães-Gama F, et al. Genetic polymorphisms of inflammasome genes associated with pediatric acute lymphoblastic leukemia and clinical prognosis in the Brazilian Amazon. *Sci Rep* [Internet]. 2021;11(1):1–10. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89310-4>
92. Wang H, Hua M, Wang S, Yu J, Chen C, Zhao X, et al. Genetic polymorphisms of IL-18 rs1946518 and IL-1 β rs16944 are associated with prognosis and survival of acute myeloid leukemia. *Inflamm Res*. 2017;66(3):249–58.
93. Ji H, Li F, Song L, Xing Y, Liu G, Lu Y, et al. Inflammation-related Gene Polymorphisms Associated With Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* [Internet]. 2023 Jan;45(1):e9–13. Available from: <https://journals.lww.com/10.1097/MPH.0000000000002533>
94. Thunberg U, Tobin G, Johnson A, Söderberg O, Padyukov L, Hultdin M, et al. Polymorphism in the P2X7 receptor gene and survival in chronic lymphocytic leukaemia. *Lancet*. 2002;360(9349):1935–9.
95. Zhang C, Han F, Yu J, Hu X, Hua M, Zhong C, et al. Investigation of NF- κ B-94ins/del ATTG and CARD8 (rs2043211) Gene Polymorphism in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10(August):1–9.
96. Yin C, He N, Li P, Zhang C, Yu J, Hua M, et al. Polymorphisms of Interlukin-1 β rs16944 confer susceptibility to myelodysplastic syndromes. *Life Sci*. 2016;165:109–12.

97. Yalçın S, Mutlu P, Çetin T, Sarper M, Özgür G, Avcu F. The -137G/C Polymorphism in Interleukin-18 Gene Promoter Contributes to Chronic Lymphocytic and Chronic Myelogenous Leukemia Risk in Turkish Patients. *Turkish J Hematol*. 2015;32(4):311–6.
98. Zhang C, Han F, Yu J, Hu X, Hua M, Zhong C, et al. Investigation of NF- κ B-94ins/del ATTG and CARD8 (rs2043211) Gene Polymorphism in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10(August):1–9.
99. Hu B, Jin C, Li H-B, Tong J, Ouyang X, Cetinbas NM, et al. The DNA-sensing AIM2 inflammasome controls radiation-induced cell death and tissue injury. *Science* (80-) [Internet]. 2016 Nov 11;354(6313):765–8. Available from: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aaf7532>
100. Lin Q, Wu L, Ma Z, Chowdhury, I FA, Mazumder HH, Du W. Persistent DNA damage-induced NLRP12 improves hematopoietic stem cell function. *JCI Insight* [Internet]. 2020 May 21;5(10). Available from: <https://insight.jci.org/articles/view/133365>
101. Theivanthiran B, Evans KS, DeVito NC, Plebanek M, Sturdivant M, Wachsmuth LP, et al. A tumor-intrinsic PD-L1/NLRP3 inflammasome signaling pathway drives resistance to anti-PD-1 immunotherapy. *J Clin Invest* [Internet]. 2020 Apr 13;130(5):2570–86. Available from: <https://www.jci.org/articles/view/133055>
102. Li C, Qiu J, Xue Y. Low-dose Diosbulbin-B (DB) activates tumor-intrinsic PD-L1/NLRP3 signaling pathway mediated pyroptotic cell death to increase cisplatin-sensitivity in gastric cancer (GC). *Cell Biosci* [Internet]. 2021 Feb 12;11(1):38. Available from: <https://cellandbioscience.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13578-021-00548-x>
103. Adamiak M, Abdel-Latif A, Bujko K, Thapa A, Anusz K, Tracz M, et al. Nlrp3 Inflammasome Signaling Regulates the Homing and Engraftment of Hematopoietic Stem Cells (HSPCs) by Enhancing Incorporation of CXCR4 Receptor into Membrane Lipid Rafts. *Stem Cell Rev Reports* [Internet]. 2020 Oct 13;16(5):954–67. Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s12015-020-10005-w>
104. Adamiak M, Lenkiewicz AM, Cymer M, Kucia M, Ratajczak J, Ratajczak MZ. Novel evidence that an alternative complement cascade pathway is involved in optimal mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells in Nlrp3 inflammasome-dependent manner. *Leukemia* [Internet]. 2019 Dec 26;33(12):2967–70. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41375-019-0530-9>
105. Jankovic D, Ganesan J, Bscheider M, Stickel N, Weber FC, Guarda G, et al. The Nlrp3 inflammasome regulates acute graft-versus-host disease. *J Exp Med* [Internet]. 2013 Sep 23;210(10):1899–910. Available from: <https://rupress.org/jem/article/210/10/1899/41391/The-Nlrp3-inflammasome-regulates-acute>
106. Wilhelm K, Ganesan J, Müller T, Dürr C, Grimm M, Beilhack A, et al. Graft-versus-host disease is enhanced by extracellular ATP activating P2X7R. *Nat Med* [Internet]. 2010 Dec 21;16(12):1434–8. Available from: <http://www.nature.com/articles/nm.2242>

5.2 Publicação de artigo 02 – Association of *IL1B* -511 polymorphism with the risk of hematologic malignancies: data from a meta-analysis

Nesta revisão sistemática com meta-análise publicada no *Cancer Biology & Therapy* (doi: 10.1080/15384047.2024.2382503, Fator de Impacto: 4.87) visamos fornecer dados precisos sobre a associação entre variação genética e o risco de neoplasias hematológicas, uma vez que vários estudos epidemiológicos investigaram a associação entre *IL1B*-511 *C>T* em muitos tipos de câncer; no entanto, nas neoplasias hematológicas, os resultados são inconclusivos devido a descobertas em estudos isolados.

Esta é a primeira revisão sistemática com meta-análise a descrever a relação entre um polimorfismo do gene no complexo inflamassoma em neoplasias hematológicas. No entanto, vale ressaltar que nosso objetivo inicial era realizar essa análise somente com leucemia linfoblástica aguda, todavia, devido ao escasso número de estudos com polimorfismos de inflamassoma na doença, optamos pela limitação em *IL1B*-511 *C>T* e neoplasias hematológicas.

Association between the *IL1B* -511 C>T polymorphism and the risk of hematologic malignancies: data from a meta-analysis

Fabíola Silva Alves Hanna 1,2, Felipe Rodolfo Pereira Silva 2,3, Daniele Sá Pereira 1,4, Alessandro Luiz Araújo Bentes Leal 5, Fábio Magalhães-Gama, Allyson Guimarães Costa 1,2,4,7

1. Diretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, AM, Brazil;
2. Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil;
3. Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Pará (UFPA), Altamira, PA, Brazil;
4. Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, AM, Brazil;
5. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAr), Parnaíba, PI, Brazil;
6. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Instituto René Rachou - Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) Minas, Belo Horizonte, MG, Brazil;
7. Escola de Enfermagem de Manaus, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil;

***Autor correspondente:** Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Av. Constantino Nery 4397, Chapada, Manaus, AM, CEP 69050-001, Brasil. Telefone: +55 (92) 98153-5233. E-mail: allyson.gui.costa@gmail.com

Resumo

A relação entre o polimorfismo *IL1B*-511C>T (rs16944) e o risco de desenvolvimento de neoplasias hematológicas permanece controversa. Assim, realizamos uma meta-análise para avaliar a associação entre o polimorfismo *IL1B*-511C>T e o risco de desenvolver neoplasias hematológicas. Foi realizada uma busca abrangente para identificar todos os estudos elegíveis sobre o polimorfismo *IL1B*-511C>T e neoplasias hematológicas. Doze estudos de caso-controle, com 2.896 casos e 3.716 controles, foram selecionados para a análise. Os dados gerais não indicaram uma associação significativa entre o polimorfismo *IL1B*-511C>T e o risco de neoplasias hematológicas (OR: 1,06, Intervalo de Confiança [IC] de 95%: 0,93-1,22). Além disso, não foram observadas associações significativas em uma análise estratificada de acordo com o tipo de neoplasma (mieloma múltiplo, linfoma de Hodgkin e linfoma não-Hodgkin), etnia (europeia e asiática) e equilíbrio de Hardy-Weinberg. Em resumo, nossos resultados sugerem que não há associação entre o polimorfismo *IL1B*-511C>T e o risco de neoplasias hematológicas. Assim, são necessários mais estudos em grande escala para confirmar nossas descobertas.

Palavras-chave: Interleucina-1, Variações Genéticas, Polimorfismo, Neoplasias Hematológicas, Meta-análise

Introdução

As neoplasias hematológicas são um grupo de doenças malignas derivadas das linhagens hematopoiéticas mieloide e linfóide¹, e representam aproximadamente 9% de todos os cânceres. Além disso, esse grupo é considerado o quarto câncer mais diagnosticado em homens e mulheres em países desenvolvidos². De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), as neoplasias linfóides são agrupadas em neoplasias precursoras linfáticas; neoplasias maduras de células B, T e NK; e linfomas. As neoplasias mieloides são subdivididas em mieloma múltiplo (MM) e síndromes mielodisplásicas (SMD). As leucemias são subdivididas em leucemia mieloide aguda ou crônica (LMA/LMC), leucemia linfoblástica aguda ou crônica (LLA/LLC)^{3,4}. De forma geral, cada indivíduo é afetado sob diferentes condições, e cada um possui um protocolo de tratamento específico.

É amplamente reconhecido que a inflamação crônica impulsiona a progressão tumoral em diversos tipos de câncer⁵. O aumento do estado inflamatório basal parece promover a mutagênese por meio da indução de estresse oxidativo crônico e subsequente dano oxidativo ao DNA, além de provocar alterações epigenéticas que favorecem ainda mais a inflamação⁶. Além disso, uma característica comum de muitas neoplasias hematológicas é a superprodução de citocinas pró-inflamatórias. Embora várias citocinas sejam superexpressas nas neoplasias hematológicas, a superprodução do fator de necrose tumoral-alfa (TNF α), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 1 (IL-1) é a mais comumente observada nos pacientes, sugerindo que essas citocinas desempenham um papel no desenvolvimento e/ou manifestação das neoplasias hematológicas⁷⁻⁹.

Evidências que sustentam um papel pró-tumorigênico da IL-1 β em todos os tipos de câncer foram descritas recentemente. A IL-1 β desempenha um papel pleiotrópico no câncer, modulando a expressão gênica e a produção de citocinas, além de regular a adesão e migração celular, angiogênese, proliferação de células cancerígenas e metástase¹⁰. Enquanto a exposição aguda à IL-1 β contribui para a regeneração de células-tronco hematopoéticas (CTH) após mieloablação e transplante¹¹, a exposição crônica após

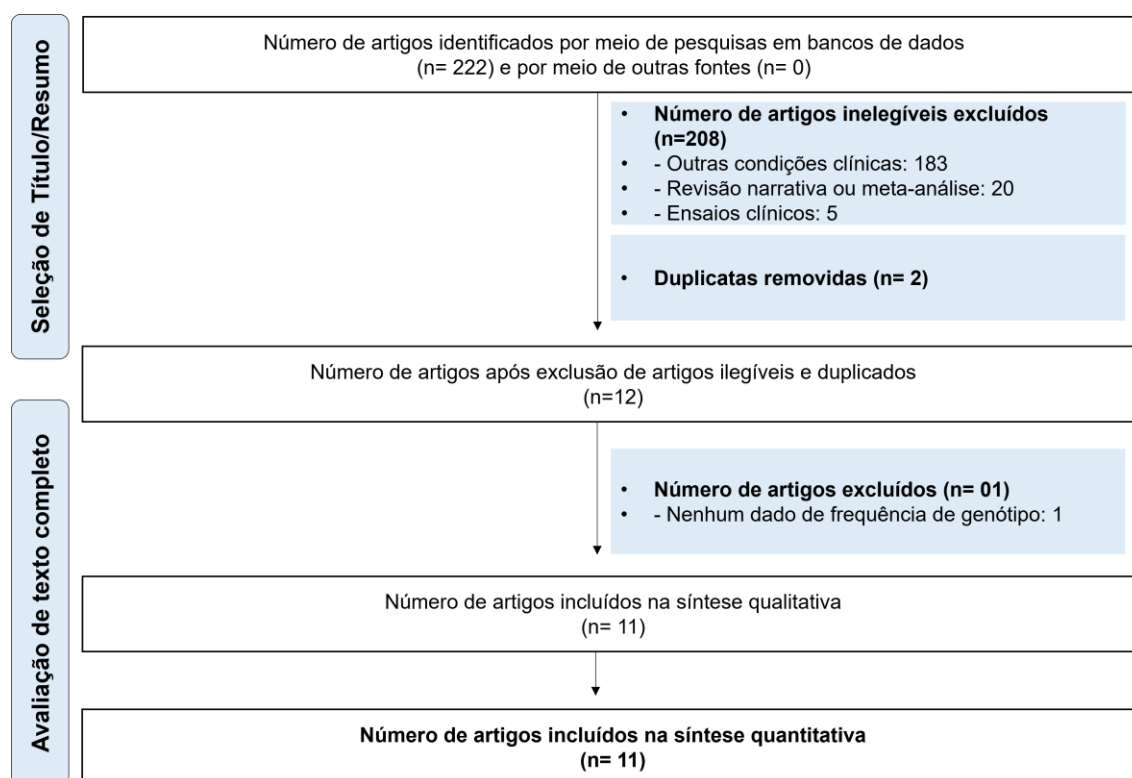
infecção ou lesão promove a divisão descontrolada das CTH e o eventual esgotamento do reservatório de CTH^{6,12}.

A IL-1 β é um mediador chave da carcinogênese por meio da promoção de inflamação crônica, e variações genéticas com ganho de função neste gene têm sido amplamente estudadas nos últimos anos em relação ao câncer¹³. O gene Interleucina 1 Beta (*IL1B*) é altamente polimórfico, e as transições de bases entre C e T nas posições -511 (C>T; dbSNP: rs16944) têm sido associadas ao aumento da secreção de IL-1 β ^{14,15}. Vários estudos epidemiológicos investigaram a associação entre *IL1B* -511 C>T em muitos tipos de câncer^{16,17}; no entanto, nas neoplasias hematológicas, os resultados permanecem incertos e muitos são inconclusivos devido a achados inconsistentes nos estudos individuais. Portanto, este estudo realizou uma meta-análise para fornecer dados precisos sobre a associação entre variação genética e o risco de neoplasias hematológicas.

Resultados

Características da população em estudo

Após uma avaliação cuidadosa da literatura com base na estratégia de busca e critérios de elegibilidade, identificamos 11 estudos que foram incluídos nesta meta-análise. Como mostrado no fluxograma que descreve o processo de seleção dos estudos (**Figura 13**), um estudo foi excluído porque não descrevia a frequência do genótipo¹⁸. Um estudo continha informações sobre linfoma de Hodgkin (LH) e linfoma não-Hodgkin (LNH), e por essa razão, foi duplicado. Portanto, para a análise estatística, utilizamos 12 estudos.

Figura 13. Fluxograma para identificação, triagem e seleção dos estudos.

Os estudos incluíram 2.892 pacientes diagnosticados com uma malignidade hematológica específica e os compararam com 3.716 controles sem câncer. Todos os estudos tiveram um delineamento de caso-controle, foram publicados entre 2007 e 2021 e tiveram como alvo uma ou mais das seguintes neoplasias hematológicas: (1) leucemia linfoblástica aguda, (1) leucemia mieloide aguda, (1) leucemia linfocítica crônica, (1) leucemia mieloide crônica, (2) linfoma de Hodgkin, (2) linfoma não Hodgkin, (1) síndrome mielodisplásica, (2) mieloma múltiplo ou (1) neoplasia mieloproliferativa negativa para o cromossomo Filadélfia.

As características detalhadas dos dados coletados dos 12 estudos de caso-controle estão resumidas na **Tabela 5**. Onze estudos estavam de acordo com o Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW). No entanto, um estava fora do EHW. Seis estudos envolveram a população asiática, quatro envolveram a população europeia, um envolveu a população caucasiana e um envolveu a população mista do Brasil. A maioria dos estudos incluiu pacientes adultos no grupo de casos (91%).

Tabela 05. Características dos estudos selecionados para a meta-análise.

Primeiro Autor e Referência	Ano	Tipo de doença	Etnia	País	Desenho do estudo	Idade (masculino/feminino)	Variáveis	N amostral	EHW	Score
Abazis-Stambulieh ¹⁸	2007	MM	Europeia	Grécia	C/Cc	65 (42 -80)/ 65.7 (40 -85)	C-controle	74/160	Sim	10
Alves ¹⁹	2021	LLA	Miscigenado	Brasil	C/Cc	12 (14 – 17)/38 (26 – 52)	C-controle/ recaída	158/192	Sim	11
Ennas ²⁰	2008	LLC	Europeia	Itália	C/Cc	57.9 ± 12.5/ 56.5 ± 13.2	C-controle	40/112	Sim	10
Hoefl I ²¹	2008	LNH	Europeia	Alemanha	C/Cc	56.1 (Nos)	C-controle	640/658	Sim	14
Hoefl II ²¹	2008	LH	Europeia	Alemanha	C/Cc	56.1 (Nos)	C-cpntrole	105/658	Sim	14
Sarani ²²	2021	LNH	Caucasiano	Irã	C/Cc	20 – 90/ 21 - 75	C-controle	151/165	Não	9
Wang ²³	2017	LMA	Asiático	China	C/Cc	48 (16 – 89)	C-controle/ citogenética/ recaída / idade/sexo / blastos na medula óssea	383/300	Sim	10
Yin ²⁴	2016	SMD	Asiático	China	C/Cc	56 (16 – 95)/ 42 (17 – 85)	C-controle/ idade/sexo/hemograma	160/96	Sim	11
Zhang ²⁵	2017	LMC	Asiático	China	C/Cc	47 (16 – 81)/ 45 (21 – 83)	C-controle/ estratificação de risco/resposta terapêutica <i>BCR-ABL</i>	267/344	Sim	10
Zhao ²⁶	2017	LH	Asiático	China	C/Cc	54 (13 – 85)/ 48 (21 – 85)	C-controle	390/385	Sim	10
Zhao ²⁷	2018	MM	Asiático	China	C/Cc	60 (25 – 89)/ 55 (26 – 90)	C-controle/ idade/ sexo/ classificação/ mielograma/ hemograma	355/350	Sim	11
Zhou ²⁸	2020	NMC	Asiático	China	C/Cc	59 (16 – 84)/ 55 (16-88)	C-controle	269/291	Sim	11

Miscigenado —Brasileiros e outras etnias latino-americanas

LLA: leucemia linfoblástica aguda, *LLC*: leucemia linfocítica crônica, *LNH*: linfoma não-hodgkin, *LMA*: leucemia mieloide aguda, *SMD*: síndrome mielodisplásica, *LMC*: leucemia mieloide crônica, *LH*: linfoma hodgkin, *MM*: mieloma múltiplo, *NMC*: neoplasia mieloproliferativa crônica Philadelphia negativo.

C caso, *Cc* controle, *EHW*: Equilíbrio de Hardy–Weinberg

NOS: não especificado

Resultados da avaliação da qualidade

A avaliação dos aspectos metodológicos quanto à qualidade mostrou que um estudo obteve pontuação baixa (9 pontos), nove estudos atingiram pontuação entre 10 e 11 pontos e dois estudos atingiram pontuação de 14 pontos, conforme a **Tabela complementar 1**.

Tabela Suplementar 01. Classificação detalhada da avaliação da qualidade

Autor e Referência	Criterion					Total Score
	Meio de obtenção dos casos	Meio de obtenção dos controles	Tipo de amostra	EHW em controles	Tamanho do amostral	
Abazis-Stambulieh ¹⁸	2	1	3	3	1	10
Alves ¹⁹	2	2	3	3	1	11
Ennas ²⁰	2	1	3	3	1	10
Hoeft I ²¹	3	2	3	3	3	14
Hoeft II ²¹	3	2	3	3	3	14
Sarani ²²	2	3	3	0	1	9
Wang ²³	2	0	3	3	2	10
Yin ²⁴	2	2	3	3	1	11
Zhang ²⁵	2	0	3	3	2	10
Zhao ²⁶	2	0	3	3	2	10
Zhao ²⁷	2	1	3	3	2	11
Zhou ²⁸	2	1	3	3	2	11

Meta-análise do polimorfismo IL1B -511 C>T e sua relação com malignidades hematológicas

A **Tabela 06** e **Figura 14** mostram as análises geral e estratificada desse polimorfismo de acordo com o tipo de neoplasia (MM, LH e LNH), etnia (europeia e asiática) e EHW em avaliações alélicas e genotípicas. Os resultados dos estudos agrupados mostraram que não houve associações significativas entre o polimorfismo IL1B -511 C>T e o risco de malignidades hematológicas (OR:1,06; Intervalo de confiança (IC) de 95%:0,93 – 1,22; p=0,37) (Figura 2). Da mesma forma, associações não significativas foram encontradas na análise estratificada por i) tipo de neoplasia: MM (OR: 1,28, IC 95%: 0,81 – 2,02, p=0,29), HL (OR: 1,02, IC 95%: 0,84 - 1,24, p=0,85) e LNH (OR: 1,00, IC 95%: 0,63 - 1,61, p=0,98), ii) etnia: europeia (OR: 0,86, IC 95%: 0,57 – 1,30, p=0,48) e asiática (OR: 1,09, IC 95%: 0,99 – 1,20, p=0,09) e iii) EHW (OR: 1,05,

IC 95%: 0,91 – 1,20, $p=0,54$). Neste estudo, usamos o modelo estatístico de efeitos aleatórios para cálculo de OR devido ao aumento do valor de heterogeneidade ($I^2=59\%$, $p=0,00$).

Tabela 06. Meta-análise da associação entre o polimorfismo *IL1B* -511 C>T (rs16944) e o risco de neoplasias hematológicas (comparações alélicas e genotípicas; e análise estratificada).

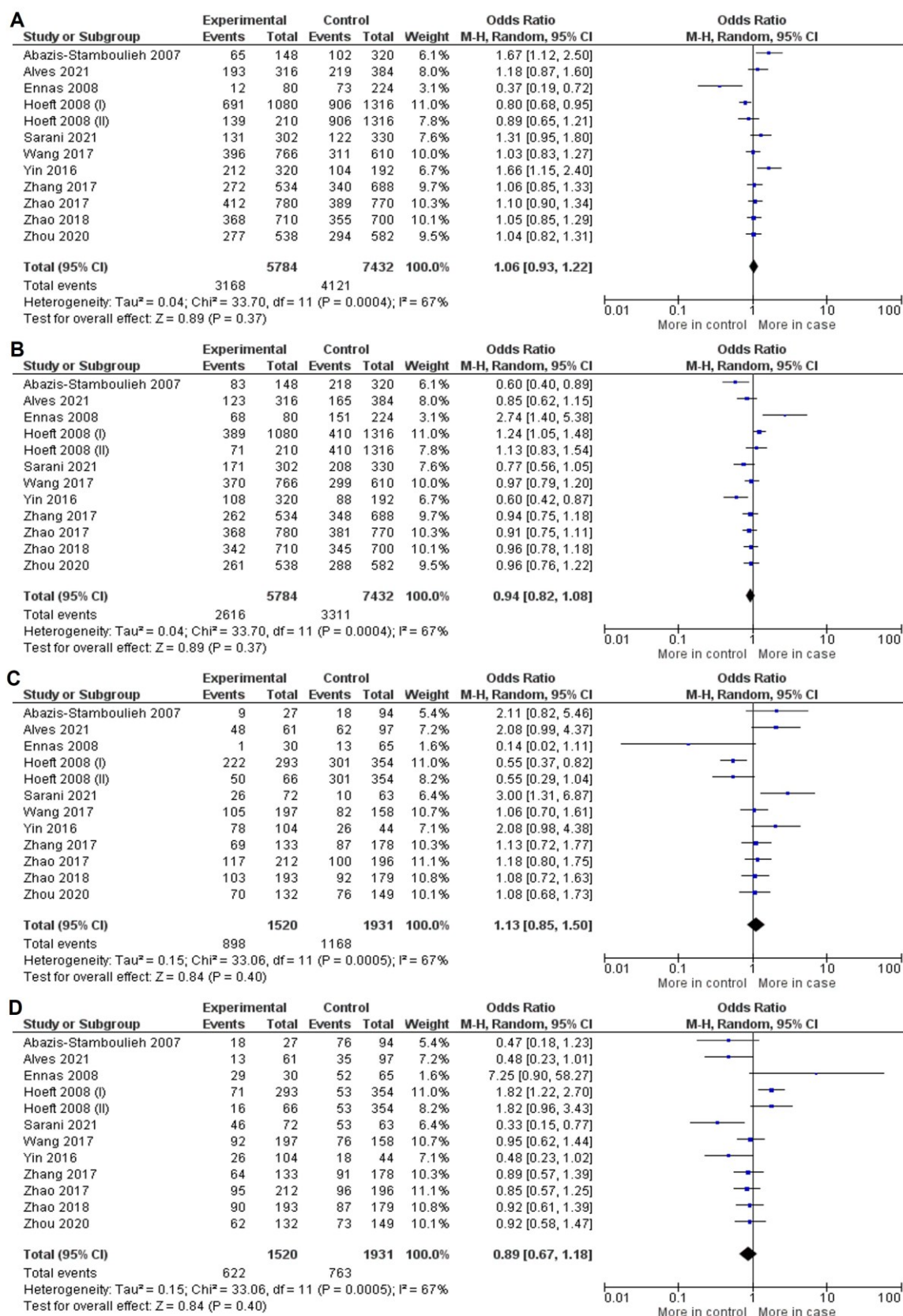
Variable rs16944	Comparação (n)	Caso/Controle	M versus m		m versus M	
			OR (95% IC)	P	OR (95% IC)	P
Geral	12	2,892/3,716	1.06 (0.93, 1.22)	0.37	0.94 (0.82, 1.08)	0.37
MM	2	429/510	1.28 (0.81, 2.02)	0.29	0.78 (0.49, 1.23)	0.29
LH	2	495/1,043	1.02 (0.84, 1.24)	0.85	0.98 (0.80, 1.20)	0.85
NHL	2	791/823	1.00 (0.63, 1.61)	0.98	1.00 (0.62, 1.60)	0.98
Europeia	4	859/930	0.86 (0.57, 1.30)	0.48	1.16 (0.77, 1.74)	0.48
Asiático	6	1,824/1,766	1.09 (0.99, 1.20)	0.09	0.92 (0.83, 1.01)	0.09
EHW sim	11	2,741/3,551	1.05 (0.91, 1.20)	0.54	0.96 (0.83, 1.10)	0.54

Variable rs16944	Comparação (n)	Caso/Controle	MM versus mm		mm versus MM	
			OR (95% IC)	P	OR (95% IC)	P
Geral	12	2,892/3,716	1.13 (0.85, 1.50)	0.40	0.89 (0.67, 1.18)	0.40
MM	2	429/510	1.31 (0.72, 2.36)	0.37	0.76 (0.42, 1.38)	0.37
LH	2	495/1,043	0.84 (0.40, 1.77)	0.65	1.19 (0.56, 2.50)	0.65
NHL	2	791/823	1.23 (0.23, 6.49)	0.80	0.81 (0.15, 4.27)	0.80
Europeia	4	859/930	0.67 (0.34, 1.32)	0.24	1.50 (0.76, 2.94)	0.24
Asiático	6	1,824/1,766	1.15 (0.96, 1.38)	0.13	0.87 (0.72, 1.04)	0.13
EHW sim	11	2,741/3,551	1.05 (0.80, 1.38)	0.70	0.95 (0.72, 1.25)	0.70

Variable rs16944	Comparação (n)	Caso/Controle	MM versus mm/Mm		Mm versus mm/MM	
			OR (95% IC)	P	OR (95% IC)	P
Geral	12	2,892/3,716	1.31 (0.94, 1.84)	0.11	1.15 (0.81, 1.64)	0.44
MM	2	429/510	1.14 (0.84, 1.55)	0.41	1.43 (0.52, 3.95)	0.49
LH	2	495/1,043	2.23 (0.54, 9.16)	0.27	3.23 (0.14, 73.44)	0.46
NHL	2	791/823	1.55 (0.41, 5.87)	0.52	0.86 (0.61, 1.22)	0.39
Europeia	4	859/930	0.89 (0.70, 1.14)	0.37	0.97 (0.57, 1.64)	0.90
Asiático	6	1,824/1,766	1.54 (0.93, 2.56)	0.10	1.35 (0.73, 2.51)	0.34
EHW sim	11	2,741/3,551	1.23 (0.87, 1.73)	0.23	1.21 (0.83, 1.76)	0.32

M alelo mutado, m alelo selvagem, OR odds ratio, IC intervalo de confiança.

Figura 14. Gráficos de floresta para comparação do alelo mutante A) versus alelo selvagem, B) alelo selvagem versus alelo mutante, C) mutante homozigoto versus mutante homozigoto e D) mutante selvagem homozigoto versus mutante homozigoto do polimorfismo *IL1B* -511 C>T (rs16944) e malignidades hematológicas.



Análise de viés e sensibilidade de publicação

Os resultados da avaliação do viés de publicação mostraram a ausência de assimetria aparente nos gráficos do gráfico de funil para as comparações da avaliação geral (**Figura Suplementar 1**). Esses dados foram apoiados pelos valores não significativos do teste de Begg e dos testes de regressão linear de Egger, conforme mostrado na **Tabela Suplementar 02**. A análise de sensibilidade também demonstrou que nenhum estudo individual afetou os valores OR agrupados na validação de nossos resultados.

Figura Suplementar 01. Gráficos de funil para viés de publicação em A) M versus m, B) m versus M, C) MM versus mm, D) mm versus MM, E) MM versus mm/Mm e F) Mn versus mm/Mn.

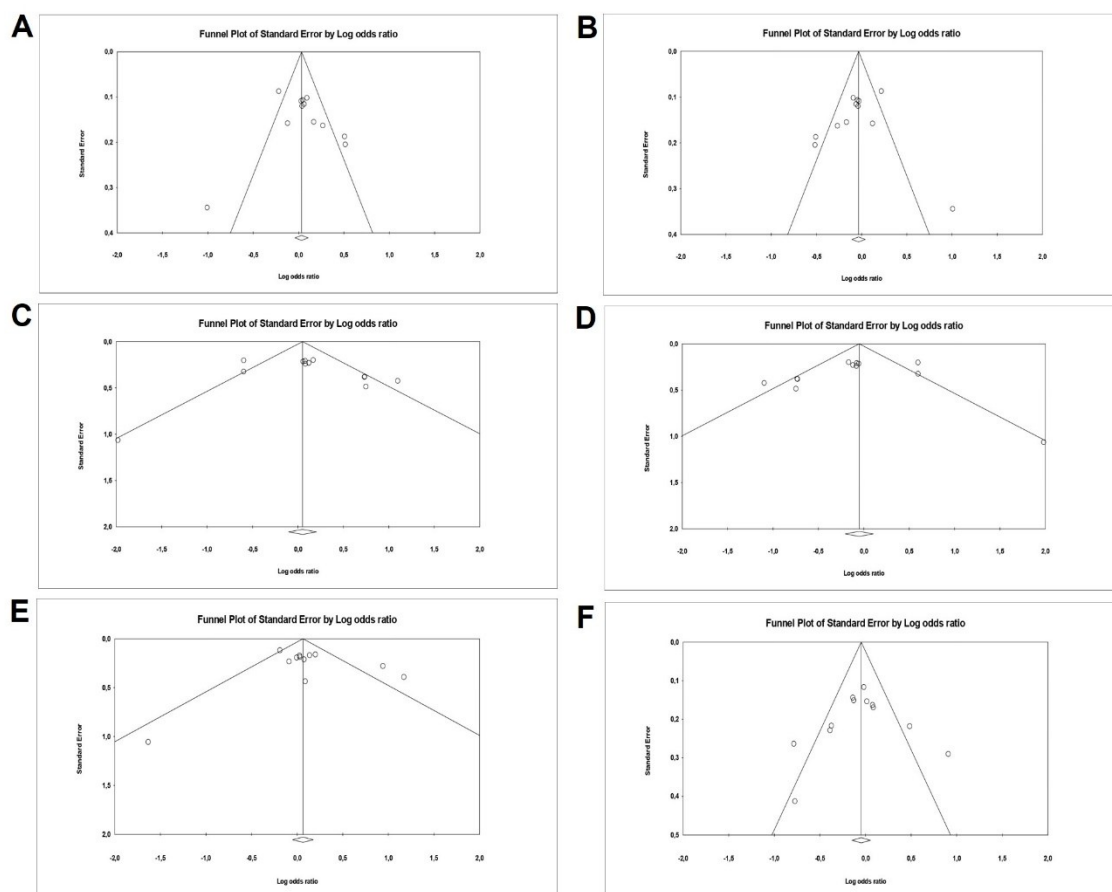


Tabela Suplementar S02. Valores de viés de publicação para a associação entre o polimorfismo *IL1B* -511 C>T e o risco de malignidades hematológicas.

Comparações	Begg test	Egger's linear regression test
M vs m	0.351	0.496
m vs M	0.243	0.530
MM vs mm	0.372	0.484
mm vs MM	0.370	0.484
MM vs mm/Mm	1.000	0.319
Mm vs mm/MM	0.945	0.665

Discussão

Até onde sabemos, esta é a primeira meta-análise a avaliar de forma abrangente a associação entre o polimorfismo *IL1B* -511 C>T e o risco de malignidades hematológicas. Variantes de nucleotídeo único (SNVs) é um termo que descreve uma variação de nucleotídeo na sequência de DNA e é considerado o tipo mais frequente de variação genética na população. Essa variante está intrinsecamente associado à resistência a medicamentos, suscetibilidade a doenças e diferenças étnicas ²⁹. Dados publicados sobre as funções biológicas dos polimorfismos no gene *IL1B* mostraram que o polimorfismo *IL1B* -511 C>T influencia fortemente a atividade transcricional apenas no contexto de outros polimorfismos do promotor *IL1B*, como *IL-1B* -31 C>T ¹⁴. Além disso, um polimorfismo de base única C para T no promotor do gene *IL1B* C(-511)→T) foi relatado como afetando os níveis de IL-1 e IL-1Ra ³⁰.

Poucos estudos demonstraram o papel do polimorfismo *IL1B* -511 C>T em pacientes com neoplasias hematológicas. Portanto, devido à inconsistência nos resultados e ao número limitado de estudos disponíveis, realizamos esta meta-análise. Os resultados dos estudos gerais e estratificados mostraram que não houve associações estatisticamente significativas entre *IL1B* -511 C>T e o risco de malignidades hematológicas. Além disso, devido ao número limitado de estudos sobre etnias mistas e caucasianas (n = 1), não pudemos realizar uma análise estratificada. Apesar disso, o uso das diretrizes sugeridas para a avaliação desses estudos demonstrou a qualidade aceitável dos estudos nesta meta-análise (Tabela 1 e Tabela S1), o que demonstrou os aspectos metodológicos precisos dos estudos.

Embora nossos dados tenham mostrado associações não significativas para avaliações alélicas ou genóticas, em relatórios anteriores, os alelos e genótipos

estudados para o polimorfismo *-511 C>T* em *IL1B* foram associados ao risco de algumas malignidades hematológicas e implicações clínicas. O alelo T está associado a um risco aumentado de MM¹⁸. Na leucemia aguda, os genótipos CT e TT estão associados ao risco de LLA pediátrica¹⁹, e CT foi associado a um grupo citogenético de risco favorável em LMA 23. Na leucemia crônica, o alelo T foi associado a um risco menor de LLC²⁰ e CT a uma resposta molecular precoce em 6 meses para *BCR::ABL* em LMC²⁵. Pacientes com o polimorfismo *IL1B -511 C>T* tiveram uma pontuação maior no *International Prognostic Scoring System* (IPSS), que pode servir como um novo biomarcador e alvo potencial para SMD²⁴. A sinalização aprimorada de IL-1 β é um evento comum em pacientes com malignidades hematológicas¹², e o conhecimento de sua genética e mecanismos moleculares nos permitirá determinar o verdadeiro potencial do direcionamento de IL-1 β como uma terapia para malignidades hematológicas e suas complicações relacionadas.

A etnia influencia diretamente a incidência de malignidades hematológicas em uma determinada população³¹. De acordo com estudos anteriores, descendentes de americanos são mais suscetíveis a desenvolver linfoma de Hodgkin e não Hodgkin, mieloma múltiplo, leucemia mieloide aguda e linfoblástica³², enquanto pessoas de ascendência sul-asiática e africana têm o menor risco^{31,33}. É importante notar que, em nosso estudo, os brasileiros eram compostos exclusivamente por uma população mista, que é caracterizada por um alto grau de miscigenação de ancestrais ameríndios, africanos e europeus³⁴. Na literatura, crianças de etnia mista tinham alto risco de desenvolver LLA devido ao histórico genético ameríndio³⁵. Isso corrobora o estudo de Alves et al. (2021), que descreveu o polimorfismo *IL1B -511 C>T* como um fator de risco para LLA em crianças da região amazônica¹⁹, que é uma região onde a ancestralidade ameríndia é predominantemente encontrada³⁶.

Embora nossa meta-análise seja a primeira a abordar a associação entre esse polimorfismo e malignidades hematológicas e, como tal, tenha trazido resultados robustos e precisos com ausência de viés de publicação, este estudo tem algumas limitações importantes que devem ser citadas e discutidas: (i) o número limitado de estudos pode explicar as associações não significativas observadas até o momento; portanto, um tamanho amostral maior é necessário para validar os resultados, uma vez que em uma análise estratificada, o número de cada subgrupo parece ser menor; ii) além disso, não conseguimos incluir uma população global representativa, uma vez que a frequência do

polimorfismo *IL1B -511 C>T* é influenciada pela população analisada, que em nosso estudo foi a população asiática, *iii*) as neoplasias hematológicas são doenças multifatoriais causadas pela interação de vários fatores, como idade, sexo, infecções, exposição a agentes radioativos e/ou químicos e etnia. Portanto, uma análise estratificada completa poderia fornecer uma melhor compreensão da influência do polimorfismo *IL1B -511 C>T* e seu desenvolvimento; no entanto, não foi possível realizar isso devido aos dados limitados disponíveis nos estudos, *iv*) Análises mais específicas podem ser conduzidas se dados individuais estivessem disponíveis, tal análise nos permitiria ajustar para outras covariáveis, como idade, histórico familiar e fatores ambientais; e *v*) Finalmente, e nossos dados são precisos e demonstram associações não significativas. Mais estudos com tamanhos de amostra maiores são necessários para investigar a associação entre o polimorfismo *IL1B -511 C>T* e neoplasias hematológicas.

Em conclusão, as análises geral e estratificada desta meta-análise, composta por 12 estudos de caso-controle com 2.892 pacientes e 3.716 controles livres de câncer, não encontraram nenhuma evidência de associação entre o polimorfismo *IL1B -511 C>T* e o risco de neoplasias hematológicas.

Material e métodos

Estratégia de busca bibliográfica

Esta meta-análise seguiu as diretrizes do *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*³⁷. Nos bancos de dados eletrônicos (*PubMed*, *Web of Science* e *Google Acadêmico*) foram pesquisados de forma abrangente usando as seguintes palavras-chave combinadas ou títulos de assuntos médicos (MeSH): “polimorfismo”, “rs16944”, “inflamassoma” e “câncer”. Não houve restrições de idioma na estratégia de busca, e todos os estudos publicados antes de 30 de novembro de 2022 foram considerados. Nós examinamos os resumos dos estudos encontrados, bem como suas referências, para identificar potenciais estudos adicionais.

Critérios de inclusão e exclusão

Nesta meta-análise, os estudos foram incluídos de acordo com os seguintes critérios: (1) estudos que avaliaram a associação entre o polimorfismo *IL1B -511 C>T* (rs16944) e o risco de alguma malignidade hematológica; (2) estudos de caso-controle; e (3) estudos com dados de genótipo suficientes em casos e controles para calcular a razão

de chances (OR) com intervalos de confiança de 95% (ICs de 95%). Os principais motivos para a exclusão de estudos foram os seguintes: (1) nenhum dado de frequência de genótipo e (2) duplicação de uma publicação anterior.

Extração de dados

Dois pesquisadores (FSAH e FRPS) revisaram independentemente todos os estudos e extraíram os dados usando um formulário padronizado. Desacordos foram resolvidos por discussão com os coautores. As seguintes informações foram extraídas: sobrenome do primeiro autor, ano de publicação, tipo de doença, etnia, país de origem, desenho do estudo, idade, tipo de sujeito, número de casos e controles na amostra e se as frequências alélicas e genótípicas estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW).

Avaliação da pontuação de qualidade

Dois revisores avaliaram independentemente a qualidade dos estudos (FSAH e FRPS) de acordo com a escala para avaliação de qualidade descrita por Tian et al. (2016)³⁸. A escala de qualidade foi baseada nos aspectos metodológicos dos estudos incluídos, como a fonte dos casos, fonte dos controles, espécimes coletados, HWE nos controles e tamanho total da amostra. As pontuações variaram de 0 a 15, e a qualidade foi avaliada pela variação de pontuações baixas (piores) a altas (melhores) (**Tabela S01**).

Análise estatística

O programa estatístico Review Manager versão 5.3 (*RevMan, Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration, 2012*) foi usado para as revisões sistemáticas e meta-análises. O viés de publicação foi avaliado usando o *software estatístico Comprehensive Meta-analysis versão 3.3.070* (2014).

A presença ou ausência de heterogeneidade verdadeira (I^2) foi calculada usando o teste X^2 de Cochran ou o teste estatístico baseado em qui-quadrado Q. I^2 também foi analisado para heterogeneidade pela visualização do gráfico de funil. Quando o valor observado de I^2 não apresentou significância estatística e foi definido como leve ou moderado ($I^2 < 50\%$, $P > 0,05$), os autores usaram o modelo de efeitos fixos para o cálculo da razão de chances (OR) agrupada. Quando I^2 apresentou um valor estatisticamente significativo e foi definido como elevado ($I^2 > 50\%$, $P < 0,05$), o modelo estatístico de efeitos aleatórios foi usado para cálculos de OR. A significância estatística foi definida

em $P < 0,05$. Para quantificar a influência exata da variação genética no risco de desenvolvimento da doença, seis modelos genéticos foram medidos usando “M” como o alelo mutante e o alelo “m” como o alelo selvagem. Portanto, os cálculos foram compostos de comparações alélicas: (I) M versus m, (II) m versus M; comparações genótípicas: (III) MM versus mm, (IV) mm versus MM e combinações de variações genótípicas: (V) MM versus mm + Mm e (VI) Mm versus MM + mm. Além disso, uma análise de sensibilidade foi realizada omitindo um estudo no momento do cálculo do OR agrupado para o alelo mutante, a fim de detectar qualquer tipo de interferência única. Uma análise de sensibilidade foi realizada omitindo um estudo incluído por vez para verificar quaisquer possíveis alterações significativas no valor do OR. Para avaliar o viés de publicação, o teste de Begg e o teste de regressão linear de Egger foram usados para estimar o potencial viés de publicação ($p < 0,05$). Nesta meta-análise, a assimetria do gráfico de funil para viés de publicação também foi considerada para validar os resultados do teste de Begg e do teste de Egger. Todos os estudos incluídos tinham dados dicotômicos expressos como OR com intervalos de confiança (IC) de 95% para verificar a possível associação entre as variações genéticas mencionadas e malignidades hematológicas.

Contribuições dos autores

Desenho do estudo: FSAH, DSP, FM-G e AGC. Pesquisas em bancos de dados e artigos de texto completo coletados: FSAH e FRPS. FSAH e FRPS foram extraídos e analisados. Análises estatísticas: FRPR e ALABL. FSAH e AGC escreveram o manuscrito. Todos os autores revisaram a versão final do manuscrito.

Divulgação de potenciais conflitos de interesses

Os autores declaram não ter associações comerciais ou de outro tipo que possam representar conflitos de interesse.

Financiamento

O apoio financeiro foi fornecido na forma de bolsas da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) (Programa Pró-Estado - #002/2008, #007/2018 e #005/2019 e Programa POSGRAD #008/2021 e #005/2022), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). FBAH, DSP e FM-G possuem

bolsas da CAPES e do CNPq (alunos de mestrado e doutorado). AGC é bolsista nível 2 do CNPq e bolsista FAPEAM (Programa PRODOC #003/2022). Os financiadores não tiveram nenhum papel no desenho do estudo, na coleta e análise de dados, na decisão de publicação ou na preparação do manuscrito.

Declaração de disponibilidade de dados

Data sharing is not applicable to this article, as no new data were created or analyzed in this study.

Aprovação Ética

Este artigo não contém nenhum estudo envolvendo participantes humanos ou animais realizados por nenhum dos autores; portanto, aprovação ética e consentimento informado não foram necessários.

Referências

1. Zierhut M, Haen SP, Moehle R, Chan C-C. 2016. Hematological Neoplasms. In: Intraocular Inflamm [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; p. 1493–1510. doi:10.1007/978-3-540-75387-2_149
2. Smith A, Howell D, Patmore R, Jack A, Roman E. 2011. Incidence of haematological malignancy by sub-type: A report from the Haematological Malignancy Research Network. Br J Cancer [Internet]. 105(11):1684–1692. doi:10.1038/bjc.2011.450
3. Arber DA, Orazi A, Hasserjian RP, Borowitz MJ, Calvo KR, Kvasnicka HM, Wang SA, Bagg A, Barbui T, Branford S, et al. 2022. International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. Blood. 140(11):1200–1228. doi:10.1182/blood.2022015850
4. Hanahan D, Weinberg RA. 2011. Hallmarks of cancer: The next generation. Cell [Internet]. 144(5):646–674. doi:10.1016/j.cell.2011.02.013
5. Hasselbalch HC. 2013. Chronic inflammation as a promotor of mutagenesis in essential thrombocythemia, polycythemia vera and myelofibrosis. A human inflammation model for cancer development? Leuk Res [Internet]. 37(2):214–220. doi:10.1016/j.leukres.2012.10.020
6. Craver BM, El Alaoui K, Scherber RM, Fleischman AG. 2018. The critical role of inflammation in the pathogenesis and progression of myeloid malignancies. Cancers (Basel). 10(4):1–18. doi:10.3390/cancers10040104
7. Myers JS. 2008. Proinflammatory cytokines and sickness behavior: Implications for depression and cancer-related symptoms. Oncol Nurs Forum. 35(5):802–807. doi:10.1188/08.ONF.802-807

8. Magalhães-Gama F, Kerr MWA, De Araújo ND, Ibiapina HNS, Neves JCF, Hanna FSA, Xabregas LDA, Carvalho MPSS, Alves EB, Tarragô AM, et al. 2021. Imbalance of Chemokines and Cytokines in the Bone Marrow Microenvironment of Children with B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Oncol*. 2021. doi:10.1155/2021/5530650
9. Rébé C, Ghiringhelli F. 2020. Interleukin-1 β and Cancer. *Cancers (Basel)*. 12:1791–1822.
10. Hermouet S, Vilaine M. 2011. The JAK2 46/1 haplotype: A marker of inappropriate myelomonocytic response to cytokine stimulation, leading to increased risk of inflammation, myeloid neoplasm, and impaired defense against infection? *Haematologica*. 96(11):1575–1579. doi:10.3324/haematol.2011.055392
11. Pietras EM, Mirantes-Barbeito C, Fong S, Loeffler D, Kovtonyuk L V., Zhang S, Lakshminarasimhan R, Chin CP, Techner J-M, Will B, et al. 2016. Chronic interleukin-1 drives haematopoietic stem cells towards precocious myeloid differentiation at the expense of self-renewal. *Nat Cell Biol*. 18(6):607–618. doi:10.1038/ncb3346.Chronic
12. Arranz L, Arriero M del M, Villatoro A. 2017. Interleukin-1 β as emerging therapeutic target in hematological malignancies and potentially in their complications. *Blood Rev [Internet]*. 31(5):306–317. doi:10.1016/j.blre.2017.05.001
13. Hall SK, Perregaux DG, Gabel CA, Woodworth T, Durham LK, Huizinga TWF, Breedveld FC, Seymour AB. 2004. Correlation of polymorphic variation in the promoter region of the interleukin-1 β gene with secretion of interleukin-1 β protein. *Arthritis Rheum*. 50(6):1976–1983. doi:10.1002/art.20310
14. Chen H, Wilkins LM, Aziz N, Cannings C, Wyllie DH, Bingle C, Rogus J, Beck JD, Offenbacher S, Cork MJ, et al. 2006. Single nucleotide polymorphisms in the human interleukin-1B gene affect transcription according to haplotype context. *Hum Mol Genet*. 15(4):519–529. doi:10.1093/hmg/ddi469
15. He B, Zhang Y, Pan Y, Xu Y, Gu L, Chen L, Wang S. 2011. Interleukin 1 beta (IL1B) promoter polymorphism and cancer risk: Evidence from 47 published studies. *Mutagenesis*. 26(5):637–642. doi:10.1093/mutage/ger025
16. Xu J, Yin Z, Cao S, Gao W, Liu L, Yin Y, Liu P, Shu Y. 2013. Systematic review and meta-analysis on the association between IL-1B polymorphisms and cancer risk. *PLoS One*. 8(5):e63654. doi:10.1371/journal.pone.0063654.g001
17. Zhang C, Han F, Yu J, Hu X, Hua M, Zhong C, Wang R, Zhao X, Shi Y, Ji C, Ma D. 2019. Investigation of NF- κ B-94ins/del ATTG and CARD8 (rs2043211) Gene Polymorphism in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 10(August):1–9. doi:10.3389/fendo.2019.00501
18. Abazis-Stamboulieh D, Oikonomou P, Papadoulis N, Panayiotidis P, Vrakidou E, Tsezou A. 2007. Association of interleukin-1A, interleukin-1B and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms with multiple myeloma. *Leuk Lymphoma*. 48(11):2196–2203. doi:10.1080/10428190701615892
19. Alves FS, Xabregas LA, Kerr MWA, Souza GL, Pereira DS, Magalhães-Gama F, Santiago MRR, Garcia NP, Tarragô AM, Ogusku MM, et al. 2021. Genetic polymorphisms of inflammasome genes associated with pediatric acute lymphoblastic

- leukemia and clinical prognosis in the Brazilian Amazon. *Sci Rep* [Internet]. 11(1):1–10. doi:10.1038/s41598-021-89310-4
20. Ennas MG, Moore PS, Zucca M, Angelucci E, Cabras MG, Melis M, Gabbas A, Serpe R, Madeddu C, Scarpa A, Cocco P. 2008. Interleukin-1B (IL1B) and interleukin-6 (IL6) gene polymorphisms are associated with risk of chronic lymphocytic leukaemia. *Hematol Oncol* [Internet]. 26(2):98–103. doi:10.1002/hon.843
 21. Hoeft B, Becker N, Deeg E, Beckmann L, Nieters A. 2008. Joint effect between regular use of non-steroidal anti-inflammatory drugs, variants in inflammatory genes and risk of lymphoma. *Cancer Causes Control*. 19(2):163–173. doi:10.1007/s10552-007-9082-9
 22. Sarani H, Mollashahi B, Taheri M, Bahari G, Hashemi SM, Hashemi M, Ghavami S. 2021. Association between the IL-1A, IL-1B and IL-1R polymorphisms and lymphoma. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* [Internet]. 40(7):707–719. doi:10.1080/15257770.2021.1929317
 23. Wang H, Hua M, Wang S, Yu J, Chen C, Zhao X, Zhang C, Zhong C, Wang R, He N, et al. 2017. Genetic polymorphisms of IL-18 rs1946518 and IL-1 β rs16944 are associated with prognosis and survival of acute myeloid leukemia. *Inflamm Res*. 66(3):249–258. doi:10.1007/s00011-016-1012-4
 24. Yin C, He N, Li P, Zhang C, Yu J, Hua M, Ji C, Ma D. 2016. Polymorphisms of Interleukin-1 β rs16944 confer susceptibility to myelodysplastic syndromes. *Life Sci*. 165:109–112. doi:10.1016/j.lfs.2016.09.019
 25. Zhang A, Yu J, Yan S, Zhao X, Chen C, Zhou Y, Zhao X, Hua M, Wang R, Zhang C, et al. 2017. The genetic polymorphism and expression profiles of NLRP3 inflammasome in patients with chronic myeloid leukemia. *Hum Immunol*. 79(1):57–62. doi:10.1016/j.humimm.2017.10.013
 26. Zhao X, Zhang C, Hua M, Wang R, Zhong C. 2017. NLRP3 inflammasome activation plays a carcinogenic role through effector cytokine IL-18 in lymphoma. *Oncotarget*. 8(65):108571–108583.
 27. Zhao X, Hua M, Yan S, Yu J, Han F, Zhong C, Wang R, Zhang C, Hou M, Ma D. 2018. The Genetic Polymorphisms of NLRP3 Inflammasome Associated with T Helper Cells in Patients with Multiple Myeloma. *J Immunol Res*. 2018.
 28. Zhou Y, Yan S, Liu N, He N, Zhang A, Meng S, Ji C, Ma D, Ye J. 2020. Genetic polymorphisms and expression of NLRP3 inflammasome-related genes are associated with Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms. *Hum Immunol*. 81(10–11):606–613. doi:10.1016/j.humimm.2020.09.001
 29. Somberg JC. 2002. Genetic polymorphisms. *Am J Ther*. 9(4):271. doi:10.1097/00045391-200207000-00001
 30. Lai J, Zhou D, Xia S, Shang Y, Zhu J, Pan J, Hua B, Zhu Y, Cui L. 2006. Association of interleukin-1 gene cluster polymorphisms with ischemic stroke in a Chinese population. *Neurol India*. 54:366–369.
 31. Shirley MH, Sayeed S, Barnes I, Finlayson A, Ali R. 2013. Incidence of haematological malignancies by ethnic group in England, 2001–7. *Br J Haematol*. 163(4):465–477. doi:10.1111/bjh.12562

32. Kirtane K, Lee SJ. 2017. Racial and ethnic disparities in hematologic malignancies. *Blood*. 130(15):1699–1705. doi:10.1182/blood-2017-04-778225
33. Tran HN, Li Y, Udaltsova N, Armstrong MA, Friedman GD, Klatsky AL. 2016. Risk of cancer in Asian Americans: a Kaiser Permanente cohort study. *Cancer Causes Control*. 27(10):1197–1207. doi:10.1007/s10552-016-0798-2
34. Giolo SR, Soler JMP, Greenway SC, Almeida MAA, De Andrade M, Seidman JG, Seidman CE, Krieger JE, Pereira AC. 2012. Brazilian urban population genetic structure reveals a high degree of admixture. *Eur J Hum Genet*. 20(1):111–116. doi:10.1038/ejhg.2011.144
35. Carvalho DC, Wanderley A V., Amador MAT, Fernandes MR, Cavalcante GC, Pantoja KBCC, Mello FAR, de Assumpção PP, Khayat AS, Ribeiro-dos-Santos Â, et al. 2015. Amerindian genetic ancestry and INDEL polymorphisms associated with susceptibility of childhood B-cell Leukemia in an admixed population from the Brazilian Amazon. *Leuk Res*. 39(11):1239–1245. doi:10.1016/j.leukres.2015.08.008
36. Moura, Ronald Rodrigues Coelho AVC, Balbino VQ, Brandão LAC. 2015. Meta-analysis of Brazilian genetic admixture and comparison with other Latin America countries. *Am J Hum Biol*. 27(5):674–680.
37. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. 2009. Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *Ann Intern Med*. 151(4):264–269.
38. Tian X, Dai S, Sun J, Jiang S, Jiang Y. 2016. Association between TP53 Arg72Pro polymorphism and leukemia risk: A meta-analysis of 14 case-control studies. *Sci Rep [Internet]*. 6(October 2015):1–6. doi:10.1038/srep24097

5.3 Publicação de Artigo 03 – Single-Nucleotide Variants no gene AIM2 - Ausente no Melanoma 2 (rs1103577) associado à proteção contra leucemia linfoblástica aguda na Amazônia Brasileira a ser submetido a *Frontiers in Oncology* (FI: 3.5)

Fabiola Silva Alves-Hanna^{1,2}, Glenda Menezes Nogueira^{2,3}, Juniel Crespo Assis-Neto², Gláucia Lima Souza², Larissa Silva Santos², Daniele Sá Pereira^{1,2}, Fábio Magalhães Gama^{2,4}, Andréa Monteiro Tarragô^{1,2,3}, Alessandra Pontillo⁵, Adriana Malheiro^{1,2,3,6}, Allyson Guimarães Costa^{1,2,3,6}

1. Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil;
2. Diretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, AM, Brazil;
3. Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, AM, Brazil;
4. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Instituto René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ-Minas), Belo Horizonte, MG, Brasil;
5. Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil;
6. Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brasil;

***Autor correspondente:** Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Av. Constantino Nery, 4397, Chapada, Manaus, AM, CEP 69050-001, Brasil. Telefone: +55 (92) 98153-5233. E-mail: allyson.gui.costa@gmail.com.

RESUMO

Polimorfismos em genes do complexo inflamassoma têm sido identificados como fatores de risco significativos para neoplasias hematológicas. No entanto, são raros os estudos que exploram essa relação na leucemia linfoblástica aguda (LLA). Dessa forma, nós realizamos estudo caso-controle com 210 pacientes com LLA e 205 indivíduos saudáveis a fim de descrever o papel dos polimorfismos *AIM2* rs1103577, *IFI16* rs1633266, *CASP1* rs570685 e *CARD8* rs2043211A na LLA e sua influência nas concentrações séricas das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF. A genotipagem foi realizada através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR) usando sondas *Taqman* e a dosagem das citocinas pela técnica *Cytometric Bead Array* (CBA). Em nosso estudo, o modelo sobredominante do polimorfismo *AIM2* rs1103577 foi associado a um menor risco ao desenvolvimento de leucemia linfoblástica aguda em nossa população (OR_{adj}: 0.56 95% CI_{adj}: 0.35 – 0.90, $p_{adj}=0.003$), bem como, menores chances de óbito (OR_{adj}: 0.50, 95% CI_{adj}: 0.27 – 0.92, $p_{adj}=0.006$). Não observamos influência dos alelos na secreção das citocinas em estudo. Este é o primeiro estudo que investigou a relação dos polimorfismos *AIM2* rs1103577, *IFI16* rs1633266, *CASP1* rs570685 e *CARD8* rs2043211 no desenvolvimento e desfecho clínico de pacientes diagnosticados com LLA da Amazônia Brasileira. Uma compreensão mais profunda das variações genéticas dos genes do complexo inflamassoma nos permitirá identificar melhor os biomarcadores de prognóstico precoce e contribuirá na melhoria dos tratamentos de LLA.

Palavras-chave: leucemia linfoblástica aguda, Receptores do tipo NOD, inflamassoma, SNP, polimorfismo de nucleotídeo único

INTRODUÇÃO

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é uma neoplasia hematopoiética caracterizada pela proliferação descontrolada de linfoblastos na medula óssea, sendo o tipo de câncer mais comum entre crianças, representando cerca de 25-30% de todos os casos de neoplasias que ocorrem na infância ¹. A LLA é incidente em países em desenvolvimento da América Latina, Oriente Médio e Sudeste Asiático ². No Brasil, a taxa de incidência ajustada por idade (AAIR) de LLA em crianças de 0 a 14 anos está entre 24,8 e 76,84 por 1.000.000 de crianças, respectivamente³. O pico de incidência da doença geralmente ocorre entre 2 a 5 anos de idade, acometendo principalmente o gênero masculino ⁴.

Os eventos associados à transformação leucêmica são frequentemente associados a um processo multifatorial, que envolve uma combinação de fatores genéticos e ambientais (exposição à radiação, benzeno, etc.). Estudos sugerem que a leucemia é causada por uma resposta imunológica anormal a uma infecção comum em crianças, a qual, possivelmente, é desencadeada pela falta de exposição a infecções comuns na infância ou por susceptibilidade genética ^{5,6}. Desta forma, a inflamação, o microambiente medular e as células pré-leucêmicas interagem na medula óssea a fim de criar uma estrutura favorável à progressão maligna ⁷.

Um dos principais mediadores inflamatórios são os complexos inflamassomas. Os inflamassomas são complexos multiproteicos citosólicos responsáveis pela maturação e secreção das citocinas inflamatórias IL-1 β e IL-18 e pela morte celular denominada piroptose ⁸. Altas concentrações de citocinas inflamatórias, como a IL-1 β , podem ser observadas em pacientes com neoplasias hematopoiéticas, estando relacionadas ao início e progressão da doença ⁹. Este aumento pode estar associado à presença de single-nucleotide variants (SNVs), que podem influenciar diretamente a transcrição de proteínas. Estudos envolvendo variantes de inflamassoma na leucemia linfoblástica aguda são escassos na literatura. Todavia, já foi relatado que a variante *IL1B* rs16944 está associada ao risco de desenvolvimento de LLA em crianças da Amazônia brasileira ¹⁰.

As crianças da região amazônica, devido à ancestralidade ameríndia, possuem um risco maior de desenvolvimento de LLA¹¹. Apesar da evidência de que variantes genéticas relacionadas à ancestralidade nativa americana podem influenciar a incidência de LLA infantil, não há dados disponíveis sobre a distribuição dessas variantes em nossa população. Diante disso, no presente estudo, investigamos as variantes genéticas *AIM2* rs1103577 T>C, *IFI16* rs1633266 C>T, *CASPI* rs570685 A>C e *CARD8* rs2043211 A>T potencialmente envolvidas

na etiologia e prognóstico da LLA em crianças da Amazônia brasileira e sua influência na secreção de citocinas pró-inflamatórias.

RESULTADOS

Características da população em estudo

Os dados demográficos, clínicos e laboratoriais dos pacientes com LLA e indivíduos saudáveis estão demonstrados na **Tabela 07**. A mediana de idade entre os indivíduos do grupo controle e pacientes com LLA foi de 28 e 9 anos, respectivamente. Além disso, o sexo masculino foi predominante em ambos os grupos (66% e 59%). Os pacientes eram em sua maioria provenientes da capital Manaus (71%), sendo 26% provenientes dos seguintes municípios do Estado: Amaturá (01), Anamã (01), Autazes (01), Barreirinha (02), Benjamin Constant (01), Boa Vista do Ramos (01), Careiro da Várzea (02), Coari (02), Eirunepé (01), Fonte Boa (01), Iranduba (04), Itacoatiara (05), Jutai (01), Manacapuru (03), Manaquiri (01), Manicoré (02), Maués (02), Nova Olinda do Norte (03), Novo Aripuanã (02), Parintins (05), Santo Antônio do Içá (01), São Gabriel da Cachoeira (02), São Paulo de Olivença (01), Tabatinga (03), Tefé (03), Uarini (01) e Urucará (02).

O imunofenótipo LLA-B foi predominante (89%) neste estudo. A maioria dos pacientes apresentou recaída durante o tratamento (45%) e 62% foram a óbito durante o tratamento. Além disso, 55% dos pacientes apresentaram leucometria ao diagnóstico $\leq 50.000/\text{mm}^3$.

Tabela 07. Dados demográficos e clínicos da população em estudo.

Variáveis (Compleitude)	Casos (n = 210)	Controles (n = 205)
Idade (anos, mediana [IQR])	9 [4-16]	28 [22-38]
Gênero	210 (100)	205 (100)
Masculino, n (%)	122 (59)	137 (66)
Feminino, n (%)	88 (41)	68 (34)
Procedência	207 (98)	205 (100)
Manaus	151 (71)	205
Interior do Estado	55 (26)	-
Outros Estados	1 (1)	-
Diagnóstico	210 (100)	
LLA-B	187 (89)	-
LLA-T	23 (11)	-
Grupo de risco D0	195 (92)	
Baixo, n (%)	56 (26)	-
Alto, n (%)	139 (66)	-
Recaída D35	162 (77)	
Sim, n (%)	93 (45)	-
Não, n (%)	69 (32)	-
Óbito	204 (97)	
Sim, n (%)	131 (62)	-
Não, n (%)	73 (35)	-
Leucócitos D0	148 (70)	
< 50.000mm ³	117 (55)	-
> 50.000mm ³	31 (15)	-

Legenda: IQR: Intervalo entre quartis; D0: dia do diagnóstico; D35: trinta e cinco dias após o início de tratamento; mm³: milímetro cúbico.

Associação do polimorfismo AIM2 rs1103577 com proteção ao desenvolvimento de leucemia linfoblástica aguda e óbito

Todos os SNVs em estudo, *AIM2* rs1103577, *IFI16* rs1633266, *CASPI* rs570685 e *CARD8* rs2043211 estavam em Equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW). Nesse estudo, o modelo sobredominante do polimorfismo *AIM2* rs1103577 foi associado a um menor risco para o desenvolvimento da leucemia linfoblástica aguda em nossa população (OR: 0.67, 95% CI: 0.46 – 0.99, $p=0.011$), o que também foi observado na análise ajustada por sexo e idade (OR_{adj}: 0.56, 95% CI_{adj}: 0.35 – 0.90, $p_{adj}=0.003$), como pode ser observado na **Tabela 08**. Além disso, na **Tabela 09**, é possível observar que nas análises com a variável óbito, o modelo codominante do polimorfismo *AIM2* rs1103577 foi associado com menor risco de óbito em nossos pacientes (OR:

0.50, 95% CI: 0.27 – 0.92, $p=0.006$), o que também foi observado na análise ajustada por sexo e idade (OR_{adj} : 0.50, 95% CI_{adj} : 0.27 – 0.92, $p_{adj}=0.006$).

As **Tabelas Suplementares 03 e 04** resumem as frequências genótípicas e os resultados das análises para todos os SNVs em estudo, conforme os grupos casos/controles e óbito. Neste estudo, não foi observada associação com recaída, como pode ser observado na **Tabela Suplementar 05**.

Os grupos caso e controle mostraram proporções semelhantes de frequências alélicas para cada SNV e, portanto, nenhuma diferença significativa nas frequências alélicas foi encontrada entre ambos os grupos. As frequências alélicas para cada polimorfismo são mostradas na **Tabela Suplementar 06**.

Concentração das citocinas de acordo com os genótipos

Na **Figura 15**, é possível observar a concentração das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF no modelo codominante entre controles (n=61) e pacientes (n=81) no sangue periférico, enquanto, na **Figura 16**, somente pacientes (medula óssea). É possível observar um aumento da concentração das citocinas no grupo de pacientes quando comparado aos controles. Todavia, na análise estratificada por genótipos, não foram observadas associações significativas. Além disso, quando avaliado de acordo com os quatro modelos genéticos para ambos os grupos, também não foi possível observar associação significativa (**Figura Suplementar 02 e 03**). Quando analisamos a secreção de citocinas pela variável óbito, também não observamos associações significativas (**Figura Suplementar 04 e 05**).

Tabela 08. Análise multivariada ajustada para sexo e idade para a associação dos polimorfismos em estudo com leucemia linfoblástica aguda.

Modelo genético	Casos n=210 (%)	Controles n=205 (%)	OR (95% IC)	Valor- p	AIC	OR (95% CI) adj	Valor-p adj	AIC
<i>AIM2 rs1103577 T>C</i>								
Codominante								
TT	64 (30%)	48 (23%)						
TC	90 (43%)	108 (53%)	0.63 (0.39 – 1.00)	0.028	576.9	0.62 (0.35 – 1.10)	0.011	435.9
CC	56 (27%)	49 (24%)	0.86 (0.50 – 1.46)			1.21 (0.63 – 2.35)		
Dominante								
TT	64 (30%)	48 (24%)						
TC-CC	146 (70%)	157 (76%)	0.70 (0.45 – 1.08)	0.026	576.6	0.78 (0.46 – 1.33)	0.090	439.2
Recessivo								
TT-TC	154 (73%)	156 (76%)						
CC	56 (27%)	49 (24%)	1.16 (0.74 – 1.80)	0.129	578.6	1.67 (0.97 – 2.87)	0.015	436.6
Sobredominante								
TT-CC	120 (57%)	97 (47%)						
TC	90 (43%)	108 (53%)	0.67 (0.46 – 0.99)	0.011	575.2	0.56 (0.35 – 0.90)	0.003	434.2
Log-Additive 0,1,2	210 (51%)	205 (49%)	0.92 (0.71 – 1.20)	0.136	578.9	1.10 (0.80 – 1.53)	0.139	439.7

Legenda: Ajustado para sexo e idade (valor de p adj, OR adj); OR: Odds Ratio; valor de p: < 0,05; intervalo de confiança de 95%; AIC: valor do critério de informação de Akaike

Tabela 09. Análise multivariada ajustada por sexo e idade para a associação dos polimorfismos em estudo com o risco de óbito em pacientes com leucemia linfoblástica aguda.

Modelos genéticos	Não n=131 (%)	Sim n=73 (%)	OR (95% IC)	Valor-p	AIC	OR (95% CI) adj	Valor-p adj	AIC
<i>AIM2 rs1103577 T>C</i>								
Codominante								
TT	34 (26%)	30 (41%)						
TC	60 (46%)	25 (34%)	0.47 (0.24 – 0.93)	0.019	267.0	0.47 (0.24 – 0.93)	0.018	268.9
CC	37 (28%)	18 (25%)	0.55 (0.26 – 1.16)			0.56 (0.26 – 1.19)		
Dominante								
TT	34 (26%)	30 (41%)						
TC-CC	97 (74%)	43 (59%)	0.50 (0.27 – 0.92)	0.006	265.2	0.50 (0.27 – 0.93)	0.005	270.7
Recessivo								
TT-TC	94 (72%)	55 (75%)						
CC	37 (28%)	18 (25%)	0.83 (0.43 – 1.60)	0.144	269.8	0.85 (0.43 – 1.65)	0.155	273.5
Sobredominante								
TT-CC	71 (54%)	48 (66%)						
TC	60 (46%)	25 (34%)	0.62 (0.34 – 1.12)	0.026	267.5	0.61 (0.33 – 1.10)	0.024	271.0
Log-Additive 0,1,2	131 (64%)	73 (36%)	0.72 (0.49 – 1.06)	0.022	267.2	0.72 (0.49 – 1.06)	0.024	271.0

Legenda: Ajustado para sexo e idade (valor de p adj, OR adj); OR: Odds Ratio; valor de p: < 0,05; intervalo de confiança de 95%; AIC: valor do critério de informação de Akaike.

Tabela Suplementar 03. Análise multivariada ajustada por sexo e idade para a associação dos polimorfismos em estudo com o risco de leucemia linfoblástica aguda.

Modelo genético	Casos n=210 (%)	Controles n=205 (%)	OR (95% IC)	Valor-p	AIC	OR (95% CI) adj	Valor-p adj	AIC
<i>IFI16 rs1633266 C>T</i>								
Codominante								
TT	151 (72%)	143 (70%)						
CT	46 (22%)	56 (28%)	0.78 (0.49 – 1.22)	0.037	577.5	0.66 (0.39 – 1.13)	0.065	439.3
CC	13 (6%)	6 (2%)	2.05 (0.76 – 5.54)			1.32 (0.38 – 4.61)		
Dominante								
TT	151 (72%)	143 (70%)						
CT-CC	59 (28%)	62 (30%)	0.90 (0.59 – 1.38)	0.157	579.0	0.72 (0.43 – 1.21)	0.053	438.5
Recessivo								
TT-CT	197 (94%)	199 (97%)						
CC	13 (6%)	6 (3%)	2.19 (0.82 – 5.87)	0.026	576.7	1.48 (0.43 – 5.10)	0.130	439.6
Sobredominante								
TT-CC	164 (78%)	149 (73%)						
CT	46 (22%)	56 (27%)	0.75 (0.48 – 1.17)	0.050	577.6	0.65 (0.38 – 1.11)	0.028	437.5
Log-Additive 0,1,2	210 (51%)	205 (49%)	1.04 (0.74 – 1.46)	0.209	579.2	0.84 (0.55 – 1.28)	0.105	439.4
<i>CASPI rs570685 A>C</i>								
Codominante								
CC	71 (33%)	72 (35%)						
AC	87 (42%)	88 (43%)	1.00 (0.64 – 1.56)	0.198	580.8	1.06 (0.62 – 1.82)	0.242	442.0
AA	52 (25%)	45 (22%)	1.17 (0.70 – 1.96)			1.07 (0.58 – 1.98)		
Dominante								
CC	71 (34%)	72 (35%)						
AC-AA	139 (66%)	133 (65%)	1.06 (0.71 – 1.59)	0.194	579.2	1.07 (0.65 – 1.74)	0.200	440.0
Recessivo								
CC-AC	158 (75%)	160 (78%)						
AA	52 (25%)	45 (22%)	1.17 (0.74 – 1.85)	0.124	578.8	1.03 (0.60 – 1.77)	0.226	440.0
Sobredominante								
CC-AA	123 (59%)	117 (57%)						
AC	87 (41%)	88 (43%)	0.94 (0.64 – 1.39)	0.189	579.2	1.03 (0.65 – 1.65)	0.222	440.0
Log-Additive 0,1,2	210 (51%)	205 (49%)	1.08 (0.83 – 1.39)	0.144	578.9	1.04 (0.76 – 1.41)	0.205	440.0
<i>CARD8 rs2043211 A>T</i>								
Codominante								
AA	99 (47%)	104 (51%)						
AT	85 (40%)	82 (40%)	1.09 (0.72 – 1.64)	0.136	580.0	1.17 (0.72 – 1.93)	0.152	441.0
TT	26 (13%)	19 (9%)	1.44 (0.75 – 2.76)			1.45 (0.65 – 3.23)		
Dominante								
AA	99 (47%)	104 (51%)						
AT-TT	111 (53%)	101 (49%)	1.15 (0.79 – 1.70)	0.116	578.7	1.23 (0.77 – 1.95)	0.097	439.3
Recessivo								
AA-AT	184 (88%)	186 (91%)						
TT	26 (12%)	19 (9%)	1.38 (0.74 – 2.59)	0.076	578.2	1.35 (0.62 – 2.91)	0.111	439.5
Sobredominante								
AA-TT	125 (59%)	123 (60%)						
AT	85 (41%)	82 (40%)	1.02 (0.69 – 1.51)	0.230	579.2	1.10 (0.69 – 1.77)	0.172	439.9
Log-Additive 0,1,2	210 (51%)	205 (49%)	1.16 (0.87 – 1.55)	0.077	578.2	1.19 (0.84 – 1.69)	0.080	439.1

Legenda: Ajustado para sexo e idade (valor de p adj, OR adj); OR: Odds Ratio; valor de p: < 0,05; intervalo de confiança de 95%; AIC: valor do critério de informação de Akaike.

Tabela Suplementar 04. Análise multivariada ajustada por sexo e idade para a associação dos polimorfismos em estudo com o óbito de leucemia linfoblástica aguda.

Modelos genéticos	Não n=131 (%)	Sim n=73 (%)	OR (95% IC)	Valor-p	AIC	OR (95% CI) adj	Valor-p adj	AIC
<i>IFI16 rs1633266 C>T</i>								
Codominante								
TT	96 (73%)	50 (69%)						
CT	28 (22%)	17 (23%)	1.17 (0.58 – 2.33)	0.166	271.3	1.15 (0.57 – 2.31)	0.175	275.0
CC	7 (5%)	6 (8%)	1.65 (0.52 – 5.16)			1.61 (0.50 – 5.12)		
Dominante								
TT	96 (73%)	50 (68%)						
CT-CC	35 (27%)	23 (31%)	1.26 (0.67 – 2.36)	0.117	269.6	1.24 (0.66 – 2.34)	0.126	273.3
Recessivo								
TT-CT	124 (95%)	67 (92%)						
C/C	7 (5%)	6 (8%)	1.59 (0.51 – 4.91)	0.104	269.5	1.55 (0.49 – 4.85)	0.114	273.2
Sobredominante								
TT-CC	103 (79%)	56 (77%)						
CT	28 (21%)	17 (23%)	1.12 (0.56 – 2.22)	0.188	270.0	1.10 (0.55 – 2.19)	0.195	273.7
Log-Additive 0,1,2	131 (64%)	73 (36%)	1.24 (0.77 – 1.98)	0.095	269.3	1.22 (0.76 – 1.97)	0.104	273.1
<i>CASPI rs570685 A>C</i>								
Codominante								
CC	47 (36%)	21 (29%)						
AC	53 (40%)	33 (45%)	1.39 (0.71 – 2.73)	0.145	271.0	1.43 (0.73 – 2.82)	0.138	274.5
AA	31 (24%)	19 (26%)	1.37 (0.64 – 2.96)			1.37 (0.63 – 2.96)		
Dominante								
CC	47 (36%)	21 (29%)						
AC-AA	84 (64%)	52 (71%)	1.39 (0.75 – 2.58)	0.074	269.0	1.41 (0.75 – 2.62)	0.069	272.6
Recessivo								
CC-AC	100 (76%)	54 (74%)						
AA	31 (24%)	19 (26%)	1.14 (0.59 – 2.20)	0.176	269.9	1.12 (0.57 – 2.17)	0.186	273.6
Sobredominante								
CC-AA	78 (59%)	40 (55%)						
AC	53 (41%)	33 (45%)	1.21 (0.68 – 2.16)	0.127	269.7	1.25 (0.70 – 2.24)	0.113	273.2
Log-Additive 0,1,2	131 (64%)	73 (36%)	1.18 (0.81 – 1.73)	0.097	269.3	1.18 (0.81 – 1.73)	0.098	273.0
<i>CARD8 rs2043211 A>T</i>								
Codominante								
AA	63 (48%)	35 (48%)						
AT	52 (40%)	28 (38%)	0.97 (0.52 – 1.80)	0.237	272.0	0.96 (0.51 – 1.78)	0.236	275.6
TT	16 (12%)	10 (14%)	1.12 (0.46 – 2.74)			1.12 (0.46 – 2.74)		
Dominante								
AA	63 (48%)	35 (48%)						
AT-TT	68 (52%)	38 (52%)	1.01 (0.57 – 1.78)	0.245	270.1	0.99 (0.56 – 1.77)	0.245	273.7
Recessivo								
AA-AT	115 (88%)	63 (86%)						
TT	16 (12%)	10 (14%)	1.14 (0.49 – 2.66)	0.190	270.0	1.14 (0.49 – 2.67)	0.190	273.6
Sobredominante								
AA-TT	79 (60%)	45 (62%)						
AT	52 (40%)	28 (38%)	0.95 (0.53 – 1.70)	0.212	270.0	0.93 (0.52 – 1.68)	0.203	273.7
Log-Additive 0,1,2	131 (64%)	73 (36%)	1.03 (0.69 – 1.56)	0.218	270.1	1.03 (0.68 – 1.56)	0.223	273.7

Legenda: Ajustado para sexo e idade (valor de p adj, OR adj); OR: Odds Ratio; valor de p: < 0,05; intervalo de confiança de 95%; AIC: valor do critério de informação de Akaike.

Tabela Suplementar 05. Análise multivariada ajustada por sexo e idade para a associação dos polimorfismos em estudo com o recaída de leucemia linfoblástica aguda.

Modelos genéticos	Não n=69 (%)	Sim n=93 (%)	OR (95% IC)	Valor-p	AIC	OR (95% CI) adj	Valor-p adj	AIC
AIM2 rs1103577 T>C								
Codominante								
TT	23 (33%)	28 (30%)						
TC	30 (44%)	38 (41%)	1.04 (0.50 – 2.16)	0.175	226.3	1.02 (0.48 – 2.16)	0.243	221.3
CC	16 (23%)	27 (29%)	1.39 (0.61 – 3.17)					
Dominante								
TT	23 (33%)	28 (30%)						
TC-CC	46 (67%)	65 (70%)	1.16 (0.59 – 2.26)	0.165	224.8	1.05 (0.53 – 2.09)	0.223	219.3
Recessivo								
TT-T/C	53 (77%)	66 (71%)						
C/C	16 (23%)	27 (29%)	1.36 (0.66 – 2.77)	0.100	224.3	1.09 (0.51 – 2.31)	0.205	219.3
Sobredominante								
TT-CC	39 (56%)	55 (59%)						
T/C	30 (44%)	38 (41%)	0.90 (0.48 – 1.69)	0.184	224.9	0.98 (0.51 – 1.87)	0.236	219.3
Log-Additive 0,1,2	69 (43%)	93 (57%)	1.17 (0.78 – 1.77)	0.113	224.4	1.05 (0.68 – 1.61)	0.207	219.3
IFI16 rs1633266 C>T								
Codominante								
TT	46 (67%)	66 (71%)						
CT	18 (26%)	22 (24%)	0.85 (0.41 – 1.76)	0.202	226.6	0.91 (0.43 – 1.92)	0.240	221.2
CC	5 (7%)	5 (5%)	0.70 (0.19 – 2.55)			0.89 (0.24 – 3.36)		
Dominante								
TT	46 (67%)	66 (71%)						
CT-CC	23 (33%)	27 (29%)	0.82 (0.42 – 1.60)	0.139	224.7	0.91 (0.45 – 1.81)	0.195	219.2
Recessivo								
TT-CT	64 (93%)	88 (95%)	0.73 (0.20 – 2.62)	0.156	224.8	0.91 (0.25 – 3.39)	0.223	219.3
C/C	5 (7%)	5 (5%)						
Sobredominante								
TT-CC	51 (74%)	71 (76%)						
CT	18 (26%)	22 (24%)	0.88 (0.43 – 1.80)	0.180	224.9	0.92 (0.44 – 1.92)	0.206	219.3
Log-Additive 0,1,2	69 (43%)	93 (57%)	0.84 (0.50 – 1.41)	0.129	224.6	0.93 (0.55 – 1.58)	0.197	219.3
CASPI rs570685 A>C								
Codominante								
CC	26 (38%)	28 (30%)	1.39 (0.68 – 2.85)	0.150	226.0	1.17 (0.56 – 2.47)	0.207	
AC	28 (41%)	42 (35%)	1.42 (0.61 – 3.30)			1.29 (0.54 – 3.07)		
AA	15 (21%)							
Dominante								
CC	26 (38%)	28 (30%)						
AC-AA	43 (62%)	65 (70%)	1.40 (0.73 – 2.71)	0.078	224.0	1.22 (0.62 – 2.39)	0.142	219.0
Recessivo								
CC-AC	54 (78%)	70 (75%)						
AA	15 (22%)	23 (25%)	1.18 (0.56 – 2.48)	0.163	224.8	1.18 (0.55 – 2.55)	0.166	219.1
Sobredominante								
CC-AA	41 (59%)	51 (55%)						
AC	28 (41%)	42 (45%)	1.21 (0.64 – 2.27)	0.140	224.7	1.06 (0.55 – 2.05)	0.215	219.3
Log-Additive 0,1,2	69 (43%)	93 (57%)	1.21 (0.80 – 1.84)	0.093	224.2	1.14 (0.74 – 1.75)	0.137	219.0
CARD8 rs2043211 A>T								
Codominante								
AA	31 (45%)	46 (49%)						
AT	32 (46%)	35 (37%)	0.74 (0.38 – 1.43)	0.115	225.5	0.75 (0.38 – 1.49)	0.145	220.2
TT	6 (9%)	12 (14%)	1.35 (0.46 – 3.97)			1.23 (0.40 – 3.81)		
Dominante								
AA	31 (45%)	46 (49%)						
AT-TT	38 (55%)	47 (51%)	0.83 (0.45 – 1.56)	0.141	224.7	0.82 (0.43 – 1.59)	0.140	219.0
Recessivo								
AA-AT	63 (91%)	81 (87%)						
TT	6 (9%)	12 (13%)	1.56 (0.55 – 4.37)	0.098	224.3	1.42 (0.48 – 4.17)	0.130	218.9
Sobredominante								
AA-TT	37 (54%)	58 (62%)						
AT	32 (46%)	35 (38%)	0.70 (0.37 – 1.31)	0.066	223.8	0.72 (0.37 – 1.39)	0.082	218.4
Log-Additive 0,1,2	69 (42%)	93 (58%)	0.99 (0.63 – 1.58)	0.243	225.0	0.97 (0.59 – 1.58)	0.222	219.3

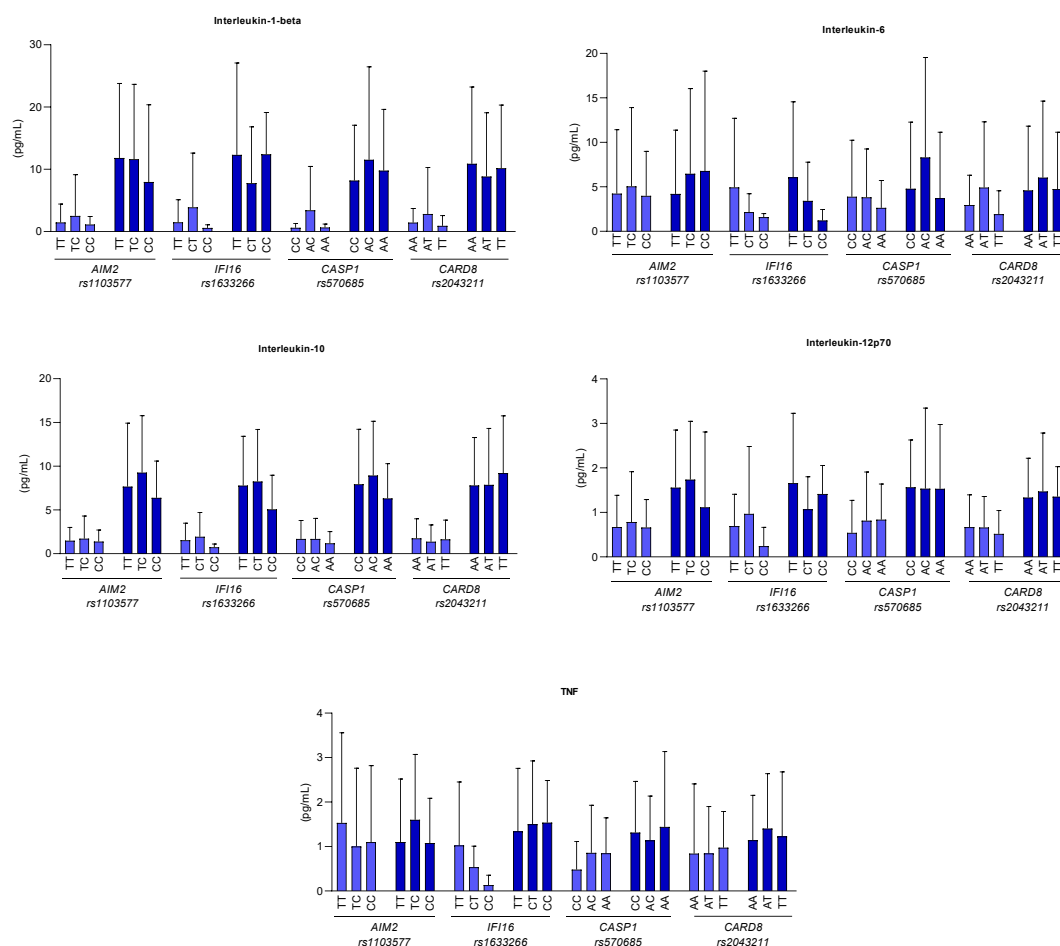
Legenda: Ajustado para sexo e idade (valor de p adj, OR adj); OR: Odds Ratio; valor de p: < 0,05; intervalo de confiança de 95%; AIC: valor do critério de informação de Akaike.

Tabela Suplementar 06. Frequência alélica dos polimorfismos em estudo de acordo com as variáveis recaída e óbito.

Alelos	Controles vs. Casos				Recada				Óbito			
	Controles (n= 205)	Casos (n=210)	OR (IC 95%)	Valor- <i>p</i>	Não (n= 69)	Sim (n= 93)	OR (IC 95%)	Valor- <i>p</i>	Não (n=131)	Sim (n=73)	OR (IC 95%)	Valor- <i>p</i>
AIM2 rs1103577 T>C												
T	204 (49%)	218 (51%)	1.08 (0.82 –	0.578	76 (55%)	94 (50%)	0.83 (0.52 –	0.433	128 (48%)	85 (58%)	1.45 (0.95 –	0.078
C	206 (51%)	202 (49%)	1.44)		62 (45%)	92 (49%)	1.32)		134 (52%)	61 (41%)	2.24)	
IFI16 rs1633266 C>T												
C	68 (16%)	72 (17%)	1.04 (0.71 –	0.853	28 (20%)	32 (18%)	0.81 (0.44 –	0.563	42 (16%)	29 (19%)	1.29 (0.73 –	0.342
T	342 (84%)	348 (83%)	1.52)		110 (80%)	154 (82%)	1.49)		220 (84%)	117 (81%)	2.25)	
CASPI rs570685 A>C												
A	178 (43%)	191 (45%)	1.08 (0.81 –	0.576	58 (42%)	88 (47%)	1.23 (0.77 –	0.367	115 (43%)	71 (48%)	1.20 (0.78 –	0.406
C	232 (57%)	229 (55%)	1.44)		80 (58%)	98 (53%)	1.97)		147 (87%)	75 (51%)	1.85)	
CARD8 rs2043211 A>T												
A	290 (70%)	283 (67%)	0.85 (0.62 –	0.329	94 (68%)	127 (68%)	1.00 (0.60 –	1.000	178 (67%)	98 (67%)	0.96 (0.61 –	0.912
T	120 (30%)	137 (33%)	1.16)		44 (32%)	59 (32%)	1.65)		84 (32%)	48 (33%)	1.52)	

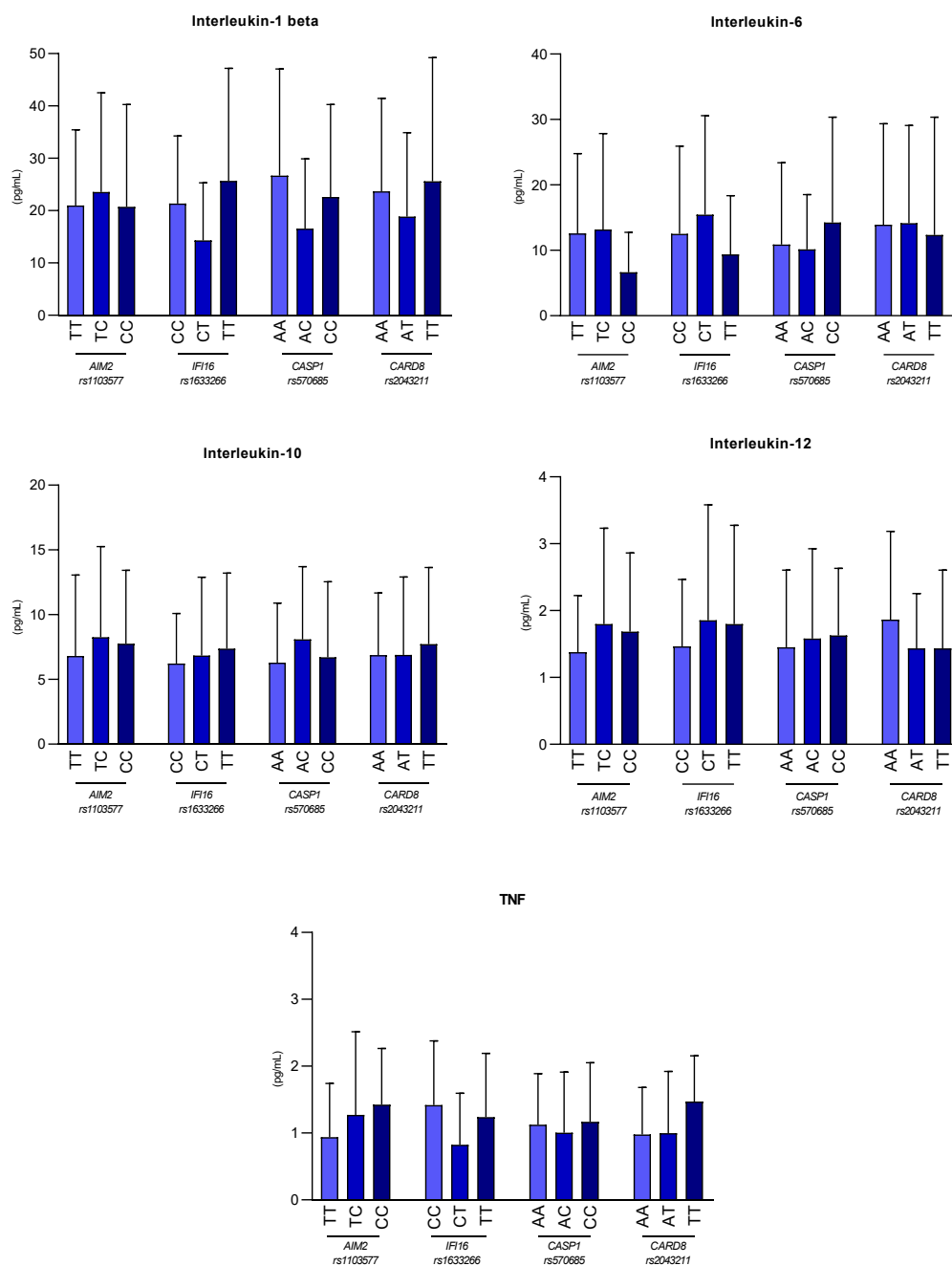
Legenda: valor de p: < 0,05; intervalo de confiança de 95%.

Figura 15. Concentração das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF no *sangue periférico* de controles (■) e pacientes com LLA ao diagnóstico (■) de acordo com o modelo codominante.



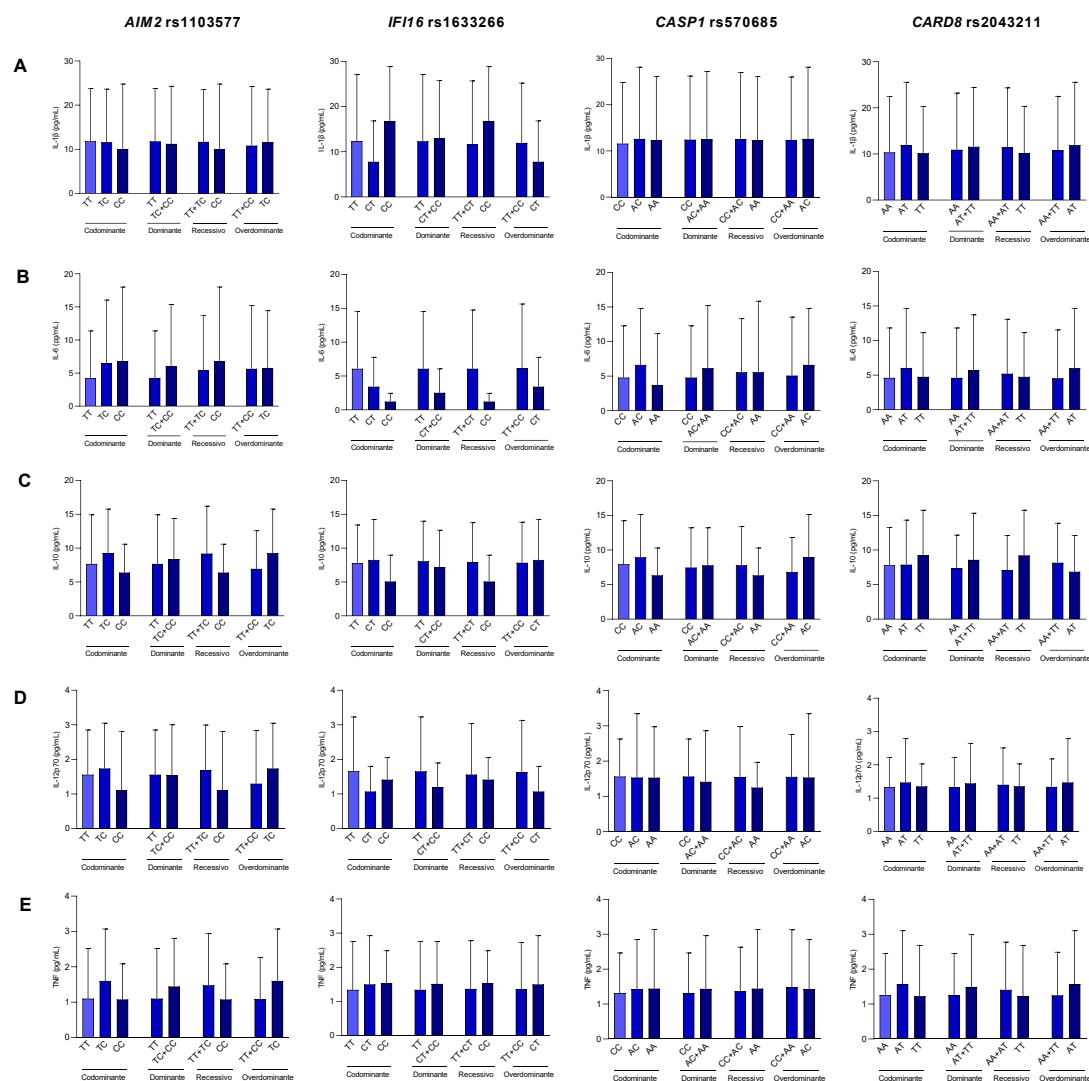
Legenda: Os dados são expressos com média e desvio padrão em picogramas por mililitro (pg/mL) de concentração. As análises estatísticas foram realizadas usando o teste de não paramétrico Kruskal-Wallis. Diferenças significativas ($p < 0,05$) são destacadas por linhas de conexão e asteriscos (*).

Figura 16. Concentração das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF na *medula óssea* de controles (■) e pacientes com LLA ao diagnóstico (■) de acordo com o modelo codominante.



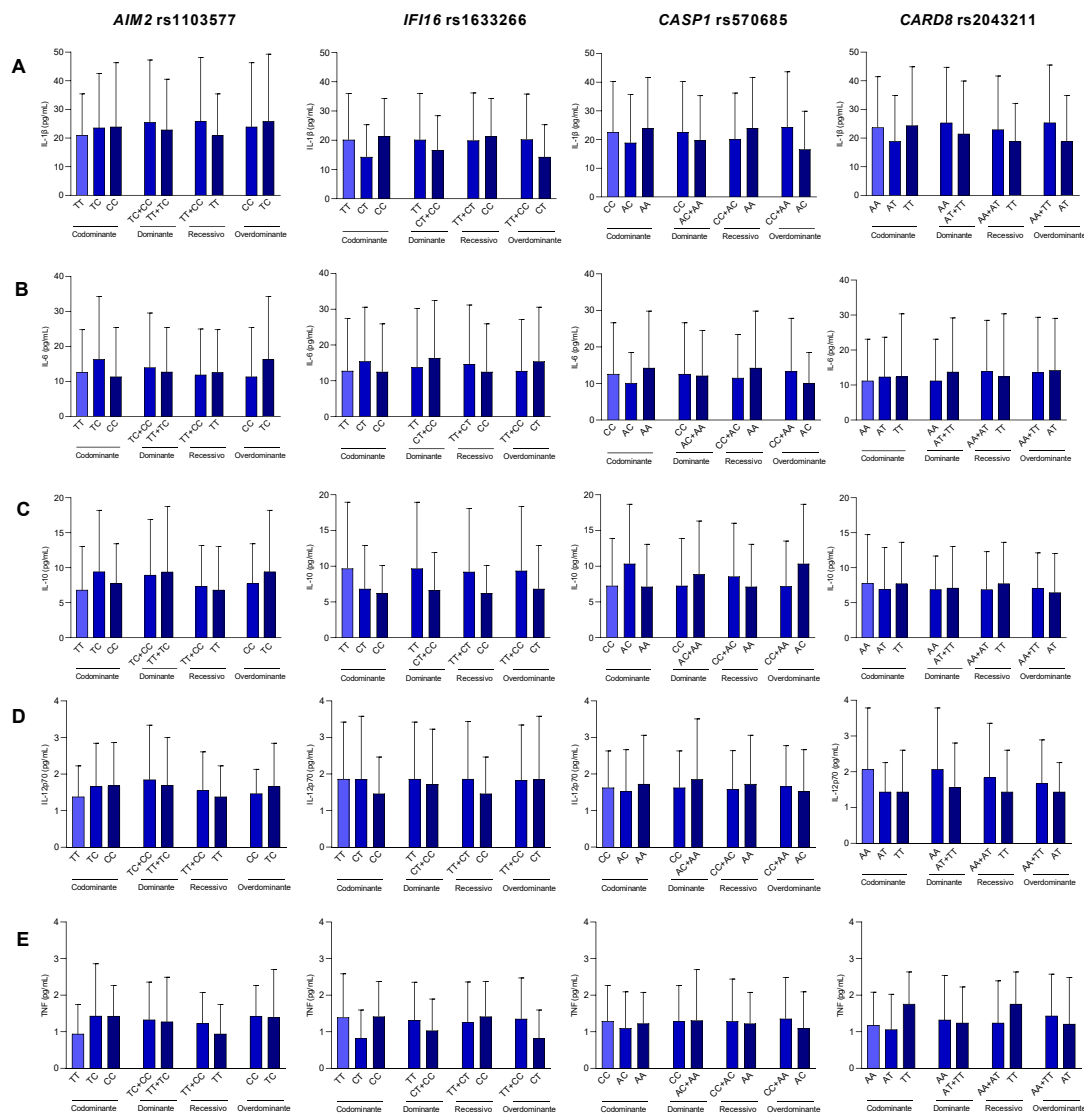
Legenda: Os dados são expressos com média e desvio padrão em picogramas por mililitro (pg/mL) de concentração. As análises estatísticas foram realizadas usando o teste de não paramétrico Kruskal-Wallis. Diferenças significativas ($p < 0,05$) são destacadas por linhas de conexão e asteriscos (*).

Figura Suplementar 02. Concentração das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF no *sangue periférico* de controles (■) e pacientes com LLA ao diagnóstico (■) de acordo com os modelos genéticos.



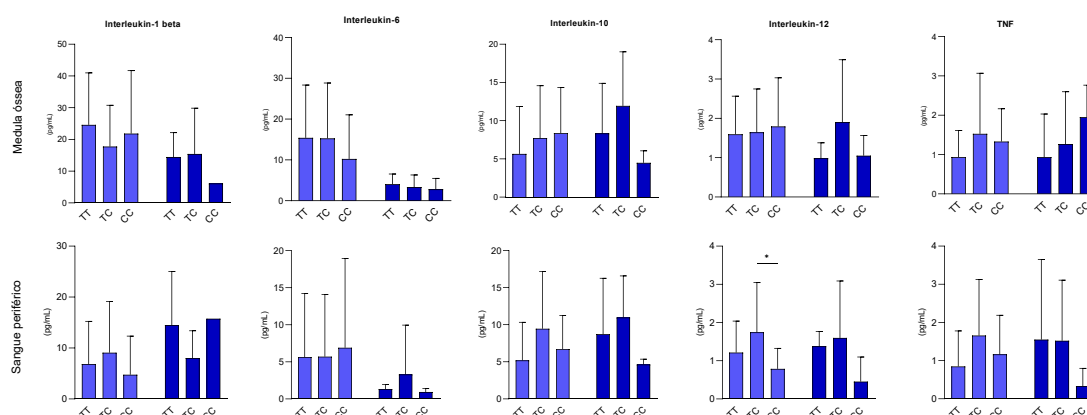
Legenda: Os dados são expressos com média e desvio padrão em picogramas por mililitro (pg/mL) de concentração. As análises estatísticas foram realizadas usando o teste de não paramétrico Kruskal-Wallis. Diferenças significativas ($p < 0,05$) são destacadas por linhas de conexão e asteriscos (*).

Figura Suplementar 03. Concentração das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF na *medula óssea* de controles (■) e pacientes com LLA ao diagnóstico (■) de acordo com os modelos genéticos.



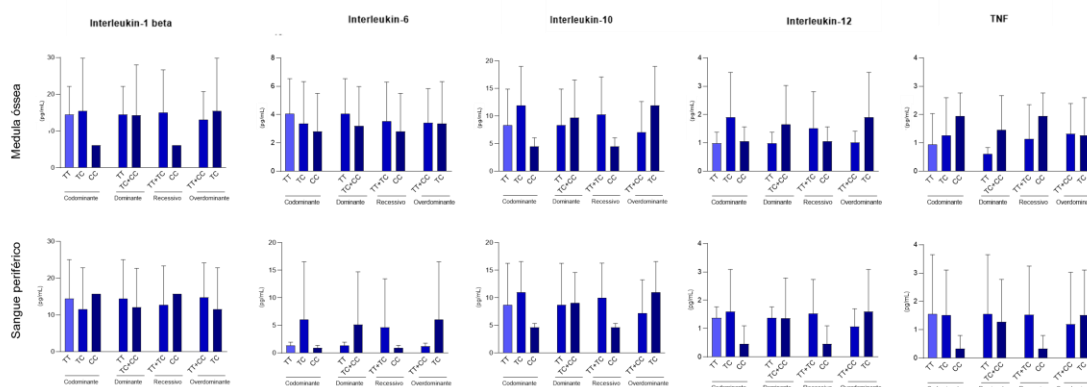
Legenda: Os dados são expressos com média e desvio padrão em picogramas por mililitro (pg/mL) de concentração. As análises estatísticas foram realizadas usando o teste de não paramétrico Kruskal-Wallis. Diferenças significativas ($p < 0,05$) são destacadas por linhas de conexão e asteriscos (*).

Figura Suplementar 04. Concentração das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF na *medula óssea* e *sangue periférico* de pacientes que não foram à óbito (■) e pacientes com óbito confirmado (■) de acordo com o modelo codominante.



Legenda: Os dados são expressos com média e desvio padrão em picogramas por mililitro (pg/mL) de concentração. As análises estatísticas foram realizadas usando o teste de não paramétrico Kruskal-Wallis. Diferenças significativas ($p < 0,05$) são destacadas por linhas de conexão e asteriscos (*).

Figura Suplementar 05. Concentração das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF na *medula óssea* e *sangue periférico* de pacientes que não foram à óbito (■) e pacientes com óbito confirmado (■) de acordo com os modelos genéticos.



Legenda: Os dados são expressos com média e desvio padrão em picogramas por mililitro (pg/mL) de concentração. As análises estatísticas foram realizadas usando o teste de não paramétrico Kruskal-Wallis. Diferenças significativas ($p < 0,05$) são destacadas por linhas de conexão e asteriscos (*).

DISCUSSÃO

Ao longo da última década, observamos um aumento do número de estudos demonstrando o papel importante dos receptores da imunidade inata, como os receptores do tipo Toll (TLRs)¹²⁻¹⁴ e receptores do tipo NOD (NLRs)¹⁵⁻¹⁹, no desenvolvimento de neoplasias hematopoiéticas. A ativação desses receptores é responsável pela produção de citocinas pró-inflamatórias que promovem a proliferação e sobrevivência de células leucêmicas, bem como

podem atuar na detecção e eliminação dessas células. Estudos têm demonstrado que variações genéticas causadas por polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) em NLRs contribuem para as alterações no sistema imunológico que já foram determinadas em diferentes tipos de tumores. Evidências consideráveis indicaram que alguns polimorfismos em genes desses receptores podem aumentar o risco de leucemia ^{10,20}.

Sendo assim, em nosso estudo, demonstramos que o polimorfismo *AIM2* rs1103577 T>C exerce um papel protetor no desenvolvimento da leucemia linfoblástica em indivíduos da Amazônia Brasileira. Além disso, este também se revelou como um fator prognóstico importante na progressão da doença, diminuindo as chances de óbito em nossa população.

Os inflamassomas *AIM2* (ausente no melanoma 2) e *IFI16* (proteína 16 induzível por interferon) atuam como receptores de DNA que induzem a formação de inflamassoma e a produção de interferon, respectivamente, além de estarem envolvidos em diversas reações fisiológicas e doenças, incluindo o câncer ²¹. Estudos já demonstraram que a ativação de *AIM2* pode recrutar células CD11b+ e inibir a progressão tumoral ²², como a proliferação, invasão e migração de células tumorais, através da inativação das vias de sinalização PI3K/AKT/mTOR ²³ e Notch ²⁴. Na leucemia, um estudo descreveu que a ativação do inflamassoma *AIM2* está positivamente correlacionada com eliminação de células leucêmicas na LLA, leucemia mieloide aguda (LMA) e leucemia mieloide crônica (LMC) ²⁵. Nós acreditamos que o inflamassoma *AIM2* desempenhe algum efeito inibitório nas células leucêmicas, todavia, estudos que englobem a análise celular e molecular desse complexo seriam interessantes para o melhor entendimento do seu papel na doença.

Estudos anteriores demonstraram que a expressão de *IFI16* parece cooperar com alguns dos principais fatores de transcrição envolvidos em processos centrais da biologia das células B, como *BCL6*, *NF-κB*, *STAT3* e *STAT5*, ^{26,27}. Além disso, foi demonstrado que *IFI16* pode ativar vias de apoptose e inibir a proliferação celular, interagindo com outros guardiões do ciclo celular e da sobrevivência, como *p53* (Tumor protein 53) e *Rb* (Retinoblastoma protein) ²⁸⁻³¹. Na leucemia linfóide crônica (LLC), a expressão de *IFI16* foi relatada em uma rede conjunta com outros genes que estavam envolvidos no pior prognóstico do paciente ³². Juntos, esses estudos sugerem que uma alteração na atividade e/ou expressão de *IFI16* pode desempenhar um papel importante na proliferação de células B.

Em estudos anteriores, o polimorfismo *CARD8* rs2043211 A>T já foi associado ao desenvolvimento de LLA ³³ na população asiática. O inflamassoma *CARD8* é um sensor que já demonstrou desencadear piroptose em células leucêmicas mielóides ³⁴. Na LLA, são raros os estudos que descrevem o papel desse inflamassoma na doença. Concomitante a isso, o aumento

da expressão de CASP1 foi associado a um bom prognóstico em pacientes com LLA 35. Além disso, a ativação da caspase-1 em monócitos/macrófagos da medula óssea de pacientes com LLA está associada à supressão de células TCD8+, podendo contribuir para recaída ³⁶. Em nosso estudo, ambos os polimorfismos CASP1 rs570685 e CARD8 rs2043211, não demonstraram associação com algum fator prognóstico ou efeitos funcionais quanto à modulação de citocinas no sangue periférico e medula óssea de pacientes com LLA.

Em nosso estudo, a frequência alélica dos polimorfismos foi similar à frequência genômica da população brasileira descrita pelo Projeto AbrahOM, um repositório de variantes genômicas obtidas de indivíduos de São Paulo, a maior cidade do Brasil ³⁷. É importante ressaltar que as diferenças étnicas nas taxas de sobrevida para LLA variam em todo o mundo, especialmente para a população latino-americana, um grupo com background genético altamente heterogêneo ^{38,39}. Na Região Amazônica, a ancestralidade nativa sul-americana ou ameríndia é predominantemente encontrada e estudos anteriores já demonstraram que crianças com ancestralidade ameríndia apresentam maior risco de desenvolver LLA, bem como, apresentam o pior prognóstico ^{40,41}. Concomitante a isso, polimorfismos em genes do complexo inflamassoma e TLRs já foram associados com o risco de LLA em crianças na região ^{10,20}.

Estudos demonstram que as populações nativas americanas apresentam uma variabilidade distinta no sistema imunológico, impactando diretamente a diversidade da resposta imunológica ^{42,43}. Levando essas influências ancestrais em consideração, estudos em populações com alta ascendência ameríndia amazônica mostraram que 87% dos pacientes com LLA tratados com o protocolo do Grupo Europeu Berlim-Frankfurt-Münster (BFM) apresentaram toxicidades maiores do que outras populações submetidas ao mesmo protocolo ⁴¹. Além disso, também é possível observar um alto risco de recaída nesses pacientes ⁴⁴. Embora em nosso estudo não observamos associação com recaída, é possível observar um alto número de pacientes que recaíram pós-indução (45%) e que foram a óbito (62%). Nosso estudo ressalta a importância de entender os mecanismos imunogenéticos de populações miscigenadas e o impacto disso no prognóstico do paciente.

Tendo em vista que SNVs em genes do complexo inflamassoma podem levar ao aumento da secreção de citocinas, nós procuramos entender a dinâmica dessas moléculas de acordo com os genótipos. Todavia, não observamos alterações significativas entre controles e pacientes. As citocinas normalmente desencadeiam cascatas complexas de sinalização intracelular, desempenhando um papel crucial no crescimento e na diferenciação das células hematopoiéticas ⁴⁵. No contexto da LLA, o desequilíbrio de citocinas contribui na supressão da resposta imune, sendo essencial para o escape da vigilância imunológica ⁴⁶.

A citocina IL-1 β é um importante mediador da resposta imunológica envolvida no processo de imunossupressão no microambiente tumoral através do recrutamento de células supressoras derivadas de mieloides (MDSCs) que secretam IL-10 e TGF- β 47,48 e induzem a diferenciação de linfócitos TCD4⁺ em T regulatórias ⁴⁹. Além disso, a ligação ao receptor IL1R promove um loop positivo de secreção autócrina/parácrina dessa citocina em células leucêmicas e, por meio da ativação da via NF- κ B, isso leva à transcrição de outros mediadores inflamatórios, como TNF- α , IL-10 e IL-12, que são secretados no microambiente tumoral ⁵⁰. Juntos, esses mecanismos são responsáveis por induzir disfunção mitocondrial, estresse oxidativo e dano persistente ao DNA, que levam à aquisição de alterações genéticas secundárias que contribuem para o desenvolvimento da leucemia ⁵¹.

Na literatura, estudos demonstram um aumento da produção das citocinas (IL)-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-17A, fator de necrose tumoral (TNF) e interferon (IFN)- γ na LLA ao diagnóstico ^{52,53}. Em nosso estudo, é possível observar um aumento das concentrações das citocinas em estudo e entendemos que isso pode estar associado à progressão da doença. No entanto, não conseguimos observar uma influência dos alelos quanto à produção de citocinas pró-inflamatórias. A fim de entender melhor a dinâmica desses marcadores entre os pacientes, nós segregamos entre adultos (>18 anos) e crianças (<18 anos), todavia não observamos diferenças significativas quanto à secreção de citocinas (dados não mostrados).

Este estudo apresenta algumas limitações: *i)* a população do estudo é pequena em comparação a outros estudos envolvendo SNVs, o que limitou a realização de análises estratificadas para outras variáveis (dados laboratoriais e clínicos) dentro da população, dessa forma, nós entendemos que estudos prospectivos com uma população maior são necessários para confirmar a importância desses polimorfismos na LLA; *ii)* a maioria das doenças humanas é causada por uma combinação de múltiplas variações genéticas, portanto, a análise da interação gene-gene englobando outros genes do complexo inflamassoma, poderia ajudar a entender essas interações complexas, *iii)* uma vez que esses polimorfismos influenciam na expressão gênica, a ausência deste dados nos impossibilitou de obter uma melhor compreensão do efeito funcional dessas variantes, *iv)* não obtivemos acesso a todos os dados clínicos e laboratoriais devido à ausência ou registro incompleto nas plataformas de busca; *v)* o grupo controle foi composto por doadores de sangue, >18 anos, entretanto, o grupo caso foi composto por pacientes leucêmicos dentro do período de maior incidência da doença (<18 anos). Embora esteja nas limitações do estudo, nós entendemos que ao usar crianças como grupo de controle, resultados falsos poderiam ser formulados, uma vez que elas poderiam desenvolver a doença após o estudo, *vi)* não realizamos a dosagem de citocinas ao final da terapia de indução (D35) devido à qualidade das amostras; *vii)* combinações de citocinas entre si ou com quimiocinas, fatores de crescimento ou

moléculas de adesão produzem um melhor entendimento do que qualquer citocina individualmente, dessa forma, um estudo que englobe um número maior de moléculas imunológicas é necessário para entender o efeito funcional desses polimorfismos no sistema imunológico.

Este é o primeiro estudo investigando os polimorfismos *AIM2* rs1103577, *IFI16* rs1633266, *CASPI* rs570685 e *CARD8* rs2043211 no desenvolvimento e desfecho clínico de pacientes diagnosticados com LLA da Amazônia Brasileira. Aqui demonstramos um efeito protetor do polimorfismo *AIM2* rs1103577 no desenvolvimento da leucemia e óbito. Uma compreensão mais profunda das variações genéticas dos genes do complexo inflamassoma nos permitirá identificar melhor os biomarcadores de prognóstico precoce e contribuirá na melhoria dos tratamentos de LLA.

MATERIAIS E MÉTODOS

População de estudo

Este estudo caso-controle consistiu em 210 pacientes com leucemia linfoblástica aguda e 205 controles saudáveis. No grupo caso, foram incluídos 210 pacientes diagnosticados com LLA subtipos B ou T na Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), o centro de referência em doenças hematológicas no Estado do Amazonas, Brasil, durante setembro de 2021 a junho de 2024. Os pacientes possuíam faixa etária geral (<18 anos: 161 | >18 anos: 44), de ambos os sexos, não relacionados e foram tratados com o Protocolo do Grupo Brasileiro de Tratamento de Leucemias Infantis (GBTLI-2009) e Berlim-Frankfurt-Munich (BFM-2009). Não foram incluídos no estudo pacientes com leucemia bifenotípica.

O grupo controle consistiu em 205 indivíduos de doadores de sangue maiores de 16 anos, de ambos os sexos, que foram considerados saudáveis e concordaram em participar da pesquisa. Para serem considerados saudáveis, todos os candidatos foram testados sorologicamente para o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), Hepatite C (HCV), Hepatite B (HBV), Vírus Linfotrófico Humano 1 e 2 (HTLV-1/2), Sífilis e doença de Chagas e para HIV, HBV, HCV usando o Kit NAT HIV/HCV/HBV. Além disso, eles foram triados em entrevistas para doenças e outros fatores de risco, de acordo com as normas técnicas de Bancos de Sangue do Ministério da Saúde do Brasil. Amostras de DNA insuficientes ou de baixa concentração e candidatos relacionados foram excluídos.

Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação HEMOAM sob o número de protocolo 4.982.395, CAAE 51257921.2.0000.0009. Antes da inclusão de todos os pacientes e controles no estudo, todos os respectivos pais ou responsáveis legais leram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Este estudo foi realizado de acordo com as diretrizes da Declaração de Helsinque e da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde do Brasil para pesquisas envolvendo seres humanos.

Obtenção de amostras e dados

Aproximadamente 2 mL de sangue periférico e medula óssea foram obtidos de pacientes com LLA ao D0 em tubos com sistema de vácuo contendo EDTA (*BD Vacutainer EDTA K2®*) usando punção venosa e da crosta ilíaca, respectivamente. Foram coletados aproximadamente 12 mL de sangue periférico do grupo controle por punção venosa em tubos com sistema de vácuo contendo EDTA, Citrato de Sódio (*BD Vacutainer Citrate Tube®*) e com Gel Separador (*Gel BD SST® II Advance*) para hemograma, exames bioquímicos e sorologia, respectivamente. Ambas as coletas foram realizadas por profissionais capacitados da Fundação HEMOAM.

Os dados demográficos (idade, sexo), laboratoriais (hemograma, imunofenótipo) e clínicos (grupo de risco, recaída e óbito) foram obtidos de buscas em prontuários no sistema de assistência médica e estatística (SAME), sistema *iDoctor* e setor de estatística do HEMOAM. Além disso, pacientes que recidivaram após terapia de indução (35º dia de tratamento) foram usados como critério de recidiva, assim como óbito que ocorreu até a finalização desse estudo.

Extração de DNA e genotipagem

A extração do DNA genômico de amostras de sangue periférico (2mL) foi realizada usando o *PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific)*, seguindo as recomendações descritas pelo fabricante. Os SNVs foram selecionados com base na frequência do alelo menor (MAF) ($\geq 3\%$) na população global do banco de dados do NCBI e associação previamente relatada com neoplasia hematológica (principalmente leucemia).

A genotipagem foi realizada pela técnica de PCR quantitativa em tempo real (qPCR) utilizando sondas fluorescentes *TaqMan* específicas para alelos que permitem a discriminação dos SNVs estudados. As reações de qPCR foram realizadas em microplacas de 96 poços com 2,25 μ L de água ultrapura, 2,5 μ L do *Master Mix* de genotipagem (1x), 0,25 μ L do ensaio *TaqMan®* (20x), contendo 36 μ M de cada primer e 8 μ M de cada sonda *TaqMan®* com um volume final de 7 μ L. O termociclador *StepOne Plus Real-Time Systems* foi utilizado para amplificar as sequências de interesse e discriminação alélica sob as seguintes condições: 95 °C por 10 minutos

para ativação; 40 ciclos a 92 °C por 15 s para desnaturação; e 40 ciclos a 60 °C por 90 s para anelamento e extensão. As sondas usadas no experimento são mostradas na **Tabela Suplementar 07**.

Tabela Suplementar 07. Sondas *TaqMan* utilizadas no estudo.

Gene	Variante	Localização cromossômica	Sequência 5’-[VIC/FAM]-3’	ID ensaio
<i>AIM2</i>	rs1103577	1:159130525	TAAAAGGCACTTCCATTCACTCATT[C/T] JGCTCAAGCCAGAAAGCCGGGAATCA	C#341888_10
<i>IFI16</i>	rs1633266	1:159036187	CACTTACTAGGTGCTGGTTTTAAAA[C/T] JCTGTATTCTTTATGTATATTGTTGC	C#7478866_10
<i>CASP1</i>	rs570685	11:105033257	TGACTGACTGACATTAAATAATGTT[A/C] JAAGATGTTCTTTAATTTAGAGAGTG	C#962600_10
<i>CARD8</i>	rs2043211	19:48234449	AGTTGACACTCAGGAACAGCACGGA[A/T] TCAATAATGGCTCTGCCTCTGTCTCA	C#11708080_1_

Quantificação de citocinas

A dosagem das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF em amostras de plasma dos controles (sangue periférico) e pacientes com LLA ao D0 (medula óssea e sangue periférico) foi realizada pela técnica de *Cytometric Bead Array (CBA)* utilizando o kit BD™ *Human Inflammatory Cytokine* (Biosciences, San Diego, CA, USA), conforme as recomendações do fabricante. As amostras foram adquiridas no citômetro de fluxo *FACSCantoII* (BD® Biosciences, San Jose, CA, EUA) e o software *FCAP Array v3* (Soft Flow Inc., EUA) foi usado para determinar as concentrações em pg/mL e Intensidade Média de Fluorescência (MFI) de cada citocina.

Análise estatística

A análise alélica foi realizada usando um teste exato de Fisher e as associações entre as frequências alélicas/genotípicas entre os pacientes de acordo com a recidiva e a morte foram examinadas sob quatro modelos genéticos: codominante, dominante, recessivo e sobredominante, usando o pacote “*SNPassoc*” versão 2.1.0 (<https://cran.r-project.org/web/packages/SNPpassoc/index.html>) para o software R versão 4.4.0 (www.r-project.org). O melhor modelo genético foi utilizado conforme o critério de informação de Akaike (AIC). O equilíbrio de *Hardy-Weinberg* (HW) foi determinado para todos os

SNVs. A correção de Bonferroni para múltiplos testes foi realizada e o valor de p ajustado foi destacado em caracteres *itálicos* e em **negrito**. Os resultados foram mostrados como razão de chances (OR) e intervalos de confiança de 95% (IC de 95%) de análises de regressão logística multivariada. Para evitar potenciais fatores de confusão, valores de OR ajustados (OR_{adj}) para idade e sexo foram fornecidos. Para comparar múltiplas médias de concentração de citocina, o teste de variância não paramétrico ANOVA (*Kruskal-Wallis*) seguido do teste post-hoc de Dunn ajustado para múltiplas comparações foram utilizados. Um valor de p menor que 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse quanto à publicação deste artigo.

FINANCIMENTO

Este trabalho foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) [Programa Pró-Estado - #002/2008, Programa PAMEQ - #004/2019 e Programa PAPAC - #005/2019], Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Os financiadores não tiveram nenhum papel no desenho do estudo, na coleta e análise de dados, na decisão de publicação ou na preparação do manuscrito.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

FSAH contribuiu para a concepção do estudo, trabalhos de laboratório, coleta e análise de dados e redação do manuscrito. AGC esteve envolvido na concepção do estudo, análise de dados e revisão do manuscrito. GMN, JCAN, GLS, LSS, LGMG, DSP e FMG estiveram envolvidos na coleta e armazenamento de amostras e execução dos protocolos laboratoriais. AM, AP contribuíram para o conceito do estudo e forneceram consultoria sobre aspectos genéticos. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

AGRADECIMENTOS

Nós agradecemos ao Laboratório de Imunogenética da Universidade de São Paulo (USP)-SP pela disponibilização e colaboração nesse estudo e a toda equipe

multidisciplinar envolvida na coleta de amostras da Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM).

REFERENCES

1. Tebbi, C. K. Etiology of Acute Leukemia: A Review. *Cancers (Basel)* 13, 2256 (2021).
2. Dong, Y. et al. Leukemia incidence trends at the global, regional, and national level between 1990 and 2017. *Exp Hematol Oncol* 9, 14 (2020).
3. Reis, R. D. S. et al. Childhood Leukemia Incidence in Brazil According to Different Geographical Regions. *Pediatric Blood Cancer* 56, 58–64 (2011).
4. Yi, M., Zhou, L., Li, A., Luo, S. & Wu, K. Global burden and trend of acute lymphoblastic leukemia from 1990 to 2017. *Aging* (2020) doi:10.18632/aging.103982.
5. Lillie, K. Leukaemia and lockdown: The delayed infection model of childhood acute lymphoblastic leukaemia and the COVID-19 pandemic. *Pediatr Blood Cancer* 68, (2021).
6. Greaves, M. A causal mechanism for childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Nat Rev Cancer* 18, 471–484 (2018).
7. Vilchis-Ordoñez, A., Ramírez-Ramírez, D. & Pelayo, R. The triad inflammation-microenvironment-tumor initiating cells in leukemia progression. *Curr Opin Physiol* 19, 211–218 (2021).
8. Zheng, D., Liwinski, T. & Elinav, E. Inflammasome activation and regulation: toward a better understanding of complex mechanisms. *Cell Discov* 6, 36 (2020).
9. Craver, B., El Alaoui, K., Scherber, R. & Fleischman, A. The Critical Role of Inflammation in the Pathogenesis and Progression of Myeloid Malignancies. *Cancers (Basel)* 10, 104 (2018).
10. Alves, F. S. et al. Genetic polymorphisms of inflammasome genes associated with pediatric acute lymphoblastic leukemia and clinical prognosis in the Brazilian Amazon. *Sci Rep* 11, 1–10 (2021).
11. Leitão, L. P. C. et al. Identification of Genomic Variants Associated with the Risk of Acute Lymphoblastic Leukemia in Native Americans from Brazilian Amazonia. *J Pers Med* 12, 856 (2022).
12. Brenner, A. K. & Bruserud, Ø. Functional Toll-Like Receptors (TLRs) Are Expressed by a Majority of Primary Human Acute Myeloid Leukemia Cells and Inducibility of the TLR Signaling Pathway Is Associated with a More Favorable Phenotype. *Cancers (Basel)* 11, 973 (2019).
13. Fateh, K. et al. The evaluation of TLR1, TLR2, TLR4, TLR7, and TLR8 expression levels in the newly-diagnosed acute myeloid leukemia (AML) patients. *Iranian Journal of Blood and Cancer* 14, 95–103 (2022).

14. Bruserud, Ø., Reikvam, H. & Brenner, A. K. Toll-like Receptor 4, Osteoblasts and Leukemogenesis; the Lesson from Acute Myeloid Leukemia. *Molecules* 27, 735 (2022).
15. Liu, P. et al. NOD-like receptor signaling in inflammation-associated cancers: From functions to targeted therapies. *Phytomedicine* 64, 152925 (2019).
16. Buteyn, N. J. et al. Activation of the Intracellular Pattern Recognition Receptor NOD2 Promotes Acute Myeloid Leukemia (AML) Cell Apoptosis and Provides a Survival Advantage in an Animal Model of AML. *The Journal of Immunology* 204, 1988–1997 (2020).
17. Adamiak, M. et al. Novel evidence that an alternative complement cascade pathway is involved in optimal mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells in Nlrp3 inflammasome-dependent manner. *Leukemia* 33, 2967–2970 (2019).
18. Yang, L., Hu, M., Lu, Y., Han, S. & Wang, J. Inflammasomes and the maintenance of hematopoietic homeostasis: New perspectives and opportunities. *Molecules* 26, (2021).
19. Alves-Hanna, F. S. et al. Insights Regarding the Role of Inflammasomes in Leukemia: What Do We Know? *Journal of Immunology Research* vol. 2023 Preprint at <https://doi.org/10.1155/2023/5584492> (2023).
20. Xabregas, L. A. et al. Association of Toll-like receptors polymorphisms with the risk of acute lymphoblastic leukemia in the Brazilian Amazon. *Sci Rep* 12, (2022).
21. Yu, D. et al. The role of AIM2 in inflammation and tumors. *Front Immunol* 15, (2024).
22. Zhou, H. et al. AIM2 inflammasome activation benefits the therapeutic effect of BCG in bladder carcinoma. *Front Pharmacol* 13, (2022).
23. Zheng, J., Liu, C., Shi, J., Wen, K. & Wang, X. AIM2 inhibits the proliferation, invasion and migration, and promotes the apoptosis of osteosarcoma cells by inactivating the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *Mol Med Rep* 25, 53 (2021).
24. Zheng, P., Xiao, W., Zhang, J., Zheng, X. & Jiang, J. The role of AIM2 in human hepatocellular carcinoma and its clinical significance. *Pathol Res Pract* 245, 154454 (2023).
25. Qin, Y. et al. Pan-cancer analysis of AIM2 inflammasomes with potential implications for immunotherapy in human cancer: A bulk omics research and single cell sequencing validation. *Front Immunol* 13, (2022).
26. Piccaluga, P. P. et al. IFI16 Expression Is Related to Selected Transcription Factors during B-Cell Differentiation. *J Immunol Res* 2015, 1–20 (2015).
27. Basso, K. et al. Integrated biochemical and computational approach identifies BCL6 direct target genes controlling multiple pathways in normal germinal center B cells. *Blood* 115, 975–984 (2010).
28. Kwak, J. C., Ongusaha, P. P., Ouchi, T. & Lee, S. W. IFI16 as a Negative Regulator in the Regulation of p53 and p21Waf1. *Journal of Biological Chemistry* 278, 40899–40904 (2003).

29. Fujiuchi, N. et al. Requirement of IFI16 for the Maximal Activation of p53 Induced by Ionizing Radiation. *Journal of Biological Chemistry* 279, 20339–20344 (2004).
30. Song, L. L., Alimirah, F., Panchanathan, R., Xin, H. & Choubey, D. Expression of an IFN-Inducible Cellular Senescence Gene, IFI16 is up-regulated by p53. *Molecular Cancer Research* 6, 1732–1741 (2008).
31. Choubey, D. Cytosolic DNA sensor IFI16 proteins: Potential molecular integrators of interactions among the aging hallmarks. *Ageing Res Rev* 82, 101765 (2022).
32. Piccaluga, P. P. et al. IFI16 reduced expression is correlated with unfavorable outcome in chronic lymphocytic leukemia. *APMIS* 125, 511–522 (2017).
33. Zhang, C. et al. Investigation of NF- κ B-94ins/del ATTG and CARD8 (rs2043211) Gene Polymorphism in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Front Endocrinol (Lausanne)* 10, 1–9 (2019).
34. Linder, A. et al. CARD8 inflammasome activation triggers pyroptosis in human T cells. *EMBO J* 39, (2020).
35. Singh, J. et al. Prognostic Relevance of Expression of EMP1, CASP1, and NLRP3 Genes in Pediatric B-Lineage Acute Lymphoblastic Leukemia. *Front Oncol* 11, (2021).
36. Shand, J., Mariano, J. & Toia, L. Acute lymphoblastic leukemia induces caspase-1 activation in human bone marrow monocyte/macrophages and is associated with impaired CD8 function. *The Journal of Immunology* 192, 184.24-184.24 (2014).
37. Naslavsky, M. S. et al. Whole-genome sequencing of 1,171 elderly admixed individuals from Brazil. *Nat Commun* 13, 1004 (2022).
38. Kirtane, K. & Lee, S. J. Racial and ethnic disparities in hematologic malignancies. *Blood* 130, 1699–1705 (2017).
39. Zhao, Y., Wang, Y. & Ma, S. Racial Differences in Four Leukemia Subtypes: Comprehensive Descriptive Epidemiology. *Sci Rep* 8, 1–10 (2018).
40. Moura, Ronald Rodrigues Coelho, A. V. C., Balbino, V. Q. & Brandão, L. A. C. Meta-analysis of Brazilian genetic admixture and comparison with other Latin America countries. *Am J Hum Biol* 27, 674–680 (2015).
41. Wanderley, A. V. et al. Effect of American genomic ancestry on severe toxicities in children with acute lymphoblastic leukemia in the Amazon region. *Discover Oncology* 15, 171 (2024).
42. Lindenau, J. D. et al. Variability of innate immune system genes in Native American populations—relationship with history and epidemiology. *Am J Phys Anthropol* 159, 722–728 (2016).
43. Lindenau, J. D. et al. Distribution patterns of variability for 18 immune system genes in Amerindians – relationship with history and epidemiology. *Tissue Antigens* 82, 177–185 (2013).

44. Yang, J. J. et al. Ancestry and pharmacogenomics of relapse in acute lymphoblastic leukemia. *Nat Genet* 43, 237–241 (2011).
45. Méndez-Ferrer, S. et al. Bone marrow niches in haematological malignancies. *Nat Rev Cancer* 20, 285–298 (2020).
46. Dai, Q. et al. Cytokine network imbalance in children with B-cell acute lymphoblastic leukemia at diagnosis. *Cytokine* 169, 156267 (2023).
47. Bizymi, N. et al. Myeloid-Derived Suppressor Cells in Hematologic Diseases: Promising Biomarkers and Treatment Targets. *Hemasphere* 3, (2019).
48. Bunt, S. K., Clements, V. K., Hanson, E. M., Sinha, P. & Ostrand-Rosenberg, S. Inflammation enhances myeloid-derived suppressor cell cross-talk by signaling through Toll-like receptor 4. *J Leukoc Biol* 85, 996–1004 (2009).
49. Magalhães-Gama, F. et al. The Yin-Yang of myeloid cells in the leukemic microenvironment: Immunological role and clinical implications. *Front Immunol* 13, 1–15 (2022).
50. Vilchis-Ordoñez, A. et al. Bone marrow cells in acute lymphoblastic leukemia create a proinflammatory microenvironment influencing normal hematopoietic differentiation fates. *Biomed Res Int* 2015, (2015).
51. Hasselbalch, H. C. Chronic inflammation as a promotor of mutagenesis in essential thrombocythemia, polycythemia vera and myelofibrosis. A human inflammation model for cancer development? *Leuk Res* 37, 214–220 (2013).
52. Dai, Q. et al. Cytokine network imbalance in children with B-cell acute lymphoblastic leukemia at diagnosis. *Cytokine* 169, 156267 (2023).
53. Magalhães-Gama, F. et al. Imbalance of Chemokines and Cytokines in the Bone Marrow Microenvironment of Children with B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Oncol* 2021, (2021).

Conclusão

6. Conclusão

Ao final desse estudo, podemos concluir que:

- Diante de várias terapias visando o inflamassoma atualmente em desenvolvimento clínico, o nosso trabalho de revisão bibliográfica pôde contribuir para aumentar nossa compreensão da complexidade da relação entre inflamação e leucemogênese e servirá como base para estudos promissores no campo da onco-hematologia;
- As análises gerais e estratificadas do nosso trabalho de revisão sistemática com meta-análise, composta por 12 estudos de caso-controle com 2.892 pacientes e 3.716 controles sem câncer, não encontraram nenhuma evidência de associação entre o polimorfismo *IL1B*-511 C>T e o risco de alguma neoplasia hematológica. Dessa forma, mais estudos em larga escala são necessários para confirmar nossas descobertas;
- Em nossa população, os grupos caso e controle mostraram proporções semelhantes de frequências alélicas para cada polimorfismo e, portanto, nenhuma diferença significativa nas frequências alélicas foi encontrada entre ambos os grupos;
- O genótipo *AIM2* rs1103577 C/T foi associado com proteção para o desenvolvimento da leucemia linfoblástica aguda em nossa população de estudo;
- O genótipo *AIM2* rs1103577 C/T foi associado à proteção contra a progressão para óbito em pacientes com leucemia linfoblástica aguda durante o tratamento;
- Não foi encontrada associação significativa dos polimorfismos *IFI16* rs1633266, *CARD8* rs2043211 e *CASP1* rs570685 quanto ao risco ou proteção para o desenvolvimento da leucemia linfoblástica aguda em nossa população, bem como, para as variáveis recaída e óbito;
- Não foi encontrada associação entre os genótipos dos polimorfismos *IFI16* rs1633266, *CARD8* rs2043211 e *CASP1* rs570685 com a secreção das citocinas IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF ao diagnóstico quando avaliadas na medula óssea e sangue periférico;
- Não foi encontrada associação entre os genótipos dos polimorfismos *IFI16* rs1633266, *CARD8* rs2043211 e *CASP1* rs570685 com a secreção das citocinas

IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12p70 e TNF ao diagnóstico na medula óssea e sangue periférico quando avaliadas nos pacientes com leucemia linfoblástica aguda para as variáveis recaída e óbito;

- Embora nosso trabalho tenha demonstrado o importante papel dos inflamassomas na progressão da leucemia linfoblástica aguda em nossa população, devido às limitações desse trabalho, ressaltamos a importância da realização de estudos prospectivos que englobem a análise funcional desses polimorfismos a fim de melhor compreender seu papel na doença;

Referências

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Terwilliger T, Abdul-Hay M. Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update. *Blood Cancer J*. 2017;7(6):577.
2. INCA. Instituto Nacional de Câncer-INCA, Estimativas da incidência e mortalidade por câncer. 2023. 167 p.
3. Silva AL, Alves FS, Kerr MWA, Xabregas LA, Gama FM, Rodrigues MGA, et al. Acute lymphoid and myeloid leukemia in a Brazilian Amazon population: Epidemiology and predictors of comorbidity and deaths. *PLoS One*. 2019;14(8):1–16.
4. Reis RDS, Camargo B De, Santos MDO, Moreira J, Oliveira D, Silva FA, et al. Childhood Leukemia Incidence in Brazil According to Different Geographical Regions. *Pediatric Blood Cancer*. 2011;56:58–64.
5. Reis RDS, Santos MDO, De Camargo B, Oliveira JFP, Thuler LCS, Pombo-De-Oliveira MS. Early childhood leukemia incidence trends in Brazil. *Pediatr Hematol Oncol* [Internet]. 2016;33(2):83–93. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26925506>
6. Crump C, Sundquist J, Sieh W, Winkleby MA, Sundquist K. Perinatal and familial risk factors for acute lymphoblastic leukemia in a Swedish national cohort. *Cancer*. 2015;121(7):1040–7.
7. Wang Y, Gao P, Liang G, Zhang N, Wang C, Wang Y, et al. Maternal prenatal exposure to environmental factors and risk of childhood acute lymphocytic leukemia: A hospital-based case-control study in China. *Cancer Epidemiol*. 2019;58(September 2018):146–52.
8. Greaves MF. Aetiology of acute leukaemia. *Lancet*. 1997;349(9048):344–9.
9. Greaves M. Infection, immune responses and the aetiology of childhood leukaemia. *Nat Rev Cancer*. 2006;6(3):193–203.
10. Greaves M. A causal mechanism for childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Nat Rev Cancer*. 2018;18(8):471–84.
11. Hwee J, Tait C, Sung L, Kwong JC, Sutradhar R, Pole JD. A systematic review and meta-analysis of the association between childhood infections and the risk of childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Cancer*. 2018;118(1):127–37.
12. Kantono M, Guo B. Inflammasomes and cancer: The dynamic role of the inflammasome in tumor development. *Front Immunol*. 2017;8(SEP):1–9.
13. Broz P, Dixit VM. Inflammasomes: Mechanism of assembly, regulation and signalling. *Nat Rev Immunol*. 2016;16(7):407–20.
14. Awad F, Assrawi E, Louvrier C, Jumeau C, Georgin-Lavialle S, Grateau G, et al. Inflammasome biology, molecular pathology and therapeutic implications. *Pharmacol Ther*. 2018;187:133–49.
15. Guo B, Fu S, Zhang J, Liu B, Li Z. Targeting inflammasome/IL-1 pathways for cancer immunotherapy. *Sci Rep*. 2016;6(October):1–12.

16. Piller GJ. Leukaemia - A brief historical review from ancient times to 1950. *Br J Haematol.* 2001;112(2):282–92.
17. Dreyfus C. Alguns marcos na história da hematologia. *Grunne & Stratton.* 1957;54–6.
18. Donné A. Cours de microscopie complémentaire des études médicales. Anatomie microscopique et physiologie des fluides de l'Economie. 1844;135–6.
19. Bennet JH. Caso de hipertrofia do baço e fígado em que a morte ocorreu a partir da supuração do sangue. *Edinb Med Surg J.* 1845;64:413–23.
20. Bennet JH. Leucocythemia or White Cell Blood. *Edimburgo.* 1852;7–82.
21. Virchow R. Weisses blut. o notizen de Froriep. 1845;36:151–6.
22. Virchow R. Zur pathologischen physiologie des blutes. II. Weisses blut. *Arch Pathol Anat Phys.* 1847;1:563–72.
23. Patlak BM. Targeting leukemia: From Bench to Bedside. *Leukemia.* 1998;12(1).
24. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Borowitz MJ, Beau MM Le, Bloomfield CD, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood.* 2016;127(20):2391–406.
25. Bain BJ, Estcourt L. FAB Classification of Leukemia. Em: *Brenner's Encyclopedia of Genetics.* Elsevier Inc.; 2013. p. 5–7.
26. Arber DA, Orazi A, Hasserjian RP, Borowitz MJ, Calvo KR, Kvasnicka HM, et al. International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. *Blood.* 2022;140(11):1200–28.
27. Deschler B, Lubbert M. Acute Myeloid Leukemia: Epidemiology and Etiology. *Cancer.* 2006;107:2099–107.
28. Kouchkovsky D, Abdul-Hay M. Acute myeloid leukemia: a comprehensive review and 2016 update. *Blood Cancer J.* 2016;6(1–10).
29. Hoffbrand . A. Victor, Moss PAH, Renato Rego Failace. Fundamentos em Hematologia. 7°. Artmed, organizador. Porto Alegre; 2017. 384 p.
30. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA GH et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol.* 1976;33:451–8.
31. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Vardiman J, Lister TA, et al. Commentary The World Health Organization Classification of Neoplastic Diseases of the Hematopoietic and Lymphoid Tissues. *Annals of Oncology.* 1999;10(12):1419–32.
32. Zerbini MCN, Soares FA, Velloso EDRP, Chauffaille MDLLF, Paes RP. Classificação da Organização Mundial da Saúde para os tumores dos tecidos hematopoético e linfóide, 4ª edição, 2008: principais modificações introduzidas em relação à 3ª edição, 2001. *Rev Assoc Med Bras.* 2011;57(1):6–73.

33. Steliarova-Foucher E, Stiller C, Kaatsch P, Berrino F, Coebergh JW, Lacour B, et al. Geographical patterns and time trends of cancer incidence and survival among children and adolescents in Europe since the 1970s (the ACCISproject): an epidemiological study. *Lancet*. 2004;364(9451):2097–105.
34. Steliarova-foucher E, Colombet M, Ries LAG, Moreno F, Dolya A, Bray F, et al. Articles International incidence of childhood cancer , 2001 – 10 : a population-based registry study. *Lancel Oncol*. 2017;18:719–31.
35. Namayandeh SM, Khazaei Z, Najafi ML, Goodarzi E, Moslem A. GLOBAL Leukemia in children 0-14 statistics 2018, incidence and mortality and human development index (HDI): GLOBOCAN sources and methods. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2020;21(5):1487–94.
36. Miranda Filho A, Piñeros M, Ferlay J, Soerjomataram I, Monnereau A, Bray F. Epidemiological patterns of leukaemia in 184 countries: a population-based study. *Lancet Haematol*. 2018;5(1):14–24.
37. INCA. Instituto Nacional de Câncer-INCA, Estimativas da incidência e mortalidade por câncer. 2023. 167 p.
38. Reis RDS, Camargo B De, Santos MDO, Moreira J, Oliveira D, Silva FA, et al. Childhood Leukemia Incidence in Brazil According to Different Geographical Regions. *Pediatric Blood Cancer*. 2011;56:58–64.
39. Reis RDS, Santos MDO, Camargo B De, Oliveira FP, Claudio L, Thuler S, et al. Early childhood leukemia incidence trends in Brazil Early childhood leukemia incidence trends in Brazil. *Pediatr Hematol Oncol*. 2016;18:12.
40. Cardoso MCAC, Do Amaral RC, Da Silva SO. Mortality profile of myeloid and lymphoid leukemias in Brazil: 2000 to 2018 / Perfil de mortalidade por leucemias mieloide e linfóide no Brasil: 2000 a 2018. *Brazilian Journal of Development*. 2022;8(3):22033–44.
41. Colunga-Pedraza PR, Colunga-Pedraza JE, Peña-Lozano SP, Gómez-De León A, Ruiz-Delgado GJ, Ribeiro RC. Diagnosis and treatment of acute lymphoblastic leukemia in Latin America. *Hematology (United Kingdom)*. 2022;27(1):971–6.
42. Seibel NL. Treatment of acute lymphoblastic leukemia in children and adolescents: peaks and pitfalls. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology American Society of Hematology Education Program*. 2008;374–80.
43. Brandalise SR, Pinheiro VR, Aguiar SS, Matsuda EI, Otubo R, Yunes JA, et al. Benefits of the intermittent use of 6-mercaptopurine and methotrexate in maintenance treatment for low-risk acute lymphoblastic leukemia in children: Randomized trial from the Brazilian childhood cooperative group - Protocol ALL-99. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;28(11):1911–8.
44. Silva KA de S, Rechenmacher C, Morais RV de, Michalowski MB, Daudt LE. Are there regional variations in the presentation of childhood leukemia? *Clinical & Biomedical Research*. 2021;192–8.

45. Cangerana-Pereira FA, Mirra AP, Dias De Oliveira Latorre M do R, de Assunção JV. Environmental Risk Factors and Acute Lymphoblastic Leukaemia in Childhood. *Revista Ciencias de la Salud*. 2017;15(1):129–44.
46. Ward G. The infective theory of acute leukaemia. *Br J Child Dis*. 1917;14(10):20.
47. Greaves M. A causal mechanism for childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Nat Rev Cancer*. 2018;18(8):471–84.
48. Ho NPY, Takizawa H. Inflammation Regulates Haematopoietic Stem Cells and Their Niche. *Int J Mol Sci*. 2022;23(3).
49. Caiado F, Pietras EM, Manz MG. Inflammation as a regulator of hematopoietic stem cell function in disease, aging, and clonal selection. *Journal of Experimental Medicine*. 2021;218(7):1–19.
50. Krawczyk J, O'Dwyer M, Swords R, Freeman C, Giles FJ. The role of inflammation in Leukaemia. *Adv Exp Med Biol*. 2014;816:335–60.
51. Ratajczak MZ, Bujko K, Cymer M, Thapa A, Adamiak M, Ratajczak J, et al. The Nlrp3 inflammasome as a “rising star” in studies of normal and malignant hematopoiesis. *Leukemia*. 2020;34(6):1512–23.
52. Dander E, Palmi C, D'amico G, Cazzaniga G. The bone marrow niche in b-cell acute lymphoblastic leukemia: The role of microenvironment from pre-leukemia to overt leukemia. *Int J Mol Sci*. 2021;22(9).
53. Palmi C, Fazio G, Savino AM, Procter J, Howell L, Cazzaniga V, et al. Cytoskeletal regulatory gene expression and migratory properties of B-cell progenitors are affected by the ETV6-RUNX1 rearrangement. *Molecular Cancer Research*. 2014;12(12):1796–806.
54. Bürgler S, Nadal D. Pediatric precursor B acute lymphoblastic leukemia: are T helper cells the missing link in the infectious etiology theory? *Mol Cell Pediatr*. 2017;4(1).
55. Misra MK, Prakash S, Moulik NR, Kumar A, Agrawal S. Genetic associations of killer immunoglobulin like receptors and class I human leukocyte antigens on childhood acute lymphoblastic leukemia among north Indians. *Hum Immunol*. 2016;77(1):41–6.
56. Zambetti NA, Ping Z, Chen S, Kenswil KJG, Mylona MA, Sanders MA, et al. Mesenchymal Inflammation Drives Genotoxic Stress in Hematopoietic Stem Cells and Predicts Disease Evolution in Human Pre-leukemia. *Cell Stem Cell*. 2016;19(5):613–27.
57. Vilchis-Ordoñez A, Contreras-Quiroz A, Vadillo E, Dorantes-Acosta E, Reyes-López A, Quintela-Nuñez Del Prado HM, et al. Bone marrow cells in acute lymphoblastic leukemia create a proinflammatory microenvironment influencing normal hematopoietic differentiation fates. *Biomed Res Int*. 2015;2015.
58. Lillo S, Saleh M. Inflammasomes in Cancer Progression and Anti-Tumor Immunity. *Front Cell Dev Biol*. 2022;10(April):1–11.

59. Lu A, Wu H. Structural mechanisms of inflammasome assembly. *FEBS Journal*. fevereiro de 2015;282(3):435–44.
60. Yu C, Moecking J, Geyer M, Masters S. Mechanisms of NLRP1-Mediated Autoinflammatory Disease in Humans and Mice. *J Mol Biol*. 2018;430(2):142–52.
61. Place DE, Kanneganti TD. Recent advances in inflammasome biology. *Curr Opin Immunol*. 2018;50:32–8.
62. de Torre-Mingueta C, del Castillo PM, Pelegrín P. The NLRP3 and pyrin inflammasomes: Implications in the pathophysiology of autoinflammatory diseases. *Front Immunol*. 2017;8(JAN).
63. Srinivasula SM, Poyet JL, Razmara M, Datta P, Zhang Z, Alnemri ES. The PYRIN-CARD protein ASC is an activating adaptor for caspase-1. *Journal of Biological Chemistry*. 2002;277(24):21119–22.
64. Proell M, Gerlic M, Mace PD, Reed JC, Riedl SJ. The CARD plays a critical role in ASC foci formation and inflammasome signalling. *Biochemical Journal*. 2013;449(3):613–21.
65. Gumucio DL, Diaz A, Schaner P, Richards N, Babcock C, Schaller M, et al. Fire and ICE: The role of pyrin domain-containing proteins in inflammation and apoptosis. *Clin Exp Rheumatol*. 2002;20(4 SUPPL. 26).
66. Liepinsh E, Barbals R, Dahl E, Sharipo A, Staub E, Otting G. The death-domain fold of the ASC PYRIN domain, presenting a basis for PYRIN/PYRIN recognition. *J Mol Biol*. 2003;332(5):1155–63.
67. Lu A, Magupalli VG, Ruan J, Yin Q, Atianand MK, Vos MR, et al. Unified polymerization mechanism for the assembly of ASC-dependent inflammasomes. *Cell*. 2014;156(6):1193–206.
68. Zheng D, Liwinski T, Elinav E. Inflammasome activation and regulation: toward a better understanding of complex mechanisms. *Cell Discov*. 2020;6(1).
69. Liu X, Zhang Z, Ruan J, Pan Y, Magupalli VG, Wu H, et al. Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores. *Nature*. 2016;535(7610):153–8.
70. Labbé K, Saleh M. Cell death in the host response to infection. *Cell Death Differ*. 2008;15(9):1339–49.
71. Hornung V, Ablasser A, Charrel-Dennis M, Bauernfeind F, Horvath G, Caffrey DanielR, et al. AIM2 recognizes cytosolic dsDNA and forms a caspase-1-activating inflammasome with ASC. *Nature*. 26 de março de 2009;458(7237):514–8.
72. DeYoung KL, Ray ME, Su YA, Anzick SL, Johnstone RW, Trapani JA, et al. Cloning a novel member of the human interferon-inducible gene family associated with control of tumorigenicity in a model of human melanoma. *Oncogene*. 24 de julho de 1997;15(4):453–7.

73. Sagulenko V, Thygesen SJ, Sester DP, Idris A, Cridland JA, Vajjhala PR, et al. AIM2 and NLRP3 inflammasomes activate both apoptotic and pyroptotic death pathways via ASC. *Cell Death Differ.* 3 de setembro de 2013;20(9):1149–60.
74. Pierini R, Juruj C, Perret M, Jones CL, Mangeot P, Weiss DS, et al. AIM2/ASC triggers caspase-8-dependent apoptosis in Francisella-infected caspase-1-deficient macrophages. *Cell Death Differ.* 4 de outubro de 2012;19(10):1709–21.
75. Lugrin J, Martinon F. The AIM2 inflammasome: Sensor of pathogens and cellular perturbations. *Immunol Rev.* 16 de janeiro de 2018;281(1):99–114.
76. Kumari P, Russo AJ, Shivcharan S, Rathinam VA. AIM2 in health and disease: Inflammasome and beyond. *Immunol Rev.* 26 de setembro de 2020;297(1):83–95.
77. Choubey D. Interferon-inducible IFI16 protein in human cancers and autoimmune diseases. *Frontiers in Bioscience.* 2008;13(13):598.
78. Unterholzner L, Keating SE, Baran M, Horan KA, Jensen SB, Sharma S, et al. IFI16 is an innate immune sensor for intracellular DNA. *Nat Immunol.* 3 de novembro de 2010;11(11):997–1004.
79. Kerur N, Veetil MV, Sharma-Walia N, Bottero V, Sadagopan S, Otageri P, et al. IFI16 Acts as a Nuclear Pathogen Sensor to Induce the Inflammasome in Response to Kaposi Sarcoma-Associated Herpesvirus Infection. *Cell Host Microbe.* maio de 2011;9(5):363–75.
80. Radian AD, de Almeida L, Dorfleutner A, Stehlik C. NLRP7 and related inflammasome activating pattern recognition receptors and their function in host defense and disease. *Microbes Infect.* julho de 2013;15(8–9):630–9.
81. Fan Z, Chen R, Yin W, Xie X, Wang S, Hao C. Effects of AIM2 and IFI16 on Infectious Diseases and Inflammation. *Viral Immunol.* 1º de setembro de 2023;36(7):438–48.
82. Chang X, Wang B, Zhao Y, Deng B, Liu P, Wang Y. The role of IFI16 in regulating PANoptosis and implication in heart diseases. *Cell Death Discov.* 1º de maio de 2024;10(1):204.
83. Wang P, Ye Z, Deng J, Siu K, Gao W, Chaudhary V, et al. Inhibition of AIM2 inflammasome activation by a novel transcript isoform of IFI16. *EMBO Rep.* 13 de outubro de 2018;19(10).
84. Jønsson KL, Laustsen A, Krapp C, Skipper KA, Thavachelvam K, Hotter D, et al. IFI16 is required for DNA sensing in human macrophages by promoting production and function of cGAMP. *Nat Commun.* 10 de fevereiro de 2017;8(1):14391.
85. Diner BA, Lum KK, Toettcher JE, Cristea IM. Viral DNA Sensors IFI16 and Cyclic GMP-AMP Synthase Possess Distinct Functions in Regulating Viral Gene Expression, Immune Defenses, and Apoptotic Responses during Herpesvirus Infection. *mBio.* 30 de dezembro de 2016;7(6).

86. Srinivasula SM, Poyet JL, Razmara M, Datta P, Zhang Z, Alnemri ES. The PYRIN-CARD protein ASC is an activating adaptor for caspase-1. *Journal of Biological Chemistry*. 2002;277(24):21119–22.
87. Karakaya T, Slafova M, Di Filippo M, Hennig P, Kündig T, Beer HD. CARD8: A Novel Inflammasome Sensor with Well-Known Anti-Inflammatory and Anti-Apoptotic Activity. *Cells*. 13 de junho de 2024;13(12):1032.
88. Sharma BR, Kanneganti TD. NLRP3 inflammasome in cancer and metabolic diseases. *Nat Immunol*. 2021;22(5):550–9.
89. Karki R, Kanneganti TD. Diverging inflammasome signals in tumorigenesis and potential targeting. *Nat Rev Cancer*. 2019;19(4):197–214.
90. Rébé C, Ghiringhelli F. Interleukin-1 β and Cancer. *Cancers (Basel)*. 2020;12:1791–822.
91. Karki R, Man SM, Kanneganti TD. Inflammasomes and cancer. *Cancer Immunol Res*. 2017;5(2):94–9.
92. Hu Z, Sporn M, Letterio J. Targeting NLRP3 Inflammasome-Induced Therapy Resistance in ALL. *Blood*. 2020;136:46.
93. Paugh SW, Bonten EJ, Savic D, Ramsey LB, Thierfelder WE, Gurung P, et al. NALP3 inflammasome upregulation and CASP1 cleavage of the glucocorticoid receptor cause glucocorticoid resistance in leukemia cells. *Nat Genet*. 2015;
94. Toia L, Mariano J, Winte M, Shand J. Intrinsic Activation of the NLRP3 Inflammasome in Primary Human ALL Cells Is Regulated By Endogenous HMGB1 and Bone Marrow Macrophages. *Blood*. 2017;130(1):2559.
95. Fitter S, Bradey AL, Kok CH, Noll JE, Wilczek VJ, Venn NC, et al. CKLF and IL1B transcript levels at diagnosis are predictive of relapse in children with pre-B-cell acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 2021;193(1):171–5.
96. Sanz C, Calasanz MJ, Andreu E, Richard C, Prosper F, Fernandez-Luna JL. NALP1 is a transcriptional target for cAMP-response-element-binding protein (CREB) in myeloid leukaemia cells. *Biochemical Journal*. 2004;384(2):281–6.
97. Hamarsheh S, Osswald L, Saller BS, Unger S, Feo D De, Vinnakota JM, et al. Oncogenic KrasG12D causes myeloproliferation via NLRP3 inflammasome activation. *Nat Commun*. 2020;11:1–17.
98. Liu N, Wu Y, Wen X, Li P, Lu F, Shang H. Chronic stress promotes acute myeloid leukemia progression through HMGB1 / NLRP3 / IL-1 β signaling pathway. *J Mol Med*. 2021;99:403–14.
99. Zhong C, Wang R, Hua M, Zhang C, Han F, Xu M, et al. NLRP3 Inflammasome Promotes the Progression of Acute Myeloid Leukemia via IL-1 β Pathway. *Front Immunol*. 2021;12(June):1–15.
100. Salaro E, Rambaldi A, Falzoni S, Amoroso FS, Franceschini A, Sarti AC, et al. Involvement of the P2X7-NLRP3 axis in leukemic cell proliferation and death. *Sci Rep*. 2016;6(1):1–13.

101. Xu Z, Wang H, Wei S, Wang Z, Ji G. Inhibition of ER stress-related IRE1 α /CREB/NLRP1 pathway promotes the apoptosis of human chronic myelogenous leukemia cell. *Mol Immunol*. 2018;101(83):377–85.
102. Liu Q, Hua M, Zhang C, Wang R, Liu J, Yang X, et al. NLRP3-activated bone marrow dendritic cells play antileukemic roles via IL-1 β / Th1 / IFN- γ in acute myeloid leukemia. *Cancer Lett*. 2021;520:109–20.
103. Zhang A, Yu J, Yan S, Zhao X, Chen C, Zhou Y, et al. The genetic polymorphism and expression profiles of NLRP3 inflammasome in patients with chronic myeloid leukemia. *Hum Immunol*. 2018;79(1):57–62.
104. Rüchel N, Jepsen VH, Hein D, Fischer U, Borkhardt A, Gössling KL. In Utero Development and Immunosurveillance of B Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Curr Treat Options Oncol*. 2022;23(4):543–61.
105. Ismail S, Essawi M. Genetic polymorphism studies in humans. *Middle East Journal of Medical Genetics*. 2012;1(2):57–63.
106. Xu H, Yang W, Perez-Andreu V, Devidas M, Fan Y, Cheng C, et al. Novel susceptibility variants at 10p12.31-12.2 for childhood acute lymphoblastic leukemia in ethnically diverse populations. *J Natl Cancer Inst*. 2013;105(10):733–42.
107. Souza AM, Resende SS, Sousa TN, Brito CFA. A systematic scoping review of the genetic ancestry of the brazilian population. *Genet Mol Biol*. 2019;42(3):495–508.
108. Moura R, Coelho AVC, Queiroz-Balbino V, Crovella S, Brandão LAC. Meta-analysis of Brazilian genetic admixture and comparison with other Latin America countries. *American Journal of Human Biology*. 2015;27(5):674–80.
109. Carvalho DC, Wanderley A V., Amador MAT, Fernandes MR, Cavalcante GC, Pantoja KBCC, et al. Amerindian genetic ancestry and INDEL polymorphisms associated with susceptibility of childhood B-cell Leukemia in an admixed population from the Brazilian Amazon. *Leuk Res*. 2015;39(11):1239–45.
110. Alves FS, Xabregas LA, Kerr MWA, Souza GL, Pereira DS, Magalhães-Gama F, et al. Genetic polymorphisms of inflammasome genes associated with pediatric acute lymphoblastic leukemia and clinical prognosis in the Brazilian Amazon. *Sci Rep*. 2021;11(1):1–10.
111. Zhu H, Cao X. NLR members in inflammation-associated carcinogenesis. *Cell Mol Immunol*. 2017;14(5):403–5.
112. Saxena M, Yeretssian G. NOD-like receptors: Master regulators of inflammation and cancer. *Front Immunol*. 2014;5(JUL):1–16.
113. Wang H, Hua M, Wang S, Yu J, Chen C, Zhao X, et al. Genetic polymorphisms of IL-18 rs1946518 and IL-1 β rs16944 are associated with prognosis and survival of acute myeloid leukemia. *Inflammation Research*. 2017;66(3):249–58.
114. Thunberg U, Tobin G, Johnson A, S  derberg O, Padyukov L, Hultdin M, et al. Polymorphism in the P2X7 receptor gene and survival in chronic lymphocytic leukaemia. *Lancet*. 2002;360(9349):1935–9.

115. Zhang C, Han F, Yu J, Hu X, Hua M, Zhong C, et al. Investigation of NF- κ B-94ins/del ATTG and CARD8 (rs2043211) Gene Polymorphism in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10(August):1–9.
116. Zhang C, Han F, Yu J, Hu X, Hua M, Zhong C, et al. Investigation of NF- κ B-94ins/del ATTG and CARD8 (rs2043211) Gene Polymorphism in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10(August):1–9.
117. Yin C, He N, Li P, Zhang C, Yu J, Hua M, et al. Polymorphisms of Interlukin-1 β rs16944 confer susceptibility to myelodysplastic syndromes. *Life Sci*. 2016;165:109–12.
118. Wang H, Hua M, Wang S, Yu J, Chen C, Zhao X, et al. Genetic polymorphisms of IL-18 rs1946518 and IL-1 β rs16944 are associated with prognosis and survival of acute myeloid leukemia. *Inflammation Research*. 2017;66(3):249–58.
119. Yalçın S, Mutlu P, Çetin T, Sarper M, Özgür G, Avcu F. The -137G/C Polymorphism in Interleukin-18 Gene Promoter Contributes to Chronic Lymphocytic and Chronic Myelogenous Leukemia Risk in Turkish Patients. *Turkish Journal of Hematology*. 2015;32(4):311–6.
120. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *Ann Intern Med*. 2009;151(4):264–9.

Aneiros

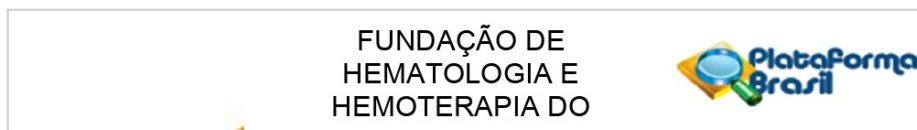
8. ANEXOS

8.1 Apoio financeiro

Este projeto foi desenvolvido com recursos provenientes de Projeto de Pesquisa intitulado “*Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico para o Século XXI na Área da Hematologia Básica e Clínica na Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM)*” aprovado no Âmbito do Programa de Apoio à Consolidação das Instituições Estaduais de Ensino e/ou Pesquisa (PRÓ-ESTADO), Resolução N° 002/2008, da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM).

A bolsa foi concedida pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) através do projeto Consolidação dos Programas de Pós-Graduação da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) através de mobilidade nacional sob o processo de nº401045/2019-6.

8.2 Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Biomarcadores celulares e moleculares envolvidos na resposta imunológica de pacientes com Leucemia Linfoblástica Aguda: Novas abordagens aplicadas ao diagnóstico, prognóstico e terapêutica

Pesquisador: Allyson Guimarães da Costa

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 51257921.2.0000.0009

Instituição Proponente: Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas - HEMOAM

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.982.395

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo observacional, do tipo longitudinal, retrospectivo e prospectivo para avaliação dos componentes celulares e moleculares envolvidos na resposta imunológica de pacientes com LLA, durante a terapia de indução da remissão e terapia de consolidação da remissão dos protocolos de tratamento. As amostras serão coletadas na Fundação HEMOAM, durante os procedimentos de rotina dos pacientes. As coletas ocorrerão em 4 momentos da quimioterapia de remissão, referidos como: diagnóstico (D0), dia 15 da terapia de indução da remissão (D15), final da terapia de indução da remissão (D35) e no dia 84 da terapia de consolidação da remissão (D84) dos protocolos de tratamento, sendo coletados 2 mL de MO e 3mL de SP em tubos com sistema a vácuo, contendo anticoagulante EDTA (Ethylenediaminetetraacetic) pela Equipe Médica da Fundação HEMOAM. Serão incluídas no estudo 158 amostras de DNA e plasma de pacientes com LLA criopreservadas e 203 amostras de DNA e plasma de doadores de sangue. A identificação de biomarcadores imunológicos como instrumento preditivo de prognóstico e resposta terapêutica fornecerá meios para identificar os pacientes que apresentarão uma boa resposta à quimioterapia ou a ausência dela, indicando neste último caso, a necessidade de intervenções terapêuticas alternativas ou mais assertivas de maneira antecipada, diminuindo a duração da exposição a terapias ineficazes e potencialmente tóxicas, o que proporcionará melhores resultados e maior qualidade de vida aos pacientes.

Endereço: Av. Constantino Nery, 4397, Bloco A, Sala do CEP-HEMOAM (sala 13)

Bairro: Chapada

CEP: 69.050-002

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)3655-0114

Fax: (92)3655-0112

E-mail: cep@hemoam.am.gov.br

FUNDAÇÃO DE
HEMATOLOGIA E
HEMOTERAPIA DO



Continuação do Parecer: 4.982.395

Instituição e Infraestrutura	utura_coparticipante_FIOCRUZ_Minas.pdf	09:05:04	da Costa	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	30/08/2021 08:57:08	Allyson Guimarães da Costa	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	30/08/2021 08:56:55	Allyson Guimarães da Costa	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

MANAUS, 17 de Setembro de 2021

Assinado por:

SONIA REJANE DE SENNA FRANTZ
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Constantino Nery, 4397, Bloco A, Sala do CEP-HEMOAM (sala 13)
Bairro: Chapada **CEP:** 69.050-002
UF: AM **Município:** MANAUS
Telefone: (92)3655-0114 **Fax:** (92)3655-0112 **E-mail:** cep@hemoam.am.gov.br

8.3 Artigos publicados da Tese

8.3.1 Publicação 01

Hindawi
Journal of Immunology Research
Volume 2023, Article ID 5584492, 15 pages
<https://doi.org/10.1155/2023/5584492>



Review Article

Insights Regarding the Role of Inflammasomes in Leukemia: What Do We Know?

Fabiola Silva Alves-Hanna ,^{1,2} Juniel Assis Crespo-Neto ,² Glenda Menezes Nogueira ,^{2,3} Daniele Sá Pereira ,^{2,3} Amanda Barros Lima ,^{1,2} Thaís Lohana Pereira Ribeiro ,^{2,3} Vitória Giovanna Rodrigues Santos ,² Joey Ramone Ferreira Fonseca ,² Fábio Magalhães-Gama ,^{2,4} Aya Sadahiro ,¹ and Allyson Guimarães Costa ,^{1,2,3,4,5}

¹Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil

²Diretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, AM, Brazil

³Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, AM, Brazil

⁴Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Instituto René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ-Minas), Belo Horizonte, MG, Brazil

⁵Escola de Enfermagem de Manaus, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil

Correspondence should be addressed to Allyson Guimarães Costa; allyson.gui.costa@gmail.com

Received 28 April 2023; Revised 2 July 2023; Accepted 10 July 2023; Published 4 August 2023

Academic Editor: Lele Zhu

Copyright © 2023 Fabiola Silva Alves-Hanna et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Inflammation is a physiological mechanism of the immune response and has an important role in maintaining the hematopoietic cell niche in the bone marrow. During this process, the participation of molecules produced by innate immunity cells in response to a variety of pathogen-associated molecular patterns and damage-associated molecular patterns is observed. However, chronic inflammation is intrinsically associated with leukemogenesis, as it induces DNA damage in hematopoietic stem cells and contributes to the creation of the preleukemic clone. Several factors influence the malignant transformation within the hematopoietic microenvironment, with inflammasomes having a crucial role in this process, in addition to acting in the regulation of hematopoiesis and its homeostasis. Inflammasomes are intracellular multimeric complexes responsible for the maturation and secretion of the proinflammatory cytokines interleukin-1 β and interleukin-18 and the cell death process via pyroptosis. Therefore, dysregulation of the activation of these complexes may be a factor in triggering several diseases, including leukemias, and this has been the subject of several studies in the area. In this review, we summarized the current knowledge on the relationship between inflammation and leukemogenesis, in particular, the role of inflammasomes in different types of leukemias, and we describe the potential therapeutic targets directed at inflammasomes in the leukemic context.

1. Introduction

Leukemias are a heterogeneous group of neoplasms with a broad clinical spectrum that is characterized by the impairment of a hematopoietic stem cell (HSC) and the blockage of differentiation at various stages of the maturation process, which are divided into acute myeloblastic leukemia (AML), chronic myeloblastic leukemia (CML), acute lymphoblastic

leukemia (ALL), and chronic lymphoblastic leukemia (CLL) [1]. The incidence rates for leukemias differ between subgroups. In chronic leukemias, there is a trend toward an increase in cases in adults; however, in ALL, pediatric patients are predominant (<15 years old), with a possible appearance after 50 years of age. On the other hand, the other subtypes (CLL, CML, and AML) occur more frequently in adults over 65 years of age [2].

Chronic inflammation has been described as a key factor in the development of leukemia and other hematologic malignancies since it limits the proliferation of normal HSCs and contributes to the growth of cells with mutations [3]. Thus, a number of studies state that several intrinsic and extrinsic factors influence the malignant transformation within the inflammatory microenvironment. Intrinsic factors mainly encompass genetic changes in cell signaling pathways that regulate inflammation (such as NF- κ B), while extrinsic factors include the inflammatory pathways activated by the bone marrow microenvironment and include chemokines, cytokines, and adhesion molecules [4].

In recent years, studies have highlighted the important role of inflammasomes in hematopoietic homeostasis via the regulation of processes of differentiation and senescence of HSCs [5]. Inflammasomes are intracellular multimeric complexes formed during the systemic immune response and inflammation, whose main functions are the secretion of cytokines interleukin-1 β (IL-1 β) and interleukin-18 (IL-18), in addition to the process of inducing cell death via pyroptosis via the activation of caspase-1. IL-1 β secretion is also responsible for stimulating other inflammatory cytokines, such as IL-1 α , tumor necrosis factor (TNF)- α , and IL-6, thus amplifying the inflammatory cascade [6].

Chronic exposure of HSCs to IL-1 β can lead to a deterioration of the hematopoietic niche, exhaustion of HSCs, and failures in regeneration [7]. In leukemias, there is an overproduction of IL-1 β cytokines and other inflammatory cytokines, such as TNF- α and IL-6 [8, 9], which may be associated with tumor progression. Currently, the role of inflammasomes is well understood in some solid tumors, such as colon cancer [10]; however, in leukemia, its role is still quite controversial. Because of this, we performed a literature review and summarized the main findings regarding inflammasomes in leukemias to serve as a basis for directing therapeutic targets based on inflammasome components and thus help patients with leukemia.

2. Inflammation as a Trigger for Leukemia

Inflammation is defined as a protective immune response to infection and tissue damage mediated by the proinflammatory action of effector cells, cytokines, and chemokines, which orchestrate a systemic and/or local response [11]. HSCs are known as key cells in systemic inflammatory responses that are capable of integrating inflammatory stimuli into cellular responses and establishing a demand-adapted axis between peripheral stress and hematopoietic response in the bone marrow [12]. Although it is important for the maintenance of the hematopoietic niche, inflammation can contribute to the emergence of mutations and confer selective advantages to certain clones due to prolonged exposure [13]. The selective pressure imposed by inflammation on the pool of HSCs can induce genetic mutations and select inflammation-adapted mutant clones that can potentially progress to a leukemic condition [4, 12].

Taking this into account, Greaves [14–16] describes that the exacerbated immune response to common pathogens in

early childhood may be responsible for inducing genetic alterations that could lead to the onset of leukemia. The so-called “hygienic hypothesis” is based on the direct relationship between the development of the immune system and exposure to infections in the pathogenesis of the disease, and this is demonstrated in Figure 1. Greaves [14–16] describes the model in two *hits*; the first *hit* is the acquisition of a prenatal genetic alteration (e.g., *ETV6::RUNX1* or hyperdiploid), which is a developmental error common that can give rise to a preleukemic cell. From the low stimulation of the immune system in early childhood or deficiency of “immune priming,” the infection by common pathogens would subsequently be responsible for triggering an exacerbated immune response and would culminate in the induction of secondary genetic alterations.

According to previous studies, we believe that sustained inflammation may play an important role in preventing immune surveillance of leukemic cells and promoting genomic instability [17]. Thus, the preleukemic clone [14–16] could cause alterations in the cytoskeleton, deregulate the expression of adhesion molecules and modify the cell migration by compromising the CXCL12/CXCR4 axis, thereby promoting its migration to extramedullary organs [12, 18].

During the intense immune response caused by an infection, for example, the proinflammatory cytokines IL-6, TNF- α , and IL-1 β cooperate with MSCs to create a favorable niche for preleukemic cells by which there is the secretion of CXCR2 ligands that attract preleukemic cells (e.g., *ETV6::RUNX1*+) activin (ACTA)-dependents [18, 19]. In addition, after infection or injury, the cytokine IL-1 β is produced in bone marrow and promotes myeloid differentiation through activation of the NF- κ B pathway that results in the expansion of hematopoietic stem and progenitor cells (HSPCs) [20]. However, chronic exposure to IL-1 β significantly impairs self-renewal and the ability to differentiate HSPCs [21] and causes cellular stress by inducing a state of chronic oxidative stress with elevated levels of reactive oxygen species (ROS) and, in a positive looping process, amplifies the inflammatory response through the activation of NLRP3 via recognition of damage-associated molecular patterns (DAMPs) (e.g., adenosine triphosphate (ATP) and HMGB1) [22], which creates a high-risk microenvironment for inducing genetic alterations in hematopoietic cells [23].

The action of the cytokine IL-1 β in the tumor microenvironment (TME) is mediated by the activation of inflammasome complexes. In general, in leukemias, IL-1 β has been associated with (i) increased proliferation of leukemic cells [24–28] and (ii) recruitment of myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) to the TME through the upregulation of the NF- κ B pathway, which promotes immunosuppression and favors the survival of the leukemic clone [29, 30]. MDSCs are responsible for the secretion of IL-10 and TGF- β , which contribute to the expansion of regulatory T lymphocytes (Tregs) in leukemias [31] and which may support the growth and survival of preleukemic cells through the release of cytokines, including TGF- β [32].

It is important to remember that leukemic cells can also secrete substances that contribute to clone survival. In a

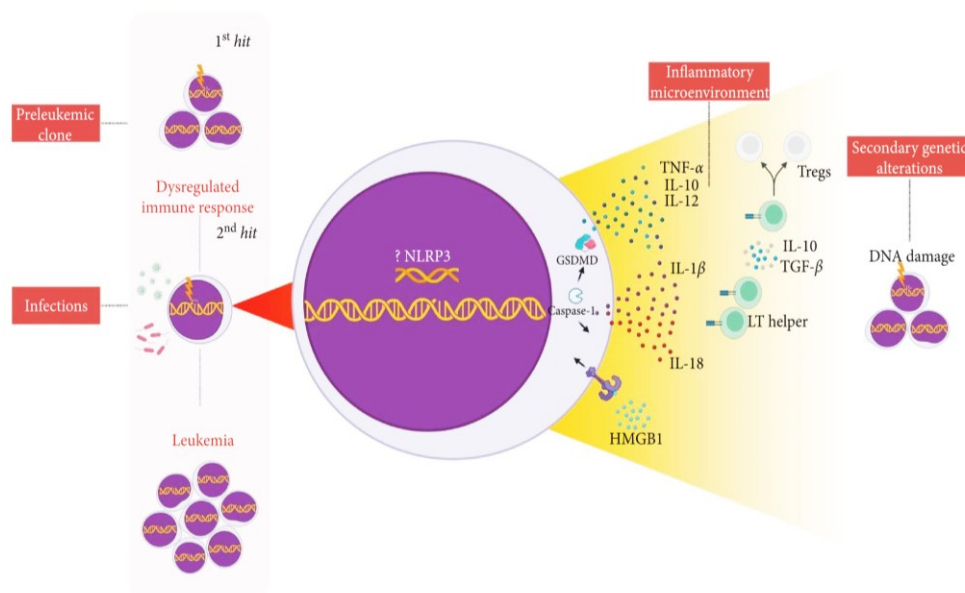


FIGURE 1: Inflammation-based model of leukemia development. A genetic alteration produced in the uterus would be responsible for the creation of a leukemic clone. After birth, due to the low stimulation of the immune system, a dysregulated immune response to common pathogens would occur, culminating in an exacerbated inflammatory response. Inflammasomes stand out as important mediators of inflammation in innate immunity through the recognition of PAMPs and DAMPs, which leads to the maturation and secretion of proinflammatory cytokines IL-1 β and IL-18, and through the cell death process via pyroptosis. The cytokine IL-1 β has pleiotropic functions in the tumor and can be secreted by both leukemic and stromal cells. It is responsible for the recruitment of myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) that secrete IL-10 and TGF- β and induce the differentiation of TCD4+ lymphocytes into Tregs, thus promoting immunosuppression. In addition, binding to the IL1R receptor promotes a positive loop of autocrine/paracrine secretion of this cytokine in leukemic cells and, through activation of the NF- κ B pathway, this leads to the transcription of other inflammatory mediators, such as TNF- α , IL-10, and IL-12, that are secreted into the TME. Together, these mechanisms are responsible for inducing mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and persistent DNA damage, which lead to the acquisition of secondary genetic alterations that contribute to the development of leukemia. Abbreviations: DAMPs, damage-associated molecular patterns; DNA, deoxyribonucleic acid; IL-10, interleukin-10; IL-12, interleukin-12; IL-18, interleukin-18; IL-1 β , interleukin-1 β ; PAMPs, pathogen-associated molecular pattern molecules (PAMPs); TCD4+, lymphocyte CD34+; TGF β , transforming growth factor β ; TME, tumor microenvironment; TNF- α , tumor necrosis factor- α ; Tregs, regulatory T cells; ?, Influence on the known.

mouse model of the preleukemic disorder, dysregulated MSCs were able to release DAMPs (S100A8/9) that induced mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and DNA damage in HSCs via paracrine activation of p53 and promoted malignant transformation [33]. In B-ALL, leukemic cells can produce and secrete inflammatory mediators, including TNF- α , IL-1 β , IL-10, and IL-12 [34].

3. Inflammasomes

Inflammasomes are oligomeric protein complexes that form in the cytosol after the detection of pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) and DAMPs. Although there are fundamental differences between stimulus-dependent inflammasomes, in general, they have the main function of recruiting the inactive zymogen procaspase-1, which after activation, will be responsible for the maturation and

secretion of the proinflammatory cytokines IL-1 β and IL-18, in addition to inducing the process of cell death via pyroptosis [35].

These complexes are formed by cytosolic sensors, an adapter component, and an effector component, such as caspase-1, -4, and -5 in humans and caspase-11 in murines. Sensor components, which inflammasomes are often named after, detect PAMPs and DAMPs and recruit adapters, which in turn recruit and activate caspases. The assembly of the inflammasome platform is a critical and well-organized process that involves several main parts, such as the sensors that recognize the activation signals and adapter molecules; the most common being the ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD) and the effector molecule caspase [36].

Canonical inflammasomes are formed upon activation of two families of sensor molecules: NOD-like receptors (NLRs)

and AIM2-like receptors. The human genome encodes 22 cytosolic proteins belonging to the NLR family, but only NLRP1, NLRP3, NLRP6, NLRP7, NLRP12, and the NAIP/NLRC4 complex can assemble their respective inflammasomes [37]. AIM2 (absent in Melanoma 2) and IFI16 (Interferon Gamma Inducible Protein 16) belong to the PYHIN family (PYD-like and HIN domain-containing proteins) [38–40].

The NLRs (except NLRP1) have a C-terminal domain that is rich in leucine repeats, which are responsible for recognizing a ligand, similar to the leucine-rich domain of Toll-like receptors (TLRs). In addition, they have a central nucleotide-binding domain (NACHT or NBD) that is responsible for the oligomerization of the receptor after activation, and a PYD effector domain in the N-terminal portion that triggers the effector function of the receptor by recruiting proteins to form signaling complexes [41].

NLRP1 (NLRs, pyrin-domain-containing proteins 1) is formed by an internal FIIND domain (function-to-find domain) and a CARD domain in the C-terminal region. NLRP1 is related to an inflammasome-forming PRR called CARD8 (caspase activation and recruitment domain-containing protein 8), which only has a predicted N-terminal~160-amino-acid-long unstructured region followed by a FIIND and a CARD. Both NLRP1 and CARD8 undergo autoproteolysis at the C-terminal end of their ZU5 domains, generating N- and C-terminal fragments that remain noncovalently associated [42]. NLRC4 (NLR family CARD domain-containing protein 4) has a CARD domain at the N-terminal [38, 43], while the AIM2 and IFI16 sensors have an N-terminal PYD effector domain and a C-terminal HIN200 (hematopoietic interferon-inducible nuclear antigen with 200 amino-acid repeats) domain, which are responsible for recognizing the ligand [44, 45].

The ASC adapter protein is constituted by the PYD and CARD domains and acts in the recruitment of procaspase-1 through homotypic interactions of the CARD–CARD domains. The interaction between the procaspases results in the formation of the complex that induces its activation by autoproteolysis [46–50]. Classically, canonical inflammasome activation is initiated by two types of signals and is regulated at the transcriptional and post-translational levels. “Signal 1” is the initiation signal and is associated with the activation of the TLR/NF- κ B pathway or mitochondria-derived ROS that activate the TLR4/MyD88 signaling pathway. “Signal 2” can be induced by various stimuli, including PAMPs, DAMPs, ATP, and uric acid crystals [5].

After the formation of the complex, oligomerization of procaspase-1 proteins induces their autoproteolytic cleavage into activated caspase-1. When activated, caspase-1 (p20/p10 subunits) cleaves the inactive precursor forms of pro-IL-1 β and pro-IL-18, leading to the maturation of the cytokines IL-1 β and IL-18. In addition, the activation of caspase-1 can also cause cell death via pyroptosis through the activation of the gasdermin-D protein that is deposited in the cell membrane. This process is characterized by cell swelling, loss of plasma membrane integrity, and the release of inflammatory mediators due to the formation of pores in the membrane [51, 52].

Although the final common pathway of canonical inflammasome activation involves the recruitment of caspase-1 in

response to multiple PAMPs and DAMPs, the noncanonical inflammasome signals independently of caspase-1. In the non-canonical pathway, the sensor directly recognizes the intracellular LPS of Gram-negative bacteria through the CARD domain of caspases-4 and -5 (in humans) and caspase-11 (in mice). However, there is still a lack of convincing evidence regarding the involvement of these caspases in the process of maturation and cleavage of pro-IL-1 β and pro-IL-18 cytokines, this being a specific function of caspase-1. Therefore, in this pathway, only gasdermin-D cleavage is observed, which is sufficient to promote cell lysis and activate the canonical inflammasome pathway [36]. In Figure 2, we show, in a summarized form, the inflammasome activation pathways.

4. The Role of Inflammasomes in the Regulation of Hematopoiesis

Hematopoietic cells are hierarchically organized by a pool of quiescent and pluripotent stem cells that are capable of self-renewal and generation of mature blood cells throughout life [53]. Studies indicate that the inflammasome is involved in different stages of hematopoiesis, and several types of its components have been shown to contribute to the maintenance and differentiation of HSPCs. Both up- and downregulation of inflammasome proteins can lead to physiological changes in homeostasis, suggesting that their activation may be necessary to carefully preserve hematopoiesis [5].

Master et al. [54] discovered that activation of the NLRP1 α inflammasome in murines induced a lethal systemic inflammatory process triggered by pyroptosis in HSPCs. Interestingly, this causes prolonged cytopenia, bone marrow hypoplasia, and immunosuppression during periods of hematopoietic stress induced by chemotherapy or lymphocytic choriomeningitis virus infection, demonstrating that NLRP1 acts as a cellular sentinel to alert caspase-1 to hematopoietic and infectious stress [54]. On the other hand, the NLRP1 α also plays a physiological role in HSPCs and leads to myeloid differentiation through the transcription factor GATA-1, and its deletion is responsible for the decrease in the myeloid lineage and the increase in the erythroid lineage [55]. These findings demonstrate a dual role of the NLRP1 inflammasome in the regulation of hematopoiesis and may be a potential target for the study of the development of hematologic malignancies and strategies for treating infection-induced cytopenias.

Under the effects of radiation, the activation of the AIM2 inflammasome is responsible for causing the death of HSPCs and medullary aplasia in mice. Hu et al. [56] observed that AIM2-deficient mice do not suffer from irradiation-induced hematopoietic failure, as AIM2 recognizes double-stranded DNA and mediates cell death in response to radiation-induced DNA damage. Furthermore, It has been proposed that inhibiting AIM2 inflammasome-mediated pyroptosis may be a strategy for preventing radiation-induced injuries as in radiotherapy [57]. In addition, exposure to low-dose ionizing radiation *in vitro* and *in vivo* is responsible for NLRP3 activation in THP-1 cells and the elevation of ROS levels [58].

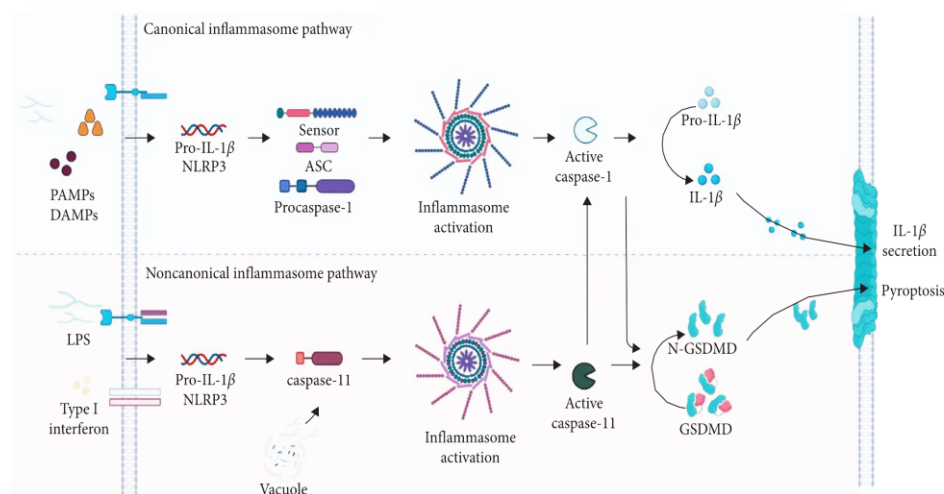


FIGURE 2: Overview of inflammasome activation pathways. After recognition of PAMPs or DAMPs by the sensors, oligomerization of the complex occurs, which induces the cleavage of procaspase-1 into activated caspase-1. (a) In the canonical pathway, activation requires priming by a Toll-like receptor (TLR) ligand (e.g., LPS)—mediated by MyD88 to induce the expression of pro-IL-1 β and NLRP3. Pro-IL-1 β is expressed constitutively in the cell. Caspase-1 activation cleaves the pro-IL-1 β inactive precursor forms, leading to the maturation and secretion to the extracellular environment. In addition, gasdermin-D cleavage also occurs, which is deposited in the cell membrane, leading to the formation of pores and causing cell death via pyroptosis. (b) In the noncanonical pathway, extracellular LPS induces the expression of pro-IL-1 β and NLRP3 via the TLR4-MyD88-dependent pathway and type I interferon via the TLR4-TRIF-dependent pathway. Type I interferon provides a feedback loop and activates IFNAR to induce caspase-11 expression. Cytosolic Gram-negative bacteria deliver LPS into the cytosol when they escape the vacuole. Caspase-11 is activated following its binding to cytosolic LPS, then drives pyroptosis and activation of the noncanonical NLRP3 inflammasome. Abbreviations: DAMPs, damage-associated molecular patterns; GSDMD, gasdermin-D; LPS, lipopolysaccharide; N-GSDMD, amino-terminal cell death domain; PAMPs, pathogen-associated molecular pattern molecules; TLR, Toll-like receptor; MyD88, myeloid differentiation primary response 88; IFNAR, type I interferon receptor.

Metabolic activity has been described as a critical factor regulating stem cell proliferation and differentiation. In addition, NLRP3 inflammasome-mediated IL-1 β signaling in macrophages drives HSPC production in response to metabolic activity in a zebrafish model [59]. Linz et al. [60] demonstrated the positive effects of inflammasomes in hematopoiesis. NLRP12 impacts hematopoietic recovery by suppressing TNF signaling *in vivo* during emergency hematopoiesis induced by the combination of radiation exposure and thermal injury. The upregulation of NLRP12 functionally abolishes TNF-induced HSPCs apoptosis; however, when the *NLRP12* gene is deleted, there is HSPC apoptosis as well as defective peripheral immune reconstitution. Thus, myelopoiesis and immune cell reconstitution are accelerated by the overexpression of NLRP12 [60]. We, therefore, hypothesize that NLRP12 may serve as a potential inducer of hematopoiesis in transplant models.

The combination of physiology and pathological changes commonly occurs in the hematopoietic system and ultimately forms the basis of various types of hematological malignancies [61]. These findings demonstrate an important role for the inflammasome in the regulation of hematopoiesis and point to the need for studies aimed at better clarifying these findings in different conditions, regardless of physiology or pathology. Thus, we believe that there is a network of

interactions that regulate inflammasome activity in order to maintain hematopoiesis, and an imbalance in this system is responsible for the development of hematological diseases.

5. The Role of Inflammasomes in Leukemias

5.1. Protumorigenic Effects. Although the role of the inflammasomes is well described for some types of cancer, such as colon cancer and melanoma, in leukemias, there are many knowledge gaps, and few studies describe the mechanisms of neoplastic promotion in the disease. In Figure 3, the pro- and anti-tumorigenic mechanisms that involve the components of the inflammasome in leukemias are shown. In ALL, overexpression of the NLRP3 and ASC genes is observed in diagnostic [62] and relapse samples [63]. In addition, it has been shown that, in glucocorticoid-resistant lymphoid leukemic cells, there is decreased methylation of the CASP1 promoter and NLRP3, which results in increased transcription, constitutive activation of NLRP3, and caspase-1-mediated glucocorticoid receptor cleavage [63], this being a possible mechanism of failure in the initial treatment.

Recently, a study demonstrated that mRNA expression of CASP1 is increased in AML cell lines and clinical samples, especially in relapsed AML patients. In addition, high CASP1

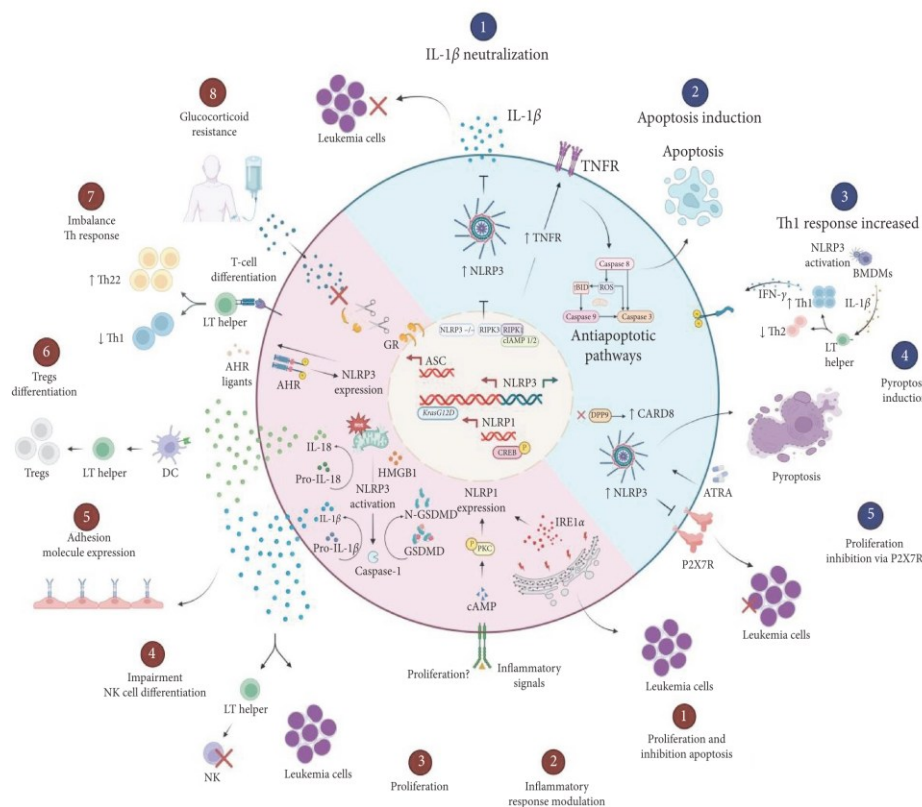


FIGURE 3: Inflammasome effects on tumor progression and inhibition in leukemias. *Antitumorigenic:* (1) the deletion of NLRP3 in leukemic cells can decrease the proliferation of blasts through the neutralization of the cytokine IL-1 β ; (2) the RIPK3 protein suppresses the proliferation of leukemic cells through the activation of NLRP3 and induces apoptosis via TNFR; (3) NLRP3 activation in BMDMs via IL-1 β secretion promotes the proliferation of IFN- γ -producing Th1 cells with anti-leukemic effects; (4) NLRP3 overexpression induced by ATRA treatment cause pyroptosis of leukemic cells; moreover, DPP9 inhibition enhances CARD8 activation also culminating in this cell death; and (5) NLRP3 overexpression negatively regulates the P2X7R receptor, inhibiting the proliferation of leukemic cells and inducing apoptosis. *Protumorigenic:* (1) IRE1 α protein increases NLRP1 expression in leukemic cells and contributes to proliferation and survival; (2) the PKC-CREB pathway regulates NLRP1 expression in leukemic cells and possibly contributes to proliferation; (3) the IL-1 β cytokine stimulates an increase in cell proliferation; and (4) prevents the differentiation of umbilical cord blood (UCB)-CD34 $^{+}$ into NK cells. In addition, it also (5) stimulates the expression of adhesion molecules to promote the recruitment of leukemic cells by epithelial cells; (6) DCs activated by the cytokine IL-18 promotes the differentiation of TCD4 $^{+}$ lymphocytes into Tregs; (7) NLRP3 collaborates with AHR for imbalance in Th1 profile response; (8) increased transcription of CASP1 and NLRP3 results in cleavage of glucocorticoid receptors. Abbreviations: $\downarrow$ = inhibition; $\uparrow$ = activation; AHR, aryl hydrocarbon receptor; ASC, apoptosis-associated speck-like protein; ATRA, all-*trans*-retinoic acid; BMDMs, bone-marrow-derived macrophage; cAMP, cyclic adenosine monophosphate; CREB, cAMP-response element-binding protein; DC, dendritic cell; DPP9, dipeptidyl peptidase 9; GR, glucocorticoid receptor; GSDMD, gasdermin-D; GSDMD-N, GSDMD amino-terminal cell death domain; IFN- γ , gamma interferon; IL-18, interleukin-18; IL-1 β , interleukin-1 β ; IRE1 α , endoplasmic reticulum stress sensor; LT, lymphocyte; NK, natural killer cell; NLRP1, NOD-like receptor protein 1; NLRP3, NOD-like receptor protein 3; P, phosphorylation P2X7R, purinergic P2X7 receptor; PKC, protein kinase C ROS, reactive oxygen species; tBID, proapoptotic protein; Th1, type 1 T helper (Th1); Th22, type 22 T helper (Th22); TNFR, tumor necrosis factor receptor; Tregs, regulatory T cells; ?, Influence on the known.

expression was associated with poor prognosis, and CASP1 inhibition could decrease AML blast proliferation [64]. These findings suggest that CASP1 may contribute to the development of ALL and AML and may be used as a biomarker to

predict prognosis and as a therapeutic target of acute leukemia patients.

Recently, chemotherapy-induced activation of NLRP3 in primary human B-ALL cells was demonstrated for the first

time. The doxorubicin treatment led to an increase in the transcription of NLRP3 and CASP1 in B-ALL cells and a consequent increase in the production of the cytokine IL-1 β when compared to the control. This indicates that the regulation of NLRP3 in leukemic cells has a similar function to that of monocytes [65].

Regarding IL-1 β , its role is still controversial in ALL, with a 40-fold increase in IL1B gene expression being observed in B-ALL blasts cultured with hematopoietic growth factors [34] and in MSCs from patients at diagnosis [66]; however, its low expression is associated with a lower overall survival (OS) rate and event-free survival (EFS), and it is considered a predictor of relapse [67]. The *IL1B* gene is highly polymorphic, and several single-nucleotide variations (SNV) have been associated with increased or decreased secretion of the cytokine IL-1 β [68], which is a possible cause for the difference in expression in populations due to ethnic/geographic variations.

Expression of the *NLRP1* gene is absent in CD34⁺ blast hematopoietic cells; however, during their differentiation, it is expressed in granulocytes. Studies demonstrate that *NALP1* levels are increased in bone marrow samples from some patients with acute leukemia but not in solid tumor samples [69]. Therefore, it has been claimed that the induction of NALP1 by a PKC activator (protein kinase C) or cAMP analogs is mediated by CREB (cAMP-response-element-binding protein), a transcription factor that regulates cellular response pathways, including proliferation, survival, and differentiation. When expression of a dominant negative form of CREB is used, reduced NLRP1 expression can be observed. Therefore, the regulation of *NLRP1* by the CREB pathway in myeloid cells may contribute to modulating the response of these cells to inflammatory stimuli and favor the survival of the leukemic clone [70].

In AML, it was demonstrated in a murine model that the presence of the *KrasG12D* mutation is responsible for the activation of NLRP3 through the production of ROS via the Kras-RAC pathway. Furthermore, the deletion of the *NLRP3* gene was responsible for the reduction of AML blast proliferation and the restoration of normal hematopoiesis [71]. HMGB1, an important DAMP that is released during the inflammatory process, seems to be directly involved in the activation of NLRP3, and it contributes to the progression of AML via the HMGB1/NLRP3/IL-1 β axis [25]. Furthermore, studies have demonstrated that IL-1 β secretion by AML blasts can impair the differentiation of umbilical cord blood (UCB)-CD34⁺ cells into precursors of natural killer (NK) cells in an *in vitro* coculture model [72] and stimulate the expression of adhesion molecules to promote recruitment by epithelial cells [73].

In samples from patients that were newly diagnosed with AML, an increase in the expression of NLRP3 was observed when compared to the controls and the patients in remission. NLRP3 was correlated with the increase in the expression of the aryl hydrocarbon receptor (AHR). The AHR is involved in the modulation of the immune system, specifically in the differentiation of helper T lymphocytes. In this study, an imbalance of T-helper lymphocyte subpopulations with an

increase in the Th22 profile and a decrease in Th1 in de novo AML patients was also observed, which leads us to think that NLRP3, together with AHR, may cooperate in the development of AML and influence the T lymphocyte differentiation [74].

In the plasma of patients that were newly diagnosed with AML, the cytokine IL-18 was found at elevated levels [26], and *IL18* and *ASC* gene expression returned to normal after patients achieved remission [74]. In an *in vivo* model, one study demonstrated that IL-18-derived dendritic cells were able to promote the differentiation of CD4⁺CD25⁺ Treg lymphocytes [75]. Concomitant to this, it is possible to hypothesize that IL-18 could facilitate the polarization of Tregs and, in TME, it could suppress the immune response and promote the development of AML.

In CML, in an *in vitro* model, *NLRP1* was expressed at high levels by K562 cells [70], and in patients with CML, it was associated with resistance to imatinib [76]. Furthermore, the IRE1 α protein, an endoplasmic reticulum stress sensor involved in AML progression, may increase NLRP1 expression in CML. In primary cells from patients with CML, an overexpression of IRE1 α and NLRP1 was observed that led to cell proliferation and inhibition of apoptosis. Moreover, inhibition of this pathway led to the sensitization of CML cells to imatinib-mediated apoptosis [76]. In CML, high levels of the cytokine IL-1 β are associated with a worse prognosis and shorter survival times [77], and in CLL, IL-1 β secretion can induce differentiation and activation of leukemic cells [78].

5.2. Antitumorigenic Effects. The antitumor activity of inflammasomes may vary depending on the cell type being activated and on the interactions with TME cells. In AML, NLRP3 knockout in leukemic cells *in vivo* was able to decrease blast proliferation in bone marrow, liver, and spleen by neutralizing the cytokine IL-1 β [26]. On the other hand, Liu et al. [79] demonstrated that the activation of NLRP3 in healthy bone marrow-derived macrophages (BMDMs) promoted the differentiation of TCD4⁺ lymphocytes in the Th1 profile through the secretion of IL-1 β and high levels of Th1 cells promoted apoptosis and inhibited the proliferation of leukemic cells via IFN- γ secretion *in vitro* and *in vivo* (Figure 3).

Together, these results show us that the regulation of NLRP3 inflammasome activity, especially with a focus on IL-1 β , may contribute to a new therapeutic approach in AML. In the AML TME, Th1 profile lymphocytes and IFN- γ production are downregulated. In this way, NLRP3-activated BMDMs promote the proliferation of IFN- γ -producing Th1 cells with anti-leukemic effects and may provide information that will serve as a basis for immunotherapy in AML.

In addition, receptor-interacting protein kinase 3 (RIPK3) can promote the differentiation of leukemia-initiating cells (LICs) through the activation of the inflammasome. RIPK3 suppresses myeloproliferative neoplasms by activating the inflammasome, thereby promoting differentiation. Furthermore, RIPK3 downstream of TNFR1 is responsible for inducing cell death. RIPK3 activation is regulated by the

ubiquitination status of RIPK1, which in turn is controlled by a cellular inhibitor of apoptosis proteins 1 and 2 (cIAP1/2). In newly diagnosed AML patients, RIPK3 expression is often reduced to prevent LICs from going into apoptosis [80]. Thus, these results indicate RIPK3 and the inflammasome as key tumor suppressors in AML.

The axis NLRP3/P2X7R seems to contribute to the apoptosis of CLL cells. The P2X7 purinergic receptor (P2X7R) is an ATP-gated ion channel that is widely expressed in HSCs and plays an important role in cancer promotion and immune system regulation. In hematopoiesis, lymphocyte growth and differentiation are modulated by P2X7R, which is overexpressed in CLL patients. In CLL, the silencing of the *NLRP3* gene is responsible for the increase in P2X7R expression and promotes cell growth; in contrast, overexpression of *NLRP3* induces apoptosis [81]. Therefore, the NLRP3 positive regulation seems to downregulate P2X7R, inhibit the proliferation of LLC cells, and induce apoptosis and, as such, is a promising therapeutic target for disease.

The role of pyroptosis in cancer is controversial, since it can be beneficial or harmful for anti-tumor immunity. Liu et al. [82] reported that upon incubation with CD19⁺ leukemic cells, CAR-T cells could increase the release of lactic dehydrogenase (LDH) and upregulate the expression of gasdermin-E (GSDME) and IL-1 β . This suggests that CAR-T cells can activate GSDME-mediated pyroptosis by releasing a large amount of perforin and GzmB and could trigger antitumor immunity [82]. However, since high expression of GSDME is observed in B-ALL cells, this could induce cytokine release syndrome and may impede the application of pyroptosis-related CAR-T therapy in leukemia patients.

In AML, studies have identified the CARD8 as a novel inflammasome sensor that triggers pyroptosis myeloid leukemia cells upon inhibition of dipeptidyl-peptidases (DPP) with Val-boroPro treatment [83]. In addition, recent studies have demonstrated that DPP9 (dipeptidyl-peptidase 9) constitutes the relevant DPP restraining CARD8-induced pyroptosis in resting human lymphocytes [84] and is not restricted to myeloid cells. These data suggest that AML cells might be sensitive to DPP8/9 inhibitors but also indicates more potential for toxicity in human resting lymphocytes. Furthermore, these results reveal exciting opportunities to modulate inflammasome activation for therapeutic benefit in leukemia patients.

Nin1 is an adhesion molecule with an essential role in the induction of the plasma rupture membrane, the subcellular event that precedes pyroptotic cell lysis [85]. This protein is overexpressed in cells of the B-ALL lineage, and it has been studied as a potential biomarker for monitoring minimal residual disease [86]. The failure of treatment in cases of leukemia is largely due to the development of drug resistance to apoptosis. Therefore, the introduction of nonapoptotic programmed cell death, such as pyroptosis, may be an effective way to challenge the resistance to apoptosis.

Recently, a study observed that CASP1 had lower expression in patients with acute promyelocytic leukemia (APL), mainly in relapsed patients. After all-*trans*-retinoic acid (ATRA)-treatment of APL cells, it was observed an increase

of CASP1 expression via IFN- γ /STAT1 pathway resulted in pyroptosis and differentiation of APL cells [87]. Thus, ATRA-induced activation of CASP1 could serve as a suppressor in APL progression. Interestingly, high levels of mRNA of expression CASP1 were found in the clinical remission patient group, and CASP1 and NLRP3 expression were associated with better OS and EFS, respectively [88]. This indicates CASP1 and NLRP3 as potential biomarkers for risk stratification in ALL.

In the absence of caspase-1, NLRP3 inflammasome uses caspase-8 as both a proapoptotic initiator and a major IL-1 β -converting protease [89]. In the presence of caspase-1, caspase-8 acts as a positive modulator of the NLRP3-dependent caspase-1 signaling cascades that drive both IL-1 β production and pyroptotic death. In ALL, effective cell death in B- and T-ALL cells depends on the presence of caspase-8 for most cytotoxic drugs routinely used in antileukemia treatment (e.g., methotrexate) [90]. Moreover, high levels of caspase-8 protein are observed during drug-induced apoptosis of CLL cells [91, 92]. Little is known about the role of caspase-8; however, these results indicate that caspase-8 is crucial for the high anti-leukemic efficiency of numerous routine cytotoxic drugs, and it can be a promising pathway for the development of new therapeutic targets in leukemia.

5.3. Polymorphisms. Recent investigations have identified some SNVs that cumulatively may provide a high risk for the development of ALL [93]. Due to their multifactorial etiology, it is important to investigate the association of polymorphisms in leukemias, especially in genes of inflammatory pathways, since they may serve as potential predictors for the development and prognosis of leukemias. Table 1 summarizes the main findings regarding polymorphisms in genes of the inflammasome complex in leukemias.

The *NLRP1* rs12150220 polymorphism causes increased *NLRP1* and IL-1 β processing and have been associated with protection against infectious comorbidities, such as cytomegalovirus, toxoplasmosis, rubella, varicella, and parasitic diseases, in pediatric patients with ALL [94]. *IL1B* is a crucial mediator of the inflammatory response, and its role in protection from bacterial infection has previously been summarized [102]. Since patients with acute leukemia have an increased risk of developing infections, both because of leukemia and because of its treatment, further studies are necessary to evaluate the role of *NLRP1* rs12150220 in order to be able to predict the risk of infections in ALL.

Interestingly, the *NLRP3* rs35829419 and rs4353135 polymorphisms are associated with the risk of AML [95] and ALL [96] in the Asian population. These variations cause increased production of IL-1 β and possibly contribute to chronic stress in the promotion of AML progression via an HMGB1/NLRP3/IL-1 β dependent mechanism [25]. In addition, the P2X7/NLRP3 pathway plays an essential role in amplifying inflammation via an ATP feedback loop, thus promoting the inflammatory response; however, the function of the P2X7 receptor is not fully understood, but it is involved in ATP-induced apoptotic death in hemopoietic and CLL cells [81]. Thunberg et al. [97] demonstrated an

TABLE 1: Functional effect of single-nucleotide variants (SNVs) on the genes of the inflammasome complex in leukemias.

Gene	Variation	rs	Effect	Key findings	Ref.
<i>NLRP1</i>	c.464 A>T p. L155H	rs12150220	Increased IL-1 β processing; increased <i>NLRP1</i> expression	Protection against infectious diseases in pediatric patients from the Brazilian Amazon with ALL	[94]
<i>NLRP3</i>	c.2113 C>A p. Q705K	rs35829419	Increased production of IL-1 β and IL-18	Risk of AML in the Asian population	[95]
	N/A	rs4353135		Risk of ALL in the Asian population	[96]
<i>P2X7</i>	A>C p. Glu496Ala	rs3751143	Loss of function	Longer event-free survival in patients from Sweden with CLL	[97]
<i>CARD8</i>	30T>A p. C10X	rs2043211	Increased <i>NLRP3</i> , <i>CASP1</i> and IL-1 β transcription	Risk of ALL in the Asian population and T-cell immunophenotype	[98]
<i>CASP8</i>	−652 6N ins/del −/CTTACT	rs3834129	Decreased production of Caspase-8	Risk of CML in the Asian population	[99]
				Risk of CML and AML in the Iraqi population	[100]
				Risk of developing ALL in children from the Brazilian Amazon	[94]
<i>IL1B</i>	c.−511 C>T	rs16944	Increased IL-1 β transcription	Increased transcription of <i>NLRP3</i> and ASC in ALL in the Asian population	[98]
				Favorable-risk cytogenetics group in AML	[95]
				Increased risk of ALL in Asian children	[96]
	c.−137 G>C	rs187238		Risk of CLL in the Turkish population	[101]
<i>IL18</i>	c.−607 C>A	rs1946518	Increased IL-18 transcription	Increased IL-18 secretion in ALL in an Asian population	[98]
				Risk of pediatric ALL in the Asian population	[96]

Abbreviations: p, protein change; c, changed allele; rs, reference sequence; ALL, acute lymphoblastic leukemia; AML, acute myeloid leukemia; CLL, chronic lymphoid leukemia; CML, chronic myeloid leukemia; Ref, references.

association between *P2X7* rs3751143 with longer event-free survival in CLL patients in Sweden. In this context, a loss of *P2X7* function caused by the polymorphism could be responsible for limiting CLL cell proliferation and contribute to survival. We believe that studies with a focus on the axis *NLRP3*/*P2X7*/*IL-1 β* could bring great discoveries about the role of the *P2X7* polymorphism in CLL *in vivo*.

The *CASP8* 6N del at position-652 in the promoter region of the *CASP8* gene is found to abolish the binding site for the transcriptional activator 1 (Sp1), thereby resulting in a decreased expression of the *CASP8* protein in lymphocytes. Abdullah et al. [100] demonstrated that the *CASP8*-652 6N insertion polymorphism is associated with an increased risk of both CML and AML in the Iraqi population. These findings suggest that *CASP8* 6N del polymorphism might be a useful marker for determining genetic susceptibility to CML and AML.

Some studies have reported that children with mixed ancestry have a higher risk of developing ALL due to the existence of *INDEL*-type polymorphisms, which is characteristic of South American natives [103]. In the Brazilian Amazon, which has predominantly South American ancestry, the *IL1B*-511 C>T rs16944 polymorphism was associated with the risk of children developing ALL. This variation causes an increased IL-1 β transcription and, consequently, an intense inflammasome activation. Furthermore, in ALL, it was associated with an increase in transcription of *NLRP3* and ASC [98] and with the risk of development of ALL in the Asian population [96]. On the other hand, this polymorphism can predict a favorable cytogenetic risk group in AML [95]. Since

IL-1 β is one of the main components of inflammasomes involved in pathogenesis in leukemias, the study of genetics can contribute to the discovery of new biomarkers that can predict clinical parameters in the disease.

Little is known about the role of the *IL18* gene in leukemia. Studies have demonstrated the link between the *IL18* rs187238 polymorphism and increased risk of CLL in the Turkish population [101], and the rs1946518 polymorphism is linked to a risk of pediatric ALL in the Asian population [96]. In addition, it was associated with increased IL-18 secretion in ALL in an Asian population [98]. *CARD8* rs2041132 is important for the regulation of inflammasome activity and was associated with the risk of development of ALL in the Asian population [98]. However, further investigations are necessary to understand the role of *CARD8* polymorphisms in ALL since it is rarely described in the literature.

Collectively, these findings indicate a potential role of the genetics of inflammasomes as predictors of the development of leukemia. However, since ethnicity has a direct influence on the incidence of leukemias [104], we believe that these findings should be validated in various populations with large sample sizes in order to better understand its role in leukemias.

6. Inflammasome as a Therapeutic Target in Leukemia

Inflammasomes and immune response pathways have opened up avenues for several exciting new drug targets for leukemia. As inflammasomes appear to play a role in leukemia

TABLE 2: Potential therapeutic targets directed to the inflammasome.

Therapeutic potential	Description	Target	Phase	Ref./NTC number
IL1RAP receptor inhibition	Despite progress, there is still a need to provide additional strategies for patients with refractory AML. This study aims to evaluate the effects of immunotherapy for refractory AML cells expressing IL1RAP using chimeric antigen receptor T cells	IL1RAP	Phase I	NCT04169022
IL-1 α receptor inhibition	This study aims to evaluate the effects of subcutaneous administration of an IL-1 β receptor antagonist on the clinical status of patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage	IL-1 α	Phase III	NCT03249207
BTK inhibitor	Anti-CD19 chimeric antigen receptor (CAR) T-cell has shown dramatic efficacy in B-cell malignancies, and Bruton tyrosine kinase (BTK) inhibitor agents have been validated as an effective drug to treat B-cell malignancies. Thus, combined therapies in patients with CLL after ibrutinib failure are considered feasible and safe	CD19 ⁺ cells	Phase III	NCT05020392
huCART19-IL18	Interleukin-18 secreting autologous anti-CD19 CAR T-cells (huCART19-IL18) target CD19 cells in NHL and CLL and produce IL-18. This approach can be used by both new and relapsed patients	CD19 ⁺ cells	Phase I	NCT04684563

Abbreviations: IL1RAP, interleukin 1 receptor accessory protein; AML, chronic myeloblastic leukemia; BTK, Bruton tyrosine kinase; IL-1 α , interleukin 1 receptor type I; CLL, chronic lymphocytic leukemia; CART-T, chimeric antigen receptor (CAR) T-cell.

originating from multiple genetic defects, promising outcomes are expected from its drug targets. Table 2 shows the recently discovered potential therapeutic agents for targeting the inflammasome pathway in leukemias.

Upregulation of the plasma membrane receptor IL1RAP in AML patients has been reported and can distinguish biological characteristics of leukemic clones from normal progenitors. In this context, IL1RAP blocking seems to be a good therapeutic approach in AML. In this way, the blocking of the IL1-IL1RAP signaling axis has been associated with the reduction of inflammation in the bone marrow niche and thereby promotes normal hematopoietic recovery from AML proliferation after chemotherapy [105]. Based on this, an immuno-therapy targeting IL1RAP in AML-relapsed patients has been tested using chimeric antigen receptor T-cells immunotherapy to validate this approach in the treatment of the disease (NCT04169022).

In addition, the intracellular IL-1 α is a chromatin-associated cytokine and can affect transcription through the activation of NF- κ B and specific protein 1 (SP1). Studies have demonstrated a spontaneous expression of IL-1 α in ALL blasts [106, 107]. The inhibition of IL-1 α has been studied in aneurysmal subarachnoid hemorrhage to reduce the inflammation process and can be an alternative target for the treatment of hematologic malignancies, especially leukemias (NCT03249207).

Bruton tyrosine kinase (BTK) regulates NLRP3 inflammasome activity via direct interaction with ASC and NLRP3. Ibrutinib, a BTK inhibitor, prevents the formation of ASC

specks and caspase-1 activation. It was observed that the antileukemia actions of ibrutinib demonstrated profound and immediate inhibition of CLL cell proliferation and promotion of high rates of CLL cell death [108]. In addition, combined therapies comprising ibrutinib and anti-CD19 CAR-T cells in patients with CLL after ibrutinib failure are considered feasible and safe and have already been studied (NCT05020392).

Recently, a phase I clinical trial was initiated to evaluate the best dose, possible benefits, and side effects of interleukin-18-secreting autologous anti-CD19 CAR T-Cells (huCART19-IL18) in treating patients with non-Hodgkin's lymphoma (NHL), CLL, and ALL. huCART19-IL18 targets CD19⁺ cells in NHL, CLL, and ALL and produces the cytokine IL-18. This new approach presents a potential treatment for new or relapsed patients. Finally, we believe that understanding the inflammasome pathway will be crucial for further identification of novel and improved therapeutic outcomes against leukemias.

7. Future Perspectives

In recent years, there has been an increase in studies involving inflammasomes in hematological malignancies, which have the intention of understanding the dual effects that these complexes exert on the physiological and malignant regulation of hematopoiesis and can thereby reveal potential clinical implications of the inflammasome. Here, we list some potential therapeutic options through the targeted

modulation/inhibition of specific inflammasomes that may help maintain/restore adequate hematopoietic homeostasis.

Hu et al. [56] demonstrated that mice that were deficient in the double-stranded DNA sensor AIM2 are protected from radiation, thus indicating that DNA damage caused by radiation mediates the AIM2 inflammasome activation and cell death. AIM2 mediates the caspase-1-dependent death in response to double-strand DNA breaks caused by ionizing radiation and chemotherapeutic agents. The results suggest that AIM2 may be a new therapeutic target for ionizing radiation exposure in the prevention of radiation-induced injuries, such as those that occur in radiotherapy, for example. In addition, DNA damage upregulated NLRP12 in HSCs of mice deficient in the *Fanca* DNA repair gene and contributed to improving HSC function in both mouse and human models of DNA repair deficiency and aging [60, 109]. Combined therapies using AIM2 and NLRP12 can contribute to the repopulation of HSCs and prevent cell death after radiation exposure and are a potential approach in transplant study models.

Using several preclinical tumor models, activation of CD8⁺ T cells in response to programmed cell death 1 (PD-1) in tumor tissues decreases the antitumor immune response. Genetic and pharmacological inhibition of NLRP3 suppressed PMN-MDSC tumor infiltration and significantly enhanced the efficacy of immunotherapy with anti-PD-1 antibodies. This pathway, therefore, represents an intrinsic tumor mechanism of adaptive resistance to anti-PD-1 checkpoint inhibitor immunotherapy for use in leukemia treatment [110, 111].

In addition, NLRP3 inflammasome signaling regulates the targeting, engraftment, and trafficking of HSPCs and may be useful in transplantation to improve homing of HSPCs [112, 113]. Furthermore, NLRP3 also plays a critical role in the initiation of graft versus host disease (GvHD) through the secretion of the proinflammatory cytokine IL-1 β . Studies have demonstrated that the decrease in NLRP3 expression was responsible for attenuating GvHD in a murine model, which resulted in increased graft survival [114, 115]. These findings highlight the possibility of targeting the NLRP3 inflammasome to minimize GvHD.

8. Conclusion

In this literature review, we summarized the current knowledge regarding genetic and molecular mechanisms of the inflammasome in leukemia development and proposed a novel view of possible contributions and mechanisms of the inflammasome in the disease. Finally, with several therapies targeting the inflammasome currently in clinical development, we hope this study can enhance our understanding of the complexity of the relationship between inflammation and leukemogenesis and will serve as a basis for promising studies in the onco-hematology field.

Data Availability

Data sharing is not applicable to this article, as no new data were created or analyzed in this study.

Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Acknowledgments

Financial support was provided in the form of grants from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) (Pró-Estado Program #002/2008, #007/2018 and #005/2019 and POSGRAD Program #005/2022 and #002/2023), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (PDPG-CONSOLIDACAO-3-4 Program #88887.707248/2022-00). FBAH and FMG have grants from CNPq (PhD students). DSP and ABL have grants from CAPES (Master's students). TLPR and GMN (Master's students) and JACN, JFRR, and VGRS (scientific initiation students) have grants from FAPEAM. AGC is a level 2 CNPq research fellow and FAPEAM research fellow (PRODOC Program #003/2022). The funders had no role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or manuscript preparation.

References

- [1] D. A. Arber, A. Orazi, R. P. Hasserjian et al., "International consensus classification of myeloid neoplasms and acute leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data," *Blood*, vol. 140, no. 11, pp. 1200–1228, 2022.
- [2] A. Miranda-Filho, M. Piñeros, J. Ferlay, I. Soerjomataram, A. Monnereau, and F. Bray, "Epidemiological patterns of leukaemia in 184 countries: a population-based study," *The Lancet Haematology*, vol. 5, no. 1, pp. E14–E24, 2018.
- [3] J. S. Chavez, J. L. Rabe, D. Loeffler et al., "PU.1 enforces quiescence and limits hematopoietic stem cell expansion during inflammatory stress," *Journal of Experimental Medicine*, vol. 218, no. 6, Article ID e20201169, 2021.
- [4] F. J. Giles, J. Krawczyk, M. O'Dwyer, R. Swords, and C. Freeman, "The role of inflammation in leukaemia," *Adv Exp Med Biol*, vol. 816, pp. 335–360, 2014.
- [5] L. Yang, M. Hu, Y. Lu, S. Han, and J. Wang, "Inflammasomes and the maintenance of hematopoietic homeostasis: new perspectives and opportunities," *Molecules*, vol. 26, no. 2, Article ID 309, 2021.
- [6] C. A. Dinarello, "A clinical perspective of IL-1 β as the gatekeeper of inflammation," *European Journal of Immunology*, vol. 41, no. 5, pp. 1203–1217, 2011.
- [7] C. A. Mitchell, E. V. Verovskaya, F. J. Calero-Nieto et al., "Stromal niche inflammation mediated by IL-1 signalling is a targetable driver of haematopoietic ageing," *Nature Cell Biology*, vol. 25, pp. 30–41, 2023.
- [8] B. M. Craver, K. El Alaoui, R. M. Scherber, and A. G. Fleischman, "The critical role of inflammation in the pathogenesis and progression of myeloid malignancies," *Cancers*, vol. 10, no. 4, Article ID 104, 2018.
- [9] F. Magalhães-Gama, M. W. A. Kerr, N. D. de Araújo et al., "Imbalance of chemokines and cytokines in the bone marrow microenvironment of children with B-Cell acute lymphoblastic leukemia," *Journal of Oncology*, vol. 2021, Article ID 5530650, 9 pages, 2021.

- [10] S. K. Shahbaz, K. Koushki, S. H. Ayati, A. R. Bland, E. E. Bezsonov, and A. Sahebkar, "Inflammasomes and colorectal cancer," *Cells*, vol. 10, no. 9, Article ID 2172, 2021.
- [11] K. A. Abbas, A. H. Lichtman, and S. Pillai, *Imunologia Celular e Molecular*, Elsevier, Rio de Janeiro, 2015.
- [12] F. Caiado, E. M. Pietras, and M. G. Manz, "Inflammation as a regulator of hematopoietic stem cell function in disease, aging, and clonal selection," *Journal of Experimental Medicine*, vol. 218, no. 7, Article ID e20201541, 2021.
- [13] N. P.-Y. Ho and H. Takizawa, "Inflammation regulates haematopoietic stem cells and their niche," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 23, no. 3, Article ID 1125, 2022.
- [14] M. F. Greaves, "Aetiology of acute leukaemia," *The Lancet*, vol. 349, no. 9048, pp. 344–349, 1997.
- [15] M. Greaves, "Infection, immune responses and the aetiology of childhood leukaemia," *Nature Reviews Cancer*, vol. 6, pp. 193–203, 2006.
- [16] M. Greaves, "A causal mechanism for childhood acute lymphoblastic leukaemia," *Nature Reviews Cancer*, vol. 18, pp. 471–484, 2018.
- [17] M. Z. Ratajczak, K. Bujko, M. Cymer et al., "The Nlrp3 inflammasome as a 'rising star' in studies of normal and malignant hematopoiesis," *Leukemia*, vol. 34, pp. 1512–1523, 2020.
- [18] E. Dander, C. Palmi, G. D'Amico, and G. Cazzaniga, "The bone marrow niche in B-cell acute lymphoblastic leukemia: the role of microenvironment from pre-leukemia to overt leukemia," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, no. 9, Article ID 4426, 2021.
- [19] C. Palmi, G. Fazio, A. M. Savino et al., "Cytoskeletal regulatory gene expression and migratory properties of B-cell progenitors are affected by the ETV6–RUNX1 rearrangement," *Molecular Cancer Research*, vol. 12, no. 12, pp. 1796–1806, 2014.
- [20] L. Arranz, M. del Mar Arriero, and A. Villatoro, "Interleukin-1 β as emerging therapeutic target in hematological malignancies and potentially in their complications," *Blood Reviews*, vol. 31, no. 5, pp. 306–317, 2017.
- [21] R. Bent, L. Moll, S. Grabbe, and M. Bros, "Interleukin-1 beta—a friend or foe in malignancies?" *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 19, no. 8, Article ID 2155, 2018.
- [22] X. He, J. Wan, X. Yang et al., "Bone marrow niche ATP levels determine leukemia-initiating cell activity via P2X7 in leukemic models," *Journal of Clinical Investigation*, vol. 131, no. 4, Article ID e140242, 2021.
- [23] H. C. Hasselbalch, "Chronic inflammation as a promotor of mutagenesis in essential thrombocythemia, polycythemia vera and myelofibrosis. A human inflammation model for cancer development?" *Leukemia Research*, vol. 37, no. 2, pp. 214–220, 2013.
- [24] M. Luciano, P. W. Krenn, and J. Horejs-Hoeck, "The cytokine network in acute myeloid leukemia," *Frontiers in Immunology*, vol. 13, Article ID 1000996, 2022.
- [25] N. Liu, Y. Wu, X. Wen, P. Li, F. Lu, and H. Shang, "Chronic stress promotes acute myeloid leukemia progression through HMGB1/NLRP3/IL-1 β signaling pathway," *Journal of Molecular Medicine*, vol. 99, pp. 403–414, 2021.
- [26] C. Zhong, R. Wang, M. Hua et al., "NLRP3 inflammasome promotes the progression of acute myeloid leukemia via IL-1 β pathway," *Frontiers in Immunology*, vol. 12, Article ID 661939, 2021.
- [27] D. M. Beaupre, M. Talpaz, F. C. Marini 3rd et al., "Autocrine interleukin-1 β production in leukemia: evidence for the involvement of mutated RAS," *Cancer Research*, vol. 15, no. 59, pp. 2971–2980, 1999.
- [28] Z. Estrov, R. Kurzrock, M. Wetzler et al., "Suppression of chronic myelogenous leukemia colony growth by interleukin-1 (IL-1) receptor antagonist and soluble IL-1 receptors: a novel application for inhibitors of IL-1 activity," *Blood*, vol. 78, no. 6, pp. 1476–1484, 1991.
- [29] N. Bizymi, S. Bjelica, A. O. Kittang et al., "Myeloid-derived suppressor cells in hematologic diseases: promising biomarkers and treatment targets," *HemaSphere*, vol. 3, no. 1, Article ID e168, 2019.
- [30] S. K. Bunt, V. K. Clements, E. M. Hanson, P. Sinha, and S. Ostrand-Rosenberg, "Inflammation enhances myeloid-derived suppressor cell cross-talk by signaling through toll-like receptor 4," *Journal of Leukocyte Biology*, vol. 85, no. 6, pp. 996–1004, 2009.
- [31] F. Magalhães-Gama, F. S. Alves-Hanna, N. D. Araújo et al., "The Yin-Yang of myeloid cells in the leukemic microenvironment: Immunological role and clinical implications," *Frontiers in Immunology*, vol. 13, Article ID 1071188, 2022.
- [32] S. Bürgler and D. Nadal, "Pediatric precursor B acute lymphoblastic leukemia: are T helper cells the missing link in the infectious etiology theory?" *Molecular and Cellular Pediatrics*, vol. 4, Article ID 6, 2017.
- [33] N. A. Zambetti, Z. Ping, S. Chen et al., "Mesenchymal inflammation drives genotoxic stress in hematopoietic stem cells and predicts disease evolution in human pre-leukemia," *Cell Stem Cell*, vol. 19, no. 5, pp. 613–627, 2016.
- [34] A. Vilchis-Ordoñez, A. Contreras-Quiroz, E. Vadillo et al., "Bone marrow cells in acute lymphoblastic leukemia create a proinflammatory microenvironment influencing normal hematopoietic differentiation fates," *BioMed Research International*, vol. 2015, Article ID 386165, 14 pages, 2015.
- [35] P. Broz and V. M. Dixit, "Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signalling," *Nature Reviews Immunology*, vol. 16, pp. 407–420, 2016.
- [36] D. Zheng, T. Liwinski, and E. Elinav, "Inflammasome activation and regulation: toward a better understanding of complex mechanisms," *Cell Discovery*, vol. 6, Article ID 36, 2020.
- [37] A. Lu and H. Wu, "Structural mechanisms of inflammasome assembly," *FEBS Journal*, vol. 282, no. 3, pp. 435–444, 2015.
- [38] C.-H. Yu, J. Moecking, M. Geyer, and S. L. Masters, "Mechanisms of NLRP1-mediated autoinflammatory disease in humans and mice," *Journal of Molecular Biology*, vol. 430, no. 2, pp. 142–152, 2018.
- [39] D. E. Place and T.-D. Kanneganti, "Recent advances in inflammasome biology," *Current Opinion in Immunology*, vol. 50, pp. 32–38, 2018.
- [40] C. de Torre-Minguela, P. M. del Castillo, and P. Pelegrín, "The NLRP3 and pyrin inflammasomes: implications in the pathophysiology of autoinflammatory diseases," *Frontiers in Immunology*, vol. 8, Article ID 43, 2017.
- [41] T. Jin, J. Curry, P. Smith, J. Jiang, and T. Sam Xiao, "Structure of the NLRP1 caspase recruitment domain suggests potential mechanisms for its association with procaspase-1," *Proteins*, vol. 81, no. 7, pp. 1266–1270, 2013.
- [42] C. Y. Taabazuing, A. R. Griswold, and D. A. Bachovchin, "The NLRP1 and CARD8 inflammasomes," *Immunological Reviews*, vol. 297, no. 1, pp. 13–25, 2020.

- [43] T. Strowig, J. Henao-Mejia, E. Elinav, and R. Flavell, "Inflammasomes in health and disease," *Nature*, vol. 481, pp. 278–286, 2012.
- [44] T. L. Roberts, A. Idris, J. A. Dunn et al., "HIN-200 proteins regulate caspase activation in response to foreign cytoplasmic DNA," *Science*, vol. 323, no. 5917, pp. 1057–1060, 2009.
- [45] T. Bückstümmer, C. Baumann, S. Blüml et al., "An orthogonal proteomic-genomic screen identifies AIM2 as a cytoplasmic DNA sensor for the inflammasome," *Nature Immunology*, vol. 10, pp. 266–272, 2009.
- [46] S. M. Srinivasula, J.-L. Poyet, M. Razmara, P. Datta, Z. J. Zhang, and E. S. Alnemri, "The PYRIN-CARD protein ASC is an activating adaptor for caspase-1," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 277, no. 24, pp. 21119–21122, 2002.
- [47] M. Proell, M. Gerlic, P. D. Mace, J. C. Reed, and S. J. Riedl, "The CARD plays a critical role in ASC foci formation and inflammasome signalling," *Biochemical Journal*, vol. 449, no. 3, pp. 613–621, 2013.
- [48] D. L. Gumucio, A. Diaz, P. Schaner et al., "Fire and ICE: the role of pyrin domain-containing proteins in inflammation and apoptosis," *Clinical and Experimental Rheumatology*, vol. 20, no. 4 Suppl 26, pp. 45–53, 2002.
- [49] E. Liepinsh, R. Barbals, E. Dahl, A. Sharipo, E. Staub, and G. Otting, "The death-domain fold of the ASC PYRIN domain, presenting a basis for PYRIN/PYRIN recognition," *Journal of Molecular Biology*, vol. 332, no. 5, pp. 1155–1163, 2003.
- [50] A. Lu, V. G. Magupalli, J. Ruan et al., "Unified polymerization mechanism for the assembly of ASC-dependent inflammasomes," *Cell*, vol. 156, no. 6, pp. 1193–1206, 2014.
- [51] X. Liu, Z. Zhang, J. Ruan et al., "Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores," *Nature*, vol. 535, pp. 153–158, 2016.
- [52] K. Labbé and M. Saleh, "Cell death in the host response to infection," *Cell Death & Differentiation*, vol. 15, pp. 1339–1349, 2008.
- [53] F. D. Giacomo, D. Fiore, P. W. Kyriakides, and G. Inghirami, "A Sanctuary for cancer cells: microenvironment in T-cell acute lymphoblastic leukemia survival and drug resistance," *Clinical and Diagnostic Pathology*, vol. 1, no. 2, pp. 1–6, 2017.
- [54] S. L. Masters, M. Gerlic, D. Metcalf et al., "NLRP1 inflammasome activation induces pyroptosis of hematopoietic progenitor cells," *Immunity*, vol. 37, no. 6, pp. 1009–1023, 2012.
- [55] S. D. Tyrkalska, A. B. Pérez-Oliva, L. Rodríguez-Ruiz et al., "Inflammasome regulates hematopoiesis through cleavage of the master erythroid transcription factor GATA1," *Immunity*, vol. 51, no. 1, pp. 50–63.e5, 2019.
- [56] B. Hu, C. Jin, H.-B. Li et al., "The DNA-sensing AIM2 inflammasome controls radiation-induced cell death and tissue injury," *Science*, vol. 354, no. 6313, pp. 765–768, 2016.
- [57] J. Gao, S. Peng, X. Shan et al., "Inhibition of AIM2 inflammasome-mediated pyroptosis by Andrographolide contributes to amelioration of radiation-induced lung inflammation and fibrosis," *Cell Death & Disease*, vol. 10, Article ID 957, 2019.
- [58] X. Li, Y. Gong, D. Li et al., "Low-dose radiation therapy promotes radiation pneumonitis by activating NLRP3 inflammasome," *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, vol. 107, no. 4, pp. 804–814, 2020.
- [59] J. M. Frame, C. Kubaczka, T. L. Long et al., "Metabolic regulation of inflammasome activity controls embryonic hematopoietic stem and progenitor cell production," *Developmental Cell*, vol. 55, no. 2, pp. 133–149.e6, 2020.
- [60] B. M. L. Linz, C. J. Neely, L. B. Kartchner et al., "Innate immune cell recovery is positively regulated by NLRP12 during emergency hematopoiesis," *Journal of Immunology*, vol. 198, no. 6, pp. 2426–2433, 2017.
- [61] D. Karan, "Inflammasomes: emerging central players in cancer immunology and immunotherapy," *Frontiers in Immunology*, vol. 9, Article ID 3028, 2018.
- [62] Z. Hu, M. Sporn, and J. Letterio, "Targeting NLRP3 inflammasome-induced therapy resistance in ALL," *Blood*, vol. 136, no. Supplement 1, Article ID 46, 2020.
- [63] S. W. Paugh, E. J. Bonten, D. Savic et al., "NALP3 inflammasome upregulation and CASP1 cleavage of the glucocorticoid receptor cause glucocorticoid resistance in leukemia cells," *Nature Genetics*, vol. 47, pp. 607–614, 2015.
- [64] J. Liu, M. Zhao, X. Feng, Y. Zeng, and D. Lin, "Expression and prognosis analyses of CASP1 in acute myeloid leukemia," *Aging (Albany NY)*, vol. 13, no. 10, pp. 14088–14108, 2021.
- [65] L. M. Toia, J. L. Mariano, M. W. Winter, and J. C. Shand, "Intrinsic activation of the NLRP3 inflammasome in primary human ALL cells is regulated by endogenous HMGB1 and bone marrow macrophages," *Blood*, vol. 130, no. Supplement 1, Article ID 2559, 2017.
- [66] I. N. Shipounova, N. Petinati, A. Bigildeev et al., "Mesenchymal stromal precursor cells from the bone marrow of acute myeloid and lymphoid leukemia patients: characteristics in newly diagnosed, before and after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation," *Blood*, vol. 124, no. 21, Article ID 4362, 2014.
- [67] S. Fitter, A. L. Bradey, C. H. Kok et al., "CKLF and IL1B transcript levels at diagnosis are predictive of relapse in children with pre-B-cell acute lymphoblastic leukaemia," *British Journal of Haematology*, vol. 193, no. 1, pp. 171–175, 2021.
- [68] S. K. Hall, D. G. Perregaux, C. A. Gabel et al., "Correlation of polymorphic variation in the promoter region of the interleukin-1 β gene with secretion of interleukin-1 β protein," *Arthritis & Rheumatism*, vol. 50, no. 6, pp. 1976–1983, 2004.
- [69] N. Andina, N. Bonadies, and R. Allam, "Inflammasome activation in myeloid malignancies—friend or foe?" *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, vol. 9, Article ID 825611, 2022.
- [70] C. Sanz, M. J. Calasanz, E. Andreu, C. Richard, F. Prosper, and J. L. Fernandez-Luna, "NALP1 is a transcriptional target for cAMP-response-element-binding protein (CREB) in myeloid leukaemia cells," *Biochemical Journal*, vol. 384, no. 2, pp. 281–286, 2004.
- [71] S. Hamarsheh, L. Osswald, B. S. Saller et al., "Oncogenic Kras^{G12D} causes myeloproliferation via NLRP3 inflammasome activation," *Nature Communications*, vol. 11, Article ID 1659, 2020.
- [72] C. Vitale, P. Ambrosini, E. Montaldo, F. Ballerini, L. Moretta, and M. C. Mingari, "IL-1 β -releasing human acute myeloid leukemia blasts modulate natural killer cell differentiation from cd34+ precursors," *Haematologica*, vol. 100, no. 2, pp. e42–e45, 2015.
- [73] A. Stucki, A.-S. Rivier, M. Gikic, N. Monai, M. Schapira, and O. Spertini, "Endothelial cell activation by myeloblasts: molecular mechanisms of leukostasis and leukemic cell dissemination," *Blood*, vol. 97, no. 7, pp. 2121–2129, 2001.
- [74] Y. Jia, C. Zhang, M. Hua, M. Wang, P. Chen, and D. Ma, "Aberrant NLRP3 inflammasome associated with aryl hydrocarbon receptor potentially contributes to the imbalance of T-helper cells in patients with acute myeloid leukemia," *Oncology Letters*, vol. 14, no. 6, pp. 7031–7044, 2017.

- [75] M. Oertli, M. Sundquist, I. Hitzler et al., "DC-derived IL-18 drives Treg differentiation, murine *Helicobacter pylori*-specific immune tolerance, and asthma protection," *Journal of Clinical Investigation*, vol. 122, no. 3, pp. 1082–1096, 2012.
- [76] Z. Xu, H. Wang, S. Wei, Z. Wang, and G. Ji, "Inhibition of ER stress-related IRE1 α /CREB/NLRP1 pathway promotes the apoptosis of human chronic myelogenous leukemia cell," *Molecular Immunology*, vol. 101, pp. 377–385, 2018.
- [77] M. Wetzler, R. Kurzrock, Z. Estrov et al., "Altered levels of interleukin-1 beta and interleukin-1 receptor antagonist in chronic myelogenous leukemia: clinical and prognostic correlates," *Blood*, vol. 84, no. 9, pp. 3142–3147, 1994.
- [78] H. Takeuchi and I. Katayama, "Interleukin 1 (IL-1 α and IL-1 β) induces differentiation/activation of B cell chronic lymphoid leukemia cells," *Cytokine*, vol. 6, no. 3, pp. 243–246, 1994.
- [79] Q. Liu, M. Hua, C. Zhang et al., "NLRP3-activated bone marrow dendritic cells play antileukemic roles via IL-1 β /Th1/IFN- γ in acute myeloid leukemia," *Cancer Letters*, vol. 520, pp. 109–120, 2021.
- [80] U. Höckendorf, M. Yabal, T. Herold et al., "RIPK3 restricts myeloid leukemogenesis by promoting cell death and differentiation of leukemia initiating cells," *Cancer Cell*, vol. 30, no. 1, pp. 75–91, 2016.
- [81] E. Salaro, A. Rambaldi, S. Falzoni et al., "Involvement of the P2X7-NLRP3 axis in leukemic cell proliferation and death," *Scientific Reports*, vol. 6, Article ID 26280, 2016.
- [82] Y. Liu, Y. Fang, X. Chen et al., "Gasdermin E-mediated target cell pyroptosis by CAR T cells triggers cytokine release syndrome," *Science Immunology*, vol. 5, no. 43, 2020.
- [83] D. C. Johnson, M. C. Okondo, E. L. Orth et al., "DPP8/9 inhibitors activate the CARD8 inflammasome in resting lymphocytes," *Cell Death & Disease*, vol. 11, Article ID 628, 2020.
- [84] A. Linder, S. Bauernfried, Y. Cheng et al., "CARD8 inflammasome activation triggers pyroptosis in human T cells," *The EMBO Journal*, vol. 39, no. 19, Article ID e105071, 2020.
- [85] N. Kayagaki, O. S. Kornfeld, B. L. Lee et al., "NINJ1 mediates plasma membrane rupture during lytic cell death," *Nature*, vol. 591, pp. 131–136, 2021.
- [86] J.-S. Chen, E. Coustan-Smith, T. Suzuki et al., "Identification of novel markers for monitoring minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia," *Blood*, vol. 97, no. 7, pp. 2115–2120, 2001.
- [87] X. Yu, X. Liu, X. Liu et al., "Overexpression of CASP1 triggers acute promyelocytic leukemia cell pyroptosis and differentiation," *European Journal of Pharmacology*, vol. 945, Article ID 175614, 2023.
- [88] J. Singh, S. Kumari, M. Arora et al., "Prognostic relevance of expression of EMP1, CASP1, and NLRP3 genes in pediatric B-lineage acute lymphoblastic leukemia," *Frontiers in Oncology*, vol. 11, Article ID 606370, 2021.
- [89] C. Antonopoulos, H. M. Russo, C. E. Sanadi et al., "Caspase-8 as an effector and regulator of NLRP3 inflammasome signaling," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 290, no. 33, pp. 20167–20184, 2015.
- [90] H. Ehrhardt, F. Wachter, M. Maurer, K. Stahnke, and I. Jeremias, "Important role of caspase-8 for chemosensitivity of ALL cells," *Clinical Cancer Research*, vol. 17, no. 24, pp. 7605–7613, 2011.
- [91] D. King, J. H. Pringle, M. Hutchinson, and G. M. Cohen, "Processing/activation of caspases, -3 and -7 and -8 but not caspase-2, in the induction of apoptosis in B-chronic lymphocytic leukemia cells," *Leukemia*, vol. 12, pp. 1553–1560, 1998.
- [92] M. Podhorecka and A. Dmoszynska, "The assessment of caspase activation during apoptosis of malignant cells in B-cell chronic lymphocytic leukaemia," *Central European Journal of Immunology*, vol. 31, no. 3–4, pp. 84–86, 2006.
- [93] N. Rüchel, V. H. Jepsen, D. Hein, U. Fischer, A. Borkhardt, and K. L. Gössling, "In utero development and immunosurveillance of B cell acute lymphoblastic leukemia," *Current Treatment Options in Oncology*, vol. 23, pp. 543–561, 2022.
- [94] F. S. Alves, L. A. Xabregas, M. W. A. Kerr et al., "Genetic polymorphisms of inflammasome genes associated with pediatric acute lymphoblastic leukemia and clinical prognosis in the Brazilian Amazon," *Scientific Reports*, vol. 11, Article ID 9869, 2021.
- [95] H. Wang, M. Hua, S. Wang et al., "Genetic polymorphisms of IL-18 rs1946518 and IL-1 β rs16944 are associated with prognosis and survival of acute myeloid leukemia," *Inflammation Research*, vol. 66, pp. 249–258, 2017.
- [96] H. Ji, F. Li, L. Song et al., "Inflammation-related gene polymorphisms associated with childhood acute lymphoblastic leukemia," *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, vol. 45, no. 1, pp. e9–e13, 2023.
- [97] U. Thunberg, G. Tobin, A. Johnson et al., "Polymorphism in the P2X7 receptor gene and survival in chronic lymphocytic leukaemia," *The Lancet*, vol. 360, no. 9349, pp. 1935–1939, 2002.
- [98] C. Zhang, F. Han, J. Yu et al., "Investigation of NF- κ B-94ins/del ATTG and CARD8 (rs2043211) gene polymorphism in acute lymphoblastic leukemia," *Frontiers in Endocrinology*, vol. 10, Article ID 501, 2019.
- [99] A. A. Ogaili, S. Vishnupriya, A. W. Majeed, E. M. Prajitha, and P. Mohandas, "Role of caspase 8 6N deletion/insertion in chronic myeloid leukemia," *Helix*, vol. 1, pp. 478–482, 2014.
- [100] D. Abdullah and R. M. Aloubaidy, "Genetic polymorphism of caspase 8 and 9 in Iraq," *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*, vol. 53, no. 3, pp. 505–514, 2022.
- [101] S. Yalçın, P. Mutlu, T. Çetin, M. Sarper, G. Özgür, and F. Avcu, "The -137G/C polymorphism in interleukin-18 gene promoter contributes to chronic lymphocytic and chronic myelogenous leukemia risk in Turkish patients," *Turkish Journal of Hematology*, vol. 32, no. 4, pp. 311–316, 2015.
- [102] M. Sahoo, I. Ceballos-Olvera, L. del Barrio, and F. Re, "Role of the inflammasome, IL-1B, and IL-18 in bacterial infections," *The Scientific World Journal*, vol. 11, Article ID 212680, 14 pages, 2011.
- [103] D. C. Carvalho, A. V. Wanderley, M. A. T. Amador et al., "Amerindian genetic ancestry and INDEL polymorphisms associated with susceptibility of childhood B-cell leukemia in an admixed population from the Brazilian Amazon," *Leukemia Research*, vol. 39, no. 11, pp. 1239–1245, 2015.
- [104] M. H. Shirley, S. Sayeed, I. Barnes, A. Finlayson, and R. Ali, "Incidence of haematological malignancies by ethnic group in England, 2001–7," *British Journal of Haematology*, vol. 163, no. 4, pp. 465–477, 2013.
- [105] B. de Boer, S. Sheveleva, K. Apelt et al., "The IL1-IL1RAP axis plays an important role in the inflammatory leukemic niche that favors acute myeloid leukemia proliferation over normal hematopoiesis," *Haematologica*, vol. 106, no. 12, pp. 3067–3078, 2021.
- [106] Y. Zhang, X. Yu, D. Lin et al., "ProPiece IL-1 α facilitates the growth of acute T-lymphocytic leukemia cells through the

- activation of NF- κ B and SP1," *Oncotarget*, vol. 8, pp. 15677–15688, 2017.
- [107] F. Cozzolino, A. Rubartelli, D. Aldinucci et al., "Interleukin 1 as an autocrine growth factor for acute myeloid leukemia cells," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 86, no. 7, pp. 2369–2373, 1989.
- [108] J. A. Burger, K. W. Li, M. J. Keating et al., "Leukemia cell proliferation and death in chronic lymphocytic leukemia patients on therapy with the BTK inhibitor ibrutinib," *JCI Insight*, vol. 2, no. 2, Article ID e89904, 2017.
- [109] Q. Lin, L. Wu, Z. Ma, F. A. Chowdhury, H. H. Mazumder, and W. Du, "Persistent DNA damage-induced NLRP12 improves hematopoietic stem cell function," *JCI Insight*, vol. 5, no. 10, Article ID e133365, 2020.
- [110] B. Theivanthiran, K. S. Evans, N. C. DeVito et al., "A tumor-intrinsic PD-L1/NLRP3 inflammasome signaling pathway drives resistance to anti-PD-1 immunotherapy," *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 130, no. 5, pp. 2570–2586, 2020.
- [111] C. Li, J. Qiu, and Y. Xue, "Low-dose Diosbulbin-B (DB) activates tumor-intrinsic PD-L1/NLRP3 signaling pathway mediated pyroptotic cell death to increase cisplatin-sensitivity in gastric cancer (GC)," *Cell & Bioscience*, vol. 11, Article ID 38, 2021.
- [112] M. Adamiak, A. Abdel-Latif, K. Bujko et al., "Nlrp3 inflammasome signaling regulates the homing and engraftment of hematopoietic stem cells (HSPCs) by enhancing incorporation of CXCR4 receptor into membrane lipid rafts," *Stem Cell Reviews and Reports*, vol. 16, pp. 954–967, 2020.
- [113] M. Adamiak, A. M. Lenkiewicz, M. Cymer, M. Kucia, J. Ratajczak, and M. Z. Ratajczak, "Novel evidence that an alternative complement cascade pathway is involved in optimal mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells in Nlrp3 inflammasome-dependent manner," *Leukemia*, vol. 33, pp. 2967–2970, 2019.
- [114] D. Jankovic, J. Ganesan, M. Bscheider et al., "The Nlrp3 inflammasome regulates acute graft-versus-host disease," *Journal of Experimental Medicine*, vol. 210, no. 10, pp. 1899–1910, 2013.
- [115] K. Wilhelm, J. Ganesan, T. Müller et al., "Graft-versus-host disease is enhanced by extracellular ATP activating P2X₇R," *Nature Medicine*, vol. 16, pp. 1434–1438, 2010.

8.3.2 Publicação 02

CANCER BIOLOGY & THERAPY
2024, VOL. 25, NO. 1, 2382503
<https://doi.org/10.1080/15384047.2024.2382503>



REVIEW

OPEN ACCESS

Association between the *IL1B-511 C>T* polymorphism and the risk of hematologic malignancies: data from a meta-analysis

Fabiola Silva Alves-Hanna^{a,b}, Felipe Rodolfo Pereira Silva^{b,c}, Daniele Sá Pereira^{a,b,d},
Alessandro Luiz Araújo Bentes Leal^e, Fábio Magalhães-Gama^f, and Allyson Guimarães Costa^{a,b,d,g}

^aDiretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, Brazil; ^bPrograma de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Brazil; ^cFaculdade de Medicina, Universidade Federal do Pará (UFPA), Altamira, Brazil; ^dPrograma de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, Brazil; ^ePrograma de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPar), Parnaíba, Brazil; ^fPrograma de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Instituto René Rachou – Fundação, Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) Minas, Belo Horizonte, Brazil; ^gEscola de Enfermagem de Manaus, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Brazil

ABSTRACT

The relationship between the *IL1B-511C>T* (rs16944) polymorphism and the risk of developing hematologic malignancies remains controversial. Thus, we performed a meta-analysis to evaluate the association between *IL1B-511C>T* polymorphism and the risk of developing hematologic malignancies. A comprehensive search was conducted to identify all eligible studies on *IL1B-511C>T* polymorphism and hematologic malignancies. Twelve case-control studies, with 2,896 cases and 3,716 controls, were selected for the analysis. The overall data failed to indicate a significant association between *IL1B-511C>T* polymorphism and the risk of hematologic malignancies (OR:1.06, 95% Confidence Interval [CI]: 0.93–1.22). Moreover, non-significant associations were observed in a stratified analysis according to neoplasm type (multiple myeloma, Hodgkin's lymphoma, and non-Hodgkin's lymphoma), ethnicity (European and Asian), and Hardy-Weinberg equilibrium. In summary, our results suggest that there is no association between the *IL1B-511C>T* polymorphism and the risk of hematologic malignancies. As such, further large-scale studies are needed to confirm our findings.

ARTICLE HISTORY

Received 15 March 2023
Revised 25 April 2024
Accepted 16 July 2024

KEYWORDS

Interleukin-1; genetic variations; polymorphism; hematologic malignancies; meta-analysis

Introduction

Hematologic malignancies are a group of malignant diseases that are derived from myeloid and lymphoid hematopoietic lineages¹ and account for approximately 9% of all cancers. It is also the fourth most frequently diagnosed cancer in both men and women in developed countries.² According to the World Health Organization (WHO), lymphoid neoplasms are grouped into lymphatic precursor neoplasms; mature B-, T-, and NK-cell neoplasms; and lymphomas. Myeloid neoplasms are subdivided into multiple myeloma (MM) and myelodysplastic syndromes (MDS). Leukemias are classified as either acute or chronic based on the rapidity of proliferation and as myelocytic or lymphocytic based on the cell of origin.^{3,4} Overall, each leukemia subtypes presents different clinical conditions and each has a specific treatment protocol.

It is well established that chronic inflammation drives tumor progression in multiple types of cancer.⁵ Increased basal inflammatory status seems to promote mutagenesis through the induction of chronic oxidative stress and subsequent DNA oxidative damage, and elicits epigenetic changes that further promote inflammation.⁶ In addition, a common feature of many hematologic malignancies is the overproduction of proinflammatory cytokines. Although several cytokines are overexpressed in hematological malignancies,

overproduction of tumor necrosis factor-alpha (TNF-α), interleukin 6 (IL-6), and interleukin 1 (IL-1) is most commonly observed in patients, suggesting that these cytokines play a role in the development and/or manifestation of hematologic malignancies.^{7–9}

Evidence supporting a pro-tumorigenic role of IL-1b in all cancer types has been described recently.¹⁰ IL-1β plays a pleiotropic role in cancer by modulating gene expression and cytokine production and regulating cellular adhesion and migration, angiogenesis, cancer cell proliferation, and metastasis.¹⁰ While acute IL-1β exposure contributes to hematopoietic stem cell (HSC) regeneration after myeloablation and transplantation,¹¹ chronic exposure after infection or injury promotes uncontrolled HSC division and eventual exhaustion of the HSC pool.^{6,12}

IL-1β is a key mediator of carcinogenesis via the promotion of chronic inflammation, and genetic variations with gain function in this gene have been extensively studied in recent years with regards to cancer.¹³ The Interleukin 1 Beta (*IL1B*) gene is highly polymorphic, and base transitions between C and T at positions -511 (C>T; dbSNP: rs16944) have been associated with increased IL-1β secretion.^{14,15} Numerous epidemiological studies have investigated the association between

CONTACT Allyson Guimarães Costa allyson.gui.costa@gmail.com Diretoria de Ensino E Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia E Hemoterapia Do Amazonas (HEMOAM), Av. Constantino Nery 4397, Chapada, Manaus CEP 69050-001, Brazil

Supplemental data for this article can be accessed online at <https://doi.org/10.1080/15384047.2024.2382503>

© 2024 The Author(s). Published with license by Taylor & Francis Group, LLC.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. The terms on which this article has been published allow the posting of the Accepted Manuscript in a repository by the author(s) or with their consent.

IL1B-511 C>T in many types of cancer;^{16,17} however, in hematologic malignancies, the results remain unclear and many are inconclusive due to inconsistent findings in individual studies. Therefore, this study performed a meta-analysis to provide accurate data on the association between genetic variation and the risk of hematologic malignancies.

Results

Baseline study characteristics

After careful evaluation of the literature based on the search strategy and eligibility criteria, we identified 11 studies that were included in this meta-analysis. As shown in the flow chart depicting the process of selection of studies (Figure 1), one study was excluded because it did not describe genotype frequency.¹⁸ One study had information on Hodgkin lymphoma (HL) and non-Hodgkin lymphoma (NHL), and for this reason, it was duplicated. Therefore, for statistical analysis, we used 12 studies.

The studies enrolled 2,892 patients diagnosed with a specific hematologic malignancy and compared them with 3,716 cancer-free controls. All studies had a case-control design, were published between 2007 and 2021, and targeted one or more of the following hematologic malignancies: (1) ALL, (1) AML, (1) CLL, (1) CML, (2) HL, (2) NHL, (1) MDS, (2) MM and/or (1) Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasm (MPN).

The detailed characteristics of the data gathered from the 12 case-control studies are summarized in Table 1. Eleven studies were in accordance with the Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE). However, one was outside the HWE. Six studies

involved the Asian population, four involved the European population, one involved the Caucasian population, and one involved the mixed population of Brazil. Most of the studies included adult patients in the case group (91%).

Quality assessment results

The evaluation of the methodological aspects with regard to quality showed that one study had a low score (9 points), nine studies reached a score between 10 and 11 points, and two studies reached a score of 14 points, as shown in Table 1.

Meta-analysis of the *IL1B-511 C>T* polymorphism and its relationship with hematologic malignancies

Table 2 shows the overall and stratified analyses of this polymorphism according to the type of neoplasm (MM, HL, and NHL), ethnicity (European and Asian), and HWE in allelic and genotypic evaluations. The results of the pooled studies showed that there were no significant associations between the *IL1B-511 C>T* polymorphism and the risk of hematologic malignancies (OR:1.06; 95% Confidence Interval (CI):0.93–1.22; $p = .37$) (Figure 2). Likewise, non-significant associations were found in the stratified analysis by *i*) type of neoplasm: MM (OR: 1.28, 95% CI: 0.81–2.02, $p = .29$), HL (OR: 1.02, 95% CI: 0.84–1.24, $p = .85$) and NHL (OR: 1.00, 95% CI: 0.63–1.61, $p = .98$), *ii*) ethnicity: European (OR: 0.86, 95% CI: 0.57–1.30, $p = .48$) and Asian (OR: 1.09, 95% CI: 0.99–1.20, $p = .09$) and *iii*) HWE (OR: 1.05, 95% CI: 0.91–1.20, $p = .54$). In this study, we used the random-effects statistical

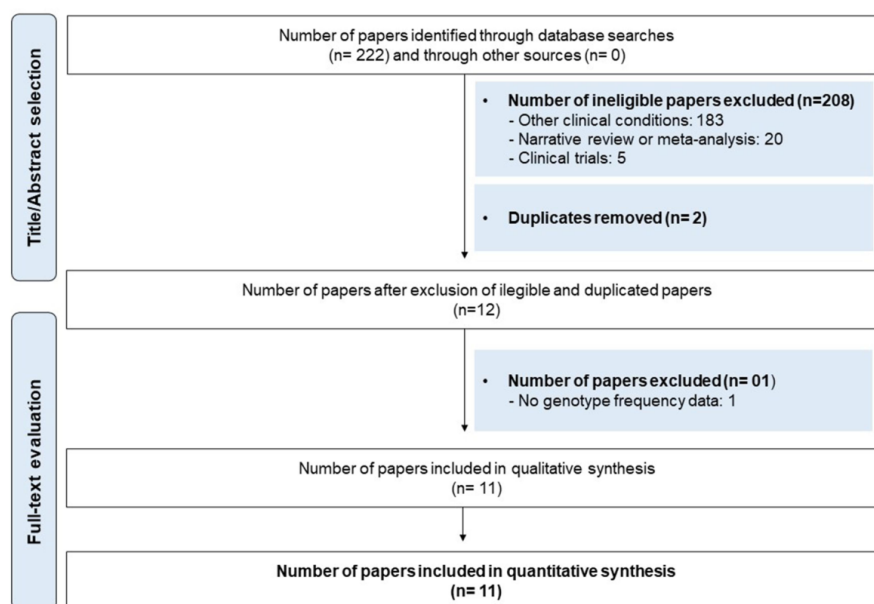


Figure 1. Flowchart for identification, screening and selection of the studies.

Table 1. Characteristics of studies included in the quantitative synthesis (meta-analysis).

First Author and Reference	Year	Disease Type	Ethnicity	Country	Study Design	Age (male/female)	Subject Type	Sample Size (case/control)	HWE	Score
Abazis-Stambulieh ¹⁹	2007	MM	European	Greece	C/Cc	65 (42–80)/65.7 (40–85)	C-heathy	74/160	Yes	10
Alves ²⁰	2021	ALL	Mixed	Brazil	C/Cc	12 (14–17)/38 (26–52)	C-healthy/relapse	158/192	Yes	11
Ennas ²¹	2008	CLL	European	Italy	C/Cc	57.9 ± 12.5/56.5 ± 13.2	C-healthy	40/112	Yes	10
Hoefl ²²	2008	NHL	European	Germany	C/Cc	56.1 (Nos)	C-healthy	640/658	Yes	14
Hoefl ²²	2008	HL	European	Germany	C/Cc	56.1 (Nos)	C-Healthy	105/658	Yes	14
Sarani ²³	2021	NHL	Caucasian	Iran	C/Cc	20–90/21–75	C-healthy	151/165	No	9
Wang ²⁴	2017	AML	Asian	China	C/Cc	48 (16–89)	C-healthy/CCRS (cytogenetics risk stratification)/refractory/age/gender/bone marrow blast	383/300	Yes	10
Yin ²⁵	2016	MDS	Asian	China	C/Cc	56 (16–95)/42 (17–85)	C-healthy/Age/gender/hemogram change	160/96	Yes	11
Zhang ²⁶	2017	CML	Asian	China	C/Cc	47 (16–81)/45 (21–83)	C-healthy/risk stratification score/BCR-ABL response	267/344	Yes	10
Zhao ²⁷	2017	HL	Asian	China	C/Cc	54 (13–85)/48 (21–85)	C-healthy	390/385	Yes	10
Zhao ²⁷	2018	MM	Asian	China	C/Cc	60 (25–89)/55 (26–90)	C-healthy/age/gender/classification/bone damaged/hemogram change/BM myeloma cell	355/350	Yes	11
Zhou ²⁸	2020	MPN	Asian	China	C/Cc	59 (16–84)/55 (16–88)	C-healthy	269/291	Yes	11

MM: multiple myeloma; ALL: acute lymphoblastic leukemia; CLL: chronic lymphocytic leukemia; NHL: non-Hodgkin lymphoma; HL: Hodgkin lymphoma; AML: acute myeloid leukemia; MDS: myelodysplastic syndrome; CML: chronic myeloid leukemia; MPN: Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasm. C case, Cc control, HWE Hardy–Weinberg equilibrium. NOS: not otherwise specified.

Table 2. Meta-analysis of the association between the IL1B–511 C>T (rs16944) polymorphism and the risk of hematological malignancies (allelic and genotypic comparisons; and stratified analysis).

Variable	Comparison	M versus m			m versus M	
		Case/Control	OR (95% CI)	p-value	OR (95% CI)	p-value
rs16944	(n)					
Overall	12	2,892/3,716	1.06 (0.93, 1.22)	.37	0.94 (0.82, 1.08)	.37
MM	2	429/510	1.28 (0.81, 2.02)	.29	0.78 (0.49, 1.23)	.29
HL	2	495/1,043	1.02 (0.84, 1.24)	.85	0.98 (0.80, 1.20)	.85
NHL	2	791/823	1.00 (0.63, 1.61)	.98	1.00 (0.62, 1.60)	.98
European	4	859/930	0.86 (0.57, 1.30)	.48	1.16 (0.77, 1.74)	.48
Asian	6	1,824/1,766	1.09 (0.99, 1.20)	.09	0.92 (0.83, 1.01)	.09
HWE yes	11	2,741/3,551	1.05 (0.91, 1.20)	.54	0.96 (0.83, 1.10)	.54
Variable	Comparison	MM versus mm			mm versus MM	
		Case/Control	OR (95% CI)	p-value	OR (95% CI)	p-value
rs16944	(n)					
Overall	12	2,892/3,716	1.13 (0.85, 1.50)	.40	0.89 (0.67, 1.18)	.40
MM	2	429/510	1.31 (0.72, 2.36)	.37	0.76 (0.42, 1.38)	.37
HL	2	495/1,043	0.84 (0.40, 1.77)	.65	1.19 (0.56, 2.50)	.65
NHL	2	791/823	1.23 (0.23, 6.49)	.80	0.81 (0.15, 4.27)	.80
European	4	859/930	0.67 (0.34, 1.32)	.24	1.50 (0.76, 2.94)	.24
Asian	6	1,824/1,766	1.15 (0.96, 1.38)	.13	0.87 (0.72, 1.04)	.13
HWE yes	11	2,741/3,551	1.05 (0.80, 1.38)	.70	0.95 (0.72, 1.25)	.70
Variable	Comparison	MM versus mm/Mm			Mm versus mm/MM	
		Case/Control	OR (95% CI)	p-value	OR (95% CI)	p-value
rs16944	(n)					
Overall	12	2,892/3,716	1.31 (0.94, 1.84)	.11	1.15 (0.81, 1.64)	.44
MM	2	429/510	1.14 (0.84, 1.55)	.41	1.43 (0.52, 3.95)	.49
HL	2	495/1,043	2.23 (0.54, 9.16)	.27	3.23 (0.14, 73.44)	.46
NHL	2	791/823	1.55 (0.41, 5.87)	.52	0.86 (0.61, 1.22)	.39
European	4	859/930	0.89 (0.70, 1.14)	.37	0.97 (0.57, 1.64)	.90
Asian	6	1,824/1,766	1.54 (0.93, 2.56)	.10	1.35 (0.73, 2.51)	.34
HWE yes	11	2,741/3,551	1.23 (0.87, 1.73)	.23	1.21 (0.83, 1.76)	.32

M, mutant allele; m, wild-type allele; OR, odds ratio; CI, confidence interval.

MM: multiple myeloma, HL: Hodgkin's lymphoma, NHL: non-Hodgkin's lymphoma.

HWE: Hardy–Weinberg equilibrium.

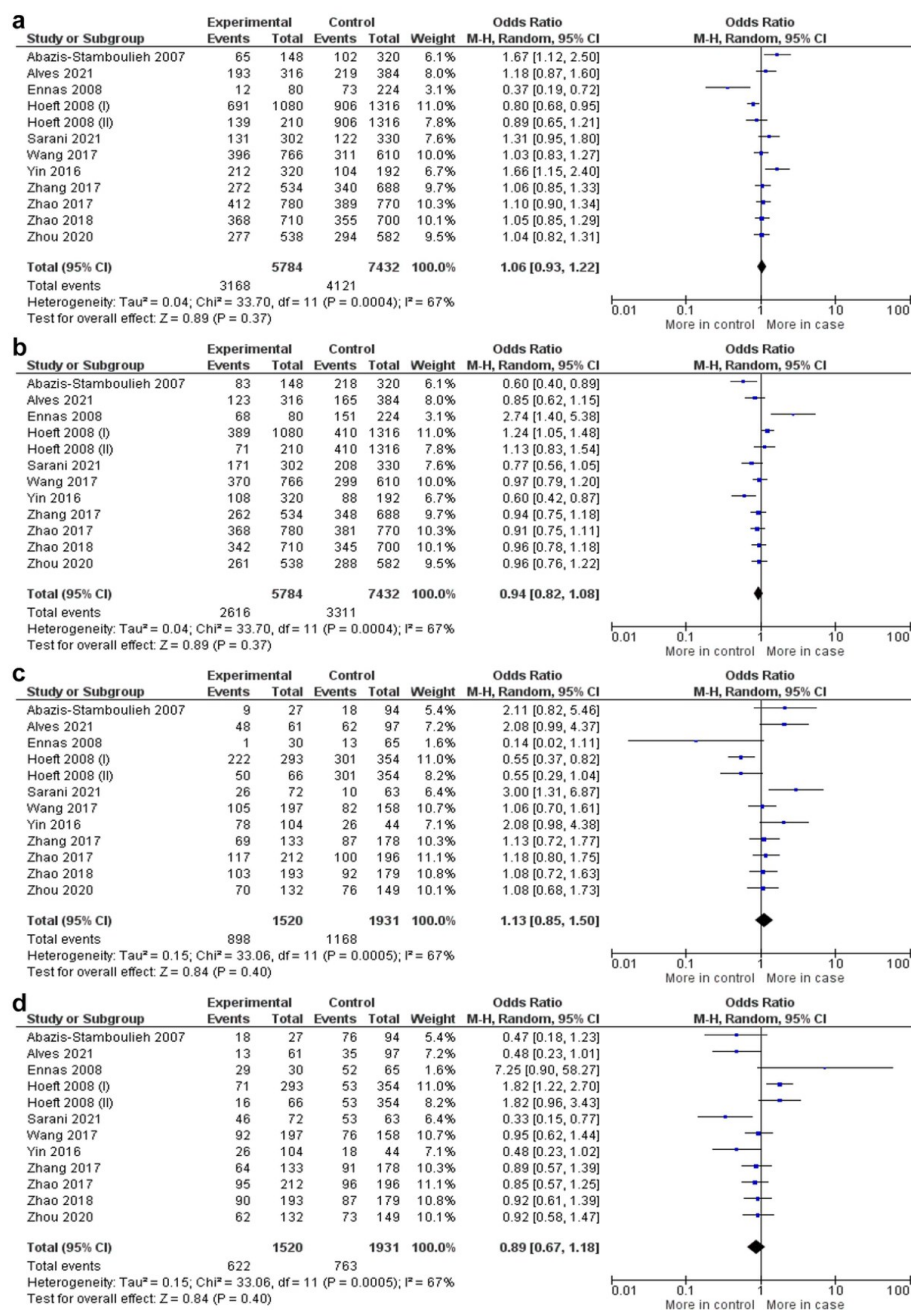


Figure 2. Forest plots for comparison of the (a) mutant allele versus wild-type allele, (b) wild-type allele versus mutant allele, (c) homozygous mutant versus homozygous mutant, and (d) homozygous wild-type versus homozygous mutant in *IL18-511 C>T* (rs16944) polymorphism and hematologic malignancies.

model for OR calculation because of the increased heterogeneity value ($I^2 = 59\%$, $p = .00$).

Publication bias and sensitivity analysis

The results of the evaluation of publication bias showed the absence of apparent asymmetry in the funnel plot graphics for the comparisons of the overall evaluation (Figure S1). These data were supported by the non-significant values from the Begg test and Egger's linear regression tests, as shown in Table S1. Sensitivity analysis also demonstrated that no single study affected the pooled OR values in the validation of our results.

Discussion

To the best of our knowledge, this is the first meta-analysis to comprehensively evaluate the association between *IL1B*-511 C>T polymorphism and the risk of hematological malignancies. Single-nucleotide variants (SNVs) is a term that describes a nucleotide variation in the DNA sequence, and is intrinsically associated with drug resistance, disease susceptibility, and ethnic differences.²⁹ Published data regarding the biological functions of *IL1B* polymorphisms have shown that the *IL1B*-511 C>T polymorphism strongly influences transcriptional activity only in the context of other *IL1B* promoter polymorphisms, such as *IL1B*-31 C>T.¹⁵ Moreover, a C to T single base polymorphism in the promoter of *IL1B* gene C(-511)→T has been reported to affect IL-1 and IL-1Ra levels.³⁰

Few studies have demonstrated the role of the *IL1B*-511 C>T polymorphism in patients with hematologic malignancies. Hence, owing to the inconsistency in results and the limited number of studies available, we performed this meta-analysis. The results of the overall and stratified studies showed that there were no statistically significant associations between *IL1B*-511 C>T and the risk of hematologic malignancies. In addition, owing to the limited number of studies on mixed and Caucasian ethnicities ($n = 1$), we could not perform a stratified analysis. Despite this, the use of the suggested guidelines for the evaluation of these studies demonstrated the acceptable quality of studies in this meta-analysis (Table 1 and Table S1), which demonstrated the accurate methodological aspects of the studies.

Although our data showed non-significant associations for allelic or genotypic evaluations, in previous reports, the studied alleles and genotypes for the -511 C>T polymorphism in *IL1B* have been associated with the risk of some hematologic malignancies and clinical implications. The T allele is associated with an increased risk of MM.¹⁹ In acute leukemia, the CT and TT genotypes are associated with the risk of pediatric ALL,²⁰ and CT has been associated with a favorable-risk cytogenetic group in AML.²⁴ In chronic leukemia, the T allele has been associated with a lower risk of CLL²¹ and CT with an early molecular response at 6 months for *BCR:ABL* in CML.²⁶ Patients with the *IL1B*-511 C>T polymorphism had a higher score on the International Prognostic Scoring System (IPSS), which might serve as a novel biomarker and potential target for MDS.²⁵ Enhanced IL-1 β signaling is a common event in patients with hematological malignancies,¹³ and knowledge of their genetics and molecular mechanisms will allow us to

determine the true potential of IL-1 β targeting as a therapy for hematological malignancies and their related complications.

Ethnicity directly influences the incidence of hematologic malignancies in a given population.³¹ According to previous studies, American descendants are more susceptible to developing Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma, multiple myeloma, acute myeloid, and lymphoblastic leukemia,³² while people of South Asian and African descent have the lowest risk.^{31,33} It is important to note that in our study, Brazilians were exclusively composed of a mixed population, which is characterized by a high degree of admixture from Amerindian, African, and European ancestors.³⁴ In the literature, children of admixture ethnicity had a high risk of developing ALL due to the Amerindian genetic background.³⁵ This corroborates the study by Alves et al. (2021), which described the *IL1B*-511 C>T polymorphism as a risk factor for ALL in children from the Amazon region,²⁰ which is a region where Amerindian ancestry is predominantly found.³⁶

Although our meta-analysis is the first to approach the association between this polymorphism and hematological malignancies and, as such, brought robust and accurate results with the absence of publication bias, this study has some important limitations that should be cited and discussed: (i) the limited number of studies may explain the non-significant associations observed so far; therefore, a larger sample size is necessary to validate the results, since in a stratified analysis, the number of each subgroup seems to be lower; ii) besides, we were unable to include a global representative population since the frequency of *IL1B*-511 C>T polymorphism is influenced by population analyzed which in our study was Asian population was predominant, iii) hematologic malignancies are multifactorial diseases caused by the interaction of several factors such as age, sex, infections, exposure to radioactive and/or chemical agents, and ethnicity. Hence, a completed stratified analysis could provide a better understanding of the influence of the *IL1B*-511 C>T polymorphism and its development; however, it was not possible to perform this due to the limited available data in the studies. (iv) More specific analyses might be conducted if individual data were available, such an analysis would have allowed us to adjust for other covariates, such as age, family history, and environmental factors and v) Finally, and our data are accurate and demonstrate non-significant associations. Further studies with larger sample sizes are required to investigate the association between the *IL1B*-511 C>T polymorphism and hematologic malignancies.

In conclusion, the overall and stratified analyses of this meta-analysis, composed of 12 case-control studies with 2,892 patients and 3,716 cancer-free controls, did not find any evidence of an association between the *IL1B*-511 C>T polymorphism and the risk of hematologic malignancies.

Materials and methods

Literature search strategy

This meta-analysis followed the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) statement.³⁷

Electronic databases (PubMed, Web of Science, and Google Scholar) were comprehensively searched using the following combined keywords or medical subject headings (MeSH): “polymorphism,” “rs16944,” “inflammasome” and “cancer.” There were no language restrictions in the search strategy, and all studies published before November 30, 2022, were considered. We screened the abstracts of the studies found as well as their references to identify potential additional studies.

Inclusion and exclusion criteria

In this meta-analysis, studies were included according to the following criteria: (1) studies evaluating the association between the *IL1B-511 C>T* (rs16944) polymorphism and the risk of some hematologic malignancy; (2) case-control studies; and (3) studies with sufficient genotype data in cases and controls to calculate the odds ratio (OR) with 95% confidence intervals (95% CIs). The main reasons for exclusion of studies were as follows: (1) no genotype frequency data and (2) duplication of an earlier publication.

Data extraction

Two researchers (Fabiola Silva Alves Hanna [FSAH] and Felipe Rodolfo Pereira Silva [FRPS]) independently reviewed all the studies and extracted the data using a standardized form. Disagreements were resolved by discussion with the coauthors. The following information was extracted: the first author's surname, year of publication, disease type, ethnicity, country of origin, study design, age, subject type, number of cases and controls in the sample, and whether the allelic and genotypic frequencies were in Hardy – Weinberg equilibrium (HWE).

Quality score assessment

Two reviewers independently assessed the quality of studies (FSAH and FRPS) according to the scale for quality assessment described by Tian et al. (2016).³⁸ The quality scale was based on the methodological aspects of the included studies, such as the source of cases, source of controls, specimens collected, HWE in controls, and total sample size. These scores were selected on both traditional epidemiological considerations and cancer genetic issues. The scores ranged from 0 to 15, and quality was measured by the variation from low (worst) to high (best) scores (Table S1).

Statistical analysis

The statistical program Review Manager version 5.3 (RevMan, Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration, 2012) was used for the systematic reviews and meta-analyses. Publication bias was evaluated using Comprehensive Meta-analysis statistical software version 3.3.070 (2014).

The presence or absence of true heterogeneity (I^2) was calculated using Cochran's X^2 test or chi-squared Q-based statistical test. I^2 was also analyzed for heterogeneity by visualizing the funnel plot graph. When the observed value of I^2 presented not statistically significant and was defined as

mild or moderate ($I^2 < 50\%$, $p > .05$), the authors used the fixed-effects model for the pooled odds ratio (OR) calculation. When I^2 presented a statistically significant value and was defined as elevated ($I^2 > 50\%$, $p < .05$), the random-effects statistical model was used for OR calculations. Statistical significance was set at $p < .05$. To quantify the exact influence of genetic variation on the risk of disease development, six genetic models were measured using “M” as the mutant allele and “m” allele as the wild-type allele. Therefore, the calculations were composed of allelic comparisons: (I) M versus m, (II) m versus M; genotypic comparisons: (III) MM versus mm, (IV) mm versus MM, and combinations of genotypic variations: (V) MM versus mm + Mm, and (VI) Mm versus MM + mm. In addition, a sensitivity analysis was performed by omitting one study at the time of the pooled OR calculation for the mutant allele in order to detect any type of single interference. A sensitivity analysis was performed by omitting one included study at a time to verify any possible significant changes in the OR value. To assess publication bias, the Begg's test and Egger's linear regression test were used to estimate potential publication bias ($p < .05$). In this meta-analysis, asymmetry of the funnel plot for publication bias was also considered to validate the results of Begg's test and Egger's test. All the included studies had dichotomous data expressed as OR with 95% confidence intervals (CI) to verify the possible association between the aforementioned genetic variations and hematologic malignancies.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

Funding

Financial support was provided in the form of grants from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) [Pró-Estado Program - #002/2008, #007/2018 and #005/2019 and POSGRAD Program #002/2023 and #002/2024], Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) [PDPG-CONSOLIDACAO-3-4 Program #88887.707248/2022-00]. FSAH, DSP, and FM-G have fellowships from CAPES and CNPq (Master's and PhD students). AGC is a level 2 CNPq research fellow and FAPEAM research fellow [PRODOC Program #003/2022]. The funders had no role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or manuscript preparation.

ORCID

Fabiola Silva Alves-Hanna  <http://orcid.org/0000-0002-1582-2969>
 Daniele Sá Pereira  <http://orcid.org/0000-0003-2129-6683>
 Fábio Magalhães-Gama  <http://orcid.org/0000-0003-1373-0953>
 Allyson Guimarães Costa  <http://orcid.org/0000-0002-7312-6822>

Author contributions

Study design: FSAH, DSP, FM-G, and AGC. Searched databases and collected full-text papers: FSAH and FRPS. FSAH and FRPS were extracted and analyzed. Statistical analyses: FRPR and ALABL. FSAH and AGC wrote the manuscript. All authors have reviewed the final version of the manuscript.

References

- Zierhut M, Haen SP, Moehle R, Chan C-C. Hematological Neoplasms. In: Intraocular inflammation. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2016. p. 1493–510. doi:10.1007/978-3-540-75387-2_149.
- Smith A, Howell D, Patmore R, Jack A, Roman E. Incidence of haematological malignancy by sub-type: a report from the haematological malignancy research network. *Br J Cancer*. 2011;105(11):1684–92. doi:10.1038/bjc.2011.450.
- Arber DA, Orazi A, Hasserjian RP, Borowitz MJ, Calvo KR, Kvasnicka HM, Wang SA, Bagg A, Barbui T, Branford S, et al. International consensus classification of myeloid neoplasms and acute leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. *Blood*. 2022;140(11):1200–28. doi:10.1182/blood.2022015850.
- Khoury JD, Solary E, Abl O, Akkari Y, Alaggio R, Apperley JF, Bejar R, Berti E, Busque L, Chan JKC, et al. The 5th edition of the world health organization classification of haematolymphoid tumours: myeloid and histiocytic/dendritic neoplasms. *Leukemia*. 2022;36(7):1703–19. doi:10.1038/s41375-022-01613-1.
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646–74. doi:10.1016/j.cell.2011.02.013.
- Hasselbalch HC. Chronic inflammation as a promotor of mutagenesis in essential thrombocythemia, polycythemia vera and myelofibrosis. A human inflammation model for cancer development? *Leuk Res*. 2013;37(2):214–20. doi:10.1016/j.leukres.2012.10.020.
- Craver BM, El Alaoui K, Scherber RM, Fleischman AG. The critical role of inflammation in the pathogenesis and progression of myeloid malignancies. *Cancers (Basel)*. 2018;10(4):1–18. doi:10.3390/cancers10040104.
- Myers JS. Proinflammatory cytokines and sickness behavior: implications for depression and cancer-related symptoms. *Oncol Nurs Forum*. 2008;35(5):802–07. doi:10.1188/08.ONF.802-807.
- Magalhães-Gama F, Kerr MWA, De Araújo ND, Ibiapina HNS, Neves JCF, Hanna FSA, Xabregas LDA, Carvalho MPSS, Alves EB, Tarragó AM, et al. Imbalance of chemokines and cytokines in the bone marrow microenvironment of children with B-Cell acute lymphoblastic leukemia. *J Oncol*. 2021;2021:1–9. doi:10.1155/2021/5530650.
- Rébé C, Ghiringhelli F. Interleukin-1 β and cancer. *Cancers (Basel)*. 2020;12(7):1791–822. doi:10.3390/cancers12071791.
- Hermouet S, Vilaine M. The JAK2 46/1 haplotype: a marker of inappropriate myelomonocytic response to cytokine stimulation, leading to increased risk of inflammation, myeloid neoplasm, and impaired defense against infection? *Haematologica*. 2011;96(11):1575–79. doi:10.3324/haematol.2011.055392.
- Pietras EM, Mirantes-Barbeito C, Fong S, Loeffler D, Kovtonyuk LV, Zhang S, Lakshminarasimhan R, Chin CP, Techner J-M, Will B, et al. Chronic interleukin-1 drives haematopoietic stem cells towards precocious myeloid differentiation at the expense of self-renewal. *Nat Cell Biol*. 2016;18(6):607–18. doi:10.1038/ncb3346.Chronic.
- Arranz L, Arriero M, Del M, Villatoro A. Interleukin-1 β as emerging therapeutic target in hematological malignancies and potentially in their complications. *Blood Rev*. 2017;31(5):306–17. doi:10.1016/j.blre.2017.05.001.
- Hall SK, Perregaux DG, Gabel CA, Woodworth T, Durham LK, Huizinga TWF, Breedveld FC, Seymour AB. Correlation of polymorphic variation in the promoter region of the interleukin-1 β gene with secretion of interleukin-1 β protein. *Arthritis Rheum*. 2004;50(6):1976–83. doi:10.1002/art.20310.
- Chen H, Wilkins LM, Aziz N, Cannings C, Wyllie DH, Bingle C, Rogus J, Beck JD, Offenbacher S, Cork MJ, et al. Single nucleotide polymorphisms in the human interleukin-1 β gene affect transcription according to haplotype context. *Hum Mol Genet*. 2006;15(4):519–29. doi:10.1093/hmg/ddi469.
- He B, Zhang Y, Pan Y, Xu Y, Gu L, Chen L, Wang S. Interleukin 1 beta (IL1B) promoter polymorphism and cancer risk: evidence from 47 published studies. *Mutagenesis*. 2011;26(5):637–42. doi:10.1093/mutage/ger025.
- Xu J, Yin Z, Cao S, Gao W, Liu L, Yin Y, Liu P, Shu Y. Systematic review and meta-analysis on the association between IL-1B polymorphisms and cancer risk. *PLOS ONE*. 2013;8(5):e63654. doi:10.1371/journal.pone.0063654.
- Zhang C, Han F, Yu J, Hu X, Hua M, Zhong C, Wang R, Zhao X, Shi Y, Ji C, et al. Investigation of NF- κ B-94ins/del ATTG and CARD8 (rs2043211) gene polymorphism in acute lymphoblastic leukemia. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10(August):1–9. doi:10.3389/fendo.2019.00501.
- Abazis-Stamboulieh D, Oikonomou P, Papadoulis N, Panayiotidis P, Vrakidou E, Tsezou A. Association of interleukin-1A, interleukin-1B and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms with multiple myeloma. *Leuk Lymphoma*. 2007;48(11):2196–203. doi:10.1080/10428190701615892.
- Alves FS, Xabregas LA, Kerr MWA, Souza GL, Pereira DS, Magalhães-Gama F, Santiago MRR, Garcia NP, Tarragó AM, Ogusku MM, et al. Genetic polymorphisms of inflammasome genes associated with pediatric acute lymphoblastic leukemia and clinical prognosis in the Brazilian Amazon. *Sci Rep*. 2021;11(1):1–10. doi:10.1038/s41598-021-89310-4.
- Ennas MG, Moore PS, Zucca M, Angelucci E, Cabras MG, Melis M, Gabbas A, Serpe R, Madeddu C, Scarpa A, et al. Interleukin-1B (IL1B) and interleukin-6 (IL6) gene polymorphisms are associated with risk of chronic lymphocytic leukaemia. *Hematol Oncol*. 2008;26(2):98–103. doi:10.1002/hon.843.
- Hoefl B, Becker N, Deeg E, Beckmann L, Nieters A. Joint effect between regular use of non-steroidal anti-inflammatory drugs, variants in inflammatory genes and risk of lymphoma. *Cancer Causes Control*. 2008;19(2):163–73. doi:10.1007/s10552-007-9082-9.
- Sarani H, Mollashahi B, Taheri M, Bahari G, Hashemi SM, Hashemi M, Ghavami S. Association between the IL-1A, IL-1B and IL-1R polymorphisms and lymphoma. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2021;40(7):707–19. doi:10.1080/15257770.2021.1929317.
- Wang H, Hua M, Wang S, Yu J, Chen C, Zhao X, Zhang C, Zhong C, Wang R, He N, et al. Genetic polymorphisms of IL-18 rs1946518 and IL-1 β rs16944 are associated with prognosis and survival of acute myeloid leukemia. *Inflammation Res*. 2017;66(3):249–58. doi:10.1007/s00011-016-1012-4.
- Yin C, He N, Li P, Zhang C, Yu J, Hua M, Ji C, Ma D. Polymorphisms of interleukin-1 β rs16944 confer susceptibility to myelodysplastic syndromes. *Life Sci*. 2016;165:109–12. doi:10.1016/j.lfs.2016.09.019.
- Zhang A, Yu J, Yan S, Zhao X, Chen C, Zhou Y, Zhao X, Hua M, Wang R, Zhang C, et al. The genetic polymorphism and expression profiles of NLRP3 inflammasome in patients with chronic myeloid leukemia. *Hum Immunol*. 2017;79(1):57–62. doi:10.1016/j.humimm.2017.10.013.
- Zhao X, Zhang C, Hua M, Wang R, Zhong C, Yu J, Han F, He N, Zhao Y, Liu G. NLRP3 inflammasome activation plays a carcinogenic role through effector cytokine IL-18 in lymphoma. *Oncotarget*. 2017;8(65):108571–83. doi:10.18632/oncotarget.21010.
- Zhou Y, Yan S, Liu N, He N, Zhang A, Meng S, Ji C, Ma D, Ye J. Genetic polymorphisms and expression of NLRP3 inflammasome-related genes are associated with Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms. *Hum Immunol*. 2020;81(10–11):606–13. doi:10.1016/j.humimm.2020.09.001.
- Somberg JC. Genetic polymorphisms. *Am J Ther*. 2002;9(4):271. doi:10.1097/00045391-200207000-00001.
- Lai J, Zhou D, Xia S, Shang Y, Zhu J, Pan J, Hua B, Zhu Y, Cui L. Association of interleukin-1 gene cluster polymorphisms with ischemic stroke in a Chinese population. *Neurol India*. 2006;54(4):366–69. doi:10.4103/0028-3886.28107.
- Shirley MH, Sayeed S, Barnes I, Finlayson A, Ali R. Incidence of haematological malignancies by ethnic group in England, 2001–7. *Br J Haematol*. 2013;163(4):465–77. doi:10.1111/bjh.12562.
- Kirtane K, Lee SJ. Racial and ethnic disparities in hematologic malignancies. *Blood*. 2017;130(15):1699–705. doi:10.1182/blood-2017-04-778225.

33. Tran HN, Li Y, Udaltsova N, Armstrong MA, Friedman GD, Klatsky AL. Risk of cancer in Asian Americans: a kaiser permanente cohort study. *Cancer Causes Control*. 2016;27(10):1197–207. doi:10.1007/s10552-016-0798-2.
34. Giolo SR, Soler JMP, Greenway SC, Almeida MAA, De Andrade M, Seidman JG, Seidman CE, Krieger JE, Pereira AC. Brazilian urban population genetic structure reveals a high degree of admixture. *Eur J Hum Genet*. 2012;20(1):111–16. doi:10.1038/ejhg.2011.144.
35. Carvalho DC, Wanderley AV, Amador MAT, Fernandes MR, Cavalcante GC, Pantoja KBCC, Mello FAR, de Assumpção PP, Khayat AS, Ribeiro-dos-Santos Â, et al. Amerindian genetic ancestry and INDEL polymorphisms associated with susceptibility of childhood B-cell Leukemia in an admixed population from the Brazilian Amazon. *Leukemia Res*. 2015;39(11):1239–45. doi:10.1016/j.leukres.2015.08.008.
36. Moura RRCA, Balbino VQ, Brandão LAC. Meta-analysis of Brazilian genetic admixture and comparison with other Latin America countries. *Am J Hum Biol*. 2015;27(5):674–80. doi:10.1002/ajhb.22714.
37. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Ann Intern Med*. 2009;151(4):264–69. doi:10.7326/0003-4819-151-4-200908180-00135.
38. Tian X, Dai S, Sun J, Jiang S, Jiang Y. Association between TP53 Arg72Pro polymorphism and leukemia risk: a meta-analysis of 14 case-control studies. *Sci Rep*. 2016;6(October 2015):1–6. doi:10.1038/srep24097.

8.4 Artigos completos publicados em periódicos como primeiro autor no período do Doutorado

1. ALVES, F.S.; XABREGAS, L.A.; KERR, M.W.A.; SOUZA, G.L.; PEREIRA, D.S.; MAGALHÃES-GAMA, F.; SANTIAGO, M.R.R.; GARCIA, N. P.; TARRAGÔ, A.M.; OGUSKU, M.M.; SADAHIRO, A.; MALHEIRO, A.; COSTA, A.G. Genetic polymorphisms of inflammasome genes associated with pediatric acute lymphoblastic leukemia and clinical prognosis in the Brazilian Amazon. *Scientific Reports*, v. 11, p. 9869, 2021.

www.nature.com/scientificreports

scientific reports

Check for updates

OPEN

Genetic polymorphisms of inflammasome genes associated with pediatric acute lymphoblastic leukemia and clinical prognosis in the Brazilian Amazon

Fabiola Silva Alves^{1,2}, Lilyane Amorim Xabregas^{1,2}, Marlon Wendell Athaydes Kerr^{1,2}, Gláucia Lima Souza^{1,2}, Daniele Sá Pereira², Fábio Magalhães-Gama³, Mirian Rodrigues Ribeiro Santiago^{1,2}, Nadja Pinto Garcia², Andréa Monteiro Tarragô^{1,2,4}, Maurício Morishi Ogusku^{4,5}, Aya Sadahiro², Adriana Malheiro^{1,2,3,4,6} & Allyson Guimarães Costa^{1,2,3,4,6,7,8}✉

The immune system plays an important role in the control of cancer development. To investigate the possible association of inflammasome genes to childhood leukemia we performed a case-control study with 158 patients with acute lymphoblastic leukemia and 192 healthy individuals. The *IL1B* and *IL18* genetic polymorphisms were genotyped by Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) and *NLRP1*, *NLRP3* and *P2RX7* were genotyped using Real Time quantitative PCR (qPCR). The *IL1B* C/T rs19644 genotype was associated with the risk of developing ALL (C/C vs. C/T + T/T OR: 2.48 [95% CI: 1.26–4.88, $p = 0.006$]; C/C vs C/T OR: 2.74 [95% CI: 1.37–5.51, $p = 0.003$] and the *NLRP1* A/T rs12150220 (OR: 0.37 [95% CI: 0.16–0.87, $p = 0.023$]) was associated with protection against infectious comorbidities. It was not found association between *NLRP3* and *P2RX7* polymorphisms and acute lymphoblastic leukemia in our study. Our results suggest that the inflammasome single-variant polymorphisms (SNVs) may play a role in the development and prognostic of childhood leukemia. However, this finds requires further study within a larger population in order to prove it.

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is a hematopoietic neoplasm characterized by the exacerbated proliferation of blasts in bone marrow and affects mainly children aged 2 to 15 years old. In Brazil, according to the National Cancer Institute (INCA), it is estimated that for each year of the 2020–2022 triennium, there will be 5920 new cases of leukemia (Acute and chronic) in men and 4860 in women in Brazil, which corresponds to an estimated risk of 5.67 new cases per 100 thousand men and 4.56 for each 100 thousand women^{1,2}.

Due to its unknown etiology, studies associate the manifestation of ALL with the interaction of genetic and environmental factors, however, less than 10% of cases are attributed to heredity^{3,4}. New evidence indicates that inflammation plays an important role in all stages of cancer development. Since inflammation promotes the accumulation of genetic alterations that can inhibit the cell death control pathways of hematopoietic progenitor stem cells (HSPCs) and contribute to the generation of pre-leukemic clones. Mel Greaves observed that a

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, AM, Brazil. ²Diretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Av. Constantino Nery, 4397, Chapada, Manaus, AM 69050-001, Brazil. ³Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil. ⁴Rede Genômica de Vigilância em Saúde do Amazonas (REGESAM), Manaus, AM, Brazil. ⁵Laboratório de Micobacteriologia, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, AM, Brazil. ⁶Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, AM, Brazil. ⁷Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), Manaus, AM, Brazil. ⁸Escola de Enfermagem de Manaus, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil. ✉email: allyson.gui.costa@gmail.com

2. ALVES-HANNA, F. S. A.; CRESPO-NETO, J. A.; NOGUEIRA, G. M.; PEREIRA, D. S.; LIMA, A. B.; RIBEIRO, T. L. P.; SANTOS, V. G. R.; FONSECA, J. R. F.; MAGALHÃES-GAMA, F.; SADAHIRO, A.; COSTA, A. G. Insights Regarding the Role of Inflammasomes in Leukemia: What Do We Know?. *Journal of Immunology Research*. 2023: 5584492.

Hindawi
Journal of Immunology Research
Volume 2023, Article ID 5584492, 15 pages
<https://doi.org/10.1155/2023/5584492>



Review Article

Insights Regarding the Role of Inflammasomes in Leukemia: What Do We Know?

Fabíola Silva Alves-Hanna ^{1,2}, Juniel Assis Crespo-Neto ², Glenda Menezes Nogueira ^{2,3},
Daniele Sá Pereira ^{2,3}, Amanda Barros Lima ^{1,2}, Thaís Lohana Pereira Ribeiro ^{2,3},
Vitória Giovanna Rodrigues Santos ², Joey Ramone Ferreira Fonseca ²,
Fábio Magalhães-Gama ^{2,4}, Aya Sadahiro ¹ and Allyson Guimarães Costa ^{1,2,3,4,5}

¹Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil

²Diretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, AM, Brazil

³Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, AM, Brazil

⁴Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Instituto René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ-Minas), Belo Horizonte, MG, Brazil

⁵Escola de Enfermagem de Manaus, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil

Correspondence should be addressed to Allyson Guimarães Costa; allyson.gui.costa@gmail.com

Received 28 April 2023; Revised 2 July 2023; Accepted 10 July 2023; Published 4 August 2023

Academic Editor: Lele Zhu

Copyright © 2023 Fabíola Silva Alves-Hanna et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Inflammation is a physiological mechanism of the immune response and has an important role in maintaining the hematopoietic cell niche in the bone marrow. During this process, the participation of molecules produced by innate immunity cells in response to a variety of pathogen-associated molecular patterns and damage-associated molecular patterns is observed. However, chronic inflammation is intrinsically associated with leukemogenesis, as it induces DNA damage in hematopoietic stem cells and contributes to the creation of the preleukemic clone. Several factors influence the malignant transformation within the hematopoietic microenvironment, with inflammasomes having a crucial role in this process, in addition to acting in the regulation of hematopoiesis and its homeostasis. Inflammasomes are intracellular multimeric complexes responsible for the maturation and secretion of the proinflammatory cytokines interleukin-1 β and interleukin-18 and the cell death process via pyroptosis. Therefore, dysregulation of the activation of these complexes may be a factor in triggering several diseases, including leukemias, and this has been the subject of several studies in the area. In this review, we summarized the current knowledge on the relationship between inflammation and leukemogenesis, in particular, the role of inflammasomes in different types of leukemias, and we describe the potential therapeutic targets directed at inflammasomes in the leukemic context.

1. Introduction

Leukemias are a heterogeneous group of neoplasms with a broad clinical spectrum that is characterized by the impairment of a hematopoietic stem cell (HSC) and the blockage of differentiation at various stages of the maturation process, which are divided into acute myeloblastic leukemia (AML), chronic myeloblastic leukemia (CML), acute lymphoblastic

leukemia (ALL), and chronic lymphoblastic leukemia (CLL) [1]. The incidence rates for leukemias differ between subgroups. In chronic leukemias, there is a trend toward an increase in cases in adults; however, in ALL, pediatric patients are predominant (<15 years old), with a possible appearance after 50 years of age. On the other hand, the other subtypes (CLL, CML, and AML) occur more frequently in adults over 65 years of age [2].

3. ALVES-HANNA, F.S.A; SILVA, F. R. P., PEREIRA, D. S., LEAL, A. L. A. B., MAGALHÃES-GAMA, F.; COSTA, A.G. Association between the *IL1B-511 C>T* polymorphism and the risk of hematologic malignancies: data from a meta-analysis. *Cancer Biology & Therapy*, 25:1, 2382503, 2024.

CANCER BIOLOGY & THERAPY
2024, VOL. 25, NO. 1, 2382503
<https://doi.org/10.1080/15384047.2024.2382503>



REVIEW

OPEN ACCESS

Association between the *IL1B-511 C>T* polymorphism and the risk of hematologic malignancies: data from a meta-analysis

Fabiola Silva Alves-Hanna^{a,b}, Felipe Rodolfo Pereira Silva^{b,c}, Daniele Sá Pereira^{a,b,d}, Alessandro Luiz Araújo Bentes Leal^e, Fábio Magalhães-Gama^{b,f}, and Allyson Guimarães Costa^{a,b,d,g}

^aDiretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, Brazil; ^bPrograma de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Brazil; ^cFaculdade de Medicina, Universidade Federal do Pará (UFPA), Altamira, Brazil; ^dPrograma de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, Brazil; ^ePrograma de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPar), Parnaíba, Brazil; ^fPrograma de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Instituto René Rachou – Fundação, Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) Minas, Belo Horizonte, Brazil; ^gEscola de Enfermagem de Manaus, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Brazil

ABSTRACT

The relationship between the *IL1B-511C>T* (rs16944) polymorphism and the risk of developing hematologic malignancies remains controversial. Thus, we performed a meta-analysis to evaluate the association between *IL1B-511C>T* polymorphism and the risk of developing hematologic malignancies. A comprehensive search was conducted to identify all eligible studies on *IL1B-511C>T* polymorphism and hematologic malignancies. Twelve case-control studies, with 2,896 cases and 3,716 controls, were selected for the analysis. The overall data failed to indicate a significant association between *IL1B-511C>T* polymorphism and the risk of hematologic malignancies (OR:1.06, 95% Confidence Interval [CI]: 0.93–1.22). Moreover, non-significant associations were observed in a stratified analysis according to neoplasm type (multiple myeloma, Hodgkin's lymphoma, and non-Hodgkin's lymphoma), ethnicity (European and Asian), and Hardy-Weinberg equilibrium. In summary, our results suggest that there is no association between the *IL1B-511C>T* polymorphism and the risk of hematologic malignancies. As such, further large-scale studies are needed to confirm our findings.

ARTICLE HISTORY

Received 15 March 2023
Revised 25 April 2024
Accepted 16 July 2024

KEYWORDS

Interleukin-1; genetic variations; polymorphism; hematologic malignancies; meta-analysis

Introduction

Hematologic malignancies are a group of malignant diseases that are derived from myeloid and lymphoid hematopoietic lineages¹ and account for approximately 9% of all cancers. It is also the fourth most frequently diagnosed cancer in both men and women in developed countries.² According to the World Health Organization (WHO), lymphoid neoplasms are grouped into lymphatic precursor neoplasms; mature B-, T-, and NK-cell neoplasms; and lymphomas. Myeloid neoplasms are subdivided into multiple myeloma (MM) and myelodysplastic syndromes (MDS). Leukemias are classified as either acute or chronic based on the rapidity of proliferation and as myelocytic or lymphocytic based on the cell of origin.^{3,4} Overall, each leukemia subtypes presents different clinical conditions and each has a specific treatment protocol.

It is well established that chronic inflammation drives tumor progression in multiple types of cancer.⁵ Increased basal inflammatory status seems to promote mutagenesis through the induction of chronic oxidative stress and subsequent DNA oxidative damage, and elicits epigenetic changes that further promote inflammation.⁶ In addition, a common feature of many hematologic malignancies is the overproduction of proinflammatory cytokines. Although several cytokines are overexpressed in hematological malignancies,

overproduction of tumor necrosis factor-alpha (TNF-α), interleukin 6 (IL-6), and interleukin 1 (IL-1) is most commonly observed in patients, suggesting that these cytokines play a role in the development and/or manifestation of hematologic malignancies.^{7–9}

Evidence supporting a pro-tumorigenic role of IL-1b in all cancer types has been described recently.¹⁰ IL-1β plays a pleiotropic role in cancer by modulating gene expression and cytokine production and regulating cellular adhesion and migration, angiogenesis, cancer cell proliferation, and metastasis.¹⁰ While acute IL-1β exposure contributes to hematopoietic stem cell (HSC) regeneration after myeloablation and transplantation,¹¹ chronic exposure after infection or injury promotes uncontrolled HSC division and eventual exhaustion of the HSC pool.^{6,12}

IL-1β is a key mediator of carcinogenesis via the promotion of chronic inflammation, and genetic variations with gain function in this gene have been extensively studied in recent years with regards to cancer.¹³ The Interleukin 1 Beta (*IL1B*) gene is highly polymorphic, and base transitions between C and T at positions –511 (C>T; dbSNP: rs16944) have been associated with increased IL-1β secretion.^{14,15} Numerous epidemiological studies have investigated the association between

CONTACT Allyson Guimarães Costa allyson.gui.costa@gmail.com Diretoria de Ensino E Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia E Hemoterapia Do Amazonas (HEMOAM), Av. Constantino Nery 4397, Chapada, Manaus CEP 69050-001, Brazil

Supplemental data for this article can be accessed online at <https://doi.org/10.1080/15384047.2024.2382503>

© 2024 The Author(s). Published with license by Taylor & Francis Group, LLC.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. The terms on which this article has been published allow the posting of the Accepted Manuscript in a repository by the author(s) or with their consent.

8.5 Artigos completos publicados em periódicos como coautor no período do Doutorado

1. BARROS, M. S.; ARAÚJO, N.D.; MAGALHÃES-GAMA, F.; PEREIRA-RIBEIRO, T.; ALVES, F.S. ; TARRAGÔ, A.M.; MALHEIRO, A.; COSTA, A.G. $\gamma\delta$ T cells for Leukemia Immunotherapy: New and Expanding Trends. *Frontiers in Immunology*, v. 12, p. 1-20, 2021.



REVIEW
published: 22 September 2021
doi: 10.3389/fimmu.2021.729085



$\gamma\delta$ T Cells for Leukemia Immunotherapy: New and Expanding Trends

Mateus de Souza Barros^{1†}, Nilberto Dias de Araújo^{1,2†}, Fábio Magalhães-Gama^{1,3},
Thais Lohana Pereira Ribeiro¹, Fabíola Silva Alves Hanna^{1,2}, Andréa Monteiro Tarragô^{1,4},
Adriana Malheiro^{1,2,4} and Allyson Guimarães Costa^{1,2,4,5,6,7*}

¹ Diretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, Brazil, ² Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Brazil, ³ Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Instituto René Rachou - Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) Minas, Belo Horizonte, Brazil, ⁴ Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, Brazil, ⁵ Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, UEA, Manaus, Brazil, ⁶ Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), Manaus, Brazil, ⁷ Escola de Enfermagem de Manaus, UFAM, Manaus, Brazil

OPEN ACCESS

Edited by:

Nicolas Dulphy,
Université de Paris,
France

Reviewed by:

Masakazu Toi,
Kyoto University, Japan
Tiziana Schioppa,
University of Brescia, Italy

*Correspondence:

Allyson Guimarães Costa
allyson.gui.costa@gmail.com

[†]These authors have contributed
equally to this work

Specialty section:

This article was submitted to
Cancer Immunity
and Immunotherapy,
a section of the journal
Frontiers in Immunology

Received: 22 June 2021

Accepted: 30 August 2021

Published: 22 September 2021

Citation:

Barros MS, de Araújo ND,
Magalhães-Gama F, Pereira
Ribeiro TL, Alves Hanna FS,
Tarragô AM, Malheiro A and
Costa AG (2021) $\gamma\delta$ T Cells for
Leukemia Immunotherapy:
New and Expanding Trends.
Front. Immunol. 12:729085.
doi: 10.3389/fimmu.2021.729085

Recently, many discoveries have elucidated the cellular and molecular diversity in the leukemic microenvironment and improved our knowledge regarding their complex nature. This has allowed the development of new therapeutic strategies against leukemia. Advances in biotechnology and the current understanding of T cell-engineering have led to new approaches in this fight, thus improving cell-mediated immune response against cancer. However, most of the investigations focus only on conventional cytotoxic cells, while ignoring the potential of unconventional T cells that until now have been little studied. $\gamma\delta$ T cells are a unique lymphocyte subpopulation that has an extensive repertoire of tumor sensing and may have new immunotherapeutic applications in a wide range of tumors. The ability to respond regardless of human leukocyte antigen (HLA) expression, the secretion of antitumor mediators and high functional plasticity are hallmarks of $\gamma\delta$ T cells, and are ones that make them a promising alternative in the field of cell therapy. Despite this situation, in particular cases, the leukemic microenvironment can adopt strategies to circumvent the antitumor response of these lymphocytes, causing their exhaustion or polarization to a tumor-promoting phenotype. Intervening in this crosstalk can improve their capabilities and clinical applications and can make them key components in new therapeutic antileukemic approaches. In this review, we highlight several characteristics of $\gamma\delta$ T cells and their interactions in leukemia. Furthermore, we explore strategies for maximizing their antitumor functions, aiming to illustrate the findings destined for a better mobilization of $\gamma\delta$ T cells against the tumor. Finally, we outline our perspectives on their therapeutic applicability and indicate outstanding issues for future basic and clinical leukemia research, in the hope of contributing to the advancement of studies on $\gamma\delta$ T cells in cancer immunotherapy.

Keywords: gamma-delta T cells, leukemic microenvironment, off-the-shelf cell therapy, clinical trials, cell transplantation

2. ARAÚJO, N.D.; GAMA, MAGALHÃES-GAMA, F.; BARROS, M. S.; RIBEIRO, T.L.P.; ALVES, F.S.; XABREGAS, L.A.; TARRAGÔ, A.M.; MALHEIRO, A.; COSTA, A.G. Translating Unconventional T Cells and Their Roles in Leukemia Antitumor Immunity. *Journal of Immunology Research*, v. 2021, p. 1-15, 2021.

Hindawi
Journal of Immunology Research
Volume 2021, Article ID 6633824, 15 pages
<https://doi.org/10.1155/2021/6633824>



Review Article

Translating Unconventional T Cells and Their Roles in Leukemia Antitumor Immunity

Nilberto Dias de Araújo,^{1,2} Fábio Magalhães Gama,^{1,2} Mateus de Souza Barros,² Thaís Lohana Pereira Ribeiro,² Fabíola Silva Alves,^{2,3} Lilyane Amorim Xabregas,^{2,3} Andréa Monteiro Tarragô,^{1,2,3} Adriana Malheiro,^{1,2,3,4} and Allyson Guimarães Costa^{1,2,3,4,5}

¹Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM 69067-005, Brazil

²Diretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, AM 69050-001, Brazil

³Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, AM 69850-000, Brazil

⁴Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, AM 69850-000, Brazil

⁵Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), Manaus, AM 69040-000, Brazil

Correspondence should be addressed to Allyson Guimarães Costa; allyson.gui.costa@gmail.com

Received 7 November 2020; Revised 16 December 2020; Accepted 23 December 2020; Published 7 January 2021

Academic Editor: Xue-Li Zhang

Copyright © 2021 Nilberto Dias de Araújo et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Recently, cell-mediated immune response in malignant neoplasms has become the focus in immunotherapy against cancer. However, in leukemia, most studies on the cytotoxic potential of T cells have concentrated only on T cells that recognize peptide antigens (Ag) presented by polymorphic molecules of the major histocompatibility complex (MHC). This ignores the great potential of unconventional T cell populations, which include gamma-delta T cells ($\gamma\delta$), natural killer T cells (NKT), and mucosal-associated invariant T cells (MAIT). Collectively, these T cell populations can recognize lipid antigens, specially modified peptides and small molecule metabolites, in addition to having several other advantages, which can provide more effective applications in cancer immunotherapy. In recent years, these cell populations have been associated with a repertoire of anti- or protumor responses and play important roles in the dynamics of solid tumors and hematological malignancies, thus, encouraging the development of new investigations in the area. This review focuses on the current knowledge regarding the role of unconventional T cell populations in the antitumor immune response in leukemia and discusses why further studies on the immunotherapeutic potential of these cells are needed.

1. Introduction

Leukemia comprises a heterogeneous group of hematological neoplasms, which can be classified into lymphoblastic or myeloid leukemias and divided into acute and chronic types, depending on the affected cell type, maturation stage, and blast count, respectively [1]. While acute leukemias are characterized by a deep block in hematopoietic differentiation and result in an overproduction of immature blasts, chronic

leukemias are characterized by the excessive production of partially mature differentiated cells, for example, lymphocytes in chronic lymphocytic leukemia (CLL) and granulocytes in chronic myeloid leukemia (CML) [2, 3]. The hallmark of these neoplasms is the increase in leukemic cells (LCs) in the bone marrow (BM) and their release in the peripheral blood (PB) and in extramedullary sites [1].

The immunological mechanisms in patients with leukemia are not very well known. However, with the increasing

3. MAGALHÃES-GAMA, F.; KERR, M.W.A.; ARAÚJO, N.D.; IBIAPINA, H.N.S.; NEVES, J.C.F.; HANNA, F.S.A.; XABREGAS, L.A.; CARVALHO, M.P.S.S.; ALVES, E.B.; TARRAGÔ, A.M.; MARTINS-FILHO, O.A.; TEIXEIRA-CARVALHO, A.; MALHEIRO, A.; COSTA, A.G. Imbalance of Chemokines and Cytokines in the Bone Marrow Microenvironment of Children with B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Journal of Oncology*, v. 2021, p. 1-9, 2021.

Hindawi
Journal of Oncology
Volume 2021, Article ID 5530650, 9 pages
<https://doi.org/10.1155/2021/5530650>

Research Article

Imbalance of Chemokines and Cytokines in the Bone Marrow Microenvironment of Children with B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia

Fábio Magalhães-Gama,^{1,2,3,4} Marlon Wendell Athaydes Kerr,^{2,5}
Nilberto Dias de Araújo,^{1,2} Hiochelson Najibe Santos Ibiapina,^{6,7}
Juliana Costa Ferreira Neves,^{6,7} Fabiola Silva Alves Hanna,^{1,2,5}
Lilyane de Amorim Xabregas,^{2,5} Maria Perpétuo Socorro Sampaio Carvalho,^{2,5}
Eliana Brasil Alves,² Andréa Monteiro Tarragô,^{1,2,5} Olindo Assis Martins-Filho,^{3,4,5}
Andréa Teixeira-Carvalho,^{3,4,5} Adriana Malheiro,^{1,2,5}
and Allyson Guimarães da Costa^{1,2,5,6,7,8}

¹Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Brazil
²Diretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, Brazil

³Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Instituto René Rachou-Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) Minas, Belo Horizonte, Brazil

⁴Grupo Integrado de Pesquisas em Biomarcadores de Diagnóstico e Monitoração, Instituto René Rachou-FIOCRUZ Minas, Belo Horizonte, Brazil

⁵Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, Brazil

⁶Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, UEA, Manaus, Brazil

⁷Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), Manaus, Brazil

⁸Escola de Enfermagem de Manaus, UFAM, Manaus, Brazil

Correspondence should be addressed to Allyson Guimarães da Costa; allyson.gui.costa@gmail.com

Received 21 March 2021; Revised 19 June 2021; Accepted 9 July 2021; Published 22 July 2021

Academic Editor: Reem Saleh

Copyright © 2021 Fábio Magalhães-Gama et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

In the hematopoietic microenvironment, leukemic cells secrete factors that imbalanced chemokine and cytokine production. However, the network of soluble immunological molecules in the bone marrow microenvironment of acute lymphoblastic leukemia (ALL) remains underexplored. Herein, we evaluated the levels of the immunological molecules (CXCL8, CCL2, CXCL9, CCL5, CXCL10, IL-6, TNF, IFN- γ , IL-17A, IL-4, IL-10, and IL-2) in the bone marrow plasma of 47 recently diagnosed B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) patients during induction therapy using cytometric beads arrays. The results demonstrated that B-ALL patients showed high levels of CXCL9, CXCL10, IL-6, and IL-10 at the time of diagnosis, while at the end of induction therapy, a decrease in the levels of these immunological molecules and an increase in CCL5, IFN- γ , and IL-17A levels were observed. These findings indicate that B-ALL patients have an imbalance in chemokines and cytokines in the bone marrow microenvironment that contributes to suppressing the immune response. This immune imbalance may be associated with the presence of leukemic cells since, at the end of the induction therapy, with the elimination and reduction to residual cells, the proinflammatory profile is reestablished, characterized by an increase in the cytokines of the Th1 and Th17 profiles.

4. KERR, M.W.A.; MAGALHÃES-GAMA, F.; IBIAPINA, H.N.S.; HANNA, F.S.A.; XABREGAS, L.A.; ALVES, E.B.; PIMENTEL, J.P.D.; CARVALHO, M.P.S.S.; TARRAGÔ, A.M.; TEIXEIRA-CARVALHO, A.; MARTINS-FILHO, O.A.; COSTA, A.G.; MALHEIRO, A. Bone Marrow Soluble Immunological Mediators as Clinical Prognosis Biomarkers in B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia Patients Undergoing Induction Therapy. *Frontiers in Oncology*, v. 11, p. 696032, 2021.



ORIGINAL RESEARCH
published: 27 September 2021
doi: 10.3389/fonc.2021.696032



Bone Marrow Soluble Immunological Mediators as Clinical Prognosis Biomarkers in B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia Patients Undergoing Induction Therapy

OPEN ACCESS

Edited by:

Benjamin Frey,
University Hospital Erlangen, Germany

Reviewed by:

Azza Mahmoud Kamel,
Cairo University, Egypt
Noriko Satake,
UC Davis Medical Center,
United States

*Correspondence:

Allyson Guimarães da Costa
allyson.gui.costa@gmail.com

[†]These authors have contributed
equally to this work

Specialty section:

This article was submitted to
Cancer Immunity
and Immunotherapy,
a section of the journal
Frontiers in Oncology

Received: 16 April 2021

Accepted: 25 August 2021

Published: 27 September 2021

Citation:

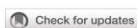
Kerr MWA, Magalhães-Gama F,
Ibiapina HNS, Hanna FSA,
Xabregas LA, Alves EB, Pimentel JPD,
Carvalho MPSS, Tarragô AM,
Teixeira-Carvalho A, Martins-Filho OA,
da Costa AG and Malheiro A (2021)
Bone Marrow Soluble Immunological
Mediators as Clinical Prognosis
Biomarkers in B-Cell Acute
Lymphoblastic Leukemia Patients
Undergoing Induction Therapy.
Front. Oncol. 11:696032.
doi: 10.3389/fonc.2021.696032

Marlon Wendell Athaydes Kerr^{1,2†}, Fábio Magalhães-Gama^{2,3,4,5†},
Hiochelson Najibe Santos Ibiapina^{6,7}, Fabíola Silva Alves Hanna^{1,2,3},
Lilyane Amorim Xabregas^{1,2}, Eliana Brasil Alves², João Paulo Diniz Pimentel²,
Maria Perpétuo Socorro Sampaio Carvalho^{1,2}, Andréa Monteiro Tarragô^{1,2,3},
Andréa Teixeira-Carvalho^{1,4,5}, Olindo Assis Martins-Filho^{1,4,5},
Allyson Guimarães da Costa^{1,2,3,6,7,8*} and Adriana Malheiro^{1,2,3}

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, Brazil, ² Diretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, Brazil, ³ Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Brazil, ⁴ Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Instituto René Rachou - Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) Minas, Belo Horizonte, Brazil, ⁵ Grupo Integrado de Pesquisas em Biomarcadores de Diagnóstico e Monitoração, Instituto René Rachou - FIOCRUZ Minas, Belo Horizonte, Brazil, ⁶ Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, UEA, Manaus, Brazil, ⁷ Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD), Manaus, Brazil, ⁸ Escola de Enfermagem de Manaus, UFAM, Manaus, Brazil

Different factors are used as predictors of unfavorable clinical outcomes in B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia (B-ALL) patients. However, new prognostic markers are needed in order to allow treatment to be more accurate, providing better results and an improved quality of life. In the present study, we have characterized the profile of bone marrow soluble mediators as possible biomarkers for risk group stratification and minimal residual disease (MRD) detection during induction therapy. The study featured 47 newly-diagnosed B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) patients that were categorized into subgroups during induction therapy according to risk stratification at day 15 [Low Risk (LR), Low Risk increasing to High Risk (LR→HR) and High Risk (HR)] and the MRD detection on day 35 (MRD⁽⁻⁾ and MRD⁽⁺⁾). Soluble immunological mediators (CXCL8, CCL2, CXCL9, CCL5, CXCL10, IL-1β, IL-6, TNF, IFN-γ, IL-17A, IL-4, IL-5, IL-10 and IL-2) were quantified by cytometric bead array and ELISA. Our findings demonstrated that increased levels of CCL5, IFN-γ and IL-2 at baseline appeared as putative candidates of good prognosis in LR and MRD⁽⁻⁾ subgroups, while CCL2 was identified as a consistent late biomarker associated with poor prognosis, which was observed on D35 in HR and MRD⁽⁺⁾ subgroups. Furthermore, apparently controversial data regarding IL-17A and TNF did not allow the definition of these molecules as either positive or negative biomarkers. These results contribute to the search for novel prognostic indicators, and indicate the

5. MAGALHÃES-GAMA, F.; ALVES-HANNA, F.S.; ARAÚJO, N.D.; BARROS, M.S.; SILVA, F.S.; CATÃO, C.L.S.; MORAES, J.S.; FREITAS, I.C.; TARRAGÔ, A.M.; MALHEIRO, A.; TEIXEIRA-CARVALHO, A.; COSTA, A.G. The Yin-Yang of myeloid cells in the leukemic microenvironment: Immunological role and clinical implications. *Frontiers in Immunology*, v. 13, p. 1-15, 2022.



OPEN ACCESS

EDITED BY
Shenghui Zhang,
First Affiliated Hospital of Wenzhou
Medical University, China

REVIEWED BY
Heiko Bruns,
University Hospital Erlangen, Germany
ANM Nazmul Khan,
University at Buffalo, United States

*CORRESPONDENCE
Allyson Guimarães Costa
allyson.gui.costa@gmail.com

[†]These authors have contributed
equally to this work

SPECIALTY SECTION
This article was submitted to
Cancer Immunology
and Immunotherapy,
a section of the journal
Frontiers in Immunology

RECEIVED 15 October 2022
ACCEPTED 14 November 2022
PUBLISHED 01 December 2022

CITATION
Magalhães-Gama F, Alves-Hanna FS,
Araújo ND, Barros MS, Silva FS,
Catão CLS, Moraes JS, Freitas IC,
Tarragô AM, Malheiro A,
Teixeira-Carvalho A and Costa AG
(2022) The Yin-Yang of myeloid cells
in the leukemic microenvironment:
Immunological role and clinical
implications.
Front. Immunol. 13:1071188.
doi: 10.3389/fimmu.2022.1071188

COPYRIGHT
© 2022 Magalhães-Gama,
Alves-Hanna, Araújo, Barros, Silva,
Catão, Moraes, Freitas, Tarragô,
Malheiro, Teixeira-Carvalho and Costa.
This is an open-access article
distributed under the terms of the
Creative Commons Attribution License
(CC BY). The use, distribution or
reproduction in other forums is
permitted, provided the original author
(s) and the copyright owner(s) are
credited and that the original
publication in this journal is cited, in
accordance with accepted academic
practice. No use, distribution or
reproduction is permitted which does
not comply with these terms.

The Yin-Yang of myeloid cells in the leukemic microenvironment: Immunological role and clinical implications

Fábio Magalhães-Gama^{1,2,3†}, Fabíola Silva Alves-Hanna^{1,4†},
Nilberto Dias Araújo^{1,4}, Mateus Souza Barros^{1,4},
Flavio Souza Silva^{1,4}, Claudio Lucas Santos Catão^{1,5},
Júlia Santos Moraes¹, Izabela Cabral Freitas¹,
Andréa Monteiro Tarragô^{1,4,5}, Adriana Malheiro^{1,4,5},
Andréa Teixeira-Carvalho^{1,2,3}
and Allyson Guimarães Costa^{1,2,4,5,6*}

¹Diretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, Brazil, ²Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Instituto René Rachou - Fundação Osvaldo Cruz (FIOCRUZ) Minas, Belo Horizonte, Brazil, ³Grupo Integrado de Pesquisas em Biomarcadores de Diagnóstico e Monitoração, Instituto René Rachou - FIOCRUZ Minas, Belo Horizonte, Brazil, ⁴Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Brazil, ⁵Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, Brazil, ⁶Escola de Enfermagem de Manaus, UFAM, Manaus, Brazil

The leukemic microenvironment has a high diversity of immune cells that are phenotypically and functionally distinct. However, our understanding of the biology, immunology, and clinical implications underlying these cells remains poorly investigated. Among the resident immune cells that can infiltrate the leukemic microenvironment are myeloid cells, which correspond to a heterogeneous cell group of the innate immune system. They encompass populations of neutrophils, macrophages, and myeloid-derived suppressor cells (MDSCs). These cells can be abundant in different tissues and, in the leukemic microenvironment, are associated with the clinical outcome of the patient, acting dichotomously to contribute to leukemic progression or stimulate antitumor immune responses. In this review, we detail the current evidence and the many mechanisms that indicate that the activation of different myeloid cell populations may contribute to immunosuppression, survival, or metastatic dissemination, as well as in immunosurveillance and stimulation of specific cytotoxic responses. Furthermore, we broadly discuss the interactions of tumor-associated neutrophils and macrophages (TANs and TAMs, respectively) and MDSCs in the leukemic microenvironment. Finally, we provide new perspectives on the potential of myeloid cell subpopulations as

6. KIONG, L. A.; HANNA, F.S.A.; SOUZA, G. L.; TARRAGO, A. M.; MALHEIRO, A.; PASSOS, L. N. M.; COSTA, A. G. Preditores de óbito em pacientes transplantados de Medula Óssea de um centro de referência na Amazônia brasileira. *Revista do Hospital Universitário Getúlio Vargas*, v. 21, p. 01-07, 2022.

<https://www.periodicos.ufam.edu.br/index.php/revistahugv>

Rev HUGV (Manaus), 2022 jan-dez; v21

Artigo Original

Preditores de óbito em pacientes transplantados de Medula Óssea de um centro de referência na Amazônia brasileira

Death predictors in Bone Marrow transplanted patients from a reference center in the Brazilian Amazon

Letícia Alencar Kiong¹, Fabíola Silva Alves Hanna^{1,3}, Gláucia Lima Souza^{1,2}, Andréa Monteiro Tarragô^{1,2}, Adriana Malheiro^{1,2,3}, Leny Nascimento Motta Passos^{1,2,4}, Allyson Guimarães Costa^{1,2,3,5}

Kiong I.A, Hanna F.S, Souza G.L., Tarrago A.M, Malheiro A., Passos L.N, Costa A.G. Preditores de óbito em pacientes transplantados de Medula Óssea de um centro de referência na Amazônia brasileira. *Death predictors in Bone Marrow transplanted patients from a reference center in the Brazilian Amazon*. Rev HUGV (Manaus), 2022 dez-jan; v21.

RESUMO

Os Transplantes de Medula Óssea (TMO) são indicados para pacientes com doenças que acometem as células sanguíneas, como leucemias e linfomas, e seu sucesso está associado a fatores biológicos, ambientais, psicossociais, econômicos, entre outros. Objetivos: Determinar o perfil clínico e epidemiológico dos pacientes encaminhados para TMO fora do estado do Amazonas, bem como a identificação de possíveis preditores de óbito nessa população. Material e métodos: Um estudo longitudinal retrospectivo foi realizado a partir de 163 pacientes transplantados de medula óssea da Fundação HEMOAM entre 2000 e 2017. Resultados: A faixa etária de 21 a 30 anos (22,08%) foi predominante, bem como pacientes do sexo masculino (61,34%), pardos (43,55%) e solteiros (62,50%). Aplasia medular (25,31%) foi a doença mais frequente associada ao óbito (OR: 3,76, IC 95%: 1,32-10,67, $p < 0,01$). Além disso, os pacientes que realizaram TMO entre 2001-2006 (OR: 2,52, IC 95%: 1,11-5,70, $p < 0,02$) e 2007-2012 (OR: 3,66, IC 95%: 1,61-8,29, $p < 0,00$) foram associados a maior risco de morte do que aqueles que realizaram TMO entre 2013-2017. Conclusão: Este é o primeiro estudo a descrever o perfil epidemiológico e clínico de pacientes submetidos a transplante de medula óssea no Amazonas. Logo, serve de apoio às políticas públicas do governo estadual e federal, que visam o desenvolvimento de um centro de transplantes na região.

Palavras-chave: Transplante de medula óssea; causa de morte; doenças hematológicas.

Abstract

Introduction: Bone Marrow Transplants (BMT) are indicated for patients with diseases that affect blood cells, such as leukemia and lymphoma, and their success is associated with biological, environmental, psychosocial, economic factors, among others. Objectives: To determine the clinical and epidemiological profile of patients referred for BMT outside the state of Amazonas, as well as to identify possible predictors of death in this population. Material and methods: A retrospective longitudinal study was carried out with 163 bone marrow transplant patients from the HEMOAM Foundation between 2000 and 2017. Results: The age group of 21 to 30 years (22.08%) was predominant, as well as patients from the male (61.34%), brown (43.55%) and single (62.50%). Medullary aplasia (25.31%) was the most frequent disease associated with death (OR: 3.76, 95% CI: 1.32-10.67, $p < 0.01$). In addition, patients who underwent BMT between 2001-2006 (OR: 2.52, 95% CI: 1.11-5.70, $p < 0.02$) and 2007-2012 (OR: 3.66, CI 95 %: 1.61-8.29, $p < 0.00$) were associated with a higher risk of death than those who underwent BMT between 2013-2017. Conclusion: This is the first study to describe the epidemiological and clinical profile of patients undergoing bone marrow transplantation in the Amazon. Therefore, it supports public policies of the state and federal government, which aim to develop a transplant center in the region.

Keywords: Bone marrow transplant; cause of death; hematological diseases.

1. Diretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, AM, Brazil;

2. Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, AM, Brazil;

3. Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil;

4. Secretaria de Estado de Saúde, SES, Manaus, AM, Brazil;

5. Escola de Enfermagem de Manaus, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil;

7. XABREGAS, L.A.; HANNA, F.S.A.; MAGALHÃES-GAMA, F.; SOUZA, G.L.; PEREIRA, D.S.; LIMA, A.B.; TORO, D.M.; SANTIAGO, M.R.R.; MOTTA, P.L.N.; TARRAGÔ, A.M.; MALHEIRO, A.; COSTA, A.G. Association of Toll-like receptors polymorphisms with the risk of acute lymphoblastic leukemia in the Brazilian Amazon. *Scientific Reports*, v. 12, p. 151-159, 2022.

www.nature.com/scientificreports

scientific reports



OPEN

Association of Toll-like receptors polymorphisms with the risk of acute lymphoblastic leukemia in the Brazilian Amazon

Lilyane Amorim Xabregas^{1,2}, Fabíola Silva Alves Hanna^{1,2,3}, Fábio Magalhães-Gama^{3,4}, Gláucia Lima Souza^{1,2}, Daniele Sá Pereira^{1,2}, Amanda Barros de Lima^{2,3}, Diana Mota Toro³, Mirian Rodrigues Ribeiro Santiago^{1,2}, Leny Nascimento da Motta Passos^{1,2}, Andréa Monteiro Tarragô^{1,2,5}, Adriana Malheiro^{1,2,3,5} & Allyson Guimarães Costa^{1,2,3,4,5,6,7}✉

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common hematologic malignancy in children in childhood. Single-nucleotide polymorphism (SNPs) in key molecules of the immune system, such as Toll-like receptors (TLRs) and CD14 molecules, are associated with the development of several diseases. However, their role in ALL is unknown. A case-control study was performed with 152 ALL patients and 187 healthy individuals to investigate the role of SNPs in TLRs and the CD14 gene in ALL. In this study, *TLR6 C > T rs5743810* [OR: 3.20, 95% CI: 1.11–9.17, $p = 0.003$] and *TLR9 C > T rs187084* (OR: 2.29, 95% CI: 1.23–4.26, $p = 0.000$) seems to be a risk for development of ALL. In addition, the *TLR1 T > G rs5743618* and *TLR6 C > T rs5743810* polymorphisms with protection against death (OR: 0.17, 95% CI: 0.04–0.79, $p = 0.008$; OR: 0.48, 95% CI: 0.24–0.94, $p = 0.031$, respectively). Our results show that SNPs in *TLRs* genes may be involved in the pathogenesis of ALL and may influence clinical prognosis; however, further studies are necessary to elucidate the role of *TLR1*, *TLR4*, *TLR5*, *TLR6*, *TLR9* and *CD14* polymorphisms in this disease.

Leukemia (acute and chronic) represents the 10th most frequent cause of cancer worldwide¹. In Brazil, for the triennium 2020–2022, approximately 10,810 new cases in women and men are expected and approximately 300 new cases in North region of Brazil, where leukemia (acute and chronic) is the fifth most frequent cancer^{2,3}. The most common type of leukemia in childhood is acute lymphoblastic leukemia (ALL) with a prevalence up to 25% of cancers in children who are under the age of 15 years⁴.

The neoplastic process results from genetic errors that contribute to blocking cell maturation and accumulation of leukemic clones (blasts) in the bone marrow microenvironment. Its etiology is still unknown; however, some risk factors are associated, including environmental, genetic and infectious factors^{5,6}. Evidence from previous studies suggests that ALL is related to a deficit in immune system regulation in early childhood^{7–12}. Furthermore, it is suggested that polymorphisms or genetic variations in the genes of molecules that are important in the development and progression of diseases may be important factors in the increase of intrinsic biological differences, influencing clinically distinct results and conferring genetic susceptibility to cancer^{13,14}.

Toll-like receptors make up the main family of pattern recognition receptors (PRRs) of the innate immune system, and are involved in fighting pathogens and inflammation, and recognizing pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) and damage-associated molecular patterns (DAMPs), which thus modulates the immune response via the activation of cells that mediate the immune response. In addition, TLRs are vital molecules

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, AM, Brazil. ²Diretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Av. Constantino Nery, 4397, Chapada, Manaus, AM 69050-001, Brazil. ³Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil. ⁴Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Instituto René Rachou – Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) Minas, Belo Horizonte, Brazil. ⁵Rede Genômica de Vigilância em Saúde do Amazonas (REGESAM), Manaus, AM, Brazil. ⁶Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, AM, Brazil. ⁷Escola de Enfermagem de Manaus, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, AM, Brazil. ✉email: allyson.gui.costa@gmail.com

8. SILVA, FS; BARROS-LIMA, A; SOUZA-BARROS, M; CRESPO-NETO, JA; SANTOS, VGR; PEREIRA, DS; ALVES-HANNA, FS; MAGALHÃES-GAMA, F; FARIA, JAQA; COSTA, AG. A dual-role for IL-10: From leukemogenesis to the tumor progression in acute lymphoblastic leukemia. *Cytokine*. 2023.

Cytokine 171 (2023) 156371



Contents lists available at ScienceDirect

Cytokine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/cytokine

A dual-role for IL-10: From leukemogenesis to the tumor progression in acute lymphoblastic leukemia

Flavio Souza Silva^{a,b,1}, Amanda Barros-Lima^{a,b,1}, Mateus Souza-Barros^{a,b}, Juniel Assis Crespo-Neto^b, Vitória Giovanna Rodrigues Santos^b, Daniele Sá Pereira^{a,b,c}, Fabíola Silva Alves-Hanna^{a,b}, Fábio Magalhães-Gama^{b,d}, Jerusa Araújo Quintão Arantes Faria^a, Allyson Guimarães Costa^{a,b,c,e,*}

^a Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Brazil

^b Diretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, Brazil

^c Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, Brazil

^d Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Instituto René Rachou - Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) Minas, Belo Horizonte, Brazil

^e Escola de Enfermagem de Manaus, UFAM, Manaus, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Childhood leukemia
Leukemogenesis
Tumor microenvironment
Immune suppressive cytokine
Antitumor immunity

ABSTRACT

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common pediatric cancer in the world, and accounts for 25% of all childhood cancers among children under 15 years of age. Longitudinal studies have shown that children with ALL are born with a deregulated immune response that, together with postnatal environmental exposures, favor the onset of the disease. In this context, IL-10, a key cytokine in the regulation of the immune response, presents itself as a paradoxical mediator, initially influencing the development of ALL through the regulation of inflammatory processes and later on the progression of malignancy, with the increase of this molecule in the leukemia microenvironment. According to the literature, this cytokine plays a critical role in the natural history of the disease and plays an important role in two different though complex scenarios. Thus, in this review, we explore the dual role of IL-10 in ALL, and describe its biological characteristics, immunological mechanisms and genetics, as well as its impact on the leukemia microenvironment and its clinical implications.

1. Introduction

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) represents the most common pediatric cancer in the world, though it can also affect individuals in adulthood, with peak incidence in patients between 2 and 5 years of age and after 50 years of age [1,2]. ALL is characterized by the abnormal proliferation of hematopoietic lymphoid precursors, and results in the accumulation of malignant clones in the bone marrow, with release into peripheral blood and extramedullary tissues [3]. During the blood cell formation process, some stimuli can promote genetic alterations, thus deregulating the hematopoietic microenvironment and facilitating

oncogenesis [4–6]. In addition, these mutations directly affect the expression of specific genes that are associated with cell survival and the emergence of ALL [7].

In this context, interleukin-10 (IL-10), a key cytokine in immune regulation, has been shown to play a dual role in the development and progression of ALL [8,9]. It was observed that the decrease in IL-10 levels in the neonatal period increases the susceptibility to the development of ALL [8,10]. On the other hand, high levels of IL-10 were observed at the time of diagnosis, which indicates an immunosuppressive effect on the leukemia microenvironment, thereby decreasing the specific cytotoxic response, and promoting chemoresistance and

Abbreviations: ALL, Acute lymphoblastic leukemia; B-ALL, B-cell acute lymphoblastic leukemia; T-ALL, T-cell acute lymphoblastic leukemia; AML, Acute myeloid leukemia; IL-10, Interleukin-10; TGF- β , Transforming growth factor beta; CTL, Cytotoxic T lymphocyte; Treg, Regulatory T-cell; NK, Natural killer; MRD, Measurable residual disease; HSCs, Hematopoietic stem cells; IL-10R, Interleukin-10 receptor; IL-10R1, Interleukin-10 receptor 1; IL-10R2, Interleukin-10 receptor 2; IL-1 β , Interleukin-1 beta; IL-1 α , Interleukin-1 alpha; IL-6, Interleukin-6; IL-12, Interleukin-12; IL-13, Interleukin-13; GM-CSF, Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; IL-35, Interleukin-35.

* Corresponding author at: EEM/UFAM, Rua Tereza, 495, Adrianópolis, Manaus, AM CEP 69057-070, Brazil.

E-mail addresses: allyson.gui.costa@gmail.com, allyson@ufam.edu.br (A.G. Costa).

¹ These authors contributed equally to this work.

<https://doi.org/10.1016/j.cyto.2023.156371>

Received 28 June 2023; Received in revised form 10 September 2023; Accepted 12 September 2023

Available online 17 September 2023

1043-4666/© 2023 Elsevier Ltd. All rights reserved.

9. SILVA-JUNIOR, A.L.; OLIVEIRA, L.S.; DIAS, S.; COSTA, T.C.C.; XABREGAS, L.A.; ALVES-HANNA, F.S.; ABRAHIM, C.M.M.; NEVES, W.L.L.; CRISPIM, M.A.E.; TORO, D.M.; SILVA-NETO, P.V.; APONTE, D.C.M.; OLIVEIRA, T.C.; SILVA, M.C.C.; MATOS, M.M.M.; CARVALHO, M.P.S.S.; TARRAGÔ, A.M.; FRAIJI, N.A.; FACCIOLI, L.H.; SORGI, C.A.; SABINO, E.C.; TEIXEIRA-CARVALHO, A.; MARTINS-FILHO, O.A.; COSTA, A.G.; MALHEIRO, A. Immunologic mediators profile in COVID-19 convalescence. *Scientific Reports* 14, 20930, 2024.

www.nature.com/scientificreports

scientific reports

Check for updates

OPEN Immunologic mediators profile in COVID-19 convalescence

Alexander Leonardo Silva-Junior^{1,2}, Lucas Silva Oliveira^{1,2}, Stephanny Dias^{2,3}, Thaina Cristina Cardoso Costa², Lilyane Amorim Xabregas², Fabiola Silva Alves-Hanna^{2,4}, Cláudia Maria Moura Abraham², Walter Luiz Lima Neves², Myuki Alfaia Esashika Crispim², Diana Mota Toro⁴, Pedro Vieira Silva-Neto⁴, Danielle Costa Marques Aponte⁵, Tatiana Campos Oliveira⁶, Maria Carmo Costa Silva⁷, Mihar Maguinoria Matsuura Matos⁶, Maria Perpétuo Socorro Sampaio Carvalho², Andrea Monteiro Tarragô^{2,3,7}, Nelson Abraham Fraiji², Lúcia Helena Faccioli⁸, Carlos Artério Sorgi^{4,5}, Ester Cerdeira Sabino⁹, Andrea Teixeira-Carvalho¹⁰, Olindo Assis Martins-Filho¹⁰, Allyson Guimarães Costa^{2,3,4,7} & Adriana Malheiro^{1,2,3,4,7}✉

SARS-CoV-2 caused the pandemic situation experienced since the beginning of 2020, and many countries faced the rapid spread and severe form of the disease. Mechanisms of interaction between the virus and the host were observed during acute phase, but few data are available when related to immunity dynamics in convalescents. We conducted a longitudinal study, with 51 healthy donors and 62 COVID-19 convalescent patients, which these had a 2-month follow-up after symptoms recovery. Venous blood sample was obtained from all participants to measure blood count, subpopulations of monocytes, lymphocytes, natural killer cells and dendritic cells. Serum was used to measure cytokines, chemokines, growth factors, anti-N IgG and anti-S IgG/IgM antibodies. Statistic was performed by Kruskal–Wallis test, and linear regression with days post symptoms and antibody titers. All analysis had confidence interval of 95%. Less than 35% of convalescents were anti-S IgM+, while more than 80% were IgG+ in D30. Anti-N IgG decreased along time, with loss of seroreactivity of 13%. Eosinophil count played a distinct role on both antibodies during all study, and the convalescence was orchestrated by higher neutrophil-to-lymphocyte ratio and IL-15, but initial stages were marked by increase in myeloid DCs, B1 lymphocytes, inflammatory and patrolling monocytes, G-CSF and IL-2. Later convalescence seemed to change to cytotoxicity mediated by T lymphocytes, plasmacytoid DCs, VEGF, IL-9 and CXCL10. Anti-S IgG antibodies showed the longest perseverance and may be a better option for diagnosis. The inflammatory pattern is yet present on initial stage of convalescence, but quickly shifts to a reparative dynamic. Meanwhile eosinophils seem to play a role on anti-N levels in convalescence, although may not be the major causative agent. We must highlight the importance of immunological markers on acute clinical outcomes, but their comprehension to potentialize adaptive system must be explored to improve immunizations and further preventive policies.

Keywords Severe acute respiratory syndrome (SARS), Immune hallmarks, Antibody, Brazil

COVID-19 is a global viral disease caused by the Betacoronavirus known as Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2). It primarily affects the lungs, leading to both local and systemic complications. Among individuals with no prior immunity, or those with comorbidities associated to worse outcomes, an

¹Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil. ²Departamento de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, AM, Brazil. ³Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, AM, Brazil. ⁴Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil. ⁵Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil. ⁶Hospital Universitário Getúlio Vargas (HUGV), Manaus, AM, Brazil. ⁷Rede Genômica em Saúde do Estado do Amazonas (REGESAM), Manaus, AM, Brazil. ⁸Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil. ⁹Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil. ¹⁰Grupo Integrado de Pesquisas em Biomarcadores, Instituto René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ-Minas), Belo Horizonte, MG, Brazil. ✉email: allyson.gui.costa@gmail.com; malheiroadriana@yahoo.com.br

10. MAGALHÃES-GAMA, F.; MALHEIROS, M.A.S.; NEVES, J.C.F.; ARAÚJO, N.D., ALVES-HANNA, F.S.; KERR, M.W.A.; CARVALHO, M.P.S.S.; TARRAGÔ, A.M., SOARES, P.G.; MARTINS-FILHO, O.A., MALHEIRO, A.; TEIXEIRA-CARVALHO, A.; COSTA, A.G. Exploring cell-derived extracellular vesicles in peripheral blood and bone marrow of B-cell acute lymphoblastic leukemia pediatric patients: proof-of-concept study. *Frontiers in Immunology*. Vol 15, 2024.



TYPE Original Research
PUBLISHED 21 August 2024
DOI 10.3389/fimmu.2024.1421036



OPEN ACCESS

EDITED BY
Paulo Rodrigues-Santos,
University of Coimbra, Portugal

REVIEWED BY
Mauro Di Ianni,
University of Studies G. d'Annunzio Chieti and
Pescara, Italy
Olga Janouskova,
Jan Evangelista Purkyně University in Ústí nad
Labem, Czechia

*CORRESPONDENCE
Allyson Guimarães Costa
✉ allyson.gui.costa@gmail.com

†These authors share senior authorship

RECEIVED 21 April 2024
ACCEPTED 25 July 2024
PUBLISHED 21 August 2024

CITATION
Magalhães-Gama F,
Malheiros Araujo Silvestrini M, Neves JCF,
Araújo ND, Alves-Hanna FS, Kerr MWA,
Carvalho MPSS, Tarragô AM, Soares Pontes G,
Martins-Filho OA, Malheiro A,
Teixeira-Carvalho A and Costa AG (2024)
Exploring cell-derived extracellular vesicles in
peripheral blood and bone marrow of B-cell
acute lymphoblastic leukemia pediatric
patients: proof-of-concept study.
Front. Immunol. 15:1421036.
doi: 10.3389/fimmu.2024.1421036

COPYRIGHT
© 2024 Magalhães-Gama,
Malheiros Araujo Silvestrini, Neves, Araújo,
Alves-Hanna, Kerr, Carvalho, Tarragô,
Soares Pontes, Martins-Filho, Malheiro,
Teixeira-Carvalho and Costa. This is an open-
access article distributed under the terms of
the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)
(CC BY). The use, distribution or reproduction
in other forums is permitted, provided the
original author(s) and the copyright owner(s)
are credited and that the original publication
in this journal is cited, in accordance with
accepted academic practice. No use,
distribution or reproduction is permitted
which does not comply with these terms.

Exploring cell-derived extracellular vesicles in peripheral blood and bone marrow of B-cell acute lymphoblastic leukemia pediatric patients: proof-of-concept study

Fábio Magalhães-Gama^{1,2,3,4},
Marina Malheiros Araújo Silvestrini^{3,4},
Juliana Costa Ferreira Neves^{2,5}, Nilberto Dias Araújo^{1,2,6},
Fabiola Silva Alves-Hanna^{1,2}, Marlon Wendell Athaydes Kerr^{2,6},
Maria Perpétuo Socorro Sampaio Carvalho^{2,6},
Andréa Monteiro Tarragô^{2,6}, Gemilson Soares Pontes^{1,6,7},
Olindo Assis Martins-Filho^{3,4,6}, Adriana Malheiro^{1,2,6},
Andréa Teixeira-Carvalho^{3,4,6†}
and Allyson Guimarães Costa^{1,2,6*}

¹Programa de Pós-graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, Brazil, ²Diretoria de Ensino e Pesquisa, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, Brazil, ³Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Instituto René Rachou - Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) Minas, Belo Horizonte, Brazil, ⁴Grupo Integrado de Pesquisas em Biomarcadores, Belo Horizonte, Brazil, ⁵Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical, Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, Brazil, ⁶Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia, UEA, Manaus, Brazil, ⁷Laboratório de Virologia e Imunologia, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, Brazil

Extracellular vesicles (EVs) are heterogeneous, phospholipid membrane enclosed particles that are secreted by healthy and cancerous cells. EVs are present in diverse biological fluids and have been associated with the severity of diseases, which indicates their potential as biomarkers for diagnosis, prognosis and as therapeutic targets. This study investigated the phenotypic characteristics of EVs derived from peripheral blood (PB) and bone marrow (BM) in pediatric patients with B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) during different treatment stages. PB and BM plasma were collected from 20 B-ALL patients at three time points during induction therapy, referred to as: diagnosis baseline (D0), day 15 of induction therapy (D15) and the end of the induction therapy (D35). In addition, PB samples were collected from 10 healthy children at a single

Abbreviations: ADAM17, A Disintegrin and Metalloproteinase 17; AUC, area under the curve; ATG3, Autophagy Related Protein 3; B-ALL, B cell acute lymphoblastic leukemia; BM, bone marrow; CD, cluster of differentiation; D0, diagnosis baseline; D15, day 15 of the induction therapy; D35, end of the induction therapy; EVs, extracellular vesicles; IQR, interquartile range; ISEV, International Society for Extracellular Vesicles; LR, likelihood ratio; mAb, monoclonal antibody; NTA, nanoparticle tracking analysis; PB, peripheral blood; ROC, receiver operating characteristic; RT, room temperature; SEM, scanning electron microscopy; Se, sensitivity; Sp, specificity; TEM, transmission electron microscopy.

8.6 Resumos publicados em anais de eventos no período do Doutorado

1. RIBEIRO, T. L. P.; GAMA, F. M.; BARROS, M. S.; SILVA, F. S.; MORAES, J. S.; **HANNA, FSA**; COSTA, A. G.; ARAUJO, N. D. Frequência de Células Natural Killer e T Natural Killer em Pacientes Pediátricos Recém-diagnosticados com Leucemia Linfoblástica Aguda de Células B. In: 6º Congresso Pan-Amazônico de Oncologia, 2021,
2. PEREIRA, D. S.; **HANNA, F.S.A.**; GAMA, F. M.; SOUZA, G. L.; MALHEIRO, A.; TARRAGO, A. M.; COSTA, A. G. Associação do polimorfismo no gene NLRP3 3'UTR G>C com comorbidades infecciosas em pacientes pediátricos com leucemia linfóide aguda. In: 6º Congresso Pan-Amazônico de Oncologia, 2021, Manaus.
3. MORAES, J. S.; GAMA, F. M.; RIBEIRO, T. L. P.; BARROS, M. S.; SILVA, F. S.; **ALVES, F.S.**; ARAUJO, N. D.; TARRAGO, A. M.; MALHEIRO, A.; COSTA, A. G. Increased anaphylatoxins in pediatric patients with newly diagnosed b-cell acute lymphoblastic leukemia. In: XLV Annual Meeting of the Brazilian Society of Immunology, 2021, Online.
4. BARROS, M. S.; SILVA, F. S.; GAMA, F. M.; RIBEIRO, T. L. P.; MORAES, J. S.; **ALVES, FÁBIO LA SILVA**; TARRAGO, A. M.; MALHEIRO, A.; COSTA, A. G. Frequency of mait cells and $\gamma\delta$ t cells in patients with newly diagnosed b-cell acute lymphoblastic leukemia. In: XLV Annual Meeting of the Brazilian Society of Immunology, 2021. XLV Annual Meeting of the Brazilian Society of Immunology, 2021.
5. SILVA, FS.; GAMA, FM.; DE SOUZA BARROS, MATEUS; RIBEIRO, THAÍS LOHANA PEREIRA; MORAES, JS.; DE ARAÚJO, ND; **ALVES, FS.**; TARRAGÔ, AM; MALHEIRO, A; COSTA, AG. Desvendando o Papel das Subpopulações de Células Mielóides na Leucemia. In: XIII Curso de Inverno em Imunologia, 2021, Ribeirão Preto - SP. Anais do XIII Curso de Inverno em Imunologia, 2021.
6. MORAES, J. S.; GAMA, F. M.; BARROS, M. S.; SILVA, F. S.; FREITAS, I. C.; **HANNA, FSA**; TARRAGÔ, A.M; ARAUJO, N. D.; MALHEIRO, A.; COSTA, A. G. Association of serum levels of mannose-binding lectin with the susceptibility of infections in pediatric patients with acute lymphoblastic

- leukemia. In: 7th International Symposium on Immunology and Hematology, 2022, Manaus.
7. SILVA, F. S.; GAMA, F. M.; BARROS, M. S.; CATÃO, CLAUDIO LUCAS SANTOS; MORAES, J. S.; FREITAS, I. C.; **HANNA, FSA**; ARAUJO, N. D.; TEIXEIRA-CARVALHO, A.; COSTA, A. G. Immunological role of myeloid cells in the leukemic microenvironment and their clinical implications. In: 7th International Symposium on Immunology and Hematology, 2022, Manaus.
 8. **HANNA, FSA**; PEREIRA, D. S.; SOUZA, G. L.; LIMA, A. B.; MAGALHÃES-GAMA, F.; TARRAGO, A. M.; MALHEIRO, A.; COSTA, A. G. Associação do polimorfismo NLRP3 C/T rs10754558 com o aumento de blastos na medula óssea em pacientes com leucemia linfoblástica aguda. In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular, 2022, São Paulo. Hematology, Transfusion and Cell Therapy. Rio de Janeiro: Elsevier, 2022. v. 44. p. S155-S156.
 9. MAGALHÃES-GAMA, F.; SILVESTRINI, M. M. A.; NEVES, J. C. F.; MORAES, J. S.; **HANNA, FSA**; PONTES, G. S.; MARTINS FILHO, O. A.; MALHEIRO, A.; TEXEIRA-CARVALHO, A.; COSTA, A. G. Caracterização do perfil de microvesículas circulantes em pacientes pediátricos com leucemia linfoblástica aguda de células B submetidos a quimioterapia de remissão. In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular, 2022, São Paulo. Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 2022. v. 44. p. S332-S332.
 10. MORAES, J. S.; MAGALHÃES-GAMA, F.; SILVA, F. S.; BARROS, M. S.; ARAUJO, N. D.; **HANNA, FSA**; CARVALHO, M. P. S. S.; TARRAGO, A. M.; MALHEIRO, A.; COSTA, A. G. Avaliação do perfil de anafilotoxinas em pacientes pediátricos com leucemia linfoblástica aguda de células B submetidos a quimioterapia de remissão. In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular, 2022, São Paulo. Hematology, Transfusion and Cell Therapy. Rio de Janeiro: Elsevier, 2022. v. 44. p. S340-S341.
 11. CRESPO NETO, J. A.; **HANNA, FSA**; NOGUEIRA, G. M.; FONSECA, J. R. F.; SOUZA, G. L.; PEREIRA, D. S.; LIMA, A. B.; TARRAGO, A. M.; MALHEIRO, A.; COSTA, A. G. Associação do polimorfismo IL1B rs16944 com parâmetros laboratoriais em pacientes diagnosticados com leucemia linfoblástica aguda. In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular,

- 2022, São Paulo. Hematology, Transfusion and Cell Therapy. Rio de Janeiro: Elsevier, 2022. v. 44. p. S66-S67.
12. CRESPO, JA.; SOUZA, GL.; NOGUEIRA, GM.; PEREIRA, DS.; GAMA, FM.; **ALVES**, FS.; COSTA, AG. Associação do polimorfismo CASP1 rs570685 A>C com o risco de desenvolver leucemia linfoblástica aguda. In: 7º Congresso Pan-Amazônico de Oncologia, 2023, Manaus-AM. Anais do 7º Congresso Pan-Amazônico de Oncologia, 2023.
 13. PEREIRA, DS.; FONSECA, JRF.; NOGUEIRA, GM.; MALHEIRO, A; **ALVES**, FS.; COSTA, AG. Caracterização da expressão de genes antiapoptóticos na resposta a terapia de indução em pacientes com Leucemia Linfoblástica Aguda. In: 7º Congresso Pan-Amazônico de Oncologia, 2023, Manaus-AM. Anais do 7º Congresso Pan-Amazônico de Oncologia, 2023.
 14. SILVA, F. S.; MAGALHÃES-GAMA, F.; CARVALHO, M. P. S. S.; NEVES, J. C. F.; CATAO, C. L. S.; BARROS, M. S.; **ALVES-HANNA**, F. S.; ARAÚJO, N. D.; MALHEIRO, A.; MARTINS-FILHO, O. A.; TEIXEIRA-CARVALHO, A.; COSTA, A. G. Treg cells and il-10 profile in peripheral blood samples of b-cell acute lymphoblastic leukemia patients undergoing induction therapy In: XLVII Annual Meeting of the Brazilian Society of Immunology, 2023.
 15. RIBEIRO, T. L. P.; NOGUEIRA, G. M.; BARROS, M. S.; PEREIRA, D. S.; SANTOS, V.; CRESPO NETO, J. A.; **HANNA**, FSA; COSTA, A. G. Human leukocyte antigen (hla)-g: as an invisibility cloak for tumor cells in hematological malignancies In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular, 2023, São Paulo. Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular. 2023.
 16. SOUZA, G. L.; **HANNA**, FSA; FONSECA, J. R. F.; PEREIRA, D. S.; NOGUEIRA, GLENDA MENEZES; CRESPO NETO, J. A.; ARAUJO, N. D.; MALHEIRO, A.; COSTA, A. G. Frequência das translocações cromossômicas em pacientes com leucemia linfóide e mieloide aguda em um centro de referência da amazônia brasileira In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular, 2023, São Paulo.
 17. MAGALHÃES-GAMA, F.; SILVESTRENI, M.; SILVA, F. S.; BARROS, M. S.; MORAES, J. S.; FREITAS, I. C.; **ALVES-HANNA**, F. S.; NEVES, J. C. F.; ARAUJO, N. D. Desenvolvimento de painel de biomarcadores imunológicos

como instrumento preditivo de prognóstico e resposta clínica à quimioterapia de remissão em pacientes pediátricos com leucemia linfoblástica aguda de células B In: Jornada Científica e 31ª Reunião Anual de Iniciação Científica, 2023, Belo Horizonte.

18. NOGUEIRA, G. M.; **HANNA**, FSA; CRESPO NETO, J. A.; SOUZA, G. L.; RIBEIRO, T. L. P.; PEREIRA, D. S.; FONSECA, J. R. F.; GAMA, F. M.; COSTA, A. G. Associação do polimorfismo CARD8 rs2043211 A>T com o risco de desenvolvimento de leucemia linfoblástica aguda In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular, 2023, São Paulo.
19. COSTA, A.G.; GAMA, FM.; SILVESTRINI, MMA.; NEVES, JCF.; DE ARAÚJO, ND; **HANNA**, FSA.; TARRAGÔ, AM; PONTES, GS.; Martins-Filho, OA.; MALHEIRO, A; Teixeira-Carvalho, A. Cell-Derived Extracellular Vesicles from Peripheral Blood and Bone Marrow in Pediatric Patients with B Cell Acute Lymphoblastic Leukemia during different Treatment Stages. In: XLVIII Congress of the Brazilian Society of Immunology (NEURO IMMUNO 2024), 2024, Fortaleza/CE. Anais do XLVIII Congress of the Brazilian Society of Immunology (NEURO IMMUNO 2024), 2024.
20. GONCALVES, LGM.; XABREGAS, LA.; NOGUEIRA, GM.; SANTOS, LS.; RIBEIRO, TLP.; SOUZA, GL.; PEREIRA, DS.; GAMA, FM.; **HANNA**, FSA.; COSTA, AG. Association of TLR9 C>T rs5743836 Variant with Risk of Developing Acute Lymphoblastic Leukemia. In: 8th International Symposium on Immunology and Hematology, 2024, Manaus-AM. Anais do 8th International Symposium on Immunology and Hematology, 2024.
21. SANTOS, LS.; SOUZA, GL.; NOGUEIRA, GM.; RIBEIRO, TLP.; GONCALVES, LGM.; PEREIRA, DS.; GAMA, FM.; MALHEIRO, A; **HANNA**, FSA.; COSTA, AG. Association of the AIM2 C>T rs1103577 Variant with the Risk of Developing Acute Lymphoblastic Leukemia. In: 8th International Symposium on Immunology and Hematology, 2024, Manaus-AM. Anais do 8th International Symposium on Immunology and Hematology, 2024.
22. SEIXAS, KB.; GAMA, FM.; NEVES, JCF.; MORAES, JS.; FREITAS, IC.; GHEDINI, JGS.; **HANNA**, FSA.; Martins-Filho, OA.; Teixeira-Carvalho, A.; COSTA, AG. Impact of Matrix Metalloproteinases and their Inhibitors in B-Cell Lymphoblastic Leukemia: A Literature Review. In: 8th International Symposium

- on Immunology and Hematology, 2024, Manaus-AM. Anais do 8th International Symposium on Immunology and Hematology, 2024.
23. NOGUEIRA, GM.; GONCALVES, LGM.; RIBEIRO, TLP.; SANTOS, LS.; SOUZA, GL.; PEREIRA, DS.; **HANNA**, FSA.; COSTA, AG. Association of the NLRP1 A>T rs12150220 Polymorphism with Protection Against Infectious Comorbidities in Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia. In: 8th International Symposium on Immunology and Hematology, 2024, Manaus-AM. Anais do 8th International Symposium on Immunology and Hematology, 2024.
 24. SILVA, FS.; GAMA, FM.; NEVES, JCF.; **HANNA**, FSA.; PEREIRA, DS.; CARVALHO, MPSS.; DE ARAÚJO, ND; Martins-Filho, OA.; Teixeira-Carvalho, A.; COSTA, AG. Profile of Circulating Microvesicles Derived from Regulatory T Cells and Soluble Immune Mediators in Pediatric Patients with B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. In: 8th International Symposium on Immunology and Hematology, 2024, Manaus-AM. Anais do 8th International Symposium on Immunology and Hematology, 2024.
 25. **HANNA**, FSA.; NOGUEIRA, GM.; CRESPO-NETO, JA.; SOUZA, GL.; SANTOS, LS.; PEREIRA, DS.; GAMA, FM.; SANTIAGO, MRR.; MALHEIRO, A; COSTA, AG. Association Between CARD8 A>T rs2043211 Polymorphism and the Risk of Death in Acute Lymphoblastic Leukemia. In: 8th International Symposium on Immunology and Hematology, 2024, Manaus-AM. Anais do 8th International Symposium on Immunology and Hematology, 2024.
 26. LIMA, AB.; **HANNA**, FSA.; GAMA, FM.; PEREIRA, DS.; SILVA, FS.; CRESPO-NETO, JA.; SANTIAGO, MRR.; MALHEIRO, A; SILVA, GAV.; COSTA, AG. Influence of Single Nucleotide Variants of the IL10 Gene in Clinical Prognosis of Pediatric Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia. In: 8th International Symposium on Immunology and Hematology, 2024, Manaus-AM. Anais do 8th International Symposium on Immunology and Hematology, 2024.
 27. GAMA, F. M.; SILVESTRINI, M. M. A.; NEVES, J. C. F.; ARAUJO, N. D.; **ALVES**, FS; CARVALHO, M. P. S. S.; PONTES, G. S.; TARRAGÔ, A. M.; MARTINS-FILHO, O. A.; MALHEIRO, A.; TEIXEIRA-CARVALHO, A.; COSTA, A. G. Profile of cell-derived microvesicles in B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia pediatric patients undergoing induction therapy: A pilot

study In: Ist Brazilian NanoScale Workshop: Exploring Extracellular Vesicles, 2024.