



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
NÚCLEO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TRANSLACIONAL

RENAN BRITO GADELHA

ANÁLISE DA EXPRESSÃO DOS GENES *WRAP53* E *hTERT* COMO POTENCIAIS
BIOMARCADORES MOLECULARES EM PACIENTES COM LEUCEMIA
MIELOIDE AGUDA

FORTALEZA-CE
2024

RENAN BRITO GADELHA

**ANÁLISE DA EXPRESSÃO DOS GENES *WRAP53* E *hTERT* COMO POTENCIAIS
BIOMARCADORES MOLECULARES EM PACIENTES COM LEUCEMIA
MIELOIDE AGUDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Translacional da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Medicina Translacional.

Orientador: Prof.^a Dra. Caroline de Fátima Aquino Moreira Nunes

FORTALEZA-CE

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- G12a Gadelha, Renan Brito.
Análise da expressão dos genes WRAP53 e hTERT como potenciais biomarcadores moleculares em pacientes com leucemia mieloide aguda / Renan Brito Gadelha. – 2024.
86 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina Translacional, Fortaleza, 2024.
Orientação: Profa. Dra. Caroline de Fátima Aquino Moreira Nunes.
1. Leucemia Mieloide Aguda. 2. Biomarcadores tumorais. 3. Expressão Gênica. I. Título.
CDD 610
-

RENAN BRITO GADELHA

**ANÁLISE DA EXPRESSÃO DOS GENES *WRAP53* E *hTERT* COMO POTENCIAIS
BIOMARCADORES MOLECULARES EM PACIENTES COM LEUCEMIA
MIELOIDE AGUDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina Translacional da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Medicina Translacional.

Orientadora: Profa Dr.^a Caroline de Fátima Aquino Moreira Nunes

Aprovada em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Caroline Aquino Moreira-Nunes (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. André Salim Khayat
Universidade Federal do Pará (UFPA)

Profa. Dra. Ana Virginia Van den Berg
Universidade Federal do Pará (UFPA)

Profa. Dra. Roberta Taiane Germano de Oliveira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

FORTALEZA-CE

2024

DEDICATÓRIA

Dedico esta conquista a Deus, à minha família, à minha orientadora e, especialmente, aos pacientes que generosamente aceitaram contribuir para a ciência. Agradeço de todo o coração.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente à minha família, principalmente aos meus pais por nunca deixarem faltar nada na minha vida, sempre me dando todo apoio em meus estudos. Obrigada por todo o amor e carinho sempre.

À Caroline Aquino, minha orientadora, é uma honra ser guiado por sua sabedoria. Agradeço por me conduzir em meio a tantas novidades e por todas as oportunidades que me proporcionou. Os puxões de orelha e os elogios, que carrego como ensinamentos valiosos, têm sido fundamentais para o meu crescimento. Saiba que tudo o que você fez e continua fazendo está me ajudando a me moldar para ser uma pessoa melhor. Obrigado por ser minha inspiração e por sempre me incentivar a buscar mais. Agradeço imensamente também por toda a sua paciência.

Gostaria de expressar minha profunda gratidão a todos os pacientes que participaram deste estudo. A contribuição de cada um de vocês foi fundamental para a possibilidade de descobertas que poderão beneficiar muitas outras pessoas, agradeço pela confiança, pela generosidade e pela coragem de compartilhar suas experiências conosco, sem o envolvimento de vocês, este e muitos outros trabalhos não teriam sido possíveis. Muito obrigado por fazerem parte dessa jornada e por ajudarem a construir um futuro melhor para todos.

Aos membros do Laboratório de Farmacogenética - NPDM/UFC, meu sincero agradecimento, especial quero minha gratidão aos meus colegas do grupo de pesquisa em oncohematologia: Igor, Bea, Flavia, Caio e Karol, que como nossa orientadora sempre diz, “apesar de sermos um grupo pequeno, somos um grupo sólido”

Ao Dr. Rodrigo, chefe do ambulatório de hematologia do HGF, minha sincera gratidão por, mesmo sem nos conhecermos diretamente, ter aberto as portas para o nosso grupo de pesquisa. Agradeço também ao Dr. Deivide, Dr. Germison, Dr. Henrique e ao Dr. Paulo Henrique que tanto me ensinaram e estão sempre prontos a me ajudar quando preciso.

Aos meus amigos, Andrey, Mateus, Igor e Beatriz: o papel de cada um de vocês em cada passo que dou é fundamental, o apoio que me dão me motiva quando nada mais parece animar. Sou imensamente grato por cada conselho, por cada dia em que vocês me ouviram e me ajudaram, mas, acima de tudo, obrigado por compartilharem minha felicidade nas conquistas, por genuinamente desejarem o meu bem e o meu crescimento. Tenho os melhores amigos que poderia querer e merecer, e isso é tudo de que preciso.

À minha pet, Nega, que tem sido uma companheira fiel e uma fonte constante de alegria. Agradeço por cada momento de felicidade que você traz à minha vida, por estar sempre ao meu lado, mesmo nos dias mais difíceis. Você é mais do que uma amiga; você é parte da minha família e sou profundamente grato por todo o conforto e afeto que compartilha comigo diariamente.

Eu agradeço a todos vocês, por tudo e mais um pouco.

EPÍGRAFE

“É impossível para uma pessoa começar a aprender o que ela acha que já sabe.”

Epicteto

RESUMO

A leucemia mieloide aguda (LMA) é um dos tipos mais comuns de câncer que atinge principalmente adultos, e tem como característica o distúrbio clonal nas células hematopoiéticas, marcado por uma rápida progressão e pela presença de diversos perfis genéticos distintos. A instabilidade genômica é uma característica importante da LMA e desempenha um papel significativo no desenvolvimento e progressão da doença. A hiperatividade da enzima telomerase, é uma característica associada à instabilidade genômica, surge como um fator que predispõe a malignidades hematológicas, uma vez que os genes que integram o complexo da telomerase estão frequentemente mutados na leucemia mieloide aguda. Vários estudos mostram o papel do gene *WRAP53* na estabilidade genômica, dado seu papel biológico em atividades como reparo de DNA, regulação do *TP53* e interação com a telomerase. Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo a avaliação molecular da expressão dos genes *WRAP53* e *hTERT* para apresentá-los como possíveis novos biomarcadores na LMA. Para isso, o estudo contou com uma amostragem de 110 pacientes com diagnóstico de LMA os quais foram estratificados e classificados de acordo com as diretrizes da Organização Mundial de Saúde (OMS). Para a análise estatística baseada nos dados clínico-epidemiológicos dos pacientes, foi aplicado o teste de Chi-quadrado. A análise dos dados de expressão gênica, utilizando a técnica RT-qPCR, foi realizada pelo método delta-delta CT. A normalidade foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov ou Shapiro-Wilk e foi aplicada a cada grupo específico. Os outliers foram removidos com base no limite superior e inferior do intervalo interquartil. As diferenças nas variáveis foram analisadas usando o teste Mann-Whitney ou teste t não pareado para comparar medianas entre dois grupos e o teste de Kruskal-Wallis ou ANOVA unidirecional para comparar medianas entre três ou mais grupos. A correlação entre duas variáveis foi determinada usando o teste de correlação de Pearson. As probabilidades de sobrevivência foram estimadas pelo método de Kaplan-Meier. Para todos os testes, foi assumido um nível de significância de 95% ($p \leq 0,05$). Após as análises, foi identificado que os participantes do estudo tinham idade média acima de 50 anos e que a incidência de LMA não diferiu entre os sexos. Identificamos diminuição da expressão de *WRAP53* em pacientes com LMA em comparação aos controles ($p < 0,0001$), enquanto para *hTERT* não identificamos diferenças na expressão ($p = 0,2524$). A análise de correlação indicou relação positiva e moderada entre as variáveis analisadas ($r = 0,4374$). Em relação aos parâmetros clínicos analisados, foram observadas diferenças estatísticas para *WRAP53* no parâmetro gênero ($p = 0,0322$) e idade ($p = 0,0496$), enquanto para *hTERT* nos parâmetros analisados não foram observadas diferenças. A análise de sobrevida global não revelou significância nem para *WRAP53* ($p = 0,150$) nem para *hTERT* ($p = 0,316$). Os resultados apresentados demonstram uma regulação negativa de *WRAP53* e que, além disso, a expressão dos genes *WRAP53* e *hTERT* foram correlacionados. Além disso, a expressão de *hTERT*, que já é indicada como biomarcador na LMA, não pôde ser correlacionada com as características analisadas neste estudo.

Palavras-chave: Leucemia mielóide aguda, Biomarcadores tumorais, Expressão Gênica

ABSTRACT

Acute myeloid leukemia (AML) is one of the most common types of cancer that mainly affects adults, and is characterized by clonal disturbance in hematopoietic cells, marked by rapid progression and the presence of several distinct genetic profiles. Genomic instability is an important characteristic of AML and plays a significant role in the development and progression of the disease. Hyperactivity of the telomerase enzyme, a characteristic associated with genomic instability, appears as a factor that predisposes to hematologic malignancies, since the genes that make up the telomerase complex are frequently mutated in acute myeloid leukemia. Several studies have shown the role of the *WRAP53* gene in genomic stability, given its biological role in activities such as DNA repair, regulation of *TP53* and interaction with telomerase. In this context, the present study aimed to molecularly evaluate the expression of the *WRAP53* and *hTERT* genes to present them as possible new biomarkers in AML. For this purpose, the study included a sample of 110 patients diagnosed with AML who were stratified and classified according to the guidelines of the World Health Organization (WHO). For statistical analysis based on the clinical and epidemiological data of the patients, the Chi-square test was applied. Gene expression data analysis, using the RT-qPCR technique, was performed by the delta-delta CT method. Normality was assessed by the Kolmogorov-Smirnov or Shapiro-Wilk test and was applied to each specific group. Outliers were removed based on the upper and lower fence of interquartile range. Differences in continuous variables were analyzed using the Mann-Whitney or Unpaired t-test test to compare medians between two groups and the Kruskal-Wallis test or one-way ANOVA to compare medians among variables with three or more groups. The correlation between two continuous variables was determined using the Pearson correlation coefficient. Survival probabilities were estimated by the Kaplan-Meier method. For all tests, a significance level of 95% ($p \leq 0.05$) was assumed. After the analyses, it was identified that the study participants had a mean age over 50 years and that the incidence of AML did not differ between the gender. We identified decreased *WRAP53* expression in AML patients compared to control patients ($p < 0.0001$), while for *hTERT* we did not identify differences in expression ($p = 0,2524$). The correlation analysis indicated a positive and moderate relationship between the analyzed variables ($r = 0.4374$). Regarding the clinical parameters analyzed, statistical differences were observed for *WRAP53* in the parameter of gender ($p = 0,0322$) and age ($p = 0,0496$), while for *hTERT* in the parameters analyzed no differences were observed. The overall survival analysis did not reveal significance for either *WRAP53* ($p = 0.150$) or *hTERT* ($p = 0.316$). The results presented demonstrate a downregulation of *WRAP53* in the studied sample and that, furthermore, the expression of the *WRAP53* and *hTERT* genes were correlated. In addition, the expression of *hTERT*, which is already indicated as a biomarker in AML, could not be correlated with the clinical characteristics analyzed that were analyzed in this study.

Keywords: Acute myeloid leukemia, Biomarkers Tumor, Gene Expression

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Características atualizadas do câncer.	18
Figura 2. Estrutura do telômero humano e telomerase.	20
Figura 3. Funções biológicas da WRAP53 β na homeostase celular.	31
Figura 4. Funções de WRAP53 β nos corpos de Cajal e no local de dano ao DNA.	33
Figura 5. Rede de interação proteica de WRAP53 β .	34
Figura 6. Impactos das mutações WRAP53 β em estados patológicos.	35
Figura 7. Frequência de alterações genéticas presentes no gene WRAP53.	36
Figura 8. Características clínico-epidemiológicas dos pacientes portadores de LMA.	42
Figura 9. Avaliação da expressão de WRAP53 em sangue periférico nas amostras de pacientes com LMA em comparação com grupo controle.	46
Figura 10. Análise de sobrevida em pacientes com diferentes níveis de expressão de WRAP53.	49
Figura 11. Avaliação da expressão da hTERT no sangue periférico em amostras de pacientes com LMA em comparação com um grupo controle.	51
Figura 12. Análise de sobrevida em pacientes com diferentes níveis de expressão de hTERT.	54
Figura 13. Correlação entre a expressão dos genes WRAP53 e hTERT em pacientes com LMA.	55
Figura 14. Análise de correlação entre níveis de WRAP53, parâmetros clínicos e laboratoriais em pacientes com leucemias agudas.	56
Figura 15. Análise de correlação entre níveis de hTERT, parâmetros clínicos e laboratoriais em pacientes com leucemias agudas.	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estimativas de novos casos de leucemias para os anos de 2023, 2024 e 2025 por região e suas respectivas taxas brutas de incidência por 100 mil habitantes.....	23
Tabela 2. Alterações citogenéticas recorrentes na LMA	26
Tabela 3. Reagentes utilizados na RT-qPCR.....	40
Tabela 4. Ocupação laboral de pacientes com LMA participantes do estudo.	43
Tabela 5. Dados clínicos dos pacientes portadores de LMA.	44
Tabela 6. Análise de Chi-Quadrado de dados Clínico-Epidemiológicos dos pacientes portadores LMA participantes do estudo.	45
Tabela 7. Expressão de WRAP53 de acordo com características clínicas da LMA.	47
Tabela 8. Expressão de WRAP53 de acordo com características clínicas da LMA.	48
Tabela 9. Expressão de hTERT de acordo com características clínicas da LMA.	52
Tabela 10. Expressão de hTERT de acordo com características clínicas da LMA.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS

BCR::ABL	<i>Breakpoint Cluster Region</i> – ABL proto-oncogene
cDNA	DNA complementar
CQ	<i>Cycle Quantification</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
LLA	Leucemia linfoblástica aguda
LLC	Leucemia linfoblástica crônica
LMC	Leucemia mielóide crônica
LMA	Leucemia mielóide aguda
OMS	Organização mundial de saúde
ELN	LeukemiaNet
CCI	Classificação do consenso internacional
hTERT	Telomerase humana
DDR	Resposta a danos no DNA (<i>DNA Damage response</i>)
BER	Reparo de excisão de base (<i>Base excision repair</i>)
NHEJ	Junção de extremidade não homóloga (<i>Non-homologous end joining</i>)
NER	Reparo por excisão de nucleotídeo (<i>Nucleotide excision repair</i>)
MMR	Reparo de incompatibilidade (<i>DNA Mismatch repair</i>)
TCAB1	<i>Telomerase Cajal body protein 1</i>
NOP10	<i>Ribonucleoprotein NOP10</i>
GAR1	<i>GAR1 ribonucleoprotein</i>
TERT	<i>Telomerase reverse transcriptase</i>
TERC	<i>Telomerase RNA component</i>
SMN	Sobrevivência do neurônio motor (<i>Survival of motor neuron</i>)
snRNAs	RNAs nucleares spliceossomais (<i>Small nuclear RNA</i>)
scaRNA	Pequenos RNAs associados ao corpo de Cajal (<i>Small cajal body-specific RNA</i>)
RNP	Ribonucleoproteína (<i>Ribonucleoproteins</i>)
ROS	Espécies reativas de oxigênio
FLT3	<i>FMS-like tyrosine kinase 3</i>
c-KIT	Proto-oncogene c-KIT
TP53	<i>Tumor protein P53</i>
MRN	Complexo MRE11-RAD50-NBS1
ATM	ATM serina/threonina kinase
H2AX	<i>H2A histone family member X</i>
γ -H2AX	<i>Histone H2AX phosphorylated</i>
MDC	Proteína 1 do ponto de verificação de dano ao DNA (<i>Mediator of DNA damage checkpoint protein 1</i>)
NK	<i>Natural Killer</i>
SMN	Sobrevivência do neurônio motor (<i>Survival of motor neuron</i>)
HR	Recombinação homóloga (<i>Homologous recombination</i>)
ATM	ATM serina/treonina quinase
FHA	Domínios associados à <i>forkhead</i> (<i>forkhead-associated</i>)
RNF8	<i>E3 ubiquitin-protein ligase RNF8</i>
DNA-PKcs	Proteína quinase dependente de DNA, subunidade catalítica (<i>DNA-dependent protein kinase, catalytic subunit</i>)
scaRNA2	Pequeno RNA 2 específico do corpo de Cajal (<i>Small Cajal Body-Specific RNA 2</i>)
AME	Atrofia muscular espinhal

SNPs	Polimorfismos de nucleotídeo único (<i>Single nucleotide polymorphism</i>)
ANOVA	Análise de variância de uma via
FAB	<i>French-American-British</i>
ILSG	<i>International Lymphoma Study Group</i>
IDH	Índice de desenvolvimento humano
RHC	Registros Hospitalares de Câncer
RCBP	Registros de Câncer de Base Populacional
SNC	Sistema nervoso central
FISH	Hibridização fluorescente in situ (<i>Fluorescence In Situ Hybridization</i>)
CNV	Variação do número de cópias (<i>Copy number variation</i>)
NCCN	<i>National Comprehensive Cancer Network</i>
NGS	Sequenciamento de nova geração (<i>Next-generation sequencing</i>)
dPCR	PCR digital
qPCR	PCR quantitativa em tempo real
MFC	Citometria de fluxo multiparâmetros (<i>Multiparametric flow cytometry</i>)
DRM	Doença residual mensurável
CD	Cluster de diferenciação
MECOM	<i>MDS1 and EVI1 complex locus protein EVI1</i>
KMT2A	<i>Histone-lysine N-methyltransferase 2A</i>
FLT3-TKD	Domínio tirosina quinase da tirosina quinase-3
FLT3-ITD	Duplicação interna em tandem da tirosina quinase-3
CEBPA	<i>CCAAT/enhancer-binding protein alpha</i>
RUNX1	<i>Runt-related transcription factor 1</i>
DNMT3A	<i>DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3A</i>
SMD	Síndromes mielodisplásicas
HGF	Hospital Geral de Fortaleza
HGCC	Hospital Dr. Cesar Cals
HMSVP	Hospital Maternidade São Vicente de Paulo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
1.1 PROBLEMA A SER PESQUISADO.....	16
2. OBJETIVOS	17
2.1. OBJETIVO GERAL.....	17
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3. REVISÃO DA LITERATURA	18
3.1. CÂNCER E INSTABILIDADE GENÔMICA.....	18
3.2. LEUCEMIAS.....	21
3.2.1. EPIDEMIOLOGIA DAS LEUCEMIAS	22
3.2.2. LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA	24
3.2.2.1 DIAGNÓSTICO E PROTOCOLOS DE TRATAMENTO DA LMA	27
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
4.1 PACIENTES DO ESTUDO.....	38
4.2 EXTRAÇÃO DE RNA E TRANSCRIÇÃO REVERSA	39
4.3 VALIDAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA POR <i>REAL-TIME</i> PCR QUANTITATIVO (RT-QPCR)	39
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	40
5. RESULTADOS.....	41
5.1 Dados Clínicos-Epidemiológicos Dos Pacientes	41
5.2 Análise da Expressão Gênica	45
6. DISCUSSÃO	58
7. CONCLUSÃO.....	63
ANEXO 1 – APROVAÇÃO COMITÊS DE ÉTICA EM PESQUISA - HOSPITAL GERAL DE FORTALEZA.....	77
ANEXO 2 – APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - HOSPITAL GERAL DR. CÉSAR CALS.....	78
ANEXO 3 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	79
ANEXO 4 - QUESTIONÁRIO CLÍNICO PARA PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIAS	83
ANEXO 5 - CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS DE PACIENTES COM LMA.....	84

1. INTRODUÇÃO

A segunda principal causa de morte no mundo ao longo dos anos têm sido o câncer, ficando atrás somente das doenças cardiovasculares, principalmente devido à ausência de sintomas e diagnóstico precoce. Segundo o relatório do GLOBOCAN, em 2022 foram diagnosticados 20 milhões de novos casos, e 9,7 milhões de mortes devido ao câncer, prevendo ainda que o número de casos poderá chegar a 35,3 milhões até o ano de 2050. As leucemias ocupam o 13º lugar como câncer mais diagnosticado no mundo com um total de 487.294 novos casos em 2022 (SUNG et al., 2022).

A leucemia mieloide aguda (LMA) é grupo heterogêneo de neoplasias hematopoiéticas que atinge células precursoras mieloides que é caracterizada pela presença de anormalidades citogenéticas e a baixa produção de células hematopoiéticas saudáveis. A doença é ligada a um curso clínico agressivo, a baixas taxas de remissão com a terapia inicial e a altas taxas de mortalidade. A proliferação descontrolada de células imaturas que são incapazes de se diferenciar ocorre primeiramente na medula óssea e posteriormente podendo acumular-se no sangue podendo atingir outras partes do corpo, como, baço, fígado, e sistema nervoso central (WINER; STONE, 2019; JIFFRY et al., 2023).

Frequentemente os genes que compõem o complexo da telomerase estão mutados na LMA, apresentando uma atividade aumentada da telomerase juntamente com telômeros encurtados. A modulação farmacológica com inibidores da telomerase é uma estratégia altamente eficaz capaz de atingir as células-tronco leucêmicas na LMA, tanto em linhagens celulares quanto em amostras de pacientes *in vitro*, exibindo uma sobrevida prolongada em modelos de xenoenxerto (BULAEVA et al., 2020; LISBOA et al., 2023).

Neste contexto, surge o gene *WRAP53*, que é responsável pela codificação de dois transcritos que participam de eventos celulares importantes, como o recrutamento de fatores para montagem da telomerase, a regulação da proteína P53, formação de corpos de Cajal e reparo da quebra de fita dupla de DNA (GADELHA et al., 2021). Estudos relatam que a localização celular de *WRAP53* juntamente com sua expressão em tumores sólidos são fatores que preveem uma resposta eficaz à quimioterapia, além de servir como um biomarcador tumoral. Por mais que não haja artigos na literatura elucidando a função de *WRAP53* nas leucemias, sua alteração já é bem relatada em neoplasias de tumores sólidos (ZHANG et al., 2012; HEDSTRÖM et al., 2015; QIU et al., 2015; GARVIN et al., 2015; EGELBERG et al., 2023).

A detecção de biomarcadores citogenéticos ainda é a ferramenta mais importante para a estratificação de risco e tratamento de pacientes com LMA (ALAGGIO et al, 2022). A detecção de novos biomarcadores moleculares, sendo genéticos, epigenéticos ou proteicos que possam fornecer uma estimativa da gravidade da doença se tornam de extrema importância. Devido à heterogeneidade genética dos subtipos de LMA, um painel de biomarcadores, como o *WRAP53*, que possam prever a resposta de cada indivíduo ao tratamento e com isso fornecer informações diagnósticas importantes parece ser apropriado do ponto de vista clínico (BAILEY et al., 2014; PRADA-ARISMENDY; ARROYAVE; RÖTHLISBERGER, 2017).

1.1 Problema a ser pesquisado

Um dos grandes desafios dentro do contexto das neoplasias hematológicas é o tratamento de pacientes adultos, que mesmo quando tratados, apresentam baixas taxas de sobrevivência quando comparados a crianças e adolescentes. Alguns dos principais fatores envolvidos na baixa sobrevida estão relacionados à presença de alterações genéticas, uma alta resistência ou ausência de resposta à quimioterapia, sendo este um fator que contribui para um prognóstico ruim (KANSAGRA; DAHIYA; LITZOW, 2018).

Neste contexto, utilizar o gene *WRAP53* como um potencial novo biomarcador para o diagnóstico precoce em pacientes portadores de leucemia mieloide aguda e como possível novo alvo terapêutico pode melhorar a conduta clínica e terapêutica desses pacientes, melhorando a qualidade de vida e aumentando as chances de cura.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar do papel dos genes *WRAP53* e *hTERT* como potenciais biomarcadores moleculares em pacientes portadores de leucemia mieloide aguda.

2.2. Objetivos Específicos

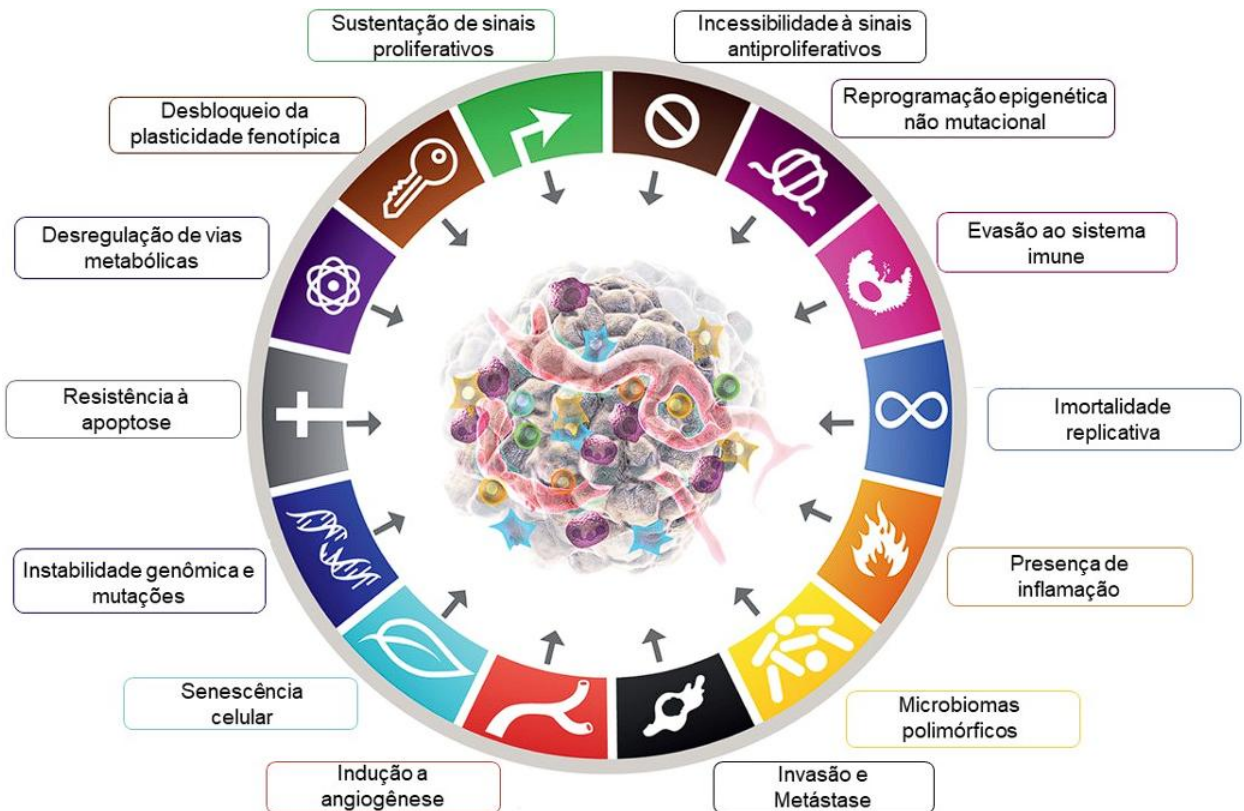
- Analisar a expressão dos genes *WRAP53* e *hTERT* em pacientes portadores de leucemia mieloide aguda;
- Associar os achados da expressão genética de *WRAP53* e *hTERT* às características clínicas e laboratoriais;
- Analisar a possível correlação entre os genes *WRAP53* e *hTERT* nos grupos de pacientes estudados;
- Avaliar o papel do gene *WRAP53* e *hTERT* como potenciais biomarcadores para diagnóstico e direcionamento terapêutico em pacientes portadores de leucemia mieloide aguda.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Câncer e Instabilidade Genômica

Para o surgimento do câncer é preciso um acúmulo progressivo de alterações genéticas que confere à célula perda da regulação do ciclo celular, perda do controle sobre invasão e metástases, falha dos mecanismos apoptóticos e proliferação clonal. A **Figura 1** representa características que podem ser encontradas no câncer (HANAHAN; A WEINBERG, 2000; HANAHAN; WEINBERG, 2011; HANAHAN, 2022).

Figura 1. Características atualizadas do câncer.



Fonte: Adaptada de Hanahan, 2022.

A instabilidade genômica é uma característica da maioria dos cânceres que resulta em danos excessivos ao DNA. A instabilidade cromossômica é a principal forma de instabilidade genômica relatada em cânceres humanos, sendo relacionada a alterações cromossômicas estruturais e numéricas. Outros tipos de instabilidade podem ser citados como a instabilidade de regiões microsatélites que é definida como qualquer alteração no tamanho da sequência repetitiva de DNA dessas regiões e a instabilidade genômica caracterizadas por um aumento na frequência de substituições de bases, deleções e inserções de

um ou mais nucleotídeos (PIKOR et al., 2013; BACH; NEGRINI et al., 2010; ZHANG; SOOD, 2019).

Um maquinário celular complexo atua para manter a estabilidade do genoma e evitar que erros de replicação no DNA sejam passados à frente. A resposta a danos no DNA (DDR) é acionada para corrigir pontos de erro no DNA. A DDR é composta por um conjunto de vários mecanismos onde cada um com sua própria especificidade detectam, sinalizam e reparam as lesões do DNA, podendo assim levar as células à apoptose ou senescência. Cinco principais vias de reparo podem ser utilizadas, sendo elas: reparo de excisão de base (BER), reparo de excisão de nucleotídeo (NER), reparo de incompatibilidade (MMR), recombinação homóloga (HR) e junção de extremidade não homóloga (NHEJ) (DELIA; MIZUTANI, 2017; VITIS; BERARDINELLI; SGURA, 2018; SHAY; WRIGHT, 2019).

Devido à fatores como a replicação celular incessante e descontrolada, os telômeros, regiões de DNA presentes nas extremidades dos cromossomos, sofrem encurtamento progressivo. Durante o processo de tumorigênese, é crucial que as células tumorais desenvolvam mecanismos de manutenção para essas regiões para reverter esse encurtamento. Esses mecanismos visam preservar a integridade dos telômeros, ocorrendo assim uma evasão dos sistemas de reparo de danos ao DNA, conseqüentemente evitando a senescência celular ou a apoptose induzida pelo encurtamento dos telômeros (VITIS; BERARDINELLI; SGURA, 2018; YUAN; DAI; XU, 2020; VAISERMAN; KRASNIENKOV, 2021).

A telomerase é uma enzima DNA polimerase RNA dependente responsável pela manutenção do comprimento dos telômeros através da adição de repetições de nucleotídeos TTAGGG à extremidade do cromossomo. Na ausência da atividade da telomerase, cada telômero humano perde cerca de 50–100 nucleotídeos em cada ciclo celular. Com exceção das células com alto poder proliferativo, como células germinativas, células-tronco e células cancerígenas, a maioria das células somáticas humanas possuem atividade de telomerase silenciada (MACIEJOWSKI; LANGE, 2017; SHAY et al., 2019; VEVERKA; JANOVIČ; HOFER, 2019; NGUYEN, 2021).

Embora a telomerase tenha diversas interações com proteínas acessórias como disquerina, *telomerase Cajal body protein 1* (TCAB1), *ribonucleoprotein NOP10* (NOP10), *GAR1 ribonucleoprotein* (GAR1) entre outras, os componentes principais da telomerase incluem a subunidade catalítica chamada *telomerase reverse transcriptase* (TERT) e a *telomerase RNA component* (TERC) que atua como modelo para síntese para DNA telomérico. A inativação da telomerase em células somáticas humanas se dá pela forte regulação a nível transcricional da *TERT* enquanto a *TERC* é amplamente expressa em células somáticas (YUAN;

3.2. Leucemias

As leucemias são um grupo heterogêneo de neoplasias hematológicas que ocorre devido à diversos fatores que levam à transformação maligna de células-tronco hematopoiética que são responsáveis por dar origem a precursores de origem mielocítica que incluem monócitos, granulocíticos, eritróides, megacariócitos ou de origem linfocítica que incluem os precursores de células B, T ou, natural killer (NK) (BISPO; PINHEIRO; KOBETZ, 2019).

As células presentes nas leucemias agudas podem ser descritas como células blásticas leucêmicas, que consistem em células que foram impedidas de progredirem aos estágios de maturação devido a erros em seu material genético, o que as torna pouco diferenciadas, imaturas e não funcionais, podendo ser de linhagem celular linfoide (linfoblastos) ou mieloide (mieloblastos). Devido a mutações seu material genético a expansão dessas células passa a ser descontrolada, que por sua vez, faz com que ocorra uma ocupação na medula óssea por essas células, que devido a sua alta clonalidade passam a comprometer o desenvolvimento de células saudáveis e funcionais (INFANTE; PIRIS; HERNÁNDEZ-RIVAS, 2023; CHENNAMADHAVUNI et al., 2023).

As leucemias podem ser classificadas em leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia linfoide crônica (LLC), leucemia mieloide aguda (LMA) ou leucemia mieloide crônica (LMC), sendo as agudas, quando o surgimento e evolução se dão de maneira acelerada, e as crônicas, quando de maneira lenta e progressiva. Os grupos reconhecidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS) nas leucemias agudas são: LMA e LLA, que por sua vez, pode acometer células precursoras B ou T (INCA 2019; ALAGGIO et al., 2022).

A primeira classificação para as leucemias foi proposta no ano de 1976, pela French-American-British (FAB), onde para a estratificação dos pacientes levava em consideração os critérios morfológicos baseados no tamanho celular, relação núcleo/citoplasma, vacuolização citoplasmática, densidade da cromatina, presença ou ausência de nucléolos e estabelecendo um limite mínimo necessário de 30% de blastos presentes na medula óssea para o fechamento do diagnóstico. A FAB subdividiu as leucemias linfoblásticas agudas em 3 subtipos: L1, L2 e L3, enquanto as leucemias mieloides agudas foram classificadas em 8 subtipos: M0-M7. A classificação FAB foi utilizada por aproximadamente 25 anos e foi marcada por avanços importantes que ajudaram no reconhecimento e compreensão dos subtipos morfológicos das leucemias agudas, sendo amplamente aceito na comunidade internacional de hematologia (BENNETT et al., 1976, BENNETT, 1985; BRUNNING, 2003).

Com os avanços no conhecimento sobre a leucemogênese e as técnicas de biologia

molecular, houve a necessidade de uma reavaliação dos critérios de classificação e diagnóstico das leucemias. Uma nova classificação então foi proposta pela OMS que foi baseada na classificação desenvolvida pelo International Lymphoma Study Group (ILSG) no início dos anos 1990, onde os achados citogenéticos, imunológicos e epidemiológicos passaram a fazer parte do diagnóstico das neoplasias mieloides e linfoides, sendo esta uma classificação revisada periodicamente devido ao surgimento de novas informações genéticas e biológicas sobre as leucemias (JAFFE 2001; BRUNNING, 2003; CAMPO et al., 2008).

De acordo com a última atualização de órgãos como OMS, European LeukemiaNet (ELN) e a classificação do consenso internacional (CCI) em 2022, o diagnóstico das leucemias agudas é estabelecido de acordo com alterações de ploidia, como hiperdiploidia, hipodiploidia, rearranjos cromossômicos, alterações no número de cópias ou a presença de drivers genéticos identificados através de testes citogenéticos e quando necessário a subtipagem genética molecular, para que assim a depender da anormalidade possa haver uma estratificação do grupo de risco (ALAGGIO et al, 2022, WEINBERG et al., 2022, ARBER et al., 2022).

3.2.1. Epidemiologia das leucemias

Os dados mundiais mostram que a distribuição geográfica da leucemia em países com alto índice de desenvolvimento humano (IDH), que leva em consideração a expectativa de vida, educação e padrão de vida, mostra que tanto a incidência quanto a mortalidade ficam abaixo da de países com IDH baixo. Na distribuição entre os sexos, a neoplasia tende a ser maior entre os homens. Dados epidemiológicos dos Estados Unidos, mostram que na distribuição étnica/racial tende a ser maior em brancos, seguidos por negros e hispânicos (BISPO; PINHEIRO; KOBETZ, 2019)

As leucemias podem apresentar-se em diferentes faixas etárias, desde recém-nascidos a idade adulta (KANSAGRA; DAHIYA; LITZOW, 2018). Os fatores que predizem a um prognóstico ruim tanto na LLA quanto LMA incluem: idade superior a 59 anos e condições médicas coexistentes assim como fatores específicos da doença que incluem alta contagem de leucócitos, condição hematológica, citogenética, infiltração medular e extramedular, marcadores moleculares, doença relacionada a quimioterapia, radiação ou imunoterapia prévia, porém a grande problemática das leucemias ocorre pela presença de grandes variáveis genéticas e subconjuntos mutacionais (SALLMAN et al., 2020; PELCOVITS; NIROULA 2020; PAUL; SHORT, 2022).

Dentre os diversos tipos de câncer que afetam o homem, as neoplasias hematológicas apresentam considerável incidência no Brasil. Estimam-se 5.250 novos casos de

leucemia em homens e 5.290 em mulheres para o triênio de 2023 a 2025 (**Tabela 1**). Sendo esperados 3.330 novos casos na região nordeste onde 850 são previstos no estado do Ceará e em Fortaleza estimando um total de 250 novos casos. Além de ser uma das 10 principais causas de morte entre homens e mulheres com câncer, levando mais de 5.129 pessoas a óbito em 2020, reforçando a magnitude deste problema de saúde pública no país. A distribuição da incidência por região geográfica mostra que as regiões Nordeste e Sudeste concentram 68,6% da ocorrência de novos casos de leucemia, seguidos pela região Sul (18,9%), Norte (6,8%) e Centro Oeste (5,6%), sendo a Região Sudeste concentrando quase a metade dessa incidência (INCA, 2023).

Tabela 1. Estimativas de novos casos de leucemias para os anos de 2023, 2024 e 2025 por região e suas respectivas taxas brutas de incidência por 100 mil habitantes.

Região	Estados	Nº Casos	Taxa bruta H/M
Norte	Acre	790	4,08
	Amapá		
	Amazonas		
	Pará		
	Rondônia		
	Roraima		
	Tocantins		
Nordeste	Alagoas	3.330	5,64
	Bahia		
	Ceará		
	Maranhão		
	Paraíba		
	Pernambuco		
	Piauí		
	Rio Grande do Norte		
Centro Oeste	Sergipe	650	3,78
	Mato Grosso		
	Mato Grosso do Sul		
Sudeste	Distrito Federal	4.610	5,08
	Espírito Santo		
	Minas Gerais		
	Rio de Janeiro		
Sul	São Paulo	2.190	7,12
	Paraná		
	Rio Grande do Sul		
	Santa Catarina		

Fonte: Adaptado de INCA, (2023).

O registro estatístico é um desafio, principalmente para países como o Brasil devido às suas dimensões. A informação epidemiológica fornece uma base para o planejamento de saúde para que ocorram ações locais de prevenção e controle da doença de acordo com a necessidade de cada região. A participação dos órgãos de Registros de Câncer de Base

Populacional (RCBP) e dos Registros Hospitalares de Câncer (RHC) no Brasil juntamente com as secretarias de saúde dos estados é de extrema importância para que se possa ter conhecimento de novos casos, informações sobre morbidade, incidência e mortalidade e realizar novas estimativas sobre a incidência do câncer (ALBUQUERQUE; CARVALHO; LIMA, 2002; INCA 2023).

3.2.2. Leucemia Mieloide Aguda

A LMA é uma doença geneticamente complexa, assim como em outras leucemias agudas tende a ser progressiva e frequentemente resistente à quimioterapia convencional. Esta neoplasia é caracterizada por fusões gênicas que alteram o processo de produção e maturação normal, e são advindas, em alguns casos, de síndromes mielodisplásicas (SMD) preexistentes em pacientes idosos, o que piora o prognóstico. A média de idade dos pacientes diagnosticados é de 55 ~ 70 anos, entretanto, a LMA também pode acometer crianças e adolescentes. Fatores de risco que predispõem a LMA podem incluir, exposição à radioterapia e à quimioterapia anterior ao diagnóstico, tabagismo, idade e outras exposições ambientais (MORTON et al., 2013; FIRCANIS et al., 2014; ESTEY, 2018; TALLMAN et al., 2019).

Várias anormalidades genéticas podem ser relacionadas ao desenvolvimento da LMA. Paciente com LMA primária podem apresentar mutações em Runt-related transcription factor 1 (*RUNX1*), CCAAT/enhancer-binding protein alpha (*CEBPA*) e FMS-like tyrosine kinase 3 (*FLT3*). A LMA conhecida como secundária ocorre devido ao acúmulo de mutações que ocorrem em pacientes portadores de SMD no decorrer da doença ou em pacientes que foram previamente expostos à quimioterapia ou radioterapia para tratamento de outros tipos de câncer. Por mais que nem toda a SMD evolua para a LMA, é importante que haja um monitoramento para detectar possíveis sinais de progressão da doença a fim de evitar uma possível transformação leucêmica (WALTER, 2015, SHLUSH, 2018).

Frequentemente a LMA é associada a diversas alterações citogenéticas e moleculares. A **Tabela 2** apresenta as alterações que podem ser encontradas em até 75% dos pacientes diagnosticados com LMA. Essas alterações desempenham um papel importante durante o desenvolvimento e progressão da doença. O entendimento dessas alterações genéticas e seu impacto clínico é crucial para que ocorra o planejamento de tratamentos personalizados e o desenvolvimento de terapias direcionadas (KHOURY et al., 2022; DÖHNER et al., 2022).

A nova classificação de risco de 2022 da OMS integra o conhecimento de novas descobertas moleculares. Os novos critérios para a estratificação de risco de pacientes portadores de LMA estão de acordo com a identificação da citogenética e perfis mutacionais

encontrados. Sua classificação de prognóstico pode ser dividida em favorável, intermediário ou desfavorável/adverso (DÖHNER et al. 2022).

Dentre as alterações citogenéticas mais frequentes nos casos de LMA, as mutações dos genes nucleophosmin 1 (*NPM1*) e *FLT3* são as mais prevalentes. Apesar de estar mutado em um terço dos pacientes com LMA, *FLT3* não é incluso como uma entidade única devido sua presença em vários subtipos. A presença de *FLT3* com mutações de duplicação interna em tandem (*FLT3-ITD*) é um fator independente de mau prognóstico sendo relacionado ao alto risco de recaída e baixas taxas de cura (BACHER et al., 2008; KIYOI; KAWASHIMA; ISHIKAWA, 2019; YU et al., 2020; ZHAO et al., 2022).

O gene *NPM1* é responsável pela codificação de uma proteína nuclear ligada ao transporte celular entre o núcleo e o citoplasma. A mutação desse gene é relatada como a uma inserção de nucleotídeos na região do éxon 12 do gene. A presença da mutação é frequentemente associada a um bom prognóstico. Estudos mostram que pacientes com cariótipo normal juntamente com a mutação nos genes *NPM1* e *CEBPA* de forma individual ou mútua possuem um bom prognóstico, mas na presença de alterações genéticas específicas como *FLT3* possuem um prognóstico intermediário (VELLOSO et al., 2011; TAKAHASHI, 2013; HINDLEY et al., 2021).

Os rearranjos cromossômicos contribuem para o processo de leucemogênese e para a heterogeneidade genética. Essas alterações podem impactar diretamente na expressão gênica e assim desencadear processos que levam à uma proliferação celular descontrolada. Alguns dos rearranjos cromossômicos comuns na LMA incluem: t(8;21) ,que corresponde à fusão *RUNX1::RUNX1T1* anteriormente conhecido como *AML1::ETO*, t(15;17), que corresponde à fusão *PML::RARA*, e inv(16) ou t(16;16), que corresponde à fusão *CBFB::MYH11* (MEDINGER; PASSWEG, 2017; WANG et al., 2017; KAYSER; LEVIS, 2023).

Em alguns casos os rearranjos cromossômicos podem se apresentar de formas complexas, envolvendo deleções ou ganhos de múltiplas regiões cromossômicas, o que é associado a um mau prognóstico. Dentre o que é observado na LMA as deleções do 7q, 5q, 11q, 12q são comumente associadas a um prognóstico desfavorável, assim como as mutações no gene *TP53*. A fusão dos genes *BCR::ABL1*, também conhecida como t(9;22) ou cromossomo Philadelphia e que comumente é associada à LMC, também pode ocorrer ainda que de forma rara na LMA e está associada a prognóstico ruim (WANG et al., 2017; KAYSER; LEVIS, 2023).

Tabela 2. Alterações citogenéticas recorrentes na LMA

Alteração Genética	Genética molecular	Prognóstico	Alterações genéticas associadas
<i>PML::RARA</i>	Fusão gênica <i>PML::RARA</i> t(15;17)(q24.1;q21.2)	Favorável	<i>IRF2BP2::RARA</i> t(1;17)(q42.3;q21.2); <i>NPM1::RARA</i> t(5;17)(q35.1;q21.2); <i>ZBTB16::RARA</i> t(11;17)(q23.2;q21.2); <i>STAT5B::RARA</i> (q21.2q21.2);
<i>RUNX1::RUNX1T1</i>	Fusão gênica <i>RUNX1::RUNX1T1</i> t(8;21)(q22;q22.1)	Favorável	-
<i>CBFB::MYH11</i>	Fusão gênica <i>CBFB::MYH11</i> t(16;16)(p13.1;q22)	Favorável	-
<i>DEK::NUP214</i>	Fusão gênica <i>DEK::NUP214</i> t(6;9)(p22.3;q34.1)	Desfavorável	-
<i>RBM15::MRTFA</i>	Fusão gênica <i>RBM15::MRTFA</i> t(1;22)(p13.3;q13.1)	Desconhecido	-
<i>BCR::ABL1</i>	Fusão gênica <i>BCR::ABL1</i> t(9;22)(q34.1;p11.2)	Desfavorável	-
<i>KMT2A</i>	Rearranjo gênico <i>KMT2A</i>	Desfavorável	<i>AFF1::KMT2A</i> t(4;11)(q21.3;q23.3); <i>AFDN::KMT2A</i> t(6;11)(q27;q23.3); <i>MLLT10::KMT2A</i> t(10;11)(p12.3;q23.3); <i>TET1::KMT2A</i> t(10;11)(q21.3;q23.3); <i>KMT2A::ELL</i> t(11;19)(q23.3;p13.1); <i>KMT2A::MLLT1</i> t(11;19)(q23.3;p13.3);
<i>MECOM</i>	Rearranjo gênico <i>MECOM</i>	Desfavorável	<i>MYC, MECOM</i> t(3;8)(q26.2;q24.2); <i>ETV6::MECOM</i> t(3;12)(q26.2;p13.2); <i>MECOM::RUNX1</i> t(3;21)(q26.2;q22.1).
<i>NUP98</i>	Rearranjo gênico <i>NUP98</i>	Desfavorável	-
<i>NPM1</i> mutado	-	Intermediário	-
<i>CEBPA</i> mutado	-	Intermediário	-
LMA relacionada a mielodisplasia	Genes envolvidos por mutação somática: <i>ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1, ou ZRSR2</i>	Desfavorável	Deleção 5q ou perda de 5q Monossomia 7, deleção 7q ou perda de 7q exclusão 11q Deleção ou perda do 12p Monossomia 13 ou deleção 13q Exclusão ou perda de 17p
LMA com outras alterações genéticas definidas	-	Desconhecido	Novos e/ou incomuns subtipos de LMA

Fonte: Adaptado de KHOURY et al. (2022); DÖHNER et al. (2022).

3.2.2.1 Diagnóstico e Protocolos de tratamento da LMA

A identificação de marcadores imunofenotípicos e alterações genéticas das células leucêmicas auxiliam em um diagnóstico mais preciso e um direcionamento de terapia mais eficiente. Como os linfoblastos e mieloblastos podem em alguns casos se apresentarem morfológicamente parecidos, a identificação que permite caracterizar o grau de maturação e o tipo de linhagem é feito através da identificação e da expressão de antígenos de cluster de diferenciação (CD) presentes na membrana de superfície e de modo intracelular nas células leucêmicas. (DIGIUSEPPE et al., 2019; GALERA; JIANG; BRAYLAN, 2019).

Na citometria de fluxo, a visualização dos diversos tipos de CDs expressos é feita com o auxílio de anticorpos monoclonais que fazem a detecção, caracterização e quantificação dessas células, e com isso auxiliando na classificação do prognóstico, tratamento, investigação de doença residual mensurável (DRM) e na identificação de leucemias agudas de linhagem mista (CRAIG et al., 2008; DIGIUSEPPE et al., 2019).

O uso da citogenética abrange as técnicas de análise cromossômica por cariótipo e de hibridização *in situ* fluorescente (FISH). A citogenética clássica continua sendo uma importante ferramenta na avaliação inicial da LMA, mas quando complementada por técnicas moleculares para a visualização de alterações genéticas específicas, obtém-se um resultado mais detalhado do perfil genético das células leucêmicas (GONZALES; MIKHAIL, 2017; GRANADA et al., 2020).

As metodologias moleculares de PCR em Tempo Real (qPCR) e PCR digital (dPCR) desempenham um papel significativo no diagnóstico e monitoramento das leucemias agudas. Além do uso da qPCR na avaliação e acompanhamento de DRM seu uso também é estendido ao diagnóstico com a detecção de transcritos de fusão como *BCR::ABL1*, *RUNX1::RUNX1T1*, *PML::RARA* e a busca por mutações genéticas em genes como *NPM1*, *TP53*, *CEBPA*, *FLT3*. Além de contribuir para a identificação de alterações genéticas, seu uso também auxilia na avaliação da resposta ao tratamento. A dPCR é uma das inúmeras variações da reação em cadeia da polimerase (PCR), atualmente seu uso no monitoramento de DRM em diversas neoplasias hematológicas é recomendado nas diretrizes do ELN e National Comprehensive Cancer Network (NCCN) devido sua alta sensibilidade, porém a falta de métodos padronizados, e o acesso limitado a equipamentos tornam essa uma metodologia ainda em implementação (CILLONI et al., 2019; HAFERLACH et al., 2019; PANUZZO et al., 2022).

A avaliação da DRM nas leucemias agudas é utilizada para estabelecer um status de remissão da doença, identificar possíveis recaídas precoce e sendo também utilizada também

como um fator decisivo na aprovação de novas drogas. Atualmente, as principais abordagens utilizadas para avaliar DRM incluem a citometria de fluxo multiparâmetro (MFC) e as abordagens moleculares sendo: PCR quantitativa em tempo real (qPCR), PCR digital (dPCR) e sequenciamento de nova geração (NGS). O monitoramento da DRM se dá ao longo do tratamento para a avaliação de resposta e de possíveis tratamentos adicionais necessários, como transplante de medula óssea. (RIVA et al., 2021; CILLONI et al., 2019).

A terapia efetiva no câncer requer uma eficácia terapêutica máxima, minimizando os efeitos colaterais como recorrência, resistência e toxicidade para garantir uma boa qualidade de vida aos pacientes. Os tratamentos convencionais que envolvem cirurgia, quimioterapia e radioterapia vem se mostrando pouco efetivos neste sentido para o tratamento. A resistência medicamentosa têm sido um grande obstáculo na terapia oncológica ao longo dos anos. É observado que o protocolo de tratamento convencional não é eficaz em grande parte dos pacientes com leucemias agudas devido à falta de especificidade dos medicamentos utilizados e ao desenvolvimento de resistências medicamentosas (TAYLOR; ESKANDER, 2018; LEJMAN et al., 2022).

Os principais tratamentos para LMA são baseados na quimioterapia através da administração por via oral, intravenosa, intratecal ou transplante de células-tronco através de um doador compatível (caso o transplante escolhido for o halogênico). A quimioterapia é geralmente dividida em fases que são elas: Indução e consolidação. Os protocolos de tratamento convencionais em sua maioria são personalizados com base em fatores de risco de cada paciente, como estágio da doença, idade, alterações citogenéticas e outras características específicas (NCCN GUIDELINES FOR PATIENTS, 2021, 2021; PAUL; SHORT, 2022; ABRALE, 2023; ONCOGUIA, 2023).

Existem diferentes tipos de agentes que são utilizados nos ciclos quimioterápicos, como antraciclina, agentes alquilantes, antimetabólicos, alcalóides, e corticosteroides que podem ser combinados em protocolos de alta ou baixa intensidade (JABBOUR et al., 2018; KANTARJIAN et al., 2000; NCCN GUIDELINES FOR PATIENTS, 2021; OTHMAN et al., 2022).

Embora tenham ocorrido melhorias na terapêutica ao longo dos anos para o tratamento da LMA, essa doença ainda continua a ser um desafio em termos de gestão, já que apesar de cerca de 80% dos diagnosticados alcançarem uma primeira remissão completa, a sobrevida livre de doença em 6 anos é de 40%. Os tratamentos hoje utilizados nas leucemias consistem em regimes complexos de quimioterapia, sendo as duas principais terapias para LMA regidas pelo esquema 7+3: um esquema de quimioterapia que combina a citarabina e uma

antraciclina ou o esquema FLAG-Ida: com o uso combinado de fludarabina, citarabina, filgrastim e idarubicina (GARCIA-MANERO; KANTARJAN, 2000; IMAI, 2017; BLACKBURN; BENDER; ROWN, 2019; ONCOGUIA, 2023; EVIQ, 2023).

Por atingir frequentemente a população idosa, os tratamentos convencionais podem não se mostrar benéficos devido à baixa tolerância e a resultados poucos satisfatórios. A introdução do Venetoclax (ABT-199), um inibidor seletivo da família de proteínas BCL-2, como um agente terapêutico na LMA, fez com que ocorresse um avanço nas opções de tratamento para pacientes idosos que não possuem indicação para a quimioterapia convencional. Devido aos seus bons resultados, hoje esta é uma terapia padrão para essa população (KONOPLEVA et al., 2016; GUERRA et al., 2019)

Além do mais, o desenvolvimento de terapias direcionadas para as mutações em FLT3 e isocitrato desidrogenase 1 e 2 (IDH1 e IDH2), juntamente com as terapias combinadas com o uso de agentes hipometilantes, representam grande parte do atual cenário de tratamento da LMA e impulsionam novas pesquisas. Dados experimentais de estudos baseados em imunoterapias que possuem alvos como inibidores de checkpoint, CD47, entre outros podem fazer com que o atual cenário de tratamento da LMA mude drasticamente em alguns anos (LIU et al., 2021; ABAZA et al., 2024; FORSBERG et al., 2024)

Com os avanços do conhecimento do panorama genômico/molecular da LMA juntamente com o aprimoramento das técnicas de diagnóstico e a compreensão dos mecanismos de resistência ao tratamento, levou-se a melhorias não só no prognóstico e acompanhamento da doença, mas também na refinação dos critérios de classificação. Atualmente as diretrizes internacionais enfatizam a importância de achados genéticos e moleculares devido ao seu impacto clínico. Assim, a identificação e caracterização de novos genes que possam atuar no processo de leucemogênese se tornam importantes para que em breve possa servir como futuros alvos na terapia molecular alvo e que possam a vir servir como novos biomarcadores (PETERS et al., 2011; LIU 2021).

3.3 Repetição WD contendo antisense para TP53 (*WRAP53*)

3.3.1. Estrutura e função de *WRAP53*

Localizado no cromossomo 17, o gene *WRAP53* é responsável pela codificação de três produtos, sendo, um transcrito funcional antisense de *TP53* (*WRAP53 α*), uma proteína *scaffold* com repetições WD40 denominada *WRAP53 β* , *WDR79* ou *TCAB1* que tem atuação na regulação do alongamento dos telômeros, no tráfego de proteínas e no reparo de quebra de fita dupla de DNA e um terceiro transcrito denominado *WRAP53 γ* (GADELHA et al., 2022).

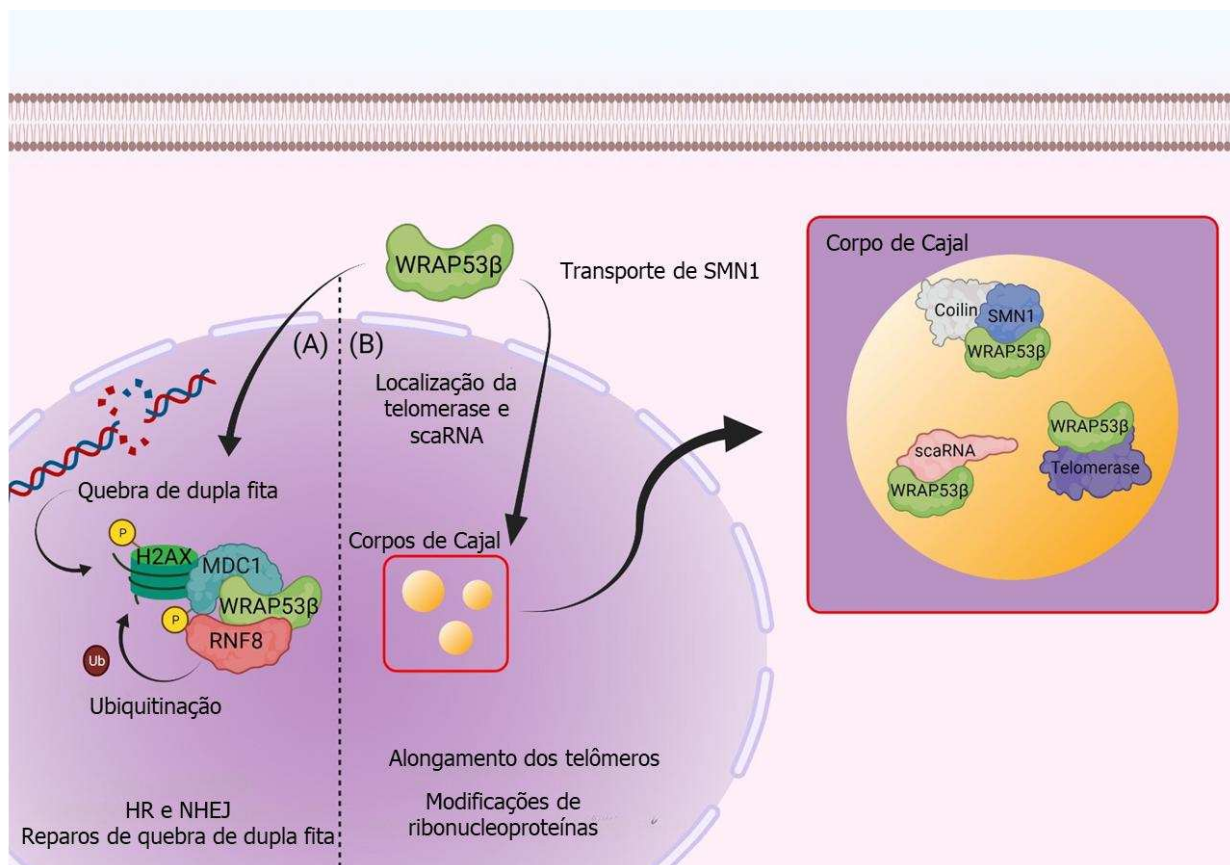
A proteína *WRAP53 β* é pertencente à família de proteínas de repetição WD40 que é caracterizada pela presença de repetições de triptofano (W) e de ácido aspártico (D) na região terminal C sendo constituída por cerca de 40 a 60 aminoácidos. Diversos processos celulares como transcrição, tráfego celular, apoptose e controle do ciclo celular, estão ligados às proteínas WD40 que atuam como um adaptador para interações proteína-proteína e proteína-DNA. Devido à participação em numerosos processos celulares, qualquer mau funcionamento dessas proteínas pode levar a doenças (SCHAPIRA et al., 2017; JAIN; PANDEY, 2018).

O *WRAP53 β* pode ser encontrado tanto no citoplasma, facilitando a translocação da proteína de sobrevivência do neurônio motor (SMN), quanto no núcleo nos corpos de Cajal associando-se à TERC e a fatores de reparo de DNA. Os corpos de Cajal são responsáveis por diversas funções nucleares importantes como, transcrição de genes, montagem de RNA polimerase e biogênese da telomerase. Os corpos de Cajal são caracterizados pela presença da proteína coilina que é essencial para sua integridade e função. A associação de *WRAP53 β* com a coilina é relatada no recrutamento de SMN onde a interação SMN-importin β leva a importação nuclear e SMN-coilina no núcleo (TYCOWSKI et al., 2009; MAHMOUDI et al., 2010 BERGSTRAND et al., 2022). A **Figura 3** resume os diversos papéis celulares de *WRAP53 β* (Gadelha et al., 2022).

Além disso, os corpos de Cajal também são responsáveis por modificações em RNAs nucleares spliceossomais (snRNAs). Existem duas classes principais de RNAs associados ao corpo de Cajal (scaRNAs), sendo os pertencentes ao domínio de caixa H/ACA que guiam a pseudo-uridilação ou de caixa C/D responsáveis por metilação. Um terceiro domínio chamado de caixa CAB é responsável pelo direcionamento desses scaRNAs para os corpos de Cajal para a formação de complexos de ribonucleoproteína (RNP) com *WRAP53 β* , promovendo o direcionamento e processamento desses RNAs. Mutações em *WRAP53 β* resultam em uma localização incorreta de scaRNAs têm sido associadas a distúrbios genéticos (MAHMOUDI et al., 2011; ZHONG et al., 2011; HEDSTRÖM et al., 2015; BERGSTRAND

et al., 2022).

Figura 3. Funções biológicas da WRAP53 β na homeostase celular.



Legenda: Funções biológicas da WRAP53 β na homeostase celular. (A) WRAP53 β medeia a interação MDC1 e RNF8 em quebras de fita dupla de DNA. A fosforilação da histona H2AX em locais de dano de DNA por DNA proteína quinase induz sua ligação a MDC1, que por sua vez se liga à RNF8 através da atividade mediada por WRAP53 β . O RNF8 faz com que ocorra a ubiquitinação da histona fosforilada e desencadeia o recrutamento e o acúmulo da maquinaria de reparo de danos ao DNA no ponto de quebra. (B) O WRAP53 β é essencial para a estabilidade do corpo de Cajal e manutenção da função nuclear. O WRAP53 β medeia a localização da proteína SMN1 nos corpos de Cajal através do transporte do citoplasma para o núcleo. O WRAP53 β também é responsável por interagir e com a enzima telomerase e por localizar corretamente os scaRNAs nos corpos de Cajal, onde irão amadurecer e sofrer modificações pós-transcricionais. **Fonte:** Adaptado de Gadelha et al., (2021).

3.3.2. WRAP53 na manutenção da estabilidade do genoma

A instabilidade genômica é uma característica distintiva das células cancerígenas. Quando ocorre a quebra de dupla fita, a DDR coordena as vias para garantir a escolha do caminho de reparo para que a estabilidade genômica e a sobrevivência sejam mantidas caso haja a restauração do cromossomo afetado (CHATTERJEE; WALKER, 2017; LI et al., 2019; STEAD; BJEDOV, 2021).

Dentre os tipos de agentes causadores de dano ao DNA estão as espécies reativas

de oxigênio (ROS) que se apresentam de forma aumentada nas leucemias e que devido a um reparo defeituoso leva a uma instabilidade genômica acentuada e que são principalmente ligadas às mutações em *BCR::ABL*, *FLT3-ITD*, *c-KIT* e mutações envolvendo o gene *TP53*, sendo estes relacionados a um prognóstico ruim devido à alta heterogeneidade, a um risco aumentado de recidiva e a uma resistência ao tratamento, principalmente em pacientes com LMA (SALLMYR et al., 2008; REBECHI et al., 2017; PANUZZO et al., 2020; ROY; RAGHAVAN, 2021; NIE et al., 2022).

As quebras de fita dupla são o tipo mais citotóxico de dano ao DNA quando comparado às demais lesões. Duas principais vias de reparo são atuantes nessa situação a depender do estágio do ciclo celular em que a célula se encontra, sendo a via HR na fase S/G2 ou NHEJ presente na maioria dos estágios do ciclo celular, mas com pico na fase G1. Devido à ligação rápida às extremidades livres do DNA sugere-se que a via NHEJ é a via padrão de reparo (SHIBATA et al., 2011; CHANG et al., 2017; WRIGHT; SHAH; HEYER, 2018; LI et al., 2019).

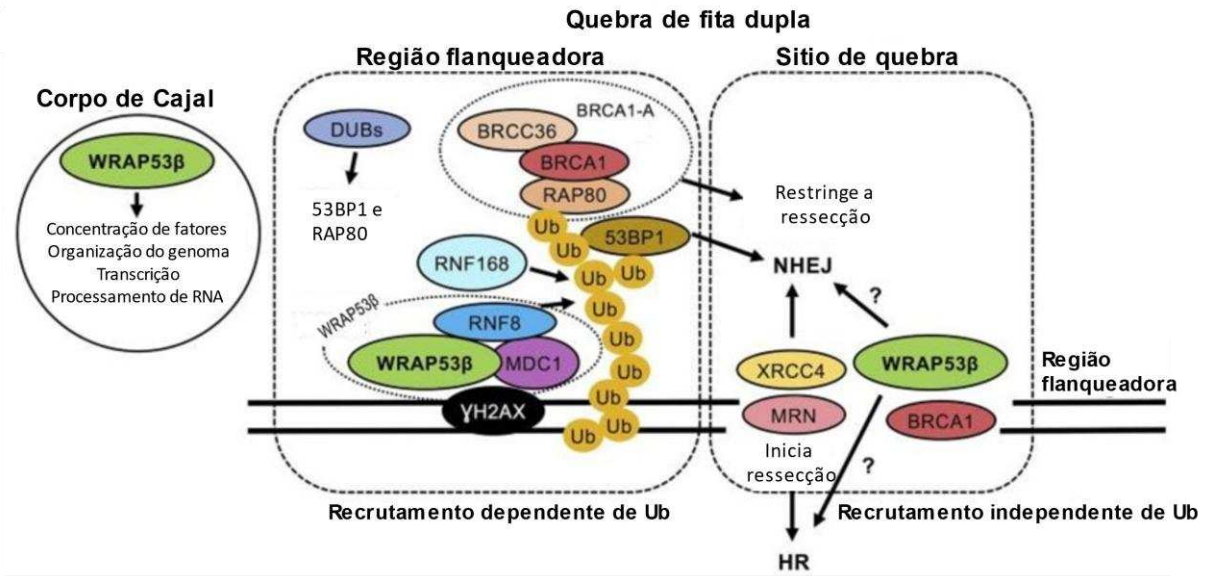
Quando ocorre a quebra na dupla hélice do DNA, o complexo MRE11-RAD50-NBS1 (MRN) age no recrutamento de ATM para que ocorra a fosforilação da histona H2AX para a formação de γ -H2AX. MDC1, outro agente da maquinaria de reparo, age intensificando essa fosforilação para facilitar a formação de focos de γ -H2AX no local da lesão do DNA. A fosforilação de MDC1 por ATM faz com que ocorra a ubiquitinação de γ -H2AX, gerando sítios de ligação reconhecidos pelo domínio associados *forkhead* (FHA) de *E3 ubiquitin-protein ligase RNF8* (RNF8), que é necessário para o direcionamento correto de RNF8 para quebras de DNA, o que permite que haja o recrutamento e subsequente reparo do DNA (ZHOU et al., 2019; RUFF et al., 2020; QIU; HUANG, 2021).

A participação de WRAP53 β no reparo de duplas fitas ocorre através do recrutamento de RNF8 para lesões de DNA mediando a interação MDC1-RNF8, assim, atuando como uma proteína *scaffold*. O *knockdown* de WRAP53 β dificulta o recrutamento de fatores em ambas as vias de reparo HR e NHEJ enquanto as células que hiperexpressam WRAP53 β possuem um reparo de DNA mais rápido e uma menor taxa de pontos de quebras, mostrando a sua importância na manutenção da integridade do genoma (HENRIKSSON et al., 2014; RASSOOLZADEH; COUCORAVAS; Farnebo, 2015; RASSOOLZADEH et al., 2016).

Uma outra função de WRAP53 β no reparo de quebra de dupla fita é a competitividade com a proteína quinase dependente de DNA, subunidade catalítica (DNA-PKcs) pela ligação com o Pequeno RNA 2 específico do corpo de Cajal (ScaRNA2). A ligação preferencial de ScaRNA2 à WRAP53 β promove atividade catalítica do DNA-PKcs. Na

ausência de WRAP53 β o reparo por NHEJ é prejudicado devido à ligação de ScaRNA2 ao DNA-PK. A DNA-PKcs é uma enzima responsável pelo recrutamento dos fatores a jusante que medeiam NHEJ (BERGSTRAND et al., 2022). A **Figura 4** mostra o papel de WRAP53 β na resposta ao dano no DNA (BERGSTRAND; OBRIEN; FARNEBO, 2019).

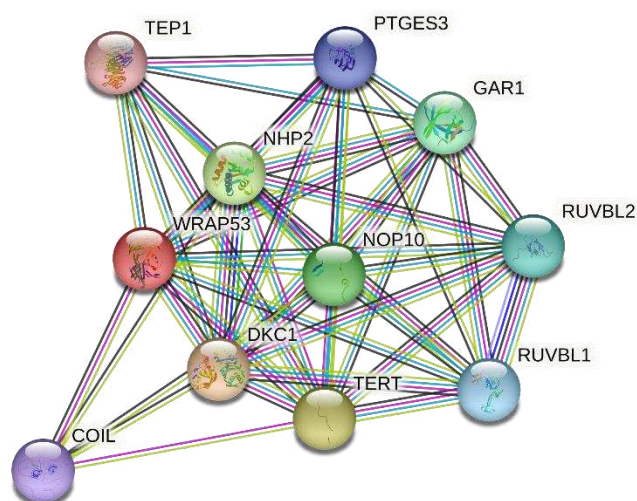
Figura 4. Funções de WRAP53 β nos corpos de Cajal e no local de dano ao DNA.



Legenda: O recrutamento dependente de ubiquitina de fatores de reparo de DNA ocorre em regiões que flanqueiam o local da quebra onde WRAP53 β liga-se a γ H2AX e também estrutura a interação entre MDC1 e RNF8, para o recrutamento de RNF8 para quebras de DNA para que ocorra a ubiquitinação de proteínas na cromatina danificada, o que estimula o recrutamento dos fatores a jusante 53BP1, RAD51 e BRCA1. O BRCA1 forma vários subcomplexos com funções diferentes, dos quais o complexo BRCA1-A restringe a ressecção. Pools de WRAP53 β e BRCA1 para o reparo via NHEJ também são encontrados neste local por razões desconhecidas. As funções desempenhadas pelo WRAP53 β nos corpos de Cajal poderiam ser potencialmente executadas em locais de quebra. O recrutamento de RAD51, uma proteína a jusante de WRAP53 β , para lesões de DNA, parece ocorrer através de mecanismos independentes e dependentes de ubiquitina. **Fonte:** Adaptado de BERGSTRAND; OBRIEN; FARNEBO, (2019).

O TERC é membro da família de scaRNA, no qual WRAP53 β promove sua localização nos corpos de Cajal. WRAP53 β é um componente da enzima telomerase devido a sua ligação aos componentes principais como TERC, TERT e disquerina. Mutações ou *knockdown* de WRAP53 β fazem com que ocorra o não direcionamento de TERC para os corpos de Cajal. Mutações germinativas em WRAP53 β , mais especificamente em seus domínios WD40, são associadas a disceratose congênita, doença essa caracterizada pelo encurtamento progressivo dos telômeros. A **Figura 5** representa uma rede de interações de proteínas onde WRAP53 β aparece fortemente ligadas às proteínas que compõem a enzima telomerase (VENTEICHER et al., 2009; TYCOWSKI et al., 2009; ZHONG et al., 2011; BALLEW; A SAVAGE, 2013; KLUMP et al., 2023).

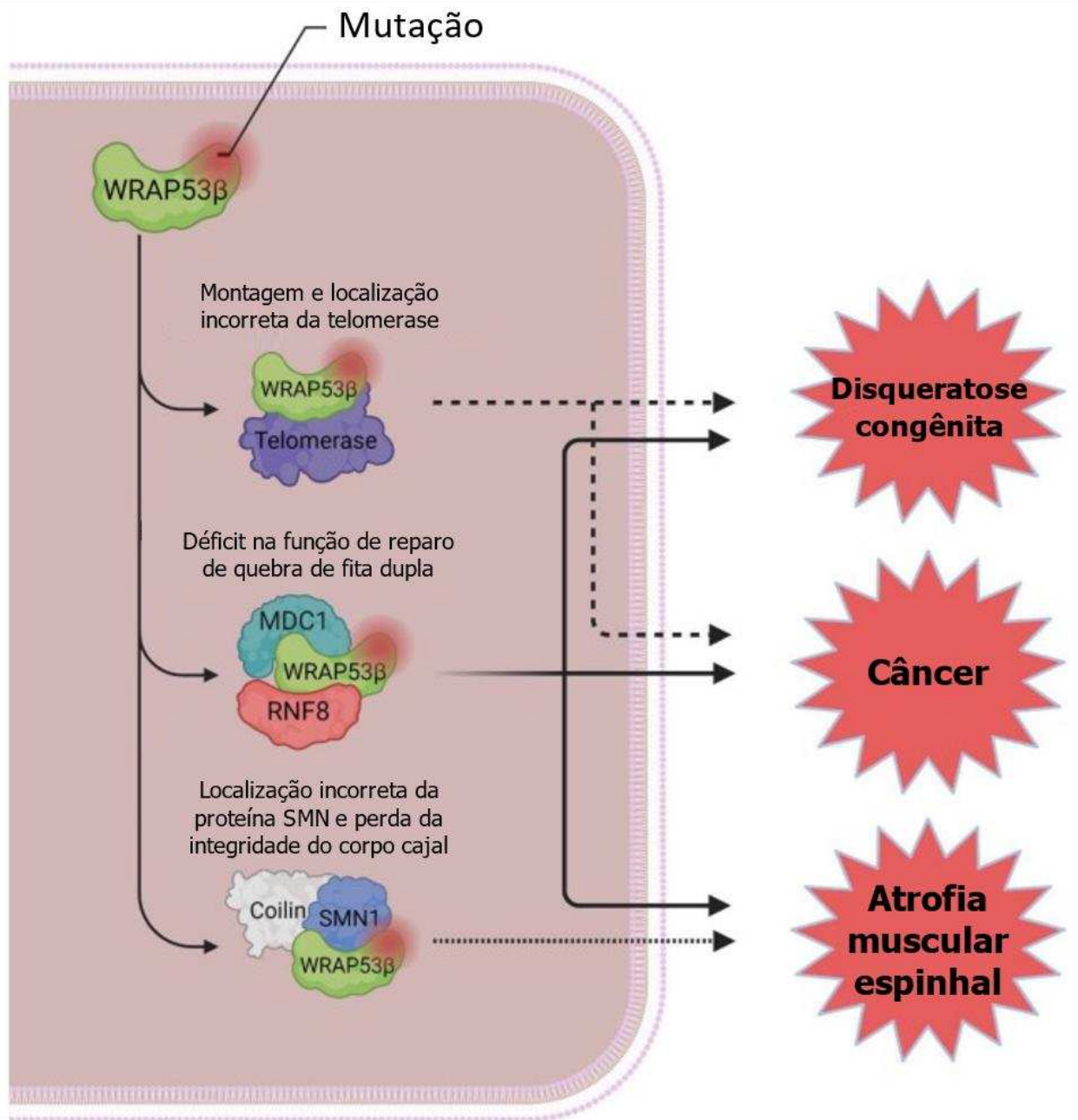
Figura 5. Rede de interação proteica de WRAP53β.



Legenda: WRAP53: Repetição WD contendo antisense para TP53; COIL: Coilina; DKC1: discerina pseudouridina sintase 1; TERT: transcriptase reversa da telomerase; NHP2: ribonucleoproteína NHP2; NOP10: ribonucleoproteína NOP10; GAR1: ribonucleoproteína GAR1; RUVBL1: RuvB como AAA ATPase 1; RUVBL2: RuvB como AAA ATPase 2; TEP1: proteína 1 associada à telomerase; PTGES3: prostaglandina E sintase 3. **Fonte:** String Database (2024).

A interrupção da interação entre WRAP53β-SMN é relatada na forma mais grave de atrofia muscular espinhal (AME) do tipo I, que resulta na redução da presença de SMN nos corpos de Cajal. O motivo da perda de ligação atualmente desconhecido, mas abre a possibilidade de que o WRAP53β possa induzir o fenótipo de AME tipo 1 devido a localização incorreta de SMN, falhas de manutenção nos corpos de Cajal e déficits no reparo de quebra de fita dupla de DNA (HENRIKSSON; FARNEBO, 2015; HEBERT; POOLE, 2016; BERGSTRAND et al., 2022). A **Figura 6** resume as consequências de mutações em WRAP53β (GADELHA et al., 2022).

Figura 6. Impactos das mutações WRAP53 β em estados patológicos.

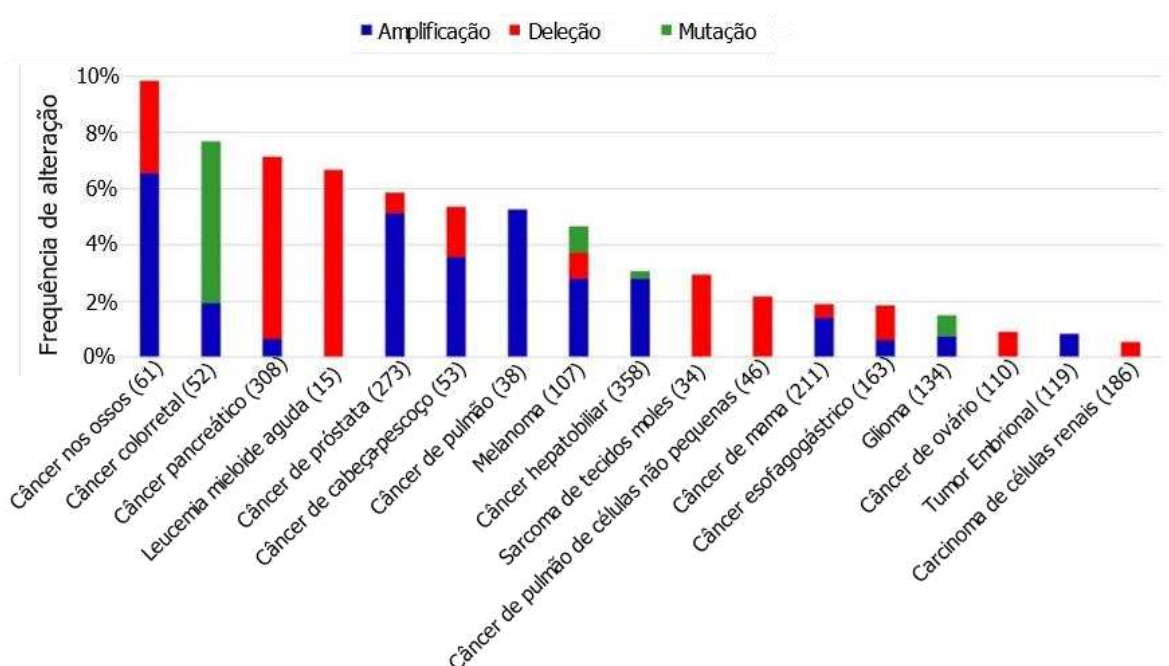


Legenda: Impactos das mutações WRAP53 β em estados patológicos. A ligação inadequada de WRAP53 β aos componentes da telomerase leva ao encurtamento progressivo dos telômeros e é altamente implicada como um fator determinante para a gravidade da disqueratose congênita e para o aparecimento de malignidades. Mutações que prejudicam sua capacidade de mediar reparos de quebra de fita dupla de DNA também são preocupantes no contexto geral da estabilidade do genoma e podem estar ligadas a diversos eventos biológicos observados em células deficientes em WRAP53 β . Por fim, mutações no WRAP53 β ou no SMN1 que levam a interações deficientes entre as duas proteínas resultam na má localização do SMN1 no núcleo e consequente perda da integridade estrutural dos corpos de Cajal, induzindo o fenótipo de atrofia muscular espinhal. **Fonte:** Adaptado de Gadelha et., al (2022).

3.3.3. WRAP53 como biomarcador e fator de prognóstico no câncer

Atualmente, a hiperexpressão dos transcritos do *WRAP53* tem sido utilizada como um biomarcador em várias linhagens tumorais, devido à sua ampla participação em tarefas dentro da célula. As alterações em *WRAP53* podem estar presentes não apenas no início da carcinogênese, mas também durante o desenvolvimento e progressão tumoral. Essa hiperexpressão está principalmente relacionada à ativação da telomerase, invasão tumoral, resistência quimioterápica e metástase linfonodal. A (Figura 7) Apresenta a frequência de alterações no gene *WRAP53* nos principais tipos de câncer com base nos dados de sequenciamento do banco de dados TCGA (GADELHA et al., 2022). Os casos representados como leucemia na Figura 7, são casos onde ocorreram a deleção do gene p53, consequentemente gerando a deleção de *WRAP53*. Os dados apresentados para LMA são representados por deleção no gene TP53

Figura 7. Frequência de alterações genéticas presentes no gene *WRAP53*.



Legenda: Frequência das alterações genéticas presentes no gene *WRAP53* em linhagens celulares de câncer. Foi aplicado um limite mínimo de alteração de 0,5% na criação do gráfico. Os números entre parênteses representam o número de pacientes analisados. **Fonte:** Adaptado de GADELHA et al., (2022).

A hiperexpressão de *WRAP53β* é conhecida por promover a proliferação celular descontrolada, a resistência radioterápica e a necrose tumoral. A localização celular de *WRAP53β* também é um fator importante, visto que seus baixos níveis de expressão nuclear são relacionados a uma chance quatro vezes maior de morte por câncer ou a uma má resposta radioterápica e menor taxa de sobrevivida livre de doença. A proliferação celular descontrolada

é especialmente relatada no câncer de pulmão, tumores de cabeça e pescoço e carcinomas colorretais (ZHANG et al., 2012; RAO et al., 2014; SILWAL-PANDIT et al., 2015; TIEFENBÖCK-HANSSON et al., 2017; CHEN et al., 2018; SUN et al., 2018; ZHU et al., 2018).

A indução da apoptose é amplamente relatada para o *knockdown* de WRAP53 β em diversas linhagens tumorais. A regulação negativa de WRAP53 β resulta na interrupção do ciclo celular, seguida pela indução de apoptose o que, por sua vez, reduz o potencial de invasão das células tumorais tanto *in vitro* quanto *in vivo* e aumenta a sensibilidade à radioterapia indicando uma dependência das células cancerígenas ao WRAP53 β . Uma vez que tumores primários estudados superexpressam WRAP53 β isso foi relacionado a uma má resposta radioterápica e a uma menor taxa de sobrevida livre de doença (ZHANG et al., 2012; SUN et al., 2014; RAO et al., 2014; YUAN et al., 2017; WANG et al., 2017).

Em modelos animais a regulação negativa de WRAP53 β é relacionada à redução no crescimento de células tumorais. Dados de estudos *in vivo*, apresentaram resultados consistentes, onde ocorreu uma diminuição significativa no tamanho e peso dos tumores em camundongos em que o WRAP53 β foi suprimido (SUN et al., 2014; ZHU et al., 2018).

Os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) que afetam o locus *TP53-WRAP53* e respectivamente seus produtos, são descritos como rs2287499 e rs2287498. A presença desses SNPs é ligada ao aumento do desenvolvimento de câncer de mama, além do mais a mesma variante rs2287498 é ligada ao desenvolvimento de câncer de ovário agressivo. (GARCIA-CLOSAS et al., 2007; SCHILDKRAUT et al., 2009; MEĐREK et al., 2012; POULADI et al., 2019).

WRAP53 está envolvido em várias funções celulares importantes ligadas a estabilidade do genoma, assim como o gene *hTERT*. O estudo de ambos os genes pode fornecer uma visão sobre como a instabilidade genômica e a regulação da telomerase contribuem para a LMA. As alterações estruturais ou nos níveis de expressão dos transcritos de *WRAP53*, em especial WRAP53 β , podem levar a um processo de tumorigênese e são bem descritas em uma variedade de tipos tumores sólidos. Além disso, a regulação negativa de sua expressão parece ser benéfica no prognóstico do câncer. Essas descobertas enfatizam o papel do *WRAP53* no câncer como um todo, destacando seu potencial como um novo alvo promissor para terapia da leucemia mieloide aguda.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Pacientes do estudo

4.2.1. Aspectos Éticos

Pacientes adultos diagnosticados com leucemias mielóide atendidos no Hospital Geral de Fortaleza (HGF), Hospital Geral Dr. César Cals (HGCC) e Hospital Maternidade São Vicente de Paulo (HMSVP), centros de referência ao tratamento do câncer do estado do Ceará, foram submetidos a leituras e análise de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e participaram da pesquisa mediante aceite do exposto e assinatura do mesmo. O Projeto foi submetido à Plataforma Brasil e obteve aprovação do comitê de ética em Pesquisa (CEP), sob os números de registro 4.339.719 (ANEXO 1) e 5.823.921 (ANEXO 2)

Após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO 3), a equipe de saúde treinada e/ou a equipe de pesquisadores aplicou um questionário (ANEXO 4), onde constam informações relacionadas à identificação (nome, data de nascimento, filiação, naturalidade, procedência, ocupação), em seguida, o questionário segue com perguntas voltadas à presença ou ausência dos principais sinais e/ou sintomas relacionados à doença. Após a aplicação do questionário, os pacientes passaram por uma avaliação clínica para posterior coleta de material biológico: sangue e medula óssea (quando aplicável).

4.2.2. Amostras Biológicas

Foram analisados todos os pacientes que aceitaram participar do estudo, na fase inicial da doença e de diferentes subtipos de acordo com as classificações imunofenotípicas e de cariótipo, totalizando 110 pacientes diagnosticados com leucemia mieloide aguda. Foram feitas coletas de sangue periférico e, quando possível, de medula óssea no momento da realização do mielograma para o diagnóstico, descartando qualquer inconveniente ao paciente. Além disso, dez amostras de sangue periférico foram coletadas de voluntários saudáveis e empregadas como amostras de controle. O consentimento informado foi obtido dos responsáveis legais dos pacientes, após o qual os pacientes foram submetidos a uma avaliação clínica para coleta de material biológico.

4.2.3. Estratificação dos pacientes

Para categorizar os pacientes em diferentes grupos, foram utilizadas as diretrizes do European LeukemiaNet (ELN) (POGOSOVA-AGADJANYAN et al., 2020), onde os pacientes foram categorizados de acordo com a idade, contagem de glóbulos brancos (WBC), níveis de hemoglobina e sexo. A avaliação do risco citogenético foi realizada de acordo com os critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS) (KHOURY et al., 2022). Além disso, anteriormente, os pacientes neste estudo foram rastreados para anormalidades genéticas, como *BCR::ABL1* p190, por técnicas moleculares por meio da reação em cadeia da polimerase de transcrição reversa (RT-qPCR) (PESSOA et al., 2024)

4.2 Extração de RNA e Transcrição Reversa

O RNA total das amostras foi extraído com o reagente *TRIzol Reagent*® (Invitrogen TM) de acordo com instruções do fabricante e quantificado por absorvância utilizando o equipamento *NanoDrop* (ThermoFisher Scientific®).

A partir de 20ng de RNA total extraído foi sintetizado o DNA complementar (cDNA) de acordo com o *kit High Capacity cDNA Reverse Transcriptase* (ThermoFisher Scientific®). A etapa de conversão foi realizada no termociclador *Veriti*® *thermal cycler* (Applied Biosystems®). As amostras de cDNA foram armazenadas em freezer -20°C para estabelecimento de uma biblioteca de cDNA e permaneceram congeladas até sua análise.

4.3 Validação da Expressão Gênica por *Real-Time* PCR Quantitativo (RT-qPCR)

As expressões foram quantificadas por RT-qPCR utilizando primers para os genes *WRAP53* (Hs00216360_m1), *hTERT* (Hs_00972650_m1) e do gene *ABL* (Hs01104728_m1) que foi usado como controle endógeno. A Síntese de primers foi realizada pela empresa *ThermoFisherTM Scientific*. O método de detecção foi o sistema de ensaios de expressão gênica *TaqMan*® (Applied Biosystems®, Foster City, CA, EUA). A RT-qPCR foi realizada utilizando o kit *TaqMan*® *Gene expression master mix*. Os fragmentos amplificados foram quantificados pela análise dos dados fluorescentes através do software versão 1.1 no equipamento *QuantStudio*® 5 (*Applied Biosystems*®).

O protocolo das reações utiliza as quantidades de reagentes descritas na **Tabela 3**, totalizando uma reação de 10uL. O protocolo de amplificação das reações constituiu-se da seguinte ciclagem: 50°C/2 min, 95°C/10 min e 50 ciclos de 95°C/15 segundos e 60°C/ 1 min.

Tabela 3. Reagentes utilizados na RT-qPCR.

Reagentes	µL
Água deionizada	3,5
Tampão (TaqMan® gene expression master Mix)	5
TaqMan® Gene expression assay	0,5
cDNA	1
Total	10µL

Na análise de RT-qPCR, a quantificação é baseada no *Cicle of quantification* (CQ), que é inversamente proporcional ao logaritmo do número de cópias iniciais (TYAGI; BRATU; KRAMER, 1998). O CQ é definido como o primeiro ciclo de amplificação no qual a fluorescência indica que os produtos de PCR se tornam detectáveis. Para determinar a linha de corte para a expressão gênica alterada em tecidos tumorais, o valor CQ será determinado também em tecido normal.

Cada amostra foi analisada em duplicata e as razões de expressão foram calculadas usando o método $2^{-\Delta\Delta CT}$, dessa forma, o nível de expressão do gene de interesse é relatado em relação ao do gene de referência para cada amostra (SCHMITTGEN; LIVAK, 2008). O gene de referência *ABL* usado neste estudo já foi validado anteriormente pela detecção de RT-qPCR em pacientes com LMA e foi determinado como o endógeno mais apropriado para análise de ensaio de expressão gênica (PESSOA et al., 2024). Cada amostra foi analisada em duplicata para validação experimental e técnica, de acordo com os padrões internacionais para avaliação da expressão gênica por PCR em tempo real (SCHMITTGEN et al., 2008; BUSTIN et al., 2009).

CrITÉRIOS de Fold Change (FC) foram definidos para identificar genes diferencialmente expressos. Para o gene *WRAP53*, dois grupos foram criados: um com valores de FC < -1 (diferencialmente expressos) e outro com valores de FC entre -1 e 1 (não diferencialmente expressos). Para *hTERT*, a categorização incluiu três grupos de valores: FC: < -1, entre -1 e 1, e maior que >1 (diferencialmente expressos).

4.4 Análise Estatística

Os dados sobre a expressão relativa de mRNA de *WRAP53* e *hTERT* foram expressos como média para determinar a associação potencial entre expressões gênicas e variáveis. A normalidade foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov ou Shapiro-Wilk e foi aplicada a cada grupo específico. Os outliers foram removidos com base no limite superior e inferior do intervalo interquartil. As diferenças em variáveis contínuas foram analisadas

usando o teste Mann-Whitney ou teste t não pareado para comparar medianas entre dois grupos e o teste de Kruskal-Wallis ou ANOVA unidirecional para comparar medianas entre variáveis com três ou mais grupos. A correlação entre duas variáveis contínuas foi determinada usando o coeficiente de correlação de Pearson. As probabilidades de sobrevivência foram estimadas pelo método de Kaplan-Meier, e as diferenças nas distribuições de sobrevivência foram avaliadas usando o teste LogRank, onde a sobrevivência geral do paciente foi determinada a partir da data do diagnóstico até a morte ou último acompanhamento. As análises estatísticas, juntamente com a geração de gráficos, foram realizadas usando o software GraphPad Prism (versão 10.0). O teste LogRank foi realizado com o software Jamovi (versão 2.3.28). Diferenças significativas foram consideradas com intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$).

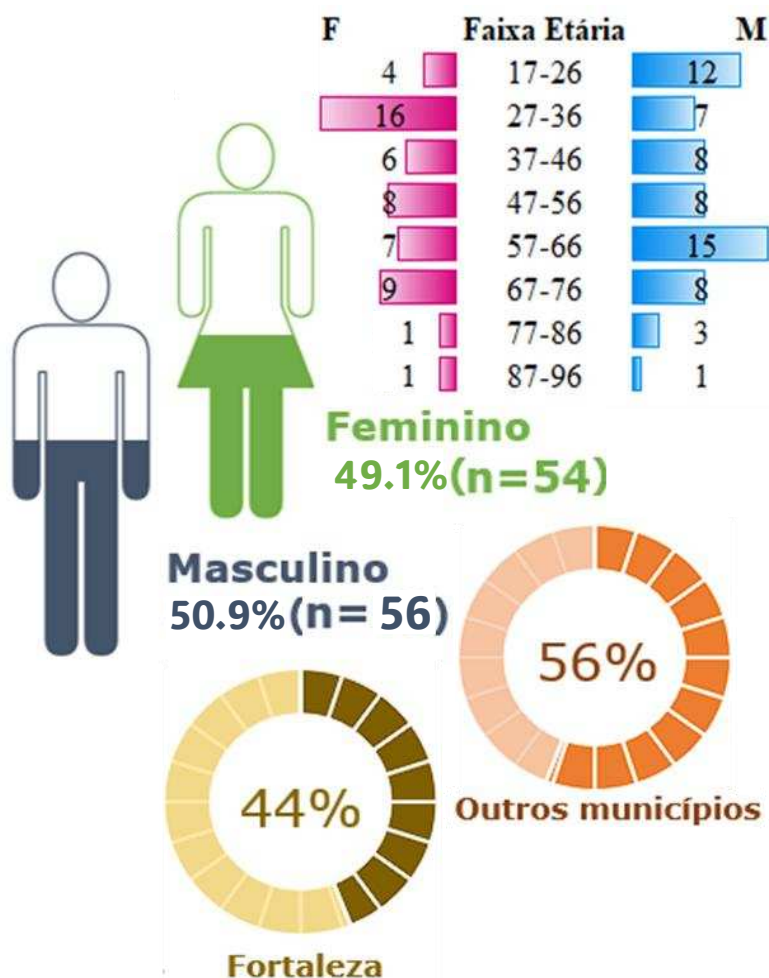
5. RESULTADOS

5.1 Dados Clínicos-Epidemiológicos Dos Pacientes

No período compreendido entre julho de 2021 a julho de 2024, realizou-se a coleta de informações de prontuário, amostras de sangue e medula óssea de pacientes suspeitos ou diagnosticados com leucemias agudas do tipo mieloide nos seguintes hospitais: Hospital Geral de Fortaleza (HGF), Hospital Geral Dr. César Cals (HGCC) e Hospital Maternidade São Vicente de Paulo (HMSVP).

Ao todo, foram coletadas amostras de 110 pacientes, sendo 56 (50.9%) compostos por homens e 54 (49.1%) por mulheres. A média de idade entre os pacientes se deu em 50.3 anos, sendo 49.3 anos a média para homens e 51.4 anos para mulheres. Ao todo, 43% ($n=50$) dos pacientes eram residentes da capital (Fortaleza), enquanto 57% ($n=60$) eram provenientes de outros municípios cearenses e buscavam atendimento nos hospitais HMSVP, HGF e HGCC. Esse estudo contou com a participação de pacientes provenientes de todas as macrorregiões cearenses. Os pacientes com LMA foram avaliados de acordo com acordo com a Classificação da OMS de 2022 (ANEXO 5), a **Figura 8** representa o perfil dos pacientes presentes no estudo.

Figura 8. Características clínico-epidemiológicas dos pacientes portadores de LMA.



Fonte: Dados da pesquisa (2024).

As seguintes ocupações foram reportadas durante a entrevista: agricultor(a), dona de casa, autônomo(a), comerciante, mecânico, motorista, professor(a), segurança, pedreiro, cozinheiro(a), policial, dentre outras que estão resumidas na **Tabela 4**. Ao todo, 50 pacientes não informaram sua ocupação no formulário. Agricultor foi a profissão mais relatada entre os pacientes. Dos 11 relatados, 3 eram moradores da capital Fortaleza, enquanto 8 eram moradores de cidades do interior do estado.

Tabela 4. Ocupação laboral de pacientes com LMA participantes do estudo.

Ocupação	Total
Agricultor(a)	11
Aposentado(a)	2
Autônomo(a)	4
Comerciante	4
Confeiteiro(a)	1
Pedreiro	4
Costureiro(a)	2
Dona de casa	7
Eletricista	1
Mecânico	2
Motoboy	1
Motorista	1
Pescador	1
Policial	2
Professor(a)	5
Representante de venda	2
Tec. Enfermagem	1
ONGs	1
Vendedor(a)	2
Doméstica	3
Porteiro	2
Estudante	1
Não informado	50
Total	110

Fonte: Dados da pesquisa (2024).

As características clínicas dos pacientes diagnosticados com LMA estão detalhadas na **Tabela 5**. No momento do diagnóstico, foi observado que 65,4% dos pacientes apresentavam hemoglobina abaixo de 8 g/dL, 59% dos pacientes apresentavam blastos circulantes no sangue periférico e 84,5% demonstraram trombocitopenia. Para o diagnóstico de leucemia, são necessárias amostras de medula óssea para análise de mielograma, imunofenotipagem e cariótipo. No mielograma, foi observado que esses pacientes com LMA apresentavam em média 35% de blastos presentes na medula óssea. Na análise de imunofenotipagem, observou-se que os fenótipos mais prevalentes na LMA foram CD33, CD117, CD45, CD34, CD13, HLA-DR, MPO e CD64. Os resultados do cariótipo foram obtidos de 81 pacientes com LMA, com um total de 22 pacientes sem anormalidades e 59 pacientes apresentando cariótipos alterados, dos quais 8 eram complexos. Dos 110 participantes deste estudo, 8% foram classificados como favoráveis, 31% como intermediários e 43% como adversos. Os pacientes dos quais não foi possível obter o resultado do cariótipo e a presença de *BCR::ABL1* p190 não foi detectada em

nossa triagem anterior foram classificados como não classificáveis (N.C) (18%).

Tabela 5. Dados clínicos dos pacientes portadores de LMA.

Dados clínicos LMA	
Hemoglobina	<8g/dL: 72 (65.4%) 8-10g/dL: 29 (26.3%) >10g/dL: 9 (8.3%)
Leucócitos	≤ 10.000/mm ³ : 47 (42.7%) > 10.000/mm ³ : 46 (41%) > 100.000/mm ³ : 18 (16.3%)
Blastos em sangue periférico	Sim: 65 (59%) Não: 45 (41%)
Blastos em medula óssea	Blastos ≤ 10%: 9 Blastos ≤ 70%: 39 Blastos > 70%: 59 SR: 3
Plaquetas	<150.000/mm ³ : 93 (84.5%) >150.000/mm ³ : 17 (15.5%)
LHD	LDH ≤ 400 μL: 37 LDH > 400 μL: 32 LDH > 1.000 μL: 13 Sem resultado: 28
Imunofenotipagem	CD33, CD117, CD45, CD34, CD13, HLA-DR, MPO e CD64
Cariótipo	Favorável: 9% n=10 Intermediário: 30% n=34 Adverso: 44% n=48 N.C: 17% n=18

Fonte: Dados da pesquisa (2024). SR: Sem resultado.

Os dados dos registros médicos foram submetidos a análises estatísticas, onde as variáveis de interesse do estudo foram organizadas em tabelas e gráficos. Uma análise estatística descritiva foi conduzida, na qual foram calculadas médias e desvios padrão para dados com distribuição normal, e medianas quando apropriado.

Foi realizado teste de Qui-Quadrado (**Tabela 6**) com o objetivo de analisar relações entre duas variáveis clínicas. Os resultados foram obtidos por meio da comparação da estratificação de risco dos pacientes com as seguintes variáveis: idade, presença de blastos em sangue periférico, óbito, sexo, contagem de leucócitos e LDH. Dentre as associações realizadas não foi observada correlação significativa, os valores estão demonstrados na tabela abaixo.

Tabela 6. Análise de Chi-Quadrado de dados Clínico-Epidemiológicos dos pacientes portadores LMA participantes do estudo.

		Estratificação de Risco - LMA			
		Favorável	Intermediário	Adverso	<i>P-valor</i> 0,1310
Idade	17 - 39	6	28	8	
	40 - 59	6	20	4	
	60 - 99	1	30	7	
Blastos em SP		Favorável	Intermediário	Adverso	<i>P-valor</i> 0,1620
	Sim	6	47	10	
	Não	8	34	5	
Óbito		Favorável	Intermediário	Adverso	<i>P-valor</i> 0,0720
	Sim	3	20	10	
	Não	11	58	8	
Sexo		Favorável	Intermediário	Adverso	<i>P-valor</i> 0,3010
	Masculino	7	40	12	
	Feminino	5	40	6	
WBC (10³) /mm³		Favorável	Intermediário	Adverso	<i>P-valor</i> 0,7818
	≤10	7	33	8	
	>10	4	33	7	
	>100	1	13	4	
LDH		Favorável	Intermediário	Adverso	<i>P-valor</i> 0,2960
	<400	4	27	5	
	>400	3	20	7	
	>1.000	0	9	4	
	Sem resultado	6	22	2	

Fonte: Dados da pesquisa (2024).

5.2 Análise da Expressão Gênica

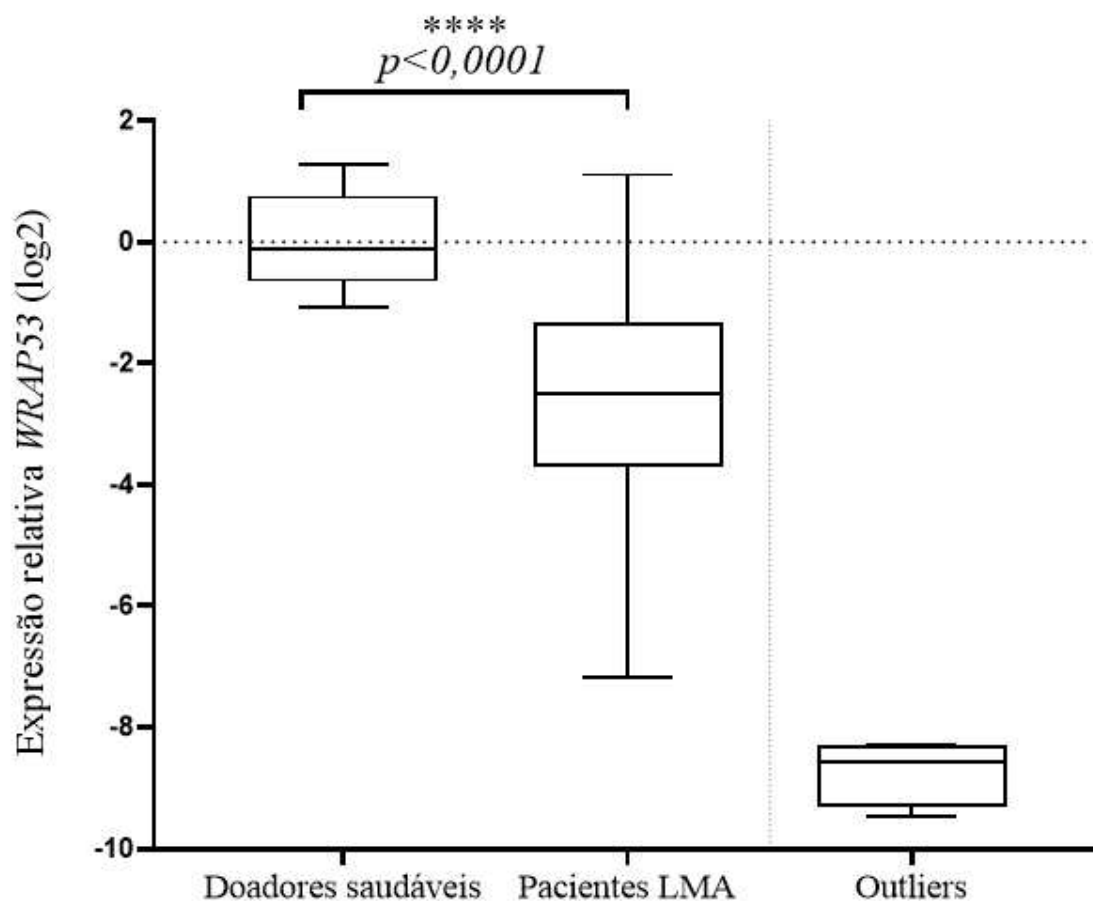
Análise da Expressão Gênica de *WRAP53*

Os dados analisados foram normalizados, e os níveis de FC Log2 foram utilizados como ponto de corte para a análise da expressão do gene *WRAP53*. Os pacientes foram divididos em dois grupos principais, o primeiro grupo consistiu em amostras com FC < -1, representando expressão reduzida do gene *WRAP53*, e o segundo grupo incluiu amostras com valores de FC entre -1 e >1, representando variação mínima ou nenhuma alteração significativa na expressão de *WRAP53*. Para análise dos resultados da expressão, os pacientes foram classificados em diferentes grupos com base nas diretrizes do ELN (POGOSOVA-

AGADJANYAN et al., 2020), sendo, por idade <60 e >60, na contagem de leucócitos (WBC), separados em grupos de $<10 \times 10^3/\text{mm}^3$, $>10 \times 10^3/\text{mm}^3$ e $>100 \times 10^3/\text{mm}^3$, em gênero (masculino ou feminino) e pelos níveis de hemoglobina. Para o grupo de risco citogenético, a classificação dos pacientes foi baseada nas diretrizes da OMS (KHOREY et al 2022).

Em nossa coorte de pacientes com LMA, o nível médio de expressão de *WRAP53* foi de -2,490 e foi regulado negativamente em comparação com amostras de sangue de doadores saudáveis (grupo controle), média do grupo controle: -0,1111 ($p < 0,0001$) (**Figura 9**). A expressão de *WRAP53* foi identificada em 100 dos 110 pacientes com LMA incluídos no estudo. Os valores atípicos não foram considerados nos cálculos estatísticos ($n=4$).

Figura 9. Avaliação da expressão de *WRAP53* em sangue periférico nas amostras de pacientes com LMA em comparação com grupo controle.



Legenda: Pacientes com LMA demonstram uma baixa expressão de *WRAP53* em comparação com o grupo controle ($n=10$) ($p < 0,0001$), outliers removidos ($n=4$). Os dados são apresentados como média. Para análise estatística, a distribuição normal foi avaliada pelo teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e seguida pelo teste t não pareado.

Ao analisar variáveis clínicas como sexo, idade, hemoglobina, contagem de leucócitos ou citogenética, observou-se diferença estatisticamente significativa nas faixas etária e sexo. Além disso, observou-se uma discreta tendência em alguns parâmetros, como maior percentual de homens, maior número de pacientes com idade < 60 anos, pacientes com hemoglobina abaixo de 8 g/dL e maior número de pacientes classificados como de risco adverso, nos grupos FC < -1.

No grupo masculino (49 pacientes), a expressão média de *WRAP53* para aqueles com expressão diferencial (FC < -1) e aqueles sem expressão diferencial (FC entre -1 e 1) foi de -3,222 e -0,0305, respectivamente; no grupo feminino (47 pacientes), a expressão média foi de -2,613 para aqueles com FC < -1 e -0,1975, naqueles com FC entre -1 e 1, o p-valor associado foi de 0,0322*, mostrando que há diferença estatisticamente significativa entre os grupos masculino e feminino com FC < -1, com maior média observada no grupo feminino. Isso não foi observado no grupo FC entre -1 e 1 (p = 0,6132). Na faixa etária, foi encontrada diferença estatisticamente significativa no grupo FC < -1 (p = 0,0496*), onde o grupo >60 apresenta maior média em comparação ao grupo ≤60 no contexto da variável analisada. Para o grupo com FC entre -1 e 1, a expressão média de *WRAP53* nas faixas etárias <60 e >60 foi de -0,3334 e 0,2187, respectivamente, o valor de p associado foi de 0,0795 indicando que não há diferença estatisticamente significativa (**Tabela 7**).

Tabela 7. Expressão de *WRAP53* de acordo com características clínicas da LMA.

Parâmetro	Total (n=96)	<i>WRAP53</i> diferencialmente expresso	<i>P value</i>	<i>WRAP53</i> não diferencialmente expresso	<i>P value</i>
Gênero					
Masculino (%)	49 (51)	-3,222(n=43)	0,0322*	-0,0305(n=6)	0,6132
Feminino (%)	47 (49)	-2,613(n=36)		-0,1975(n=11)	
Idade					
≤60	69	-3,120(n=57)	0,0469*	-0,3334(n=11)	0,0795
>60	31	-2,490(n=22)		0,2187(n=6)	

Legenda: Distribuição das características clínicas dos pacientes com LMA com expressão de *WRAP53*, mostrando a comparação entre os grupos diferencialmente expressos (FC < -1) e não diferencialmente expressos (FC entre -1 e 1). Os dados incluem gênero, idade e média com seus respectivos valores de p para análise estatística. Para análise estatística, foi realizado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov, seguido do teste t não pareado. Os asteriscos mostram diferenças significativas.

Para WBC, a média de *WRAP53* nos grupos FC <-1 e FC entre -1 e 1 foram, respectivamente, -2,247 e 0,1517 para <10.000/mm³, -3,017 e -0,3774 para >10.000 e -3,183 e

-0,7953 para $\geq 100.000/\text{mm}^3$, ($p = 0,3683$ e $0,1953$) indicando que não há diferença estatisticamente significativa neste grupo. Em relação aos níveis de hemoglobina, as médias de expressão para FC < -1 e FC entre -1 e 1, respectivamente, foram -2,622 e -0,1800 para <8 g/dL, -2,971 e 0,1222 para 8–10 g/dL, e ≥ 10 g/dL, as médias foram -3,880 e -0,9673 ($p = 0,1205$ e $0,2637$), sugerindo que não há associação significativa entre os níveis de cada faixa de hemoglobina e a expressão do gene *WRAP53* entre os grupos FC < -1 ou FC entre -1 e 1. Na estratificação de risco, os valores médios para os grupos FC < -1 ou FC entre -1 e 1 foram: -1,862 e -0,1800 para risco favorável, -2,991 e -0,4623 para risco intermediário, -2,563 e 0,1812 para risco adverso, e para os pacientes sem classificação de risco foi de -3,593 e -0,5748 ($p = 0,6198$ e $0,4586$) também sem diferença significativa entre os grupos analisados (**Tabela 8**).

Tabela 8. Expressão de *WRAP53* de acordo com características clínicas da LMA.

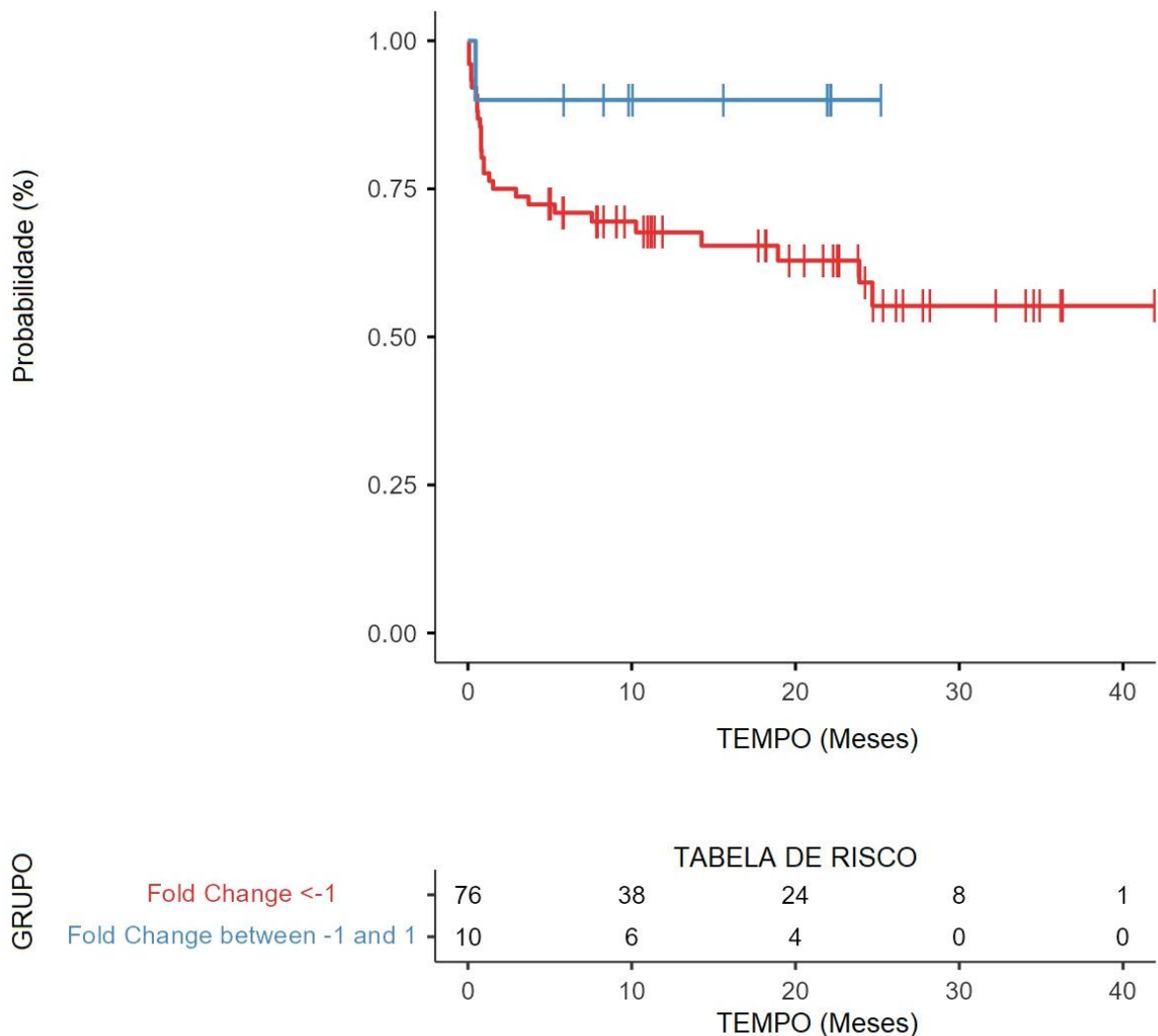
Parâmetro	Total (n=96)	<i>WRAP53</i> diferencialmente expresso	<i>P value</i>	<i>WRAP53</i> não diferencialmente expresso	<i>P value</i>
WBC					
<10.000/mm ³	43	-2,247(n=35)		0,1517(n=8)	
>10.000/mm ³	40	-3,017(n=32)	0,3683a	-0,3774(n=8)	0,1953a
$\geq 100.000/\text{mm}^3$	13	-3,183(n=12)		-0,7953(n=1)	
Hemoglobina					
<8g/dL	69	-2,622(n=56)		-0,1800(n=13)	
8 - 10g/dL	18	-2,971(n=15)	0,1205a	0,1222(n=3)	0,2637a
$\geq 10\text{g/dL}$	9	-3,880(n=8)		-0,9673(n=1)	
Estratificação de Risco					
Favorável	10	-1,862(n=7)		-0,1800(n=3)	
Intermediário	29	-2,991(n=25)	0,6198b	-0,4623(n=4)	0,4586b
Adverso	46	-2,563(n=37)		0,1812(n=9)	
N.C	11	-3,593(n=10)		-0,5748(n=1)	

Legenda: Distribuição das características clínicas dos pacientes com LMA com expressão de *WRAP53*, mostrando a comparação entre os grupos diferencialmente expressos (FC < -1) e não diferencialmente expressos (FC entre -1 e 1). Os dados incluem contagem de leucócitos (WBC), níveis de hemoglobina, estratificação de risco e média, com seus respectivos valores de p para análise estatística. Para análise estatística, foi realizado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov, seguido do teste de Kruskal-Wallis (a) ou ANOVA ordinária de uma via (b). N.C: Não classificável.

Análise de sobrevivência de Kaplan-Meier para *WRAP53*

Realizamos uma análise de sobrevivência para avaliar a associação dos níveis de expressão do gene *WRAP53* e sua potencial associação com o prognóstico em malignidades hematológicas. A análise incluiu todos os pacientes que dados clínicos e epidemiológicos completos e que tinham expressão de *WRAP53* (n = 86). O tempo médio de acompanhamento foi de 13,1 meses. Utilizamos os mesmos dados de expressão, divididos em dois grupos: pacientes com FC < -1 e FC entre -1 e 1 de *WRAP53* na hipótese de que a expressão alterada desse gene pode influenciar a sobrevivência de pacientes com LMA. A análise mostrou que os níveis de expressão de *WRAP53* não apresentaram alterações significativas entre os grupos acima ou abaixo da mediana do Log-Rank (p = 0,675), conforme mostrado na **Figura 10**.

Figura 10. Análise de sobrevivência em pacientes com diferentes níveis de expressão de *WRAP53*.



Legenda: Uma análise de sobrevivência de pacientes com diferentes níveis de expressão de *WRAP53*. Não houve diferenças estatísticas entre os grupos Log-Rank (p = 0,150). Os dados mostrados na tabela de risco que é apresentada na imagem mostram a probabilidade do evento (morte) ao longo do tempo na amostra estudada com

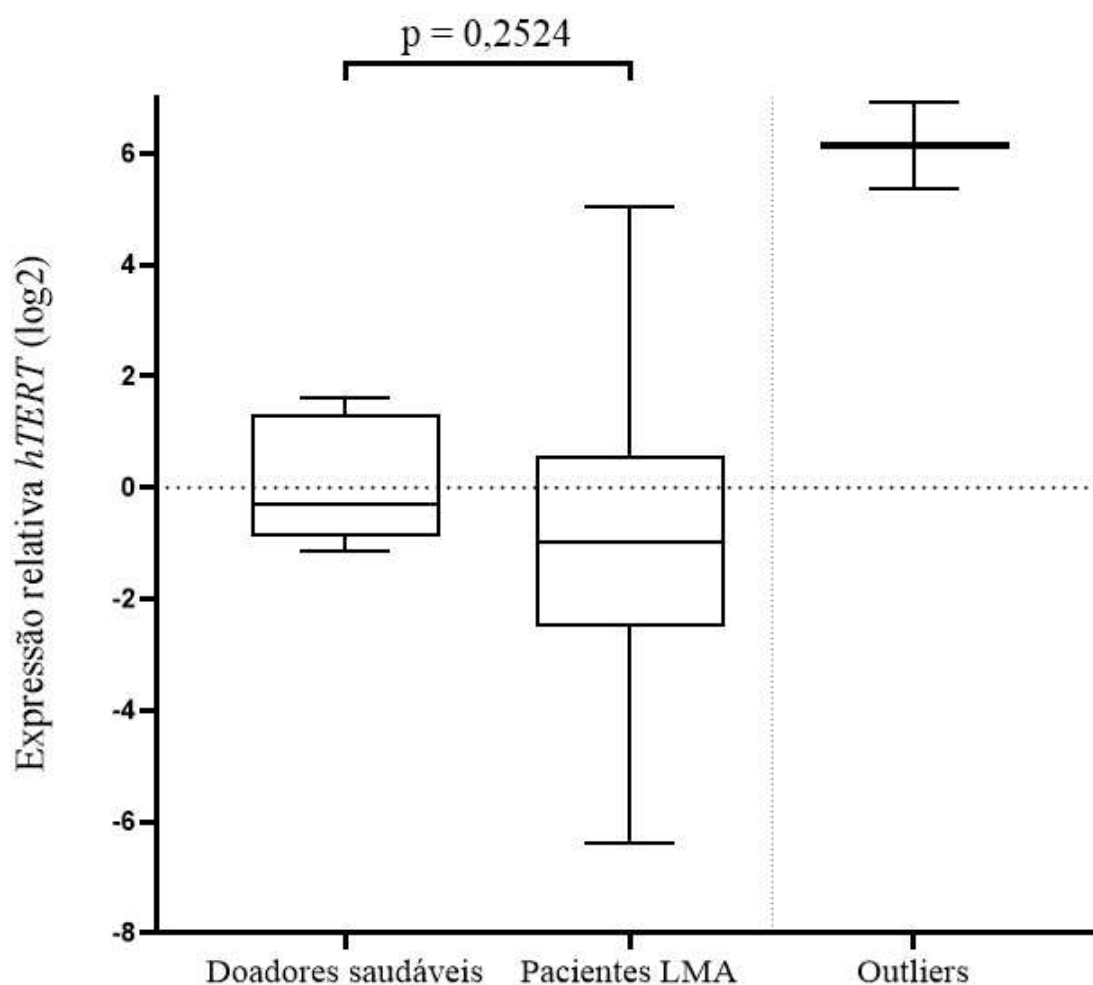
informações sobre o número de indivíduos em risco de experimentar o evento em cada intervalo de tempo.

Análise da Expressão Gênica de *hTERT*

Como anteriormente, os dados aqui analisados foram normalizados assumindo níveis de FC Log2 como ponto de corte, onde os pacientes foram divididos em três grupos representando a variação na expressão gênica. O primeiro grupo incluiu amostras com FC < -1, indicando uma redução na expressão do gene *hTERT*, o segundo grupo com FCs entre -1 e 1, representando variação mínima ou nenhuma mudança significativa na expressão e o terceiro grupo consistiu em um grupo com FC >1, o que significou uma variação na expressão aumentada do gene *hTERT*. Para análise dos resultados da expressão, os pacientes foram classificados como na análise anterior considerando idade, leucócitos, sexo, níveis de hemoglobina e grupo de risco citogenético.

Neste estudo, não identificamos diferenças na expressão de *hTERT* em nossa coorte de pacientes com LMA (média: *hTERT* -0,9658) em comparação com amostras de sangue de 10 doadores saudáveis (grupo controle, média grupo controle: -0,2942) $p = 0,2524$ (**Figura 11**). A expressão de *hTERT* foi identificada em 79 dos 110 pacientes com LMA incluídos no estudo. Outliers não foram considerados nos cálculos estatísticos (n=2).

Figura 11. Avaliação da expressão da *hTERT* no sangue periférico em amostras de pacientes com LMA em comparação com um grupo controle.



Legenda: Neste estudo, não identificamos diferenças na expressão de *hTERT* ($p = 0,2524$) em nossa coorte em comparação ao grupo controle, outliers altos removidos ($n=2$). Os dados são apresentados como média. Para análise estatística, a distribuição normal foi avaliada pelo teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e foi seguida pelo teste t não pareado.

A avaliação das variáveis clínicas não mostrou significância estatística. Em relação à estratificação de risco, os pacientes classificados como risco adverso tiveram maior probabilidade de apresentar uma menor expressão de *hTERT*, embora nenhuma diferença significativa tenha sido encontrada para grupos de risco favorável ou intermediário. No geral, embora algumas tendências tenham sido observadas, esses achados não revelaram significância estatística em relação aos parâmetros clínicos.

Ao comparar a expressão do gene *hTERT* entre homens e mulheres com LMA nos grupos com $FC < -1$, CF entre -1 e 1 e $FC > 1$, observou-se que no grupo masculino ($n = 38$), a expressão média foi de $-2,591$, $0,0342$ e $3,232$, respectivamente, enquanto no grupo feminino ($n = 41$), a expressão média foi de $-2,419$ para o grupo $FC < -1$, $0,4605$ para aqueles com FC

entre -1 e 1 e 3,284 para $FC > 1$, os valores de p foram de 0,8192, 0,6049 e 0,5338, respectivamente, indicando que não há diferença estatisticamente significativa entre os gêneros nos grupos analisados. Em relação à idade, a expressão média da *hTERT* em indivíduos com idade ≤ 60 anos foi de -2,458 para $FC < -1$ e 0,3651 para FC entre -1 e 1, e 3,232 para $FC > 1$, enquanto em indivíduos > 60 anos, a expressão média da *hTERT* para os grupos $FC < 1$, FC entre -1 e 1 e $FC > 1$, foi de -2,662, 0,3173 e 3,422, respectivamente, o valor de p foi de 0,3382 para $FC < -1$, 0,8410 para FC entre -1 e 1 e 0,8111 para $FC > 1$, não atingindo, portanto, significância estatística (**Tabela 9**)

Tabela 9. Expressão de *hTERT* de acordo com características clínicas da LMA.

Parâmetro	Total (n=77)	<i>hTERT</i> diferencialmente expresso ≤ -1	<i>P value</i>	<i>hTERT</i> não diferencialmente expresso	<i>P value</i>	<i>hTERT</i> diferencialment e expresso > 1	<i>P value</i>
Gênero							
Masculino(%)	38(49)	-2,591(n=23)	0,8192	0,0342(n=8)	0,6049	3,232(n=6)	0,5338
Feminino(%)	41(51)	-2,419(n=15)		0,4605(n=18)		3,284(n=7)	
Idade							
≤ 60	53	-2,458(n=29)	0,3382	0,3651(n=17)	0,8410	3,232(n=7)	0,8111
> 60	24	-2,662(n=9)		0,3173(n=9)		3,422(n=6)	

Legenda: Distribuição das características clínicas dos pacientes com LMA com expressão de *hTERT*, mostrando a comparação entre os grupos de baixa expressão (Fold Change < -1) e diferencialmente expressos (Fold Changer entre -1 e 1) e expressão moderada (Fold Change > 1). Os dados incluem gênero e idade com seus respectivos valores de p para análise estatística. Para análise estatística, foi realizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, seguido do teste de Mann-Whitney.

Dentre as variáveis clínicas analisadas para *hTERT*, as médias de expressão em pacientes com < 10.000 , > 10.000 e $\geq 100.000/\text{mm}^3$ de leucócitos foram semelhantes nos grupos $FC < -1$, entre -1 e 1 e > 1 , e não houve diferenças significativas entre os grupos $p = 0,1688$, 0,7441 e 0,7308, respectivamente. Em relação aos níveis de hemoglobina, as médias também não diferiram significativamente entre os grupos e não houve diferenças significativas nas faixas < 8 , 8–10 e ≥ 10 g/dL para os grupos $FC < -1$ ($p = 0,3131$), FC entre -1 e 1 ($p = 0,1098$) e $FC > 1$ ($p = 0,8678$). Para o risco citogenético, também não houve diferenças significativas nos grupos de $FC < -1$, FC entre -1 e 1 e $FC > 1$ ($p = 0,0549$, 0,4628 e 0,4628, respectivamente) (**Tabela 10**).

Tabela 10. Expressão de *hTERT* de acordo com características clínicas da LMA.

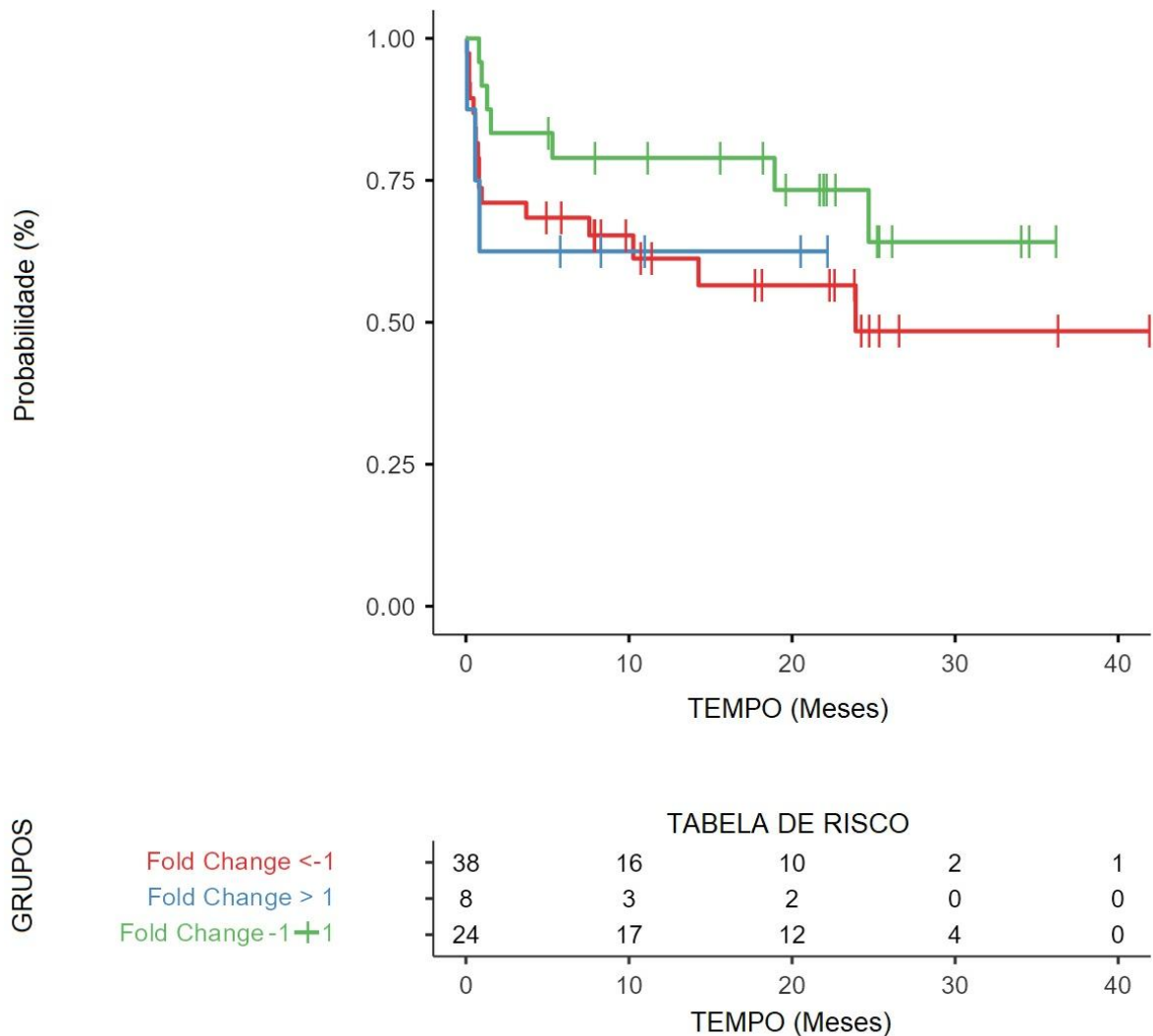
Parâmetro	Total (n=77)	<i>hTERT</i> diferencialment e expresso ≤ 1	<i>P value</i>	<i>hTERT</i> não diferencialme nte expresso	<i>P value</i>	<i>hTERT</i> diferencialmente expresso > 1	<i>P value</i>
WBC							
< 10.000/mm ³	27	-2,097(n=12)		0,3033(n=11)		3,205(n=6)	
> 10.000/mm ³	34	-2,385(n=18)	0,1688a	0,3651(n=11)	0,7441a	3,232(n=7)	0,7308b
$\geq 100.000/\text{mm}^3$	12	-4,117(n=8)		0,0780(n=4)		N.R(n=0)	
Hemoglobina							
<8g/dL	60	-2,498(n=30)		0,3167(n=21)		2,812(n=8)	
8 - 10g/dL	12	-1,608(n=5)	0,3131a	0,6031(n=4)	0,1098a	4,156(n=4)	0,8678a
$\geq 10\text{g/dL}$	5	-3,158(n=3)		-0,7490(n=1)		2,551(n=1)	
Extratificação de Risco							
Favorable	8	-2,184(n=6)		N.R(n=0)		3,284(n=2)	
Intermediary	23	-2,047(n=11)	0,0549a	0,4918(n=9)	0,4628a	3,248(n=3)	0,5941a
Adverse	37	-3,052(n=16)		0,1688(n=14)		3,232(n=7)	
N.C	9	-5,878(n=5)		0,5138(n=3)		1.707(n=1)	

Legenda: Distribuição das características clínicas dos pacientes com LMA com expressão de *hTERT*, mostrando a comparação entre os grupos de baixa expressão (Fold Change < -1) e diferencialmente expressos (Fold Change entre -1 e 1) e expressão moderada (Fold Change > 1). Os dados incluem contagem de leucócitos, níveis de hemoglobina e estratificação de risco, com seus respectivos valores de p para análise estatística. Para análise estatística, foi realizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, seguido do teste de Kruskal-Wallis (a) ou teste de Mann Whitney (b). N.R: Nenhum resultado; N.C: Não classificável.

Análise de sobrevivência de Kaplan-Meier para *hTERT*

Realizamos uma análise de sobrevida para avaliar a associação dos níveis de expressão do gene *hTERT* e seu potencial associação com o prognóstico. A análise incluiu todos os pacientes com dados clínicos e epidemiológicos completos e que apresentaram expressão de *hTERT* (n = 70). O tempo mediano de acompanhamento foi de 13,4 meses. Utilizamos os mesmos dados de expressão, divididos em três grupos pelos valores de FC, a saber: FC < -1, FC entre -1 e 1 e FC > 1 na hipótese de que a expressão alterada desse gene pode influenciar a sobrevida de pacientes com LMA. A análise mostrou que os níveis de expressão de *hTERT* não apresentaram alterações significativas entre os grupos Log-Rank (p = 0,316), conforme mostrado na **Figura 12**.

Figura 12. Análise de sobrevida em pacientes com diferentes níveis de expressão de *hTERT*.

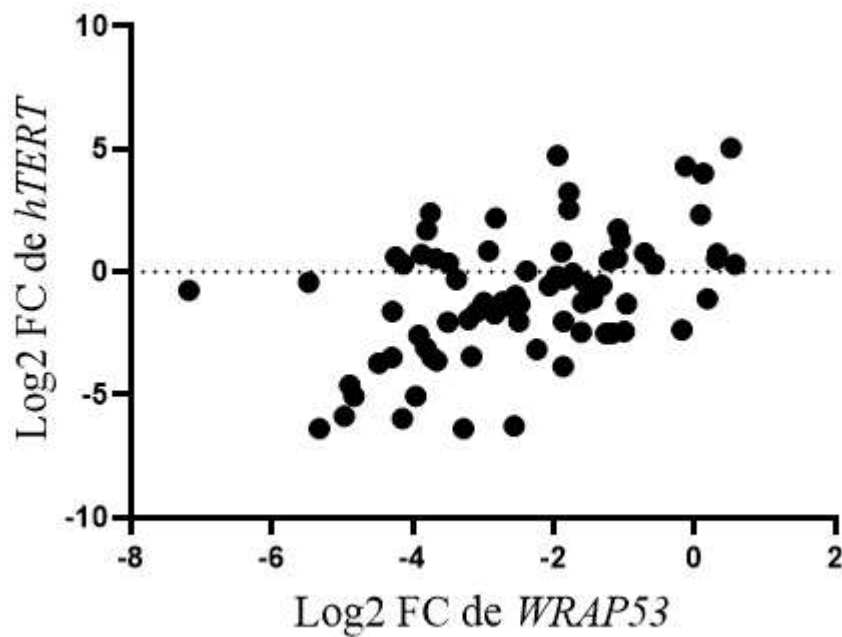


Legenda: O tempo de sobrevivência não foi estatisticamente significativo entre os grupos de expressão ($p = 0,316$). Os dados da tabela de risco apresentada na imagem mostram a probabilidade do evento (morte) ao longo do tempo na amostra estudada com informações sobre o número de indivíduos em risco de experimentar o evento em cada intervalo de tempo.

A expressão de *WRAP53* está correlacionada com *hTERT*

Uma análise de correlação de Pearson revelou uma relação positiva moderada entre os níveis de expressão de *WRAP53* e *hTERT*, com um coeficiente de correlação de $r = 0,475$ e um valor de $p < 0,0001$, indicando uma associação positiva estatisticamente significativa (**Figura 13**).

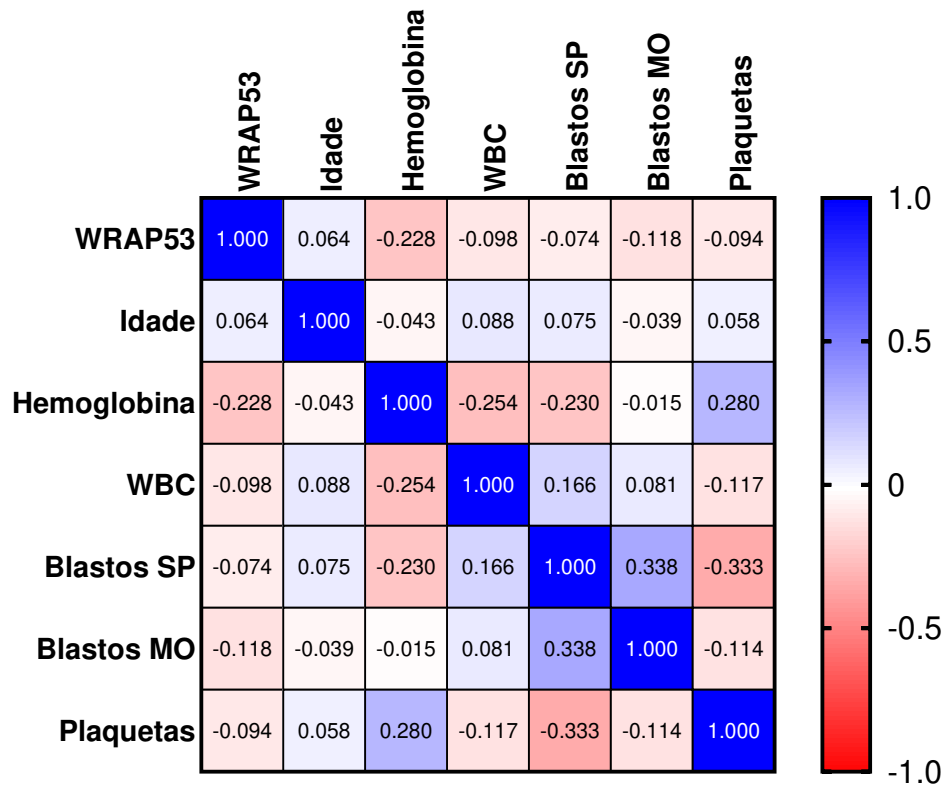
Figura 13. Correlação entre a expressão dos genes *WRAP53* e *hTERT* em pacientes com LMA.



Legenda: Correlação entre a expressão do gene *WRAP53* e *hTERT* em pacientes com LMA. O gráfico de dispersão mostra a relação entre o log2 FC de *WRAP53* e *hTERT*. Cada ponto representa um dado de expressão. A análise sugere uma correlação positiva entre a expressão de *WRAP53* e *hTERT* $r = 0,475$ $p < 0,0001$.

Dentre as variáveis analisadas, o *WRAP53* não apresentou correlação com variáveis, sendo os valores mais negativos em relação à hemoglobina (-0,228). As demais variáveis aqui analisadas apresentaram correlações fracas entre si, apresentando interações limitadas ou independentes na amostra analisada (**Figura 14**).

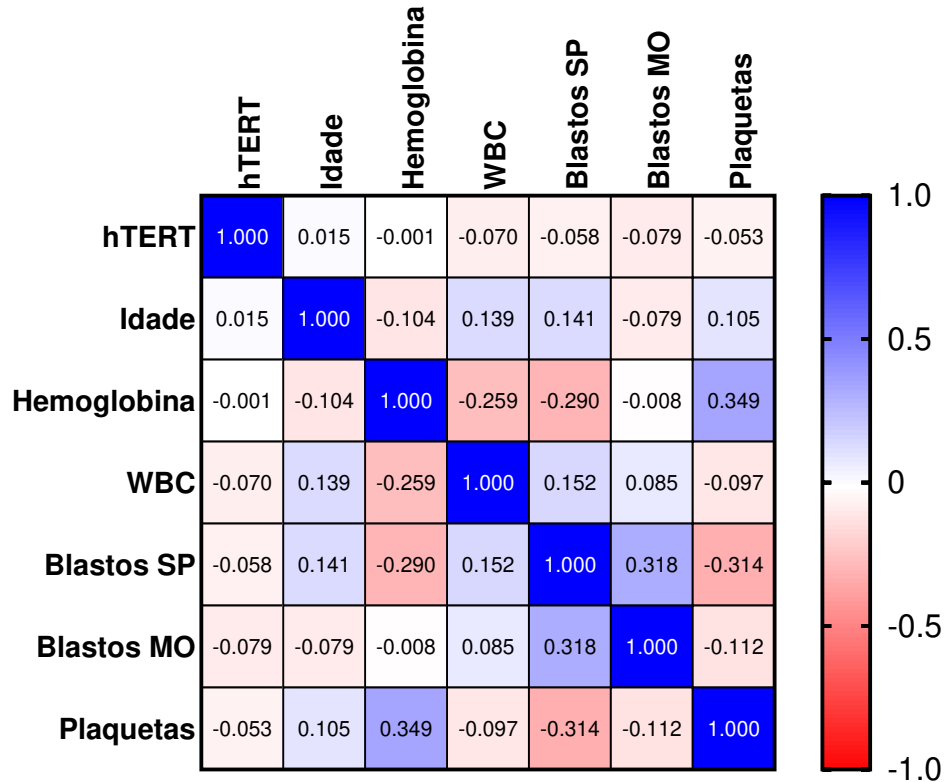
Figura 14. Análise de correlação entre níveis de *WRAP53*, parâmetros clínicos e laboratoriais em pacientes com leucemias agudas.



Legenda: A intensidade da cor reflete a magnitude da correlação e as associações entre as variáveis *WRAP53*, idade, hemoglobina, WBC (contagem de glóbulos brancos), blastos do sangue periférico (SP), blastos da medula óssea (MO) e contagem de plaquetas. Os valores variam de -1 (correlação negativa) a 1 (correlação positiva), com 0 indicando nenhuma associação entre as variáveis. As variações observadas têm correlações que variam de fracas a moderadas.

A *hTERT* apresentou correlações muito fracas com todas as variáveis, indicando que esta variável é praticamente independente das demais analisadas. Outras variáveis também apresentaram correlações fracas entre si, como leucócitos e blastos no sangue periférico (SP) (0,152) e medula óssea (MO) e blasto em SP (0,318), indicando uma relação moderada entre estas últimas. Por outro lado, foi possível observar uma correlação positiva entre hemoglobina e plaquetas (0,349), revelando uma associação moderada. A hemoglobina também se correlacionou negativamente com leucócitos (-0,259) e Blastos SP (-0,290) (**Figura 15**)

Figura 15. Análise de correlação entre níveis de *hTERT*, parâmetros clínicos e laboratoriais em pacientes com leucemias agudas.



Legenda: A intensidade da cor reflete a magnitude da correlação e as associações entre as variáveis *hTERT*, idade, hemoglobina, WBC (contagem de glóbulos brancos), blastos do sangue periférico (SP), blastos da medula óssea (MO) e contagem de plaquetas. Os valores variam de -1 (correlação negativa) a 1 (correlação positiva), com 0 indicando nenhuma associação entre as variáveis. *hTERT* mostrou correlações fracas com as outras variáveis, enquanto as correlações mais notáveis incluem a relação entre hemoglobina e plaquetas (0,349) e entre Blast MO e Blast SP (0,318).

6. DISCUSSÃO

A LMA é a leucemia aguda mais comum em adultos, caracterizada por alta heterogeneidade genética tanto no diagnóstico quanto na progressão da doença. Apesar dos avanços, o tratamento ainda consiste em regimes quimioterápicos complexos combinados com transplante de medula óssea para pacientes elegíveis. A identificação de novos biomarcadores é essencial porque, além de contribuir para uma melhor compreensão da base molecular da doença, pode auxiliar no diagnóstico, prognóstico e monitoramento da LMA (SHORT; RYTTING; CORTES, 2018). Estudos recentes indicam que alterações estruturais ou mudanças nos níveis de expressão dos transcritos *WRAP53* podem estar associadas à instabilidade genômica e ao comprometimento do reparo do DNA, mecanismos que podem contribuir para a progressão da doença (GADELHA et al., 2022).

A incidência de LMA no estudo apresentou uma leve predominância em homens, e sendo mais prevalente entre indivíduos com 55 anos ou mais. As características clínicas, como valores de hemoglobina, contagem de leucócitos, presença de blastos em sangue periférico e contagem de plaquetas revelaram em nossos pacientes a presença de anemia, plaquetopenia e leucocitose com a presença de células blásticas circulantes. Esses achados são semelhantes ao que é relatado na literatura para pacientes com LMA (SHALLIS et al., 2019; SILVA-JUNIOR et al., 2019; TAZI et al., 2022; CHIEN et al., 2023; PAPAEMMANUIL et al., 2016).

Em nosso estudo, as anomalias genéticas recorrentes na LMA, como *PML::RARA* t(15;17), *RUNX1::RUNX1T1* t(8;21) e *CBFB::MYH11* t(16;16), foram identificadas em 10%, 8% e 1,7% dos casos, respectivamente, além disso, o gene quimérico *BCR::ABL1* foi detectado em 30% dos pacientes, a identificação da presença de cariótipos sem alterações se deu em 27%. A frequência aqui observada para *RUNX1::RUNX1T1* e *CBFB::MYH11* está abaixo do que é geralmente descrito na literatura, onde essas anomalias costumam estar presentes em 15% e 7% dos casos de LMA, para *PML::RARA*, a frequência está dentro do esperado (5-20%), no entanto, houve um aumento na detecção de *BCR::ABL1*, que normalmente ocorre em apenas 1% a 3% dos casos de LMA, a frequência para LMA com citogenética normal é compreendida como o maior subconjunto, representando cerca de 45%–60% de todos os casos (SOUPIR et al., 2007; IACCARINO et al., 2019; QUESADA et al., 2021; QIN et al., 2022; PESSOA et al., 2024).

A expressão do gene *WRAP53* gera dois transcritos principais, cujos níveis de expressão geralmente estão aumentados no câncer, sendo: *WRAP53 α* , um RNA antisense p53, e a proteína *WRAP53 β* , que pode estar localizada tanto no núcleo quanto no citoplasma das células normais e tumorais. *WRAP53 β* tem sido alvo de estudos devido ao seu potencial uso

como biomarcador, tanto de resistência à radioterapia quanto como preditor de mau prognóstico em vários tipos de câncer, como colorretal (ZHANG et al., 2012), ovário (HEDSTRÖM et al., 2015), mama (SILWAL-PANDIT et al., 2015), cabeça e pescoço (RAO et al., 2014), e carcinomas de pulmão (SUN, Y et al., 2016). Além disso, a disceratose congênita, doença caracterizada pelo encurtamento rápido e progressivo dos telômeros com alta probabilidade de desenvolver insuficiência da medula óssea e câncer, é devida à presença de mutações no gene WRAP53 (SAVAGE et al., 2022). A ação de WRAP53 β é independente da regulação de p53 mediada por WRAP53 α (MAHMOUDI et al., 2009). Como ainda não existem investigações sobre a atuação desse gene na LMA bem como doenças oncohematológicas de maneira geral, o seu papel nesta doença permanece incerto.

Por outro lado, para BERGSTRAND, O'BRIEN e FARNEBO (2019), a alta expressão frequentemente observada de WRAP53 β no câncer está relacionada ao seu envolvimento na resposta ao dano do DNA (DDR) que surge devido a lesões pré-cancerosas. Os autores argumentam que em resposta ao estresse de replicação e à sinalização DDR, ocorre a superexpressão de WRAP53 β , o que ajuda a recrutar fatores que atuam no reparo do DNA para manter a integridade genômica. No entanto, células que acumulam mutações que prejudicam a DDR, como na expressão reduzida de WRAP53 β , são capazes de escapar dos mecanismos de controle celular, contribuindo assim para a instabilidade genômica e progressão do câncer. A principal razão para esse argumento é que a maioria dos estudos que relatam a superexpressão de WRAP53 β não observou uma associação com a sobrevivência.

Neste estudo, demonstramos que WRAP53 foi regulado negativamente na coorte de pacientes com LMA em comparação ao grupo controle ($p < 0,0001$). Estudos mostram que baixos níveis de WRAP53 estão associados à regulação negativa de fatores envolvidos na DDR devido à regulação negativa de WRAP53 β ; além disso, WRAP53 α também pode ser regulado negativamente, o que por sua vez resultará na inativação de p53 no nível de mRNA, prejudicando assim a ação de p53 após danos ao DNA (FANEBO, 2009; MAHMOUDI et al 2009; BERGSTRAND et al 2022). No câncer de ovário, a regulação negativa de WRAP53 β está associada ao aumento da mortalidade (HEDSTRÖM et al., 2015), enquanto no câncer retal metastático e de cabeça e pescoço está relacionado à resistência à radioterapia (ZHANG et al., 2012; RAO et al., 2014; GARVIN et al., 2015; TIEFENBÖCK-HANSSON et al., 2017). No câncer de mama, baixos níveis nucleolares foram associados ao aumento da recorrência, morte e resistência à radioterapia (SILWAL-PANDIT et al., 2015; EGELBERG et al., 2023). Além disso, é relatado que a alta presença de WRAP53 β nuclear está relacionada a um reparo de DNA mais rápido e eficaz devido ao rápido recrutamento de fatores DDR (RASSOOLZADEH et al

2016). A ação do $WRAP53\beta$ é independente e não influencia na regulação do p53 mediada pelo $WRAP53\alpha$ (FANEBO 2009; MAHMOUDI et al. 2009). O DDR é essencial para células leucêmicas, mas essa função é frequentemente anormal na LMA, o que pode contribuir para a leucemogênese e resistência ao tratamento, resultando em um prognóstico desfavorável (PARK et al., 2021; HUBNER et al., 2023).

Aqui avaliamos a expressão do gene *WRAP53* em uma combinação de fatores clínicos, como parâmetros hematológicos, classificação de risco, idade e sexo, onde dentre esses fatores, apenas sexo e idade apresentaram significância estatística, especificamente no grupo $FC < -1$, onde foi observado que o sexo feminino apresentou maior média de expressão de *WRAP53* ($p = 0,0322$) em comparação ao sexo masculino. A diferença de expressão também foi encontrada naqueles pacientes com mais de 60 anos, onde esse grupo apresentou maior média em relação ao grupo ≤ 60 ($p = 0,0496$). Em estudos com tumores sólidos, a expressão de *WRAP53* não foi analisada de forma independente em correlação com todos esses parâmetros aqui analisados, sendo apenas pareada com idade ou sexo, onde não foram observadas correlações com a expressão de *WRAP53* (SILWAL-PANDIT et al., 2015; SUN, Y 2016; PENG et al., 2019). As características clinicopatológicas analisadas na maioria dos estudos foram o grau de diferenciação tumoral, o tamanho do tumor, a presença de invasão ou metástase linfonodal e os estágios clínicos (I, II, III, IV ou V), todos os quais não são aplicáveis à nossa coorte de pacientes com tumor não sólido e não foram analisados neste trabalho (PENG et al., 2019; ZHANG et al., 2012; SUN et al., 2016; MENG et al., 2020)

Em relação à análise da *hTERT*, neste estudo, a análise da expressão gênica no sangue periférico não revelou diferença na expressão quando comparado aos pacientes do grupo controle ($p = 0,2524$). CALVELLO et al., 2017 ao analisar a expressão de *hTERT* em pacientes com LMA, relataram uma menor expressão total de *hTERT*, o que foi atribuído à presença da variante transdominante $-\alpha+\beta$ da *hTERT*, onde os pacientes com LMA apresentaram menor porcentagem da isoforma ativa da *hTERT* ($+\alpha+\beta$) quando comparados ao grupo controle. Entretanto, outros estudos indicam que a presença da isoforma ativa da telomerase nos pacientes analisados foi maior que 20% (HARTMANN et al., 2005). A principal isoforma *hTERT* descrita por KILIAN et al., 1997 é denominada $+\alpha+\beta$ que produz o transcrito completo capaz de produzir a enzima telomerase ativa. A deleção de α ($-\alpha$), que está presente no exon 6, atua como um inibidor dominante da telomerase, a deleção de $-\beta$ leva à degradação do transcrito de mRNA devido à presença de um códon de parada prematuro (códon *nonsense*) e, finalmente, a deleção de ambos leva à isoforma $-\alpha-\beta$, que também resultará na degradação do mRNA devido à presença de códon *nonsense*. A presença de deleções em α ou β geram produtos inativos para

evitar a presença de uma proteína truncada e não funcional (YI X et al., 2000; COLGIN et al., 2000; LUDLOW et al., 2018; LUDLOW et al., 2019)

CAPRARO et al. 2011 relatam em seu estudo que a expressão de *hTERT* e a atividade da telomerase seguem a ordem de B-ALL>T-ALL>AML, onde a leucemia linfoblástica aguda (LLA) apresenta tanto uma atividade de telomerase mais alta quanto uma expressão mais alta de *hTERT* em comparação com a LMA. Além disso, o comprimento do telômero foi menor em LMA, LLA-T e LLA-B, respectivamente. Entretanto, entre os subtipos que são relatados para LMA, os subtipos M0, M3 e M5 são frequentemente mencionados como aqueles com o telômero mais curto e menor expressão/atividade da telomerase (GHAFARI et al., 2008; WANG et al., 2010 CAPRARO et al., 2011). Esses resultados mostram que o complexo pode ser o sistema regulatório da *hTERT* em várias formas de leucemia (YIK et al., 2021)

A ativação de *hTERT* é comumente encontrada em células hematopoiéticas, células germinativas, células-tronco embrionárias e células cancerígenas devido ao seu alto poder replicativo (HANAHAN 2022). Da mesma forma que muitas malignidades humanas, as leucemias podem apresentar uma maior ativação da telomerase, acompanhada de uma expressão elevada de *hTERT*. Sua desregulação é identificada como uma alteração comum na leucemogênese, estando presente do diagnóstico à remissão e sendo encontrada nos 4 principais tipos de leucemia: LMA, LLA, leucemia mieloide crônica (LMC) e leucemia linfocítica crônica (LLC), estando associada ao desenvolvimento e progressão da doença (XU et al., 1998; HUH et al., 2005; DRUMMOND et al., 2005; CAMPBELL et al., 2006 RAMPAZZO et al 2013; JEBARAJ et al., 2019). Entretanto, a prevalência da desregulação da *hTERT* é altamente variável e dependente da população de cada estudo (YIK 2021)

A expressão de *hTERT* não foi correlacionada com a contagem de leucócitos, idade, sexo, hemoglobina ou grupos de risco. Esses achados estão de acordo com outros estudos que não encontraram associação com esses parâmetros (SEOL et al., 1998; HUH et al., 2005; CALVELLO et al., 2017; ABDELRAHMAN et al., 2019). No entanto, a superexpressão de *hTERT* desempenha um papel importante na LMA, sendo frequentemente observada no diagnóstico, recidiva e remissão. Além disso, sua superexpressão está ligada ao aumento da atividade da telomerase, o que pode contribuir para a progressão da doença, uma vez que a telomerase elevada tem sido associada a contagens elevadas de leucócitos, envolvimento extramedular e à presença de um cariótipo complexo (XU et al., 1998; YIRONG et al., 2004; HUH et al., 2005; HARTMANN et al., 2005; SWIGGERS et al., 2005; NOWAK et al., 2006 ; ABDELRAHMAN et al., 2019). Na LLA, a alta atividade da telomerase e a expressão de

hTERT estão associadas à progressão da doença, resistência ao tratamento, menor sobrevida e anormalidades citogenéticas, indicando seu potencial como biomarcador em pacientes adultos e pediátricos (WANG et al., 2010; NOGUEIRA et al., 2021). Enquanto na LLC, a alta expressão e atividade da telomerase foram capazes de identificar pacientes com diferentes desfechos e foram associadas à presença de telômeros curtos (RAMPAZZO et al., 2011; JEBARAJ et al., 2019). Na LMC a alta atividade é relacionada a presença de alterações citogenéticas (OHYASHIKI et al. 1997).

A análise de sobrevida global conduzida aqui não revelou diferença significativa entre os grupos *WRAP53* e *hTERT* Log-Rank: $p=0,150$; e $p=0,316$ respectivamente. Isso é contrário ao que é relatado em estudos sobre tumores sólidos, onde altos níveis de expressão relacionados à presença citoplasmática de *WRAP53 β* ou sua baixa presença nuclear são correlacionados a baixas taxas de sobrevida global (HEDSTRÖM et al., 2015 SILWAL-PANDIT et al., 2015; GARVIN et al., 2015; EGELBERG et al., 2023). O mesmo foi encontrado para *hTERT*, onde os níveis de expressão ou atividade da telomerase foram mostrados como fatores prognósticos independentes para sobrevivência em adultos com leucemia aguda ou pediátrica (WANG et al., 2010; NOGUEIRA et al., 2021)

A análise de correlação de Pearson entre os genes *WRAP53* e *hTERT* revelou um coeficiente de correlação positivo e moderado $r = 0,4374$ ($p < 0,0001$). *WRAP53* foi previamente correlacionado com o aumento do comprimento do telômero ou atividade da telomerase, mas não foi relatado se a atividade da telomerase estava relacionada ao prognóstico (QIU et al., 2015; WANG et al., 2017; SUN, H et al., 2018). Por outro lado, a expressão de *hTERT* está correlacionada com a atividade da telomerase e a manutenção do telômero (CAPRARO et al., 2011; WARNY et al., 2019). Essa correlação é relevante, pois alta atividade da telomerase e alta expressão de *hTERT* foram observadas em pacientes com LMA (SWIGGERS et al., 2005; XU et al., 2010; DRATWA et al., 2021). Além disso, a instabilidade cromossômica devido ao encurtamento progressivo do telômero foi associada à atividade extremamente baixa da telomerase na LMA e impacta a resposta ao tratamento e a sobrevivência (CAPRARO et al., 2021).

É importante que estudos futuros explorem os mecanismos moleculares que regulam a interação do *WRAP53* com a telomerase e outros componentes de reparo de DNA na LMA. Além disso, investigar a localização subcelular da proteína *WRAP53 β* é essencial, pois pode fornecer insights valiosos sobre sua atividade no núcleo celular ou citoplasma de pacientes com LMA. Analisar esses aspectos nos permitirá entender melhor os mecanismos pelos quais o *WRAP53* pode contribuir para o desenvolvimento e progressão da LMA.

7. CONCLUSÃO

Os resultados apresentados demonstram uma regulação negativa de *WRAP53* na amostra de pacientes estudados, indicando que este gene pode estar envolvido em outros mecanismos relacionados à LMA, além de sua correlação com *hTERT* identificada neste estudo. A baixa expressão relatada de *WRAP53* pode influenciar negativamente mecanismos cruciais que mantêm a estabilidade genômica, como a resposta a danos no DNA (DDR), o que pode impactar tanto na progressão quanto na eficácia do tratamento na LMA devido ao acúmulo de mutações, que conferem vantagens de sobrevivência às células leucêmicas. Tais investigações adicionais podem esclarecer o papel de *WRAP53* no contexto da LMA e seu impacto clínico, sugerindo seu potencial como um biomarcador molecular promissor para estabilidade genômica na LMA. Além disso, neste estudo, a expressão de *hTERT* não pôde ser correlacionada com as características clínicas analisadas.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A BUSTIN, Stephen et al. **The MIQE Guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time pcr experiments.** *Clinical Chemistry*, v. 55, n. 4, p. 611-622, 1 abr. 2009.

AALBERS, A M et al. **Telomere length and telomerase complex mutations in pediatric acute myeloid leukemia.** *Leukemia*, v. 27, n. 8, p. 1786-1789, 21 fev. 2013

ABRALE. **Leucemia Mieloide Aguda - LMA.** Disponível em: <https://www.abrale.org.br/doencas/leucemia/lma/tratamento/#1583783195747-161a5817-0c27fb35-83e5e4f6-4203>. Acesso em: 02 abr. 2023.

AFERLACH, Torsten et al. **The power and potential of integrated diagnostics in acute myeloid leukaemia.** *British Journal Of Haematology*, v. 188, n. 1, p. 36-48, 6 dez. 2019.

ALAGGIO, Rita et al. **The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: lymphoid neoplasms.** *Leukemia*, v. 36, n. 7, p. 1720-1748, 22 jun. 2022.

ALBUQUERQUE, Maria Ilk Nunes de; CARVALHO, Eduardo M. Freese de; LIMA, Luci Praciano. **Vigilância epidemiológica: conceitos e institucionalização.** *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil*, v. 2, n. 1, p. 7-14, abr. 2002.

ALSABBAGH, Manahel Mahmood. **Dyskeratosis congenita: a literature review.** *Jddg: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, v. 18, n. 9, p. 943-967, set. 2020.

ARBER, Daniel A. et al. **International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data.** *Blood*, v. 140, n. 11, p. 1200-1228, 15 set. 2022.

BACH, Duc-Hiep; ZHANG, Wei; SOOD, Anil K.. **Chromosomal Instability in Tumor Initiation and Development.** *Cancer Research*, v. 79, n. 16, p. 3995-4002, 15 ago. 2019.

BACHER, Ulrike et al. **Prognostic relevance of FLT3-TKD mutations in AML: the combination matters.: an analysis of 3082 patients.** *Blood*, v. 111, n. 5, p. 2527-2537, 1 mar. 2008.

BAILEY AM. et al. **Implementation of Biomarker-Driven Cancer Therapy: Existing Tools and Remaining Gaps.** *Discov Med.* 2014 February; 17(92): 101–114.

BALJEVIC, Muhamed et al. **Telomere Length Recovery: a strong predictor of overall survival in acute promyelocytic leukemia.** *Acta Haematologica*, v. 136, n. 4, p. 210-218, 2016. S. Karger AG.

BARDELLI, Valentina et al. **T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia: biomarkers and their clinical usefulness.** *Genes*, v. 12, n. 8, p. 1118, 23 jul. 2021

BARTHEL, Floris P et al. **Systematic analysis of telomere length and somatic alterations in 31 cancer types.** *Nature Genetics*, v. 49, n. 3, p. 349-357, 30 jan. 2017.

BENNETT, J. M.; CATOVSKY, D.; DANIEL, Marie-Therese; FLANDRIN, G.; GALTON, D. A. G.; GRALNICK, H. R.; SULTAN, C.. **Proposals for the Classification of the Acute Leukaemias French-American-British (FAB) Co-operative Group.** British Journal Of Haematology, v. 33, n. 4, p. 451-458, ago. 1976.

BENNETT, John M.. **Criteria for the Diagnosis of Acute Leukemia of Megakaryocyte Lineage (M7).** Annals Of Internal Medicine, v. 103, n. 3, p. 460, 1 set. 1985. American College of Physicians.

BERGSTRAND, Sofie et al. **Small Cajal body-associated RNA 2 (scaRNA2) regulates DNA repair pathway choice by inhibiting DNA-PK.** Nature Communications, v. 13, n. 1, p. 2267-2285, 23 fev. 2022.

BERGSTRAND, Sofie; O'BRIEN, Eleanor M.; FARNEBO, Marianne. **The Cajal body protein WRAP53 β prepares the scene for repair of DNA double-strand breaks by regulating local ubiquitination.** Frontiers in Molecular Biosciences, v. 6, p. 51, 2019.

BILL, Marius et al. **Mutational landscape and clinical outcome of patients with de novo acute myeloid leukemia and rearrangements involving 11q23/ KMT2A.** Proceedings Of The National Academy Of Sciences, v. 117, n. 42, p. 26340-26346, 5 out. 2020.

BISPO, Jordan A. Baeker; PINHEIRO, Paulo S.; KOBETZ, Erin K.. **Epidemiology and Etiology of Leukemia and Lymphoma.** Cold Spring Harbor Perspectives In Medicine, v. 10, n. 6, p. 034819-034830, 14 nov. 2019.

BLACKBURN, Lisa M.; BENDER, Sarah; BROWN, Shelly. **Acute leukemia: diagnosis and treatment. In: Seminars in oncology nursing.** WB Saunders, 2019. p. 150950.

BOISSEL, Nicolas; RABIAN, Florence. **Immunotherapies in acute leukemia.** Therapies, v. 77, n. 2, p. 241-250, mar. 2022.

BORGES, Gustavo; CRIQUI, Mélanie; HARRINGTON, Lea. **Tieing together loose ends: telomere instability in cancer and aging.** Molecular Oncology, v. 16, n. 18, p. 3380-3396, 16 ago. 2022.

BOTH, Anna et al. **The hypomorphic TERT A1062T variant is associated with increased treatment-related toxicity in acute myeloid leukemia.** Annals Of Hematology, v. 96, n. 6, p. 895-904, 22 mar. 2017.

BRUNNING, Richard D. **Classification of acute leukemias.** Seminars In Diagnostic Pathology, v. 20, n. 3, p. 142-153, ago. 2003.

BULAEVA, Elizabeth et al. **MYC-induced human acute myeloid leukemia requires a continuing IL-3/GM-CSF costimulus.** Blood, v. 136, n. 24, p. 2764-2773, 10 dez. 2020.

BUTTON, Lucy et al. **Telomere and Telomerase-Associated Proteins in Endometrial Carcinogenesis and Cancer-Associated Survival.** International Journal Of Molecular Sciences, v. 23, n. 2, p. 626, 6 jan.

CAMPO, Elias et al. **WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues.** Lyon: International agency for research on cancer, 2008.

CAPRARO, Valérie et al. **Telomere deregulations possess cytogenetic, phenotype, and prognostic specificities in acute leukemias.** *Experimental Hematology*, v. 39, n. 2, p. 195-202, fev. 2011.

CAR T-Cell Therapy in Hematological Malignancies. *International Journal Of Molecular Sciences*, v. 22, n. 16, p. 8996, 20 ago. 2021.

CHANG, Howard H. Y. et al. **Non-homologous DNA end joining and alternative pathways to double-strand break repair.** *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 18, n. 8, p. 495-506, 17 maio 2017.

CHATTERJEE, Nimrat; WALKER, Graham C. **Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis.** *Environmental And Molecular Mutagenesis*, v. 58, n. 5, p. 235-263, 9 maio 2017

CHEN, Si-Liang et al. **The Role of the HOXA Gene Family in Acute Myeloid Leukemia.** *Genes*, v. 10, n. 8, p. 621, 16 ago. 2019.

CHENNAMADHAVUNI, Adithya et al. **Leukemia.** 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560490/>. Acesso em: 07 abr. 2023.

CILLONI, Daniela et al. **Digital PCR in Myeloid Malignancies: ready to replace quantitative pcr?.** *International Journal Of Molecular Sciences*, v. 20, n. 9, p. 2249, 7 maio 2019.

COCCARO, Nicoletta et al. **Next-Generation Sequencing in Acute Lymphoblastic Leukemia.** *International Journal Of Molecular Sciences*, v. 20, n. 12, p. 2929, 15 jun. 2019.

CONCES, Miriam et al. **Acute Myeloid Leukemia with RAM Immunophenotype: a pediatric case with unusual morphologic features.** *Hematology Reports*, v. 9, n. 2, p. 7057, 14 jun. 2017.

CRAIG, Fiona E. et al. **Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms.** *Blood*, v. 111, n. 8, p. 3941-3967, 15 abr. 2008.

DAVIS, Amanda S.; VIERA, Anthony J.; MEAD, Monica D. **Leukemia: an overview for primary care.** *American Family Physician*, v. 89, n. 9, p. 731–738, 2014.

DELIA, Domenico; MIZUTANI, Shuki. **The DNA damage response pathway in normal hematopoiesis and malignancies.** *International Journal Of Hematology*, v. 106, n. 3, p. 328-334, 13 jul. 2017.

DIGIUSEPPE, Joseph A. et al. **Applications of Flow Cytometric Immunophenotyping in the Diagnosis and Posttreatment Monitoring of B and T Lymphoblastic Leukemia/Lymphoma. Cytometry Part B.** *Clinical Cytometry*, v. 96, n. 4, p. 256-265, 24 jun. 2019.

DÖHNER, Hartmut et al. **Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the eln.** *Blood*, v. 140, n. 12, p. 1345-1377, 22 set. 2022.

EDIRIWICKREMA, Asiri; GENTLES, Andrew J.; MAJETI, Ravindra. **Single-cell genomics**

in AML: extending the frontiers of aml research. Blood, v. 141, n. 4, p. 345-355, 26 jan. 2023.

ESTEY, Elihu H.. **Acute myeloid leukemia: 2019 update on risk-stratification and management.** American Journal Of Hematology, v. 93, n. 10, p. 1267-1291, out. 2018.

EVIQ. **Acute myeloid leukaemia FLAG-Ida** (fludarabine cytarabine idArubicin and filgrastim). Disponível em: <https://www.eviq.org.au/haematology-and-bmt/leukaemias/acute-myeloid-leukaemia/347-acute-myeloid-leukaemia-flag-ida-fludarabine#literature-search>. Acesso em: 02 abr. 2023.

FALINI, Brunangelo; BRUNETTI, Lorenzo; SPORTOLETTI, Paolo; MARTELLI, Maria Paola. **NPM1-mutated acute myeloid leukemia: from bench to bedside.** Blood, v. 136, n. 15, p. 1707-1721, 8 out. 2020.

Farnebo, M. **Wrap53, a Novel Regulator of P53.** Cell Cycle, v. 8, 2343–2346, doi:10.4161/cc.8.15.9223.

FIGUEROA, Maria E. et al. **DNA Methylation Signatures Identify Biologically Distinct Subtypes in Acute Myeloid Leukemia.** Cancer Cell, v. 17, n. 1, p. 13-27, jan. 2010.

FIRCANIS, Sophia et al. **The relation between cigarette smoking and risk of acute myeloid leukemia: an updated meta-analysis of epidemiological studies.** American Journal Of Hematology, v. 89, n. 8, p. 125-132, 8 maio 2014.

GADELHA, Renan Brito et al. **The Role of WRAP53 in Cell Homeostasis and Carcinogenesis Onset.** Current Issues In Molecular Biology, v. 44, n. 11, p. 5498-5515, 4 nov. 2022.

GALERA, Pallavi Kanwar; JIANG, Chunjie; BRAYLAN, Raul. **Immunophenotyping of Acute Myeloid Leukemia.** Methods In Molecular Biology, p. 281-296, 2019.

GAO, Juehua et al. **Comparison of myeloid neoplasms with nonclassic 3q26.2/ MECOM versus classic inv(3)/ t (3;3) rearrangements reveals diverse clinicopathologic features, genetic profiles, and molecular mechanisms of MECOM activation.** Genes, Chromosomes And Cancer, v. 61, n. 2, p. 71-80, 28 out. 2021

GARVIN, Stina et al. **Nuclear expression of WRAP53 β is associated with a positive response to radiotherapy and improved overall survival in patients with head and neck squamous cell carcinoma.** Oral Oncology, v. 51, n. 1, p. 24-30, jan. 2015.

GHAFFARI, S.H. et al. **Telomerase activity and telomere length in patients with acute promyelocytic leukemia: indicative of proliferative activity, disease progression, and overall survival.** Annals Of Oncology, v. 19, n. 11, p. 1927-1934, nov. 2008

GONZALES, Patrick R.; MIKHAIL, Fady M.. **Diagnostic and Prognostic Utility of Fluorescence In situ Hybridization (FISH) Analysis in Acute Myeloid Leukemia.** Current Hematologic Malignancy Reports, v. 12, n. 6, p. 568-573, 24 out. 2017.

GORGOLIS, Vassilis et al. **Cellular Senescence: defining a path forward.** Cell, v. 179, n. 4, p. 813-827, out. 2019.

GRANADA, Isabel et al. **Cytogenetics in the genomic era**. Best Practice & Research Clinical Haematology, v. 33, n. 3, p. 101196, set. 2020.

GUIJARRO, Francesca et al. **Novel Tools for Diagnosis and Monitoring of AML**. Current Oncology, v. 30, n. 6, p. 5201-5213, 23 maio 2023.

HANAHAN, Douglas. **Hallmarks of Cancer: new dimensions**. Cancer Discovery, v. 12, n. 1, p. 31-46, jan. 2022.

HANAHAN, Douglas; A WEINBERG, Robert. **The Hallmarks of Cancer**. Cell, v. 100, n. 1, p. 57-70, jan. 2000. Elsevier BV.

HANAHAN, Douglas; WEINBERG, Robert A.. **Hallmarks of Cancer: the next generation**. Cell, v. 144, n. 5, p. 646-674, mar. 2011. Elsevier BV.

HARRISON, Christine J. et al. Acute Lymphoblastic Leukemia. Clinics In Laboratory Medicine, v. 31, n. 4, p. 631-647, dez. 2011.

HARTMANN, Ulrike; BRÜMMENDORF, Tim H.; BALABANOV, Stefan; et al. **Telomere length and hTERT expression in patients with acute myeloid leukemia correlates with chromosomal abnormalities**. Haematologica, v. 90, n. 3, p. 307–316, 2005.

HASLAUER, Theresa; GREIL, Richard; ZABORSKY, Nadja; GEISBERGER, Roland.

HEDSTRÖM, E et al. **Downregulation of the cancer susceptibility protein WRAP53 β in epithelial ovarian cancer leads to defective DNA repair and poor clinical outcome**. Cell Death & Disease, v. 6, n. 10, p. 1892-1892, 1 out. 2015.

HENRIKSSON, Sofia et al. **The scaffold protein WRAP53 β orchestrates the ubiquitin response critical for DNA double-strand break repair**. Genes & Development, v. 28, n. 24, p. 2726-2738, 15 dez. 2014.

HINDLEY, Andrew; CATHERWOOD, Mark Alexander; MCMULLIN, Mary Frances; MILLS, Ken I. **Significance of NPM1 Gene Mutations in AML**. International Journal Of Molecular Sciences, v. 22, n. 18, p. 10040, 17 set. 2021.

HOMMINGA, Irene et al. **Integrated Transcript and Genome Analyses Reveal NKX2-1 and MEF2C as Potential Oncogenes in T Cell Acute Lymphoblastic Leukemia**. Cancer Cell, v. 19, n. 4, p. 484-497, abr. 2011.

HUBNER, Stefan E. et al. **DNA Damage Response–Related Proteins Are Prognostic for Outcome in Both Adult and Pediatric Acute Myelogenous Leukemia Patients: samples from adults and from children enrolled in a children's oncology group study**. International Journal Of Molecular Sciences, v. 24, n. 6, p. 5898-5900, 20 mar. 2023.

IKEDA, Daisuke et al. **Molecular Classification and Overcoming Therapy Resistance for Acute Myeloid Leukemia with Adverse Genetic Factors**. International Journal Of Molecular Sciences, v. 23, n. 11, p. 5950, 25 maio 2022.

IMAI, K. **Acute Lymphoblastic Leukemia—Progress in Elucidation of Pathophysiology and Current Treatment—**. Clinical Hematology, v. 58, p. 460-470, 2017.

INCA. **Vigilância do Câncer e seus Fatores de Risco**. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/aceso-a-informacao/acoes-e-programas/vigilancia-do-cancer-e-seus-fatores-de-risco>. Acesso em: 08 abr. 2023.

INFANTE, María Stefania; PIRIS, Miguel Ángel; HERNÁNDEZ-RIVAS, José Ángel. **Alteraciones moleculares en leucemia mieloide aguda y sus implicaciones clínicas y terapéuticas**. Medicina Clínica, v. 151, n. 9, p. 362-367, nov. 2018.

INSTITUTE, National Cancer. **CAR T Cells: Engineering Patients' Immune Cells to Treat Their Cancers**. 2022. Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/research/car-t-cells>. Acesso em: 25 maio 2023.

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Coordenação Geral de Ações Estratégicas. **Coordenação de Prevenção e Vigilância. Leucemias**. – Rio de Janeiro: Inca, 2019.

IR, Seyed Mostafa et al. **Shelterin Complex at Telomeres: implications in ageing**. Clinical Interventions In Aging, v. 15, p. 827-839, jun. 2020.

JAFFE, Elaine Sarkin (Org.). **Patologia e genética dos tumores dos tecidos hematopoiéticos e linfóides**. Iarc, 2001.

JAIN, Buddhi Prakash; PANDEY, Shweta. **WD40 Repeat Proteins: signalling scaffold with diverse functions**. The Protein Journal, v. 37, n. 5, p. 391-406, 1 ago. 2018.

KANSAGRA, Ankit; DAHIYA, Saurabh; LITZOW, Mark. **Continuing challenges and current issues in acute lymphoblastic leukemia**. Leukemia & Lymphoma, v. 59, n. 3, p. 526–541, 2018.

KIYOI, Hitoshi; KAWASHIMA, Naomi; ISHIKAWA, Yuichi. **FLT3 mutations in acute myeloid leukemia: therapeutic paradigm beyond inhibitor development**. Cancer Science, v. 111, n. 2, p. 312-322, 30 dez. 2019

KLCO, Jeffery M.; MULLIGHAN, Charles G.. **Advances in germline predisposition to acute leukaemias and myeloid neoplasms**. Nature Reviews Cancer, v. 21, n. 2, p. 122-137, 16 dez. 2020.

KLUMP, Basma M. et al. **TCAB1 prevents nucleolar accumulation of the telomerase RNA to facilitate telomerase assembly**. Cell Reports, v. 42, n. 6, p. 112577, jun. 2023

LANSDORP, Peter M.. **Maintenance of telomere length in AML**. Blood Advances, v. 1, n. 25, p. 2467-2472, 28 nov. 2017. American Society of Hematology.

LASTARZA, Roberta et al. **Design of a Comprehensive Fluorescence in Situ Hybridization Assay for Genetic Classification of T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia**. The Journal Of Molecular Diagnostics, v. 22, n. 5, p. 629-639, maio 2020.

LEJMAN, Monika et al. **Genetic Biomarkers and Their Clinical Implications in B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia in Children**. International Journal Of Molecular Sciences, v. 23, n. 5, p. 2755, 2 mar. 2022.

LI, Jianfeng; DAI, Yuting; WU, Liang; et al. **Emerging molecular subtypes and**

therapeutic targets in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Frontiers of Medicine*, v. 15, n. 3, p. 347–371.

LI, Jinbao et al. **Pathways and assays for DNA double-strand break repair by homologous recombination.** *Acta Biochimica Et Biophysica Sinica*, v. 51, n. 9, p. 879-889, 1 jul. 2019.

LIN, Shan et al. **Immortalization of human AE pre-leukemia cells by hTERT allows leukemic transformation.** *Oncotarget*, v. 7, n. 35, p. 55939-55950, 5 ago. 2016.

LISBOA, Mateus de Oliveira et al. **Chromosomal Instability in Acute Myeloid Leukemia.** *Cancers*, v. 13, n. 11, p. 2655, 28 maio 2021.

LIU, Yu et al. **The genomic landscape of pediatric and young adult T-lineage acute lymphoblastic leukemia.** *Nature Genetics*, v. 49, n. 8, p. 1211-1218, 3 jul. 2017.

MACIEJOWSKI, John; LANGE, Titia de. **Telomeres in cancer: tumour suppression and genome instability.** *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 18, n. 3, p. 175-186, 18 jan. 2017.

MAHMOUDI, S et al. **WRAP53 promotes cancer cell survival and is a potential target for cancer therapy.** *Cell Death & Disease*, v. 2, n. 1, p. 114-114, 13 jan. 2011.

Mahmoudi, S.; Henriksson, S.; Corcoran, M.; Méndez-Vidal, C.; Wiman, K.G.; Farnebo, M. **Wrap53, a Natural P53 Antisense Transcript Required for P53 Induction upon DNA Damage.** *Molecular Cell*, v. 33, 462–471, doi:10.1016/j.molcel.2009.01.028.

MALARD, Florent; MOHTY, Mohamad. **Acute lymphoblastic leukaemia.** *The Lancet*, v. 395, n. 10230, p. 1146-1162, abr. 2020.

MARRONE, Anna; WALNE, Amanda; DOKAL, Inderjeet. **Dyskeratosis congenita: telomerase, telomeres and anticipation.** *Current Opinion In Genetics & Development*, v. 15, n. 3, p. 249-257, jun. 2005.

MASETTI, Riccardo et al. **CBFA2T3-GLIS2-positive acute myeloid leukaemia. A peculiar paediatric entity.** *British Journal Of Haematology*, v. 184, n. 3, p. 337-347, 28 dez. 2018

MASON, P.; WILSON, D.; BESSLER, M.. **Dyskeratosis Congenita - A Disease of Dysfunctional Telomere Maintenance.** *Current Molecular Medicine*, v. 5, n. 2, p. 159-170, 1 mar. 2005

MATARRAZ, Sergio et al. **Introduction to the diagnosis and classification of monocytic-lineage leukemias by flow cytometry.** *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*, v. 92, n. 3, p. 218-227, 18 ago. 2015.

MAZZELLA, Fermina M. et al. **Prognostic significance of pronormoblasts in erythrocyte predominant myelodysplastic patients.** *American Journal Of Hematology*, v. 81, n. 7, p. 484-491, 2006.

MCNULTY, Maureen; CRISPINO, John D. **Leucemia Megacariocítica Aguda.** *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, v. 10, n. 2, pág. a034884, 2020.

MONTALBAN-BRAVO, Guillermo et al. **More than 1 TP53 abnormality is a dominant characteristic of pure erythroid leukemia.** *Blood*, v. 129, n. 18, p. 2584-2587, 4 maio 2017.

MORTON, Lindsay M. et al. **Evolving risk of therapy-related acute myeloid leukemia following cancer chemotherapy among adults in the United States, 1975-2008.** *Blood*, v. 121, n. 15, p. 2996-3004, 11 abr. 2013. American Society of Hematology.

NAKAJIMA, Hideaki. Genetic abnormalities in AML. [**Rinsho Ketsueki**] **The Japanese Journal of Clinical Hematology**, v. 60, n. 6, p. 584-593, 2019.

NCCN GUIDELINES FOR PATIENTS. **Acute Lymphoblastic Leukemia.** 1. ed. v. 1

NEGRINI, Simona; GORGOULIS, Vassilis G.; HALAZONETIS, Thanos D.. **Genomic instability — an evolving hallmark of cancer.** *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, v. 11, n. 3, p. 220-228, mar. 2010.

NGUYEN, Thi Hoang Duong. **Structural biology of human telomerase: progress and prospects.** *Biochemical Society Transactions*, v. 49, n. 5, p. 1927-1939, 8 out. 2021.

NIE, Lirong et al. **The signature based on seven genomic instability-related genes could predict the prognosis of acute myeloid leukemia patients.** *Hematology*, v. 27, n. 1, p. 833-841, 4 ago.

NIEWISCH, Marena R.; SAVAGE, Sharon A.. **An update on the biology and management of dyskeratosis congenita and related telomere biology disorders.** *Expert Review Of Hematology*, v. 12, n. 12, p. 1037-1052, 10 set. 2019.

NOGUEIRA, Beatriz Maria Dias et al. **Telomere Length and Hematological Disorders: a review.** *In Vivo*, v. 34, n. 6, p. 3093-3101, 2020

OHYASHIKI, K et al. **Telomerase activity and cytogenetic changes in chronic myeloid leukemia with disease progression.** *Leukemia*, v. 11, n. 2, p. 190-194, 1 fev. 1997

ONCOGUIA. **Esquemas de tratamento para leucemia mieloide aguda (LMA).** Disponível em: <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/esquemas-de-tratamento-para-leucemia-mieloide-aguda-lma/7952/333/>. Acesso em: 02 abr. 2023.

ONCOGUIA. **Quimioterapia para leucemia mieloide aguda (LMA).** Disponível em: <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/quimioterapia-para-leucemia-mieloide-aguda-ma/1605/333/>. Acesso em: 02 abr. 2023.

PANUZZO, Cristina et al. **Landscape of Tumor Suppressor Mutations in Acute Myeloid Leukemia.** *Journal Of Clinical Medicine*, v. 9, n. 3, p. 802-820, 16 mar. 2020.

PANUZZO, Cristina et al. **Revealing the Mysteries of Acute Myeloid Leukemia: from quantitative pcr through next-generation sequencing and systemic metabolomic profiling.** *Journal Of Clinical Medicine*, v. 11, n. 3, p. 483, 18 jan. 2022.

PARK, Sholhui et al. **Comprehensive DNA repair gene expression analysis and its prognostic significance in acute myeloid leukemia.** *Hematology*, v. 26, n. 1, p. 904-913, 1 jan. 2021

- PAUL, Shilpa; SHORT, Nicholas J.. **Central Nervous System Involvement in Adults with Acute Leukemia: diagnosis, prevention, and management.** *Current Oncology Reports*, v. 24, n. 4, p. 427-436, 10 fev. 2022.
- PEREZ-ANDREU, Virginia et al. **Inherited GATA3 variants are associated with Ph-like childhood acute lymphoblastic leukemia and risk of relapse.** *Nature Genetics*, v. 45, n. 12, p. 1494-1498, 20 out. 2013.
- PESSOA, Flávia Melo Cunha de Pinho et al. **Validation of Endogenous Control Genes by Real-Time Quantitative Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction for Acute Leukemia Gene Expression Studies.** *Genes*, v. 15, n. 2, p. 151, 24 jan. 2024
- PETERS, John M. et al. **Multiparameter Flow Cytometry in the Diagnosis and Management of Acute Leukemia.** *Archives Of Pathology & Laboratory Medicine*, v. 135, n. 1, p. 44-54, 1 jan. 2011.
- PIKOR, Larissa et al. **The detection and implication of genome instability in cancer.** *Cancer And Metastasis Reviews*, v. 32, n. 3-4, p. 341-352, 1 maio 2013.
- PRADA-ARISMENDY, Jeanette; ARROYAVE, Johanna C.; RÖTHLISBERGER, Sarah. **Molecular biomarkers in acute myeloid leukemia.** *Blood Reviews*, v. 31, n. 1, p. 63-76, jan. 2017.
- QIU, Hui et al. **Regulatory Effects of WRAP53 on Radiosensitivity of Laryngeal Squamous Cell Carcinoma Cells.** *Asian Pacific Journal Of Cancer Prevention*, v. 16, n. 7, p. 2975-2979, 14 abr. 2015.
- QIU, Shan; HUANG, Jun. **MRN complex is an essential effector of DNA damage repair.** *Journal Of Zhejiang University-Science B*, v. 22, n. 1, p. 31-37, jan. 2021.
- QUESADA, A. E. *et al.* **Incidental identification of inv(16)(p13.1q22)/CBFB-MYH11 variant transcript in a patient with therapy-related acute myeloid leukemia by routine leukemia translocation panel screen: Implications for diagnosis and therapy.** *Cold Spring Harbor Molecular Case Studies*, v. 7, n. 3, p. 1-14, 2021.
- RAMPAZZO, E. et al. **Telomere length and telomerase levels delineate subgroups of B-cell chronic lymphocytic leukemia with different biological characteristics and clinical outcomes.** *Haematologica*, v. 97, n. 1, p. 56-63, 20 set. 2011
- RASSOOL, Feyruz V. *et al.* **Reactive Oxygen Species, DNA Damage, and Error-Prone Repair: a model for genomic instability with progression in myeloid leukemia?.** *Cancer Research*, v. 67, n. 18, p. 8762-8771, 15 set. 2007
- RASSOOLZADEH, H et al. **Overexpression of the scaffold WD40 protein WRAP53 β enhances the repair of and cell survival from DNA double-strand breaks.** *Cell Death & Disease*, v. 7, n. 6, p. 2267-2267, 16 jun. 2016.3
- RASSOOLZADEH, Hanif; COUCORAVAS, Christos; FARNEBO, Marianne. **The proximity ligation assay reveals that at DNA double-strand breaks WRAP53 β associates with γ H2AX and controls interactions between RNF8 and MDC1.** *Nucleus*, v. 6, n. 5, p. 417-424, 3 set. 2015.

REBECHI, Melanie T. et al. **Genomic instability is a principle pathologic feature of FLT3 ITD kinase activity in acute myeloid leukemia leading to clonal evolution and disease progression.** *Leukemia & Lymphoma*, v. 58, n. 9, p. 2040-2050, 6 fev. 2017.

RICHARD-CARPENTIER, Guillaume et al. **Recent Advances in Adult Acute Lymphoblastic Leukemia.** *Current Hematologic Malignancy Reports*, v. 15, n. 9, p. 327-345, 16 mar. 2019.

RIVA, Giovanni et al. **Multiparametric Flow Cytometry for MRD Monitoring in Hematologic Malignancies: clinical applications and new challenges.** *Cancers*, v. 13, n. 18, p. 4582, 12 set. 2021.

ROSEN, Ryan D.; SAPRA, Amit. **Classificação TNM.** Em: *StatPearls [Internet]* . StatPearls Publishing, 2023.

ROY, Urbi; RAGHAVAN, Sathees C. **Deleterious point mutations in T-cell acute lymphoblastic leukemia: mechanistic insights into leukemogenesis.** *International Journal Of Cancer*, v. 149, n. 6, p. 1210-1220, 31 mar. 2021.

SALLMAN, David A. et al. **Handbook of hematologic malignancies.** Springer Publishing Company, 2020.

SALLMYR, Annahita et al. **Internal tandem duplication of FLT3 (FLT3/ITD) induces increased ROS production, DNA damage, and misrepair: implications for poor prognosis in aml.** *Blood*, v. 111, n. 6, p. 3173-3182, 15 mar. 2008.

SALLMYR, Annahita; FAN, Jinshui; RASSOOL, Feyruz Virgilia. **Genomic instability in myeloid malignancies: increased reactive oxygen species (ros), dna double strand breaks (dsbs) and error-prone repair.** *Cancer Letters*, v. 270, n. 1, p. 1-9, out. 2008.

SAVAGE, Sharon A.; NIEWISCH, Marena R. **Dyskeratosis congenita and related telomere biology disorders.** 2022.

SCHAPIRA, Matthieu et al. **WD40 repeat domain proteins: a novel target class?.** *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 16, n. 11, p. 773-786, 13 out. 2017.

SCHMITTGEN, Thomas D et al. **Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method.** *Nature Protocols*, v. 3, n. 6, p. 1101-1108, jun. 2008.

SCHNEIDER, Carolin V. et al. **Association of Telomere Length With Risk of Disease and Mortality.** *Jama Internal Medicine*, v. 182, n. 3, p. 291, 1 mar. 2022.

SHAKNOVICH, Rita; DE, Subhajyoti; MICHOR, Franziska. **Epigenetic diversity in hematopoietic neoplasms.** *Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Reviews On Cancer*, v. 1846, n. 2, p. 477-484, dez. 2014.

SHALLIS, R. M. *et al.* **Epidemiology of acute myeloid leukemia: Recent progress and enduring challenges.** *Blood Reviews*, v. 36, p. 70–87, 2019.

SHAY, Jerry W. et al. **Telomeres and telomerase: three decades of progress.** *Nature Reviews Genetics*, v. 20, n. 5, p. 299-309, 13 fev. 2019.

SHAY, Jerry W.; WRIGHT, Woodring E. **Telomeres and telomerase: three decades of progress.** *Nature Reviews Genetics*, v. 20, n. 5, p. 299-309, 13 fev. 2019.

SHIBATA, Atsushi et al. **Factors determining DNA double-strand break repair pathway choice in G2 phase.** *The Embo Journal*, v. 30, n. 6, p. 1079-1092, 11 fev. 2011.

SHLUSH, Liran I.. **Age-related clonal hematopoiesis.** *Blood*, v. 131, n. 5, p. 496-504, 1 fev. 2018. American Society of Hematology.

SHORT, Nicholas J; RYTTING, Michael e; CORTES, Jorge e. **Acute myeloid leukaemia.** *The Lancet*, v. 392, n. 10147, p. 593-606, ago. 2018.

SINGH, Gyanendra. **Acute Basophilic Leukemia: recent molecular and diagnostic update.** *Cureus*, v. 45, n. 30, p. 587-587, 17 jun. 2022.

STEAD, Eleanor Rachel; BJEDOV, Ivana. **Balancing DNA repair to prevent ageing and cancer.** *Experimental Cell Research*, v. 405, n. 2, p. 112679, ago. 2021.

STERNER, Robert C.; STERNER, Rosalie M. **CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies.** *Blood Cancer Journal*, v. 11, n. 4, p. 327-345, 6 abr. 2021.

SU, Long et al. **Acute Myeloid Leukemia With CEBPA Mutations: current progress and future directions.** *Frontiers In Oncology*, v. 12, n. 10, p. 45-85, 1 fev. 2022.

SUN, Y et al. **Overexpression of WDR79 in Non-small Cell Lung Cancer Is Linked to Tumour Progression.** *Journal of Cellular and Molecular Medicine* v. 20, p. 698–709, doi:10.1111/jcmm.12759.

SUNG, Hyuna et al. **Global Cancer Statistics 2022: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries.** *Ca: A Cancer Journal for Clinicians*, v. 71, n. 3, p. 209-249, 4 fev. 2021.

SWIGGERS, Susan J. J. et al. **Critically short telomeres in acute myeloid leukemia with loss or gain of parts of chromosomes.** *Genes, Chromosomes And Cancer*, v. 45, n. 3, p. 247-256, 9 nov. 2005.

TAYLOR, Kristin N.; ESKANDER, Ramez N. **PARP Inhibitors in Epithelial Ovarian Cancer.** *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery*, v. 13, n. 2, p. 145–158, 2018.

TERLECKI-ZANIEWICZ, Stefan et al. **Biomolecular condensation of NUP98 fusion proteins drives leukemogenic gene expression.** *Nature Structural & Molecular Biology*, v. 28, n. 2, p. 190-201, 21 jan. 2021.

THOL, Felicitas. **ALL is not the same in the era of genetics.** *Blood*, v. 138, n. 11, p. 915–916, 2021.

TYCOWSKI, Kazimierz T. et al. **A Conserved WD40 Protein Binds the Cajal Body Localization Signal of scaRNP Particles.** *Molecular Cell*, v. 34, n. 1, p. 47-57, abr. 2009.

VAGO, Luca; GOJO, Ivana. **Immune escape and immunotherapy of acute myeloid leukemia.** *Journal Of Clinical Investigation*, v. 130, n. 4, p. 1552-1564, 1 abr. 2020.

- VAISERMAN, Alexander; KRASNIENKOV, Dmytro. **Telomere Length as a Marker of Biological Age: state-of-the-art, open issues, and future perspectives.** *Frontiers In Genetics*, v. 11, n. 15, p. 327-345, 21 jan. 2021.
- VARDIMAN, James W. et al. **The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes.** *Blood*, v. 114, n. 5, p. 937-951, 30 jul. 2009.
- VENTEICHER, Andrew S. et al. **A Human Telomerase Holoenzyme Protein Required for Cajal Body Localization and Telomere Synthesis.** *Science*, v. 323, n. 5914, p. 644-648, 30 jan. 2009.
- VEVERKA; JANOVIČ; HOFER. **Quantitative Biology of Human Shelterin and Telomerase: searching for the weakest point.** *International Journal Of Molecular Sciences*, v. 20, n. 13, p. 3186, 28 jun. 2019.
- VITIS, Marco de; BERARDINELLI, Francesco; SGURA, Antonella. **Telomere Length Maintenance in Cancer: at the crossroad between telomerase and alternative lengthening of telomeres (alt).** *International Journal Of Molecular Sciences*, v. 19, n. 2, p. 606, 18 fev. 2018.
- WALTER, Matthew J.. **What came first: mds or aml?.** *Blood*, v. 125, n. 9, p. 1357-1358, 26 fev. 2015. American Society of Hematology.
- WANG, Y. et al. **Telomerase activity and telomere length in acute leukemia: correlations with disease progression, subtypes and overall survival.** *International Journal Of Laboratory Hematology*, v. 32, n. 2, p. 230-238, 22 fev. 2010
- WANG, Y. et al. **Telomerase activity and telomere length in acute leukemia: correlations with disease progression, subtypes and overall survival.** *International Journal Of Laboratory Hematology*, v. 32, n. 2, p. 230-238 abr. 2010.
- WANG, Youjin et al. **Relative Telomere Length before Hematopoietic Cell Transplantation and Outcome after Unrelated Donor Hematopoietic Cell Transplantation for Acute Leukemia.** *Biology Of Blood And Marrow Transplantation*, v. 23, n. 7, p. 1054-1058, jul. 2017
- WATTS, Justin M. et al. **Telomere length and associations with somatic mutations and clinical outcomes in acute myeloid leukemia.** *Leukemia Research*, v. 49, p. 62-65, out. 2016.
- WEINBERG, Olga K. et al. **The International Consensus Classification of acute myeloid leukemia.** *Virchows Archiv*, v. 482, n. 1, p. 27-37, 20 out. 2022
- WITKOWSKI, Matthew T. et al. **Immune-Based Therapies in Acute Leukemia.** *Trends In Cancer*, v. 5, n. 10, p. 604-618, out. 2019.
- WRIGHT, William Douglass; SHAH, Shanaya Shital; HEYER, Wolf-Dietrich. **Homologous recombination and the repair of DNA double-strand breaks.** *Journal Of Biological Chemistry*, v. 293, n. 27, p. 10524-10535, jul. 2018.
- XU, Dawei et al. **Telomerase activity and the expression of telomerase components in**

acute myelogenous leukaemia. British Journal Of Haematology, v. 102, n. 5, p. 1367-1375, set. 1998.

YIK, Mot Yee et al. **Mechanism of Human Telomerase Reverse Transcriptase (hTERT) Regulation and Clinical Impacts in Leukemia.** Genes, v. 12, n. 8, p. 1188, 30 jul. 2021

YIRONG, Li et al. **Detection of telomerase activity and the expression of telomerase subunits in the patients with acute myelogenous leukaemia.** Journal Of Huazhong University Of Science And Technology [Medical Sciences], v. 24, n. 1, p. 48-51, fev. 2004.

YU, Jifeng et al. **Clinical implications of recurrent gene mutations in acute myeloid leukemia.** Experimental Hematology & Oncology, v. 9, n. 1, p. 327-345, 27 mar. 2020.

YUAN, Xiaotian; DAI, Mingkai; XU, Dawei. **Telomere-related Markers for Cancer.** Current Topics In Medicinal Chemistry, v. 20, n. 6, p. 410-432, 13 abr. 2020.

YUAN, Xiaotian; LARSSON, Catharina; XU, Dawei. **Mechanisms underlying the activation of TERT transcription and telomerase activity in human cancer: old actors and new players.** Oncogene, v. 38, n. 34, p. 6172-6183, 8 jul. 2019.

YUAN, Xiaotian; XU, Dawei. **Telomerase Reverse Transcriptase (TERT) in Action: cross-talking with epigenetics.** International Journal Of Molecular Sciences, v. 20, n. 13, p. 3338, 7 jul. 2019.

ZHANG, Hong et al. **WRAP53 is an independent prognostic factor in rectal cancer- a study of Swedish clinical trial of preoperative radiotherapy in rectal cancer patients.** BMC Cancer, v. 12, n. 1, p. 320-345, 17 jul. 2012.

ZHAO, Jennifer C. et al. **A review of FLT3 inhibitors in acute myeloid leukemia.** Blood Reviews, v. 52, p. 100905, mar. 2022.

ZHONG, Franklin et al. **Disruption of telomerase trafficking by TCAB1 mutation causes dyskeratosis congenita.** Genes & Development, v. 25, n. 1, p. 11-16, 1 jan. 2011.

ZHONG, Franklin *et al.* **Disruption of telomerase trafficking by TCAB1 mutation causes dyskeratosis congenita.** Genes & Development, v. 25, n. 1, p. 11-16, 1 jan. 2011

ZHOU, Tingting et al. **The Functions of DNA Damage Factor RNF8 in the Pathogenesis and Progression of Cancer.** International Journal Of Biological Sciences, v. 15, n. 5, p. 909-918, 2019.

**ANEXO 1 – APROVAÇÃO COMITÊS DE ÉTICA EM PESQUISA - HOSPITAL
GERAL DE FORTALEZA**

UFC - UNIVERSIDADE
FEDERAL DO CEARÁ /



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: RASTREAMENTO GENÉTICO PARA A DETECÇÃO PRECOCE DE BIOMARCADORES EM PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIAS AGUDAS NO

Pesquisador: MANOEL ODORICO DE MORAES FILHO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 38680520.9.0000.5054

Instituição Proponente: NÚCLEO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.339.719

**ANEXO 2 – APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - HOSPITAL
GERAL Dr. César Cals**

**HOSPITAL GERAL DR. CÉSAR
CALS/SES/SUS**



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: RASTREAMENTO GENÉTICO PARA A DETECÇÃO PRECOCE DE BIOMARCADORES EM PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIAS AGUDAS NO

Pesquisador: MANOEL ODORICO DE MORAES FILHO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 38680520.9.3002.5041

Instituição Proponente: Hospital Geral Dr. César Cals/SES/SUS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.823.921

ANEXO 3 - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nome: _____ Idade _____ Data de
 Nascimento ____/____/____ Sexo () M () F
 Naturalidade: _____ Procedência _____
 Endereço _____
 Telefones: _____ Profissão _____

DADOS SOBRE A PESQUISA

TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: “RASTREAMENTO GENÉTICO PARA A DETECÇÃO PRECOCE DE BIOMARCADORES EM PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIAS AGUDAS NO ESTADO DO CEARÁ

NOME DO INVESTIGADOR PRINCIPAL: DR MANOEL ODORICO DE MORAES FILHO

NATUREZA E PROPÓSITO DO ESTUDO

O objetivo da pesquisa é conhecer melhor as características da doença a qual você é portador. Nós vamos analisar a idade, sexo e outras características clínicas em portadores da sua doença, bem como informações do seu prontuário. Serão coletadas amostras do seu sangue para estudo do seu material genético e será avaliada a presença de alterações nesse material, juntamente com a sua resposta ao tratamento realizado, gerando resultados que favoreçam uma melhor compreensão do surgimento e progressão desta doença.

PROCEDIMENTOS A SEREM REALIZADOS E RESPONSABILIDADES

A amostra biológica utilizada nesta pesquisa é o sangue do participante. A coleta será realizada por profissional qualificado e uma agulha adequada e descartável será utilizada para punção (introdução) na sua veia. Serão coletados, aproximadamente, 5 mL de sangue. Após a coleta de sangue, serão coletados dados pessoais (sexo e idade), história clínica e checagem dos exames laboratoriais indicados tais como: hemograma completo (“exame de sangue”), citologia e histologia (análise microscópica das células), bem como outras informações do prontuário médico. Com essa pesquisa, esperamos contribuir para o diagnóstico e tratamento da doença em novos pacientes, além de obter o perfil da doença no Ceará. O seu material biológico (sangue) será utilizado para estudar e conhecer melhor a sua doença.

É de sua responsabilidade: comparecer nas datas e horários informados com o propósito de verificar os procedimentos e dados do estudo, sem, no entanto, violar a condição de que tais informações são confidenciais. Você concordando em assinar o presente termo, fica autorizado por você, participante da pesquisa, o armazenamento do material em

biorrepositório dentro da nossa instituição por 5 anos, onde serão realizados os estudos necessários. Após o fim do prazo do presente estudo, os pesquisadores poderão necessitar de uma extensão do mesmo. Assim, fica autorizado por você a permanência do armazenamento das amostras para futuros estudos no material genético, onde você e/ou seus descendentes poderão ter acesso às informações. Nós pesquisadores, a cada necessidade de extensão ou novas avaliações no seu material genético, submeteremos o novo estudo ao comitê de ética da nossa instituição.

Seus dados clínicos e resultados obtidos com este projeto serão publicados em revistas científicas e apresentados em congressos e reuniões científicas, sendo mantido o sigilo quanto à sua identidade. A qualquer momento você poderá ter acesso aos resultados encontrados na pesquisa.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA

Sua participação é voluntária e você tem a liberdade de desistir ou interromper a participação neste estudo no momento em que desejar. Neste caso, você deve informar imediatamente sua decisão ao pesquisador responsável ou a qualquer membro de sua equipe, sem necessidade de qualquer explicação e sem que isto venha interferir no seu atendimento nesta instituição. Independentemente de seu desejo e consentimento, sua participação no estudo poderá ser interrompida, em função da ocorrência de qualquer doença que, a critério médico, prejudique a continuação de sua participação no estudo, do não cumprimento das normas estabelecidas, de qualquer outro motivo que, a critério do pesquisador, seja do interesse de seu próprio bem-estar ou dos demais participantes e, por fim, da suspensão do estudo como um todo. O Laboratório de Farmacogenética do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) comunicar-se-á, em tempo oportuno, sempre que houver alguma informação adicional que possa influenciar seu desejo de continuar participando no estudo e prestará qualquer tipo de esclarecimento em relação ao progresso da pesquisa, conforme sua solicitação.

DIVULGAÇÃO DE INFORMAÇÕES QUANTO À PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO

Os registros relacionados à sua identidade serão mantidos em sigilo, a não ser que haja obrigação legal de divulgação. Você não será identificado por ocasião da publicação dos resultados obtidos. Contudo, o(s) monitor(es) do estudo, auditor(es), membros do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, ou autoridades do(s) órgão(s) regulamentar(es) envolvido(s) terão direito de ter acesso aos registros originais de dados clínicos de sua pessoa, coletados durante a pesquisa, na extensão em que for permitido pela Lei e regulamentações aplicáveis, como o propósito de verificar os procedimentos e dados do estudo, sem, no entanto, violar a condição de que tais informações são confidenciais.

RISCOS OFERECIDOS AO PARTICIPANTE

Os riscos relacionados à coleta de sangue são mínimos, podendo ocorrer dor leve e formação de mancha roxa no local por pequena saída de sangue mancha arroxeadada

(equimose) ao redor do local da punção, a qual desaparece em poucos dias. Excepcionalmente, pode ocorrer sangramento local e, raramente, infecção local. É importante salientar que uma nova coleta deste material pode ser necessária, em poucos casos, se a amostra for insuficiente ou inadequada para análise.

BENEFÍCIOS OFERECIDOS AO PARTICIPANTE

A participação no estudo é voluntária, não existindo nenhuma remuneração para os participantes. Seu seguimento ambulatorial e seu tratamento será conduzido da mesma forma independente da participação nessa pesquisa. Os benefícios oferecidos por esta pesquisa incluem a determinação do perfil das Leucemias Agudas em adultos (câncer no sangue) no Ceará. Esses resultados contribuirão para o desenvolvimento de métodos diagnósticos (métodos capazes de identificar sua doença), terapias farmacológicas (tratamento com novos medicamentos) e para o entendimento dos pacientes acometidos com Leucemia Linfóide Aguda (LLA) (câncer no sangue) e Leucemia Mieloide Aguda (LMA) (câncer no sangue). Suas dúvidas quanto à sua doença e a pesquisa serão respondidas a qualquer momento pela equipe responsável.

CONTATOS E PERGUNTAS

Caso surja algum imprevisto ou dúvidas, você deverá entrar em contato direto com o pesquisador responsável pelo estudo: Dr. Manoel Odorico de Moraes Filho (85-999893459), Médico, no Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (Laboratório de Farmacogenética), localizado na Rua Coronel Nunes de Melo, 1000 - Rodolfo Teófilo ou pelo telefone 3366-8255.

ATENÇÃO: Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a sua participação na pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFC – Rua Coronel Nunes de Melo, 1000 - Rodolfo Teófilo, fone: 3366-8344. (Horário: 08:00-12:00 horas). Somente assine este termo se você tiver a certeza de que recebeu todos os esclarecimentos e informações para decidir conscientemente sobre a sua participação neste estudo.

ASSINATURAS

Autorizo o acesso dos membros da equipe de pesquisadores às minhas informações de saúde, nas condições estabelecidas e descritas nos itens acima. Não renunciei a qualquer direito legal que eu venha a ter ao participar deste estudo. Eu, por fim, declaro que li cuidadosamente todo este documento, denominado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e que, após a assinatura, tive oportunidade de fazer perguntas sobre o conteúdo do mesmo e também sobre o referido estudo, recebendo explicações que responderam por completo às minhas dúvidas e reafirmando estar livre e espontaneamente decidido a participar do estudo, ficando munido de uma via do documento assinado pelo pesquisador responsável.

Assinatura do voluntário

Nome de quem está obtendo o TCLE	Assinatura
Nome Testemunha (quando aplicável)	Assinatura

TELEFONES PARA CONTATO

Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes (Investigador Principal)	(85) 3366.8201 / 85-999893459
--	-------------------------------

ANEXO 4 - QUESTIONÁRIO CLÍNICO PARA PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIAS

Nome:				
Data de nascimento				
Nome da mãe:				
Nome do pai:				
Naturalidade:				
Procedência:				
Ocupação (ou ocupação anterior, se aposentado):				
Manipulação ou exposição a corantes, derivados de petróleo, agentes químicos em geral/ agrotóxicos. (sim ou não; se SIM, QUAIS?)				
SINAIS E/OU SINTOMAS		SIM	NÃO	IGNORADO
Dor de cabeça				
Alteração visual (redução de campo visual)				
Galactorreia (secreção de leite nas mamas)				
Alta de menstruação por período prolongado				
Redução na libido				
Infertilidade				
Diarreia crônica				
Desmaio				
Pedra nos rins				
Aumento de extremidades				
Aumento do volume da urina				
Diminuição de pelos no corpo				
Tumor na pele (lesões cutâneas)				
História anterior de retirada de tumor	DATA	TIPO DE TUMOR		LOCAL DO CORPO

ANEXO 5 - CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E LABORATORIAIS DE PACIENTES COM LMA.

Caso	Gênero	Idade	Cariotipo	BCR/ABL1 p190	WHO	Prognóstico
1	M	34	46,XY, del(6)(q23q24), del(11)(q22q23), del(13)(q12q14) [20]	Não	LMA	Adverso
2	M	50	46, XY [20]	Sim	LMA	Adverso
3	M	72	SEM METÁFASE	Não	LMA	N.C
4	F	57	46, XX [20]	Não	LMA	Intermediario
5	F	76	46, XX, del(5)(q13q33)[4]/ 45.idem, der(6) t(3;6)(q21;p22)[8]/ 46,XX [8]	Não	LMA	Adverso
6	F	36	SEM METÁFASE	Não	LMA	N.C
7	M	34	46, XY [20]	Não	LMA	Intermediario
7	F	34	46,XX, t(11;18)(q25;q12) [20]	Não	LMA	Intermediario
8	M	20	46,XY, add(6)(q25), del(14)(q24)[7]/ 46,XY [15]	Não	LMA	Adverso
9	M	25	45,XY,del(6)(q22),- 7,add(9)(q12),del(12)(p11.2),del(17)(p13), del(20)(q12),add(21)(p13)[17]/46,XY [3]	Não	LMA	Adverso
10	M	59	46, XY [20]	Não	LMA	Intermediario
12	F	67	46, XX [20]	Sim	LMA	Adverso
13	F	35	46, XX [20]	Não	LMA	Intermediario
14	M	47	46, XY [20]	Não	LMA	Intermediario
15	M	54	46,XY, inv(3)(q21q25) [20]	Sim	LMA	Adverso
16	F	48	46, XX	Não	LMA	Intermediario
17	M	65	SEM METÁFASE	Não	LMA	N.C
18	F	56	SEM METÁFASE	Não	LMA	N.C
19	F	96	SEM METÁFASE	Não	LMA	N.C
20	M	67	46, XY [3]	Não	LMA	Intermediario
21	M	34	48,XY, +10, +13, t(15;17)(q24;q21.3) [4]/ 49,XY, +21 [16]	Não	LMA	Adverso
22	M	76	46, XY [20]	Sim	LMA	Adverso
23	M	22	SEM METÁFASE	Sim	LMA	Adverso
24	M	24	46,XY, t(9;22)(q34;q11.2) [9]/ 45,XY, -Y [11]	Sim	LMA	Adverso
25	M	60	46,XY, t(7;22)(p15;q13), add(9)(q34) [5]/ 46,XY [15]	Não	LMA	Intermediario
26	F	53	46,XX	Não	LMA	Intermediario
27	F	55	46,XX,t(8;21)(q21.3;q22.1)[20]	Sim	LMA	Adverso
28	M	72	47,XY, +3 [2]/ 46,XY [18]	Não	LMA	Intermediario
29	M	37	46,XY, t(9;22)(q34;q11.2) [7]	Sim	LMA	Adverso
30	M	68	46,XY, t(15;17)(q24;q21.3) [19]/ 46,XY [1]	Não	LMA	Intermediario
31	M	53	46,XY [20]	Não	LMA	Intermediario
32	M	25	46, XY, t(15;17)(q24;q21.3) [20]	Não	LMA	Intermediario
33	M	51	46,XY [20]	Não	LMA	Intermediario
34	M	57	SEM METÁFASE	Não	LMA	N.C
35	F	32	46, XX, t(2;11)(q31;p15) [20]	Sim	LMA	Adverso

36	F	38	46,XX, del (16)(q22) [16]/ 46,XX [4]	Não	LMA	Intermediario
37	M	19	46, XY [20]	Não	LMA	Intermediario
38	F	27	SEM METÁFASE	Não	LMA	N.C
39	F	69	46, XY [20]	Não	LMA	Intermediario
40	M	43	46,XY, t(8;21)(q22;q22), -9, +mar[19] \ 46,XY [1]	Não	LMA	Adverso
41	M	35	SEM METÁFASE	Não	LMA	N.C
42	F	45	SEM METÁFASE	Sim	LMA	Adverso
43	F	69	46, XX [20]	Sim	LMA	Adverso
44	F	37	46,XX, t(8;21)(q22;q22) [20]	Não	LMA	Favorável
45	F	32	46,XX,t(11;12)(p15;q13)[15]	Sim	LMA	Adverso
46	M	74	SEM METÁFASE	Sim	LMA	Adverso
47	M	62	46, XY, t(9;22)(q34;q11.2)[20]	Sim	LMA	Adverso
48	F	17	46,XX, t(8;21)(q22;q22) [20]	Não	LMA	Favorável
49	M	37	46, XY, t(8;21)(q22;q22), t(12;15)(q13;q11.2) [15]/ 46,XY [5]	Não	LMA	Favorável
50	M	58	46,XY [13]	Sim	LMA	Adverso
51	M	45	46, XY, t(15;17)(q24;q21.3)[16]/ 46,XY [4]	Sim	LMA	Adverso
52	F	78	46,XX [20]	Sim	LMA	Adverso
53	M	65	46, XY, t (11;19)(q23;p13.1)[17]/ 47, XY, t(11;19)(q23;p13.1), +4 [3]	Sim	LMA	Adverso
54	F	32	46,XX [20]	Sim	LMA	Adverso
55	M	19	45, X, -Y, t(8;21)(q22;q22)[13]/ 45,XY, t(8;21)(q22;q22), -20[5]/ 46,XY [2]	Sim	LMA	Adverso
56	M	39	46, XY, t(15;17)(q24;q21.3) [20]	Não	LMA	Favorável
57	M	59	47, XY, add(4)(p16), der(6)inv(6)(p12;q12), add(6)(q13), del(11)(q24), +21 [11]/ 46, XY [9]	Não	LMA	Adverso
58	M	62	46,XY [20]	Sim	LMA	Adverso
59	M	55	46, XY, t(15;17)(q24;q21.3) [18]/ 46, XY [2]	Sim	LMA	Adverso
60	F	38	SEM METÁFASE	Sim	LMA	Adverso
61	F	65	SEM METÁFASE	Sim	LMA	Adverso
62	F	41	46,XX, del (5)(q13;q33), del(11)(q23) [3]/ 46,XX [17]	Sim	LMA	Adverso
63	F	64	46,XX [20]	Não	LMA	Intermediario
64	F	74	SEM METÁFASE	Não	LMA	N.C
65	F	20	SEM METÁFASE	Sim	LMA	Adverso
66	M	54	46, XY, inv (16)(p13.1;q22) [15]/ 46, XY [5]	Sim	LMA	Adverso
67	F	33	SEM METÁFASE	Sim	LMA	Adverso
68	M	79	46,XX	Não	LMA	Intermediario
69	F	41	47,XX,+13[19]/46,XX [1]	Sim	LMA	Adverso
70	M	64	46,XY,inv(4)(q12q21)[13]/46,XY [7]	Sim	LMA	Adverso
71	F	69	SEM METÁFASE	Não	LMA	N.C
72	F	64	47,XX,+8[6]/46,XX [14]	Não	LMA	Intermediario
73	M	18	46,XY [20]	Não	LMA	Intermediario
74	F	67	60~63,XXX,-1,-2,-3,-7,-9,- 10,+13,+14,+19,+20,-	Sim	LMA	Adverso

22,+1~2mar[cp7]/46,XX [4]						
75	F	28	46,XX,t(15;17)(q24.3;q21)[5]/46,XX [13]	Não	LMA	Favorável
76	F	54	SEM METÁFASE	Não	LMA	N.C
77	F	87	46,XX,add(12)(p13)[4]/46,XX [10]	Não	LMA	Intermediario
78	M	62	46,XY [20]	Sim	LMA	Adverso
79	F	26	46,XX [20]	Não	LMA	Intermediario
80	F	57	46,XX [20]	Não	LMA	Intermediario
81	M	66	46,XY [20]	Sim	LMA	Adverso
82	F	56	45,X,-X,t(8;21)(q22;q22)[18]/46,XX [2]	Não	LMA	Intermediario
83	M	70	47,XY,+8[8]/46,XY [12]	Não	LMA	Intermediario
84	F	51	46,XX,t(15;17)(q24;q21.3)[9]/46,XX,der(15)t(15;17)(q24;q21.3),der(17)t(15;17)i(17)(q10)[2]/46,XX [9]	Não	LMA	Adverso
85	M	63	45,XY,-7,add(12)(p13) [5]	Sim	LMA	Adverso
86	F	28	SEM METÁFASE	Não	LMA	N.C
87	F	32	46, XX [6]	Não	LMA	Intermediario
88	M	29	46,XY,t(15;17)(q24;q21.3)[20]	Sim	LMA	Adverso
89	M	77	46,XY[20]	Não	LMA	Intermediario
90	M	91	46,XY [11]	Não	LMA	Intermediario
91	F	53	46,XX [12]	Não	LMA	Intermediario
92	F	36	Não METÁFASE	Não	LMA	N.C
93	F	85	46,X,del(X)(q22) [20]	Sim	LMA	Adverso
94	F	45	47,XX,+8[6]/46,XX [14]	Não	LMA	Intermediario
95	M	20	46,XY,inv(3)(p25q23),t(15;17)(q24;q21.3)[4]/46,XY [16]	Não	LMA	Intermediario
96	M	23	46,XY,t(15;17)(q24;q21.3)[19]/46,XY [1]	Não	LMA	Favorável
97	F	76	SEM METÁFASE	Não	LMA	N.C
98	M	57	SEM METÁFASE	Não	LMA	N.C
99	M	45	45,X,-Y,t(8;21)(q22;q22)[7]/46,XY [13]	Não	LMA	Favorável
100	F	74	46,XX,t(8;21)(q22;q22)[8]/46,XX [12]	Não	LMA	Favorável
101	F	43	47,XX, t(1;3)(p36.3;q21),T(9;22),+19 [20]	Sim	LMA	Adverso
102	M	49	46,XY,inv(?16)[15]/ 46, XY [5]	Não	LMA	Favorável
103	M	49	Não METÁFASE	Sim	LMA	N.C
104	F	56	Não METÁFASE	Sim	LMA	N.C
105	F	64	46,XX[20]	Não	LMA	Intermediario
106	F	64	SEM METÁFASE	Sim	LMA	Adverso
107	F	33	SEM METÁFASE	Sim	LMA	Adverso
108	M	50	SEM METÁFASE	Não	LMA	N.C
109	F	63	SEM METÁFASE	Não	LMA	N.C
110	M	20	SEM METÁFASE	Não	LMA	N.C