



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

**ANNA KAROLYNA DA COSTA MACHADO**

**AVALIAÇÃO MOLECULAR DE *AURKA*, *AURKB* E *PLK1* NO PROCESSO DE  
LEUCEMOGÊNESE EM PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIA MIELOIDE  
AGUDA NO ESTADO DO CEARÁ**

**FORTALEZA**

**2025**

ANNA KAROLYNA DA COSTA MACHADO

AVALIAÇÃO MOLECULAR DE *AURKA*, *AURKB* E *PLK1* NO PROCESSO DE  
LEUCEMÓGENESE EM PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIA MIELOIDE  
AGUDA NO ESTADO DO CEARÁ

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 (a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Caroline Aquino  
Moreira Nunes

FORTALEZA

2025

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)

---

M129a Machado, Anna Karolyna da Costa.

Avaliação molecular de AURKA, AURKB e PLK1 no processo de leucemogênese em pacientes portadores de leucemia mieloide aguda no estado do Ceará / Anna Karolyna da Costa Machado. – 2025.

106 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina Translacional, Fortaleza, 2025.

Orientação: Profa. Dra. Caroline Aquino Moreira Nunes.

1. Leucemia mieloide aguda. 2. Expressão gênica. 3. Biomarcadores. 4. Aurora quinases. 5. Quinase 1 Polo-like. I. Título.

CDD 610

---

ANNA KAROLYNA DA COSTA MACHADO

AVALIAÇÃO MOLECULAR DE *AURKA*, *AURKB* E *PLK1* NO PROCESSO DE LEUCEMÓGENESE EM PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA NO ESTADO DO CEARÁ

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.

Aprovada em: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Caroline Aquino Moreira Nunes (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Virginia Van Den Berg  
Universidade Federal do Pará

---

Prof. Dr. André Salim Khayat  
Universidade Federal do Pará

---

Prof. Dr. Daniel Pacheco Bruschi  
Universidade Federal do Paraná

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primariamente a Deus, pela proteção, por ter me guiado até aqui e por ter me ajudado a ultrapassar cada pequeno e grande obstáculo ao longo na minha vida.

Agradeço também a minha família por serem a minha base e por sempre me apoiarem em cada decisão que tomei, especialmente aos meus pais (Cris e Valdenor), por sempre terem feito tantos sacrifícios para que eu pudesse ter as melhores oportunidades e uma boa educação, me cercando de tanto amor e carinho e fizeram de tudo para que eu pudesse alcançar meus objetivos e sonhos. Mas também não posso esquecer dos meus avó (Lindalva e José Paulo), que juntamente com meus pais, me deram lições de vida, disciplina e princípios. Aos meus tios Paulo Deyvid (que é como meu segundo pai), Lidiany e Liliany por também terem feito parte da minha criação e educação. Obrigada por todos vocês terem cuidado tanto de mim e me guiado pelo caminho correto. Não sei se um dia serei capaz de lhes retribuir o suficiente por tudo o que fizeram e fazem por mim.

Agradeço ao senhor José, um grande amigo, que me mostrou que cada pessoa tem uma estrela pronta para brilhar e que com fé e determinação podemos ir longe. Obrigada por me segurar pela mão e me ajudar a alcançar meus objetivos de vida. Durante muitos momentos difíceis, você esteve ao meu lado e me apoiou.

Agradeço a minha orientadora, Caroline Aquino, por ter me dado a oportunidade de fazer parte do seu grupo de pesquisa e por creditar em mim e no meu potencial até nos momentos em que eu mesma não acreditei que eu seria capaz. Me mostrou o mundo da biologia molecular e me ensinou muito mais do que metodologias e interpretações de resultados, me ensinou a ver e ter sempre um propósito por trás dos nossos trabalhos, a enxergar cada paciente como uma raridade e a buscar ajudá-los com nosso ofício da melhor maneira possível. A senhora foi e é uma grande referência de profissional para mim. Espero um dia me tornar ao menos 1/3 da profissional gigante que a senhora é.

Aos meus colegas do grupo de pesquisa em onco-hematologias e membros do Laboratório de Genética Clínica (LABGEN) da Universidade Federal do Ceará (UFC). Obrigada ao Caio Bezerra, Igor Valentim, Renan Gadelha, Isabelle Farias, Guilherme Moraes e Leidivan Cunha por me ajudarem ao longo dessa trajetória. Agradeço especialmente a Flávia Melo por ser uma grande líder, dividindo comigo sua experiência como pesquisadora e muitas vezes sendo quase minha co-orientadora, a Beatriz Nogueira por ter sido uma grande parceira nas práticas de bancada, me ensinando com toda a paciência e por superar comigo todas as situações adversas que foram surgindo ao longo do meu mestrado e ao Dr. Deivide de Sousa por me ensinar e me ajudar a compreender o mundo da estatística.

A Dr<sup>a</sup> Maria Elisabete Amaral de Moraes por ceder parte do seu laboratório e nos ajudar a criar o LABGEN. Seu apoio ao nosso grupo de pesquisa é indescritível. Gratidão a todo o seu apoio.

Por fim, obrigada às agências de fomento CNPQ, Capes e Funcap que permitiram a realização deste projeto, bem como dos demais projetos do nosso grupo. Ao Hospital Geral de Fortaleza e Hospital, Hospital Geral Dr. César Cals e Maternidade São Vicente de Paula por abrirem as portas dos seus ambulatórios e nos deram acesso aos pacientes que aceitaram fazer parte deste estudo.

## EPÍGRAFE

“Se Deus, em seus desígnios, vos fez nascer num meio onde pudesse desenvolver a vossa inteligência, é que quer que dela useis para o bem de todos; porque é uma missão que vos dá, colocando em vossas mãos o instrumento com a ajuda do qual podereis desenvolver, a seu turno, as inteligências retardatárias (...).”

Allan Kardec

## RESUMO

A leucemia mieloide aguda (LMA) é uma das leucemias mais agressiva representada pela proliferação clonal de precursores mieloides, que promovem alterações, principalmente, quantitativas e de diferenciação celular e pela supressão da hematopoese normal. Ao longo da leucemogênese, podem ocorrer modificações em diversos elementos que compõem vias de sinalizações celulares, dentre eles podemos ressaltar as proteínas AURKA, AURKB e PLK1, que possuem relação direta com o controle do ciclo e a proliferação celular. Este estudo investigou o perfil hematológico e a expressão dos genes *AURKA*, *AURKB* e *PLK1* em uma coorte com portadores de LMA, a fim de compreender seus papéis na fisiopatologia da doença. As análises revelaram uma hipoexpressão significativa de *AURKA* na medula óssea dos pacientes em comparação ao grupo controle ( $p=0,0254$ ) e uma hiperexpressão de *PLK1* tanto na medula óssea ( $p<0,0001$ ), quanto no sangue periférico ( $p=0,0144$ ). Em contrapartida, *AURKB* não mostrou diferença significativa. Nossos dados sugerem que a baixa expressão de *AURKA* associa-se a supressão da hematopoese normal pela redução das células blásticas saudáveis e/ou pelo estado quiescente das células em decorrência da infiltração leucêmica, que recorrem a mecanismos alternativos para se proliferarem, possivelmente mediados pela atividade de *PLK1* que em nosso estudo mostrou-se com aumento de expressão. Além disso, nossos resultados também apontam *PLK1* como um potencial biomarcador de presença da doença, uma vez que sua hiperexpressão não diferiu com relação aos gêneros e nem quanto às estratificações de risco e as idades dos indivíduos. Por fim, as análises de sobrevida apontam que a *AURKA* na medula óssea está associada a um fator protetor e prolongamento da vida dos pacientes e que aqueles com maiores expressões dos três genes-alvos tiveram um menor índice de morte ( $p=0,043$ ).

**Palavras-chave:** Leucemia mieloide aguda, expressão gênica, biomarcadores, Aurora quinases, Quinase 1 Polo-like.

## ABSTRACT

Acute myeloid leukemia (AML) is one of the most aggressive types of leukemia, represented by the clonal proliferation of myeloid precursors, which mainly promotes quantitative and differentiation alterations, as well as suppression of normal hematopoiesis. Throughout leukemogenesis, modifications may occur in several elements that make up cellular signaling pathways, among which we highlight the *AURKA*, *AURKB*, and *PLK1* proteins, which are directly related to cell cycle control and cell proliferation. This study investigated the hematological profile and the expression of the *AURKA*, *AURKB*, and *PLK1* genes in a cohort of individuals with AML, in order to understand their roles in the pathophysiology of the disease. The analyses revealed a significant underexpression of *AURKA* in the bone marrow of patients compared to the control group ( $p = 0.0254$ ) and an overexpression of *PLK1* both in bone marrow ( $p < 0.0001$ ) and in peripheral blood ( $p = 0.0144$ ). In contrast, *AURKB* did not show a significant difference. Our data suggest that the low expression of *AURKA* is associated with the suppression of normal hematopoiesis due to the reduction of healthy blast cells and/or the quiescent state of the cells as a result of leukemic infiltration, which rely on alternative mechanisms to proliferate, possibly mediated by the activity of *PLK1*, which in our study showed increased expression. Furthermore, our results also point to *PLK1* as a potential biomarker for the presence of the disease, since its overexpression did not differ with respect to gender, risk stratification, or age of the individuals. Finally, survival analyses indicate that *AURKA* expression in the bone marrow is associated with a protective factor and increased patient survival, and that those with higher expression of the three target genes had a lower mortality rate ( $p = 0.043$ ).

**Keywords:** Acute myeloid leukemia, gene expression, biomarkers, Aurora kinases, Polo-like kinase 1.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Critérios de classificação de Consenso Internacional de LMA.....	21
<b>Figura 2.</b> Estrutura das proteínas Aurora quinases .....	27
<b>Figura 3.</b> Localização das Aurora quinases ao longo do ciclo celular.....	27
<b>Figura 4.</b> Estrutura da proteína PLK1 .....	28
<b>Figura 5.</b> Representação da influência ao início da mitose pela via AURKA/PLK1...	31
<b>Figura 6.</b> Fluxograma do delineamento experimental proposto .....	40
<b>Figura 7.</b> Análises comparativas das expressões de <i>AURKA</i> entre amostras de portadores de LMA e indivíduos saudáveis .....	58
<b>Figura 8.</b> Análises comparativas das expressões de <i>AURKB</i> entre amostras de portadores de LMA e indivíduos saudáveis .....	59
<b>Figura 9.</b> Análises comparativas das expressões de <i>PLK1</i> entre amostras de portadores de LMA e indivíduos saudáveis .....	59
<b>Figura 10.</b> Testes comparativos pareados em amostras leucêmicas da medula óssea e sangue periférico quanto a expressão de <i>AURKA</i> , <i>AURKB</i> e <i>PLK1</i> .....	61
<b>Figura 11.</b> Comparação entre os níveis de expressão de <i>PLK1</i> entre os participantes do estudo com base no gênero .....	61
<b>Figura 12.</b> Comparações mais detalhadas entre os níveis de expressões de <i>PLK1</i> e o gênero dos participantes do estudo.....	63
<b>Figura 13.</b> Testes comparativos entre os níveis de expressão de <i>PLK1</i> e a estratificação de risco dos participantes do estudo .....	64
<b>Figura 14.</b> Curva de sobrevida dos participantes do estudo com base na expressão de <i>AURKA</i> na medula óssea e sangue periférico .....	72
<b>Figura 15.</b> Curva de sobrevida dos participantes do estudo com base na expressão de <i>AURKB</i> na medula óssea e sangue periférico .....	73
<b>Figura 16.</b> Curva de sobrevida dos participantes do estudo com base na expressão de <i>PLK1</i> na medula óssea e sangue periférico .....	74

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Reagentes utilizados na PCR em tempo real .....	45
<b>Tabela 2.</b> Distribuição da faixa etária dos participantes do estudo .....	49
<b>Tabela 3.</b> Ocupação laboral dos participantes do estudo .....	49
<b>Tabela 4.</b> Dados clínicos dos participantes do estudo .....	51
<b>Tabela 5.</b> Panorama geral das alterações citogenéticas dos participantes do estudo .....	52
<b>Tabela 6.</b> Alterações nos testes moleculares dos participantes do estudo .....	52
<b>Tabela 7.</b> Correlações entre as expressões de <i>AURKA</i> , <i>AURKB</i> e <i>PLK1</i> e os parâmetros hematológicos dos participantes do estudo .....	65
<b>Tabela 8.</b> Correlações entre as expressões de <i>AURKA</i> , <i>AURKB</i> e <i>PLK1</i> e a presença de blastos em MO, níveis de LDH e idade dos participantes do estudo .....	66
<b>Tabela 9.</b> Correlações entre a expressão de <i>AURKA</i> , <i>AURKB</i> e <i>PLK1</i> e as taxas de óbito no estudo .....	71
<b>Tabela 10.</b> Resultados das regressões de Cox univariável e multivariável .....	77

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1.</b> Incidências de leucemias no ano de 2022 e estimativas de novos casos para o ano de 2025 .....	19
<b>Quadro 2.</b> Principais marcadores imunofenotípicos para casos de LMA .....	21
<b>Quadro 3.</b> Classificação da LMA segundo as diretrizes da OMS .....	24
<b>Quadro 4.</b> Estratificação de risco para casos de LMA segundo os critérios estabelecidos pela ELN .....	25
<b>Quadro 5.</b> Análise de Qui-Quadrado dos dados clínico-epidemiológicos dos portadores de LMA participantes do estudo .....	54
<b>Quadro 6.</b> Perfil hematológico dos participantes que não expressaram pelo menos um dos genes .....	56

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Distribuição dos pacientes com LMA quanto ao sexo e localização de habitação .....	48
<b>Gráfico 2.</b> Estratificação de risco dos participantes do estudo segundo critérios da ELN .....	53
<b>Gráfico 3.</b> Curva de sobrevida global dos participantes do estudo .....	68
<b>Gráfico 4.</b> Curva de sobrevida baseada no gênero dos participantes do estudo .....	69
<b>Gráfico 5.</b> Curva de sobrevida baseada na idade dos participantes do estudo .....	70
<b>Gráfico 6.</b> Curva de sobrevida abordando esquema de <i>score</i> baseado na expressão de <i>AURKA</i> , <i>AURKB</i> e <i>PLK1</i> nas amostras de medula óssea .....	75
<b>Gráfico 7.</b> Curva de sobrevida com abordagens aprimoradas do esquema de <i>scores</i> baseado na expressão dos genes-alvo nas amostras de medula óssea .....	76

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	14
1.1. Problema a ser pesquisado .....	15
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	16
2.1. Objetivo geral .....	16
2.2. Objetivos específicos .....	16
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
3.1. Aspectos gerais das leucemias .....	17
3.2. Leucemia mieloide aguda .....	17
3.2.1. <i>Aspectos gerais da leucemia mieloide aguda</i> .....	17
3.2.2. <i>Dados epidemiológicos</i> .....	18
3.2.3. <i>Principais alterações presentes na leucemia mieloide aguda</i> .....	20
3.2.4. <i>Classificações e estratificações de riscos</i> .....	23
3.3. Caracterização estrutural das proteínas AURKA, AURKB e PLK1 .....	25
3.4. Caracterização da via AURKA/PLK1 .....	29
3.5. Caracterização da proteína AURKB .....	32
3.6. Associação das proteínas AURKA, AURKB e PLK1 com a carcinogênese. ....	34
3.7. Uso de inibidores farmacológicos como tratamento de leucemias .....	36
3.7.1. <i>Inibidores de AURKA e AURKB</i> .....	37
3.7.2. <i>Inibidores de PLK1</i> .....	38
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	40
4.1. Desenho experimental .....	40
4.2. Tipo de estudo .....	40
4.3. Locais de realização do estudo e os aspectos éticos .....	40
4.4. <i>Coleta das amostras</i> .....	42
4.5. Critérios de elegibilidade .....	42
4.5.1. <i>Critérios de inclusão</i> .....	42
4.5.2. <i>Critérios de exclusão</i> .....	43
4.6. Classificação e estratificação de risco dos participantes do estudo .....	43
4.7. Processamento das amostras .....	43

<b>4.7.1. Extração de RNA</b> .....	43
<b>4.7.2. Transcrição reversa (RNA-cDNA)</b> .....	44
<b>4.8. Avaliação molecular</b> .....	44
<b>4.8.1. Reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) e detecção</b> .....	44
<b>4.8.2. Validação da expressão gênica por qPCR quantitativo</b> .....	45
<b>4.9. Análise Estatística</b> .....	46
<b>5. RESULTADOS</b> .....	48
<b>5.1. Análise geral do perfil dos participantes do estudo</b> .....	48
<b>5.2. Dados clínicos dos participantes do estudo</b> .....	50
<b>5.3. Estratificação de risco dos participantes do estudo</b> .....	52
<b>5.4. Análise de Chi-Quadrado dos dados clínico-epidemiológicos dos participantes do estudo</b> .....	53
<b>5.5. Análise da expressão gênica de AURKA, AURKB e PLK1</b> .....	56
<b>5.6. Análises comparativas adicionais para PLK1</b> .....	61
<b>5.7. Análise da comparação associada aos genes AURKA, AURKB e PLK</b> .....	64
<b>5.8. Taxa de mortalidade e análises de sobrevida</b> .....	67
<b>5.8.1. Aspectos gerais dos óbitos</b> .....	67
<b>5.8.2. Aspectos de taxa de óbito e curvas de sobrevida com base na expressão de AURKA, AURKB e PLK1</b> .....	70
<b>6. DISCUSSÃO</b> .....	77
<b>7. CONCLUSÃO</b> .....	88
<b>8. REFERÊNCIAS</b> .....	90
<b>ANEXO 1: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DO HOSPITAL GERAL DE FORTALEZA (HGF)</b> .....	98
<b>ANEXO 2: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DO HOSPITAL DR. CÉSAR CALS</b> .....	98
<b>ANEXO 3: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ</b> .....	99
<b>ANEXO 4: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO</b> .....	100
<b>ANEXO 5: QUESTIONÁRIO CLÍNICO PARA OS PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA</b> .....	102

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**ABL1:** Proto-oncogene ABL 1  
**AJUBA:** Proteína LIM AJUBA  
**AKT/PKB:** Proteína quinase B  
**ANOVA:** Análise de Variância de uma Via  
**APC/C:** Complexo promotor de anáfase/ciclossomo  
**ATP:** Trifosfato de adenosina  
**AURK:** Aurora quinase  
**AURKA:** Aurora quinase A  
**AURKB:** Aurora quinase B  
**BCL-2:** Regulador da apoptose BCL-2  
**BCR:** Região do Cluster do ponto de interrupção  
**BORA:** Proteína aurora boreal  
**BUB1:** Proteína do ponto de verificação mitótico BUB1 serina/treonina quinase  
**CBFB:** Subunidade beta do fator de ligação ao núcleo  
**CBX3:** Chromobox 3  
**CDC25:** Ciclo de divisão celular 25  
**Cdh1:** Fator de especificidade CDC 20 homólogo 1  
**CDK1:** Quinase dependente de ciclina 1  
**cDNA:** DNA complementares  
**CEBPA:** Proteína de ligação ao intensificador CCAAT  
**Cep192:** Proteína centrossomal 192  
**CHK1:** Proteína do ponto de verificação quinase 1  
**c-KIT:** Proto-oncogene KIT  
**CPC:** Complexo cromossômico passageiro  
**CQ:** Ciclo de Quantificação  
**CXCL12:** Ligante de quimiocina com motivo CXC 12  
**D-box:** *Destruction boxes*  
**DNA:** Ácido desoxirribonucleico  
**E2F:** Fator de transcrição 3  
**EDTA:** ácido etilenodiaminotetracético  
**EHMT1:** Histona lisina metiltransferase eucariótica 1  
**EHMT2:** Histona lisina metiltransferase eucariótica 2  
**ELN:** European LeukemiaNet  
**Emi1/FBXO5:** Proteína F-box 5  
**ERK:** Quinase regulada por sinal extracelular  
**FAB:** French-American-British  
**FC:** Fold change  
**FLT3:** Receptor relacionado a FMS tirosina quinase 3  
**FLT3-ITD:** FLT3 com mutações em tandem internas

**FLT3-TKD:** FLT3 com mutações em domínios de tirosina quinase  
**FOXM1:** Forkhead box M1  
**GATA1:** Proteína de Ligação GATA1  
**G-CSF:** Fator estimulante de colônia de granulócitos  
**GM-CSF:** Fator estimulante de colônia de granulócitos e macrófagos  
**HEMOCE:** Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará  
**HGCC:** Hospital Geral Dr. César Cals  
**HGF:** Hospital Geral de Fortaleza  
**HIF1 $\alpha$ :** Fator induzível por hipóxia 1  $\alpha$   
**HMSVP:** Hospital e Maternidade São Vicente de Paulo  
**HR:** *Hazard Ratio*  
**HSC:** Células-tronco hematopoiéticas  
**IC:** Intervalo de confiança  
**IGF1:** Fator de crescimento semelhante à insulina 1  
**IL-12:** Interleucina 12  
**IL-7:** Interleucina 7  
**INCA:** Instituto Nacional de Câncer  
**INCENP:** Região IN-box da proteína interna do centrômero  
**KMT2A:** Lisina metiltransferase 2A  
**KNL-1:** Proteína nula do cinetócoro 1  
**KRAS:** proto-oncogene KRAS  
**LABGEN:** Laboratório de Genética Clínica  
**LATS2:** Grande supressor de tumor cinase 2  
**LDH:** Lactato desidrogenase  
**LLA:** leucemia linfóide aguda  
**LLC:** Leucemia linfóide crônica  
**LMA:** Leucemia mieloide aguda  
**LMC:** Leucemia mieloide crônica  
**LPA:** Leucemia promielocítica aguda  
**MAPK:** Proteína quinase ativada por mitógeno  
**MCAK:** Proteína cinesina associada ao centrômero mitótico  
**MEIS2:** Meis Homeobox 2  
**MgcRacGAP:** Proteína ativadora de GTPase  
**MIS12:** Mis-segregation 12  
**MO:** Medula óssea  
**MYC:** Proto-oncogene MYC  
**MYH11:** Cadeia pesada da miosina 11  
**MYT1:** Fator de transcrição de mielina 1  
**NDC80:** Ciclo de divisão nuclear 80  
**NF1:** Neurofibromina 1  
**NPDM:** Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos

**NPM1:** Nucleofosmina 1  
**NRAS:** Proto-oncogene NRAS  
**OMS:** Organização Mundial da Saúde  
**PBD:** Domínio polo-box  
**PI3K:** Fosfatitilinositol-3-quinase  
**PLK:** Polo like kinase  
**PLK1:** Polo like kinase 1  
**PML:** Andaime do corpo nuclear PML  
**PP1:** Proteína fosfatase 1  
**qPCR:** Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real  
**RARA:** Receptor de ácido retinóico alfa  
**RAS:** Rat sarcoma vírus;  
**RHOA:** Família homóloga Ros A  
**RNA:** Ácido ribonucleico  
**RNAi:** RNA de interferência  
**RT:** Transcrição reversa  
**RUNX1:** Fator de transcrição relacionado a Rant 1  
**RUNX1T1:** RUNX1 parceiro transcricional co-repressor 1  
**SMD:** Síndromes mielodisplásicas  
**SP:** Sangue periférico  
**STAT5:** Transdutor de sinal e ativador de transcrição 5  
**TCLE:** Termos de Consentimento Livre e Esclarecido  
**TP53:** Proteína tumoral p53  
**TPX2:** Fator de nucleação de microtúbulo TPX2  
**TRKC:** Receptor neutrófico tirosina quinase 3  
**TSS:** Treonina-serina-serina  
**Twist-1:** Fator de transcrição Twist 1  
**UFC:** Universidade Federal do Ceará  
**WBC:** Contagem de células brancas  
**WEE1:** Quinase WEE1 de pontos de verificação G2

## 1. INTRODUÇÃO

As leucemias são umas das principais neoplasias relacionadas às células sanguíneas e da medula óssea, em que sofrem mutações somáticas nas células-tronco hematopoiéticas, promovendo principalmente alterações quantitativas dos elementos figurados sanguíneos (NEMKOV; D'ALESSANDRO; REISZ, 2018). Podem ser dos tipos agudas ou crônicas e ainda acometerem as linhagens celulares mieloides ou linfoides. Desta forma, podem ser divididas em quatro grupos principais: leucemias mieloides agudas (LMA), leucemias mieloides crônicas (LMC), leucemias linfoides agudas (LLA) e leucemias linfoides crônicas (LLC) (NEMKOV; D'ALESSANDRO; REISZ, 2019; KHOURY *et al.*, 2022; ALAGGIO *et al.*, 2022).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) (2024b), até o ano de 2025 são esperados no Brasil 12.840 novos casos de pessoas com leucemias. Além disso, o Instituto Nacional de Câncer (INCA) (2024a), estimou em 2023 uma taxa de 3.300 casos de leucemias na região Nordeste do nosso país, em que destes, 850 casos pertenciam ao estado do Ceará (INCA, 2024b).

Entre as tipologias leucêmicas, a LMA é uma malignidade agressiva associada à expansão clonal de células progenitoras mieloides que afeta, em sua maioria, indivíduos adultos e mostrou-se responsável por cerca de 62% das taxas de mortalidade por leucemias (SHALLIS *et al.*, 2019; POLLYEA *et al.*, 2021).

Nos processos de leucemogênese, diversas moléculas que fazem parte da transdução de sinais celulares podem sofrer alterações, tais como as proteínas Aurora quinase (AURK) e Quinase semelhante a polo (PLK). Essas proteínas são uma família de quinases que possuem relações diretas com o controle do ciclo celular e a divisão celular (LUCENA-ARAÚJO *et al.*, 2011; GOLDENSON; CRISPINO, 2015; ASTERITI; MATTIA; GUARGUAGLINI, 2015; MACHADO *et al.*, 2021).

Um estudo realizado por Moreira-Nunes *et al.* (2020) avaliaram os níveis de expressão de aurora quinase A (AURKA) e aurora quinase B (AURKB) em casos de LLA. Como resultados relataram que além de ambos os genes se apresentarem hiperexpressos em amostras de pacientes com essa enfermidade, ao realizarem testes com inibidores de auroras quinases em cultura de células leucêmicas K-562, observaram uma redução na sua proliferação, bem como um aumento da morte celular e uma parada do ciclo celular na fase G2/M. Já Renner *et al.* (2009)

descobriram que a *PLK1* possui uma superexpressão em linhagens celulares de pacientes com LMA e que a inibição dessa proteína favorece a redução da proliferação das células leucêmicas.

Deste modo, uma vez que há indícios de que AURKA, AURKB e PLK1 estão presentes em casos de LMA, a realização de estudos genômicos que promovam uma maior caracterização e detalhamento das alterações nesta via, poderia propiciar a descoberta de biomarcadores que contribuam com os fatores diagnósticos, prognósticos e até mesmo terapêuticos dessa patologia.

### **1.1. Problema a ser pesquisado**

Alterações moleculares em AURKA, AURKB e PLK1 e/ou a ocorrência de eventos que de algum modo gerem as suas ativações anormais, podem promover o desenvolvimento neoplásico, especialmente em casos de leucemias, pois alterações em tais vias podem interferir nos processos de replicação, controle do ciclo celular, sobrevivência celular e escape da apoptose (GOLDENSON; CRISPINO, 2015; JOUKOV;WALTER; NICOLO, 2018).

Portanto, a investigação de alterações moleculares nesses elementos em pacientes com LMA podem elucidar e comprovar os seus respectivos papéis na leucemogênese e em sua fisiopatologia, de modo a contribuir para um melhor direcionamento diagnóstico e terapêutico visando uma melhoria prognóstica e de qualidade de vida dos pacientes.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo geral

Realizar a análise molecular de *AURKA*, *AURKB* e *PLK1* no processo de leucemogênese em pacientes portadores de leucemias mieloides aguda no estado do Ceará.

### 2.2. Objetivos específicos

- Descrever as principais alterações genéticas e moleculares presentes nos pacientes diagnosticados com LMA no estado do Ceará e correlacioná-los com *AURKA*, *AURKB* e *PLK1*;
- Avaliar os níveis de expressão gênica dos componentes moleculares envolvidos com *AURKA*, *AURKB* e *PLK1*;
- Identificar as alterações presentes nos genes *AURKA*, *AURKB* e *PLK1* a fim de relacioná-las com os processos de leucemogênese;
- Correlacionar as alterações moleculares de *AURKA*, *AURKB* e *PLK1* como biomarcadores de acompanhamento clínico de pacientes portadores de LMA.

### **3. REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1. Aspectos gerais das leucemias**

As leucemias são as neoplasias mais importantes que acometem as células sanguíneas e da medula óssea, induzindo alterações celulares malignas, principalmente, anomalias proliferativas e alterações na diferenciação celular. Podem ser distinguidas quanto as linhagens celulares que afetam, podendo acometer linhagens mieloides (monócitos, megacariócitos, granulócitos e eritrócitos) ou as linhagens linfoides (linfócitos T e B e células *natural killers*) (NEMKOV; D'ALESSANDRO; REISZ, 2019; KHOURY *et al.*, 2022; ALAGGIO *et al.*, 2022).

Podem ainda ser dos tipos agudas ou crônicas. As leucemias agudas possuindo uma rápida evolução quanto ao seu desenvolvimento, além de um aumento quantitativo dos blastos na medula óssea e na circulação sanguínea, ocorrência de leucocitoses e também anemias (ROSE-INMAN; KUEHL, 2017; NARAYANAN; WEINBERG, 2019; FUJITA *et al.*, 2021). Em contrapartida, as leucemias crônicas possuem progressão mais lenta, em que aquelas que acometem as linhagens mieloides podem se correlacionar com células em diferentes estágios de maturação, enquanto que as linfoides apresentam-se sob a forma de um aumento proliferativo de linfócitos maduros (JULIUSSON; HOUGH, 2016; HALLEK, 2019; MINCIACCHI; KUMAR; KRAUSE, 2021).

Deste modo, as leucemias podem ser agrupadas como leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia linfóide aguda (LLA), leucemia mieloide crônica (LMC) e leucemia linfóide crônica (LLC) (NEMKOV; D'ALESSANDRO; REISZ, 2019; KHOURY *et al.*, 2022; ALAGGIO *et al.*, 2022).

#### **3.2. Leucemia mieloide aguda**

##### **3.2.1. Aspectos gerais da leucemia mieloide aguda**

A LMA é uma leucemia que acomete as linhagens progenitoras mieloides devido a modificações no microambiente tumoral e ao acúmulo de mutações somáticas no material genético das células, sofrendo alterações mitóticas, bloqueios na diferenciação celular, disfunções metabólicas e impedimento da ativação da morte celular por apoptose ou mecanismos de reparo celular, resultando na proliferação

desordenada que é passada para as células filhas e propagando os clones neoplásicos (LOPES *et al.*, 2022; DÖHNER *et al.*, 2022).

Como consequência das diversas alterações genéticas, citológicas e moleculares dessa enfermidade, são observados sinais e sintomas clínicos que corroboram com tais aspectos. Entre eles podemos citar a febre, fadiga, quadros de sangramentos, palidez, anemia, alterações nos índices leucocitários e plaquetários, astenia, dores ósseas, maior propensão a infecções, dentre outras (LIMA *et al.*, 2016; VEMPRALA *et al.*, 2023).

Apesar da etiologia da LMA ainda não estar totalmente elucidada, alguns fatores de riscos podem favorecer o desencadeamento dessa doença, tais como o contato com radiações ionizantes, exposições constantes a certas substâncias químicas como o formaldeído, agrotóxicos, benzeno e algumas classes de quimioterápicos, histórico de doenças hereditárias, síndromes mielodisplásicas ou outras anormalidades hematológicas, tabagismo, entre outras possibilidades (INCA, 2019; NARAYANAN; WEINBERG, 2019).

Entre as metodologias diagnósticas para LMA que podem ser realizadas, podemos destacar o hemograma, a avaliação morfológica de aspirado de medula óssea, biópsia medular, citometria de fluxo, teste citogenéticos e de mutações moleculares, nos quais também podem auxiliar na classificação quanto aos subtipos de LMA (NARAYANAN; WEINBERG, 2019; DÖHNER *et al.*, 2022).

### **3.2.2. Dados epidemiológicos**

De acordo com dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) (2024a), no ano de 2022 houve uma incidência em números absolutos de cerca de 487.294 casos de leucemias no mundo e identificou-se também um índice de mortalidade mundial por leucemias atingindo 305.405 óbitos entre ambos os sexos. Para o ano de 2025, há uma previsão de cerca de 515 mil casos de leucemias para a população mundial (OMS, 2024b).

No que se refere ao nosso país, no ano 2022 foram identificadas incidências em números absolutos de 11.859 casos de leucemias, representando cerca de 29,09% dos casos na América Latina e Caribe (OMS, 2024a). Para o ano de 2025,

estão previstos cerca de 12,2 mil casos de leucemias em nosso país para ambos os sexos (**Quadro 1**) (OMS, 2024b).

**Quadro 1:** Incidência de leucemias no ano de 2022 e estimativas de novos casos para o ano de 2025

	Ano de 2022			Ano de 2025		
	População geral	Homens	Mulheres	População geral	Homens	Mulheres
<b>Mundo</b>	487.294	278.120	209.174	515.000	292.000	223.000
<b>América Latina e Caribe</b>	40.925	22.504	18.421	42.100	23.000	19.000
<b>Brasil</b>	11.859	6.617	5.242	12.200	6.780	5.410

**Fonte:** Adaptado de: OMS, 2024a; OMS, 2024b.

O Instituto Nacional de Câncer (INCA) (2022a), realizou uma estimativa de casos de leucemias na região nordeste para o ano de 2023, nos quais foram apontados 3.300 casos para cada 100 mil habitantes, em que destes, 1.770 casos foram direcionados para o público masculino e 1.530 para a população feminina. Além disso, estimou-se para o estado do Ceará cerca de 850 casos para cada 100 mil habitantes, incluindo ambos os sexos (INCA, 2022b).

A LMA é uma patologia com acometimento mundial e com o passar do tempo observou-se índices crescentes de casos. Na década de 1990 representava cerca de 18% das leucemias entre a população mundial e no ano de 2017 o percentual evoluiu para cerca de 23,1% (DONG *et al.*, 2020). Além disso, tem se mostrado responsável por cerca de 60% das taxas de mortalidade por leucemias no mundo (SHALLIS *et al.*, 2019; ROSE-INMAN; KUEHL, 2017).

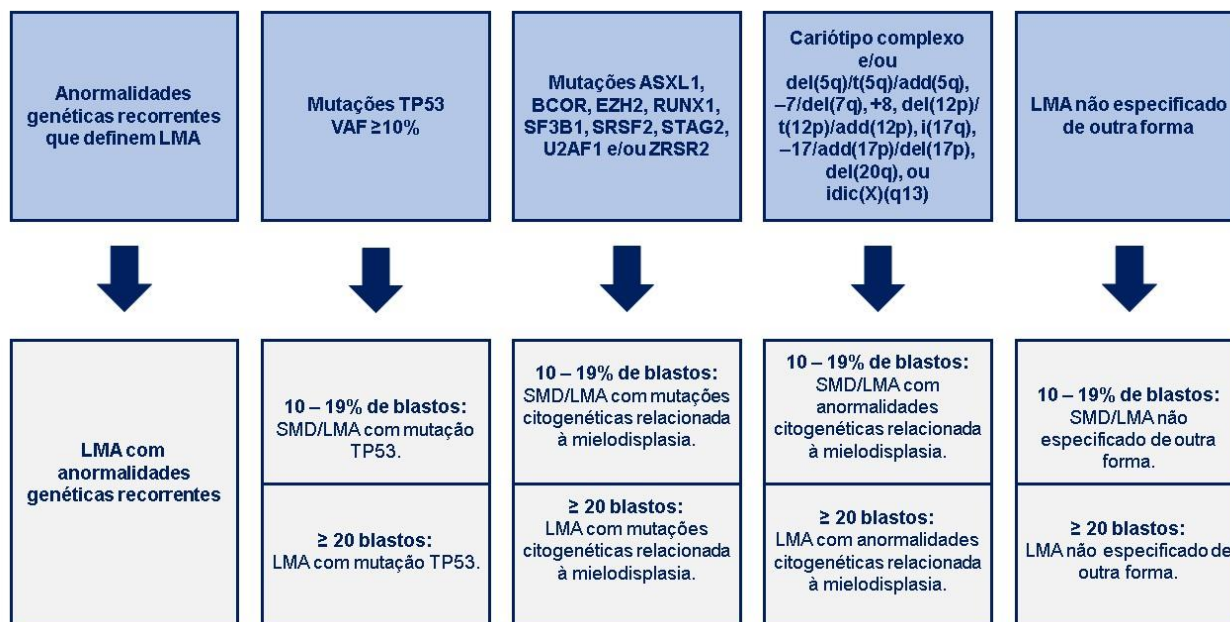
A LMA pode acometer indivíduos de diferentes idades, porém, há maiores índices em adultos, especialmente com idades em torno de 60 anos (APPELBAUM *et al.*, 2006; MCMAHON; PERL, 2019; HUANG *et al.*, 2022). Apesar disso, não se pode descartar a possibilidade de acometimento entre o público infanto-juvenil, os quais equivalem de 15 a 20% dos casos de leucemias pediátrica (MORAIS *et al.*, 2021).

### **3.2.3. Principais alterações presentes na leucemia mieloide aguda**

De um modo geral, os principais indícios de LMA apontados nos exames hematológicos são a presença de anemia, alterações quantitativas de leucócitos, principalmente, apontando quadros de leucocitose, a presença de trombocitopenia e blastos na medula óssea (MO) e no sangue periférico (SP) (NARAYANAN; WEINBERG, 2019; DÖHNER *et al.*, 2022)

A Classificação de Consenso Internacional de LMA influenciou nos critérios estabelecidos pela OMS em edições mais recentes para classificações de LMA, promovendo alterações quanto ao limiar de blastos e aspectos genéticos para ampliar o espectro das classificações (**Figura 1**). Certas anormalidades citogenéticas recorrentes consideradas como definidoras de LMA, independem do percentual de mais de 20% de células blásticas, considerando-se a partir de 10% desses tipos celulares, com exceções para casos com a presença da fusão gênica entre o Ativador BCR de RhoGEF e GTPase (*BCR*) e Proto-oncogene ABL 1 (*ABL1*) e mutações na proteína de ligação ao intensificador CCAAT alfa (*CEBPA*) (NARAYANAN; WEINBERG, 2019; DÖHNER *et al.*, 2022; KHOURY *et al.*, 2022; SHIMONY; STAHL; PEDRA, 2023).

Para os demais casos de LMA com ausência de tais anormalidades, aplica-se o percentual de pelo menos 20% de blastos no SP e MO. Além disso, em cenários considerados fronteira entre síndromes mielodisplásicas (SMD) e LMA com 10 a 19% de blastos, em que se associa às anormalidades genômicas, há a categoria SMD/LMA (DÖHNER *et al.*, 2022).

**Figura 1:** Critérios da Classificação de Consenso Internacional de LMA

**Fonte:** Adaptado de: DÖHNER *et al.*, 2022.

O diagnóstico da LMA também conta com resultados dos testes de imunofenotipagem. Os antígenos para o diagnóstico de LMA podem ser classificados como marcadores de células precursoras, marcadores de maturação mielóide, marcadores mielóides, marcadores megacariocíticos, marcadores monocíticos e marcadores eritrocitários (**Quadro 2**) (KHALIDI *et al.*, 1998; THOMAS; MAJETI, 2017; BASHARAT *et al.*, 2019; HAFERLACH; SCHMIDT, 2020).

**Quadro 2:** Principais marcadores imunofenotípicos para casos de LMA

Tipo de Marcador	Marcadores Imunofenotípicos
Marcadores de células precursoras	CD34, CD117 e HLA-DL
Marcadores de maturação mielóide	CD11b, CD15, CD64, CD4, CD38 e CD11c
Marcadores mielóides	MPO, CD33 e CD13
Marcadores megacariocíticos	CD41, CD36 e CD61
Marcadores monocíticos	CD14, CD36 e CD64
Marcadores eritrocitários	CD235, CD71 e CD36

**Fonte:** Adaptado de: KHALIDI *et al.*, 1998; THOMAS; MAJETI, 2017; BASHARAT *et al.*, 2019; HAFERLACH; SCHMIDT, 2020.

Na LMA, uma anormalidade genética que é considerada como recorrente diz respeito a t(8;21)(q22;q22.1), uma translocação envolvendo os genes Fator de transcrição 1 da família RUNX (*RUNX1*) e Co-expressor transcricional do parceiro RUNX1 (*RUNX1T1*). A proteína resultante dessa fusão atua como um repressor gênico, impedindo a ação de fatores de transcrição que atuam na hematopoiese, tais como Proteína de Ligação GATA1 (*GATA1*), *CEBPA*, Neurofibromina 1 (*NF1*), dentre outros, para impedir os processos de diferenciação celular e interferindo na transcrição gênica. Além disso, também estimulam elemento que influenciam na proliferação celular como, por exemplo, fator induzível por hipóxia 1  $\alpha$  (*HIF1 $\alpha$* ), sítio de integração viral ecotrópico mieloide (*MEIS2*), via de sinalização RAS, entre outros (*AL-HARBI et al.*, 2020; *KHOURY et al.*, 2022; SHIMONY; STAHL; PEDRA, 2023).

Outras alterações importantes são a inv(16)(p13.1;q22) e t(16;16)(p13.1;q22), que são responsáveis pela formação de um gene quimérico resultante da fusão gênica entre a Subunidade beta do fator de ligação ao núcleo (*CBFB*) e o gene Cadeia pesada da miosina 11 (*MYH11*) (*KHOURY et al.*, 2022; SHIMONY; STAHL; PEDRA, 2023). Essas alterações contribuem com a leucemogênese, principalmente, devido a interferências na diferenciação das células hematopoiéticas (*CASTELA et al.*, 1999; *KUNDU et al.*, 2002).

Há ainda a translocação t(15;17)(q24.1;q21.2) referente a fusão entre os genes *PML nuclear body scaffold* (*PML*) e Receptor de ácido retinóico alfa (*RARA*). Tal alteração é bastante característica da leucemia promielocítica aguda (LPA), que representa de 10 a 15% dos casos de LMA. As mutações *PML::RARA* relacionam-se com interferências e bloqueios na diferenciação das células hematológicas e com estímulos à expansão de células progenitoras mieloides, uma vez que a oncoproteína quimérica resultante dessa alteração atua na regulação da transcrição gênica (*WATTS; TALLMAN*, 2014; *MANNAN et al.*, 2020; *KHOURY et al.*, 2022; SHIMONY; STAHL; PEDRA, 2023).

O *FLT3* é um gene expresso em células progenitoras hematopoiéticas, que origina uma proteína tirosina quinase receptora transmembranar, que atua em diversas vias de sinalizações celulares atreladas a modulações da proliferação, diferenciação e sobrevivência celular como, por exemplo, as vias PI3K/AKT (Fosfatitilinositol-3-quinase / Proteína quinase B), MAPK/ERK (Proteína quinase

ativada por mitógeno / Quinase regulada por sinal extracelular), Rat sarcoma vírus (RAS), Transdutor de sinal e ativador de transcrição 5 (STAT5), entre outros. Mutações *FLT3* são uma das principais presentes na LMA, acometendo aproximadamente 30% dos pacientes e podem ser de dois tipos: Mutações em tandem internas (*FLT3-ITD*) e mutações em domínios de tirosina quinase (*FLT3-TKD*). (KINDLER; LIPKA; FISHER, 2010; DAVER *et al.*, 2019; SONG; PARK; UHM, 2022; ZHAO *et al.*, 2022).

Diversas outras mutações genéticas podem ser observadas na LMA como é o caso da fusão gênica *BCR::ABL1*, as alterações nos genes Proteína tumoral p53 (*TP53*), Lisina metiltransferase 2<sup>a</sup> (*KMT2A*), Proto-oncogene KIT (*c-KIT*), Proto-oncogene KRAS (*KRAS*), Proto-oncogene NRAS (*NRAS*), Proteína alfa de ligação ao intensificador CCAAT (*CEBPA*), Nucleofosmina 1 (*NPM1*), entre outras. Isto, pois a LMA é uma enfermidade que englobar uma ampla variedade de alterações genéticas e moleculares que podem influenciar diretamente no prognóstico e responsividade aos tratamentos (DÖHNER *et al.*, 2022; KHOURY *et al.*, 2022; SU *et al.*, 2022; SHIMONY; STAHL; PEDRA, 2023).

#### **3.2.4. Classificações e estratificações de risco**

Em 1976 o grupo cooperativo *French-American-British* (FAB) estabeleceram as primeiras formas de classificações das leucemias agudas que perdurou 25 anos e tornou-se um marco em meio as ciências da saúde, possibilitando a compreensão e identificação dos subgrupos leucêmicos e seus respectivos direcionamentos terapêuticos (BENNETT *et al.*, 1976). Se fundamentava quanto a presença de pelo menos 30% de células blásticas na medula óssea e em critérios morfológicos e citoquímicos das células hematológicas. Desta forma, as LMA foram divididas em 8 tipos que foram dispostas de M0 a M7 e as LLA passaram a ter 3 tipos, agrupadas de L1 a L3 (HEAD *et al.* 1985; BENNETT, 1985; BRUNNING, 2003).

Com o desenvolvimento de pesquisas oncológicas e de tecnologias diagnósticas passaram a ser necessárias modificações nas classificações. Diversas organizações de pesquisas contribuíram com dados que favoreceram as classificações das leucemias e que forneceram uma melhor compreensão quanto às suas propriedades e alterações. Uma delas foi a OMS, que possui um sistema de

classificações baseado na presença de evidências neoplásicas e trata-se de diretrizes padrões para a realização de pesquisas, diagnósticos, registros de neoplasias e como medida de monitoramento da saúde pública mundial (KHOURY *et al.*, 2022).

Conforme os critérios da OMS, no que se refere a classificação da LMA, além das características morfológicas, também passaram a se basear em fatores genéticos, moleculares, imunológicos e epidemiológicos (BRUNNING, 2003; ARBER *et al.* 2016; ARBER *et al.*, 2022). Ademais, sobre a classificação mais recente da OMS, ela divide os pacientes em dois grupos principais, sendo eles a LMA com anormalidades genéticas definidoras e a LMA definida por diferenciação, onde dentro de cada conjunto existem as classificações pertinentes aos tipos de LMA (**Quadro 3**) (KHOURY *et al.*, 2022).

**Quadro 3:** Classificação da LMA segundo as diretrizes da OMS

Leucemia Mieloide Aguda	Classificação
Com anormalidades genéticas definidoras	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Leucemia promielocítica aguda com fusão <i>PML::RARA</i>;</li> <li>- Leucemia mieloide aguda com fusão <i>RUNX1::RUNX1T1</i>;</li> <li>- Leucemia mieloide aguda com fusão <i>CBFB::MYH11</i>;</li> <li>- Leucemia mieloide aguda com fusão <i>DEK::NUP214</i>;</li> <li>- Leucemia mieloide aguda com fusão <i>RBM15::MRTFA</i>;</li> <li>- Leucemia mieloide aguda com fusão <i>BCR::ABL1</i>;</li> <li>- Leucemia mieloide aguda com rearranjo <i>KMT2A</i>;</li> <li>- Leucemia mieloide aguda da com rearranjo <i>MECOM</i>;</li> <li>- Leucemia mieloide aguda com rearranjo <i>NUP98</i>;</li> <li>- Leucemia mieloide aguda com rearranjo <i>NPM1</i>;</li> <li>- Leucemia mieloide aguda com rearranjo <i>CEBPA</i>;</li> <li>- Leucemia mieloide aguda relacionada a mielodisplasia;</li> <li>- Leucemia mieloide aguda com outras alterações genéticas definidas</li> </ul>
Definida por diferenciação	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Leucemia mieloide aguda com diferenciação mínima;</li> <li>- Leucemia mieloide aguda sem maturação;</li> <li>- Leucemia mieloide aguda com maturação;</li> <li>- Leucemia basofílica aguda;</li> <li>- Leucemia mielomonocítica aguda;</li> <li>- Leucemia monocítica aguda;</li> <li>- Leucemia eritroide aguda;</li> <li>- Leucemia megacarioblástica aguda.</li> </ul>

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

O *European LeukemiaNet* (ELN) também possui uma classificação de LMA criada no ano 2010 e que visavam desenvolver diretrizes diagnósticas e terapêuticas dessa patologia, mas que posteriormente, em 2017, incluíram sistemas de estratificações de riscos fundamentada em alterações moleculares e citogenéticas de modo a comparar os achados genéticos com os resultados clínicos, em que recentemente passou por atualizações no ano de 2022. Desta forma, as leucemias foram agrupadas em riscos favoráveis, intermediárias e adversas (**Quadro 4**) (SHIMONY; STAHL; PEDRA, 2023; MRÓZEK *et al.*, 2023; CHEN *et al.*, 2024).

**Quadro 4:** Estratificação de risco para casos de LMA segundo os critérios estabelecidos pelo ELN

Estratificação de Risco	Alterações Citogenéticas
Favorável	t(8;21)(q22;q22.1) / RUNX1::RUNX1T1; inv(16)(p13.1q22) ou t(16;16)(p13.1;q22) / CBFβ::MYH11; Mutação em NPM1 sem FLT3-ITD; Mutação em bZIP CEBPA
Intermediário	Mutação em NPM1 com FLT3-ITD; NPM1 selvagem com FLT3-ITD; t(9;11)(p21.3;q23.3) / MLLT3::KMT2A; Anormalidades citogenéticas não classificadas como favoráveis ou adversas
Adverso	t(6;9)(p23.3;q34.1) / DEK::NUP214; t(v;11q23.3) / rearranjo de KMT2A; t(9;22)(q34.1;q11.2) / BCR::ABL1; t(8;16)(p11.2;p13.3) / KAT6A::CREBBP; inv(3)(q21.3q26.2) ou t(3;3)(q21.3;q26.2) / GATA2, MECOM(EVI1); t(3q26.2;v) / rearranjo de MECOM(EVI1); del(5q); del(7); del(17p); Cariótipo complexo; Cariótipo monossomal; TP53 mutado; Mutação em ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1 e/ou ZRSR2

**Fonte:** Adaptado de: DÖHNER *et al.*, 2022; SHIMONY; STAHL; PEDRA, 2023.

### 3.3. Caracterização estrutural das proteínas AURKA, AURKB e PLK1

O ciclo celular compreende uma ampla gama de eventos morfológicos e bioquímicos que atuam no controle do funcionamento de uma célula até que ela gere suas células-filhas, em que para isso ela precisa transferir para a sua nova geração todas as informações biológicas com o máximo de veracidade e fidelidade (COFFMAN, 2004; LEVY *et al.*, 2011; PETRY, 2016). Desta forma, o ciclo celular

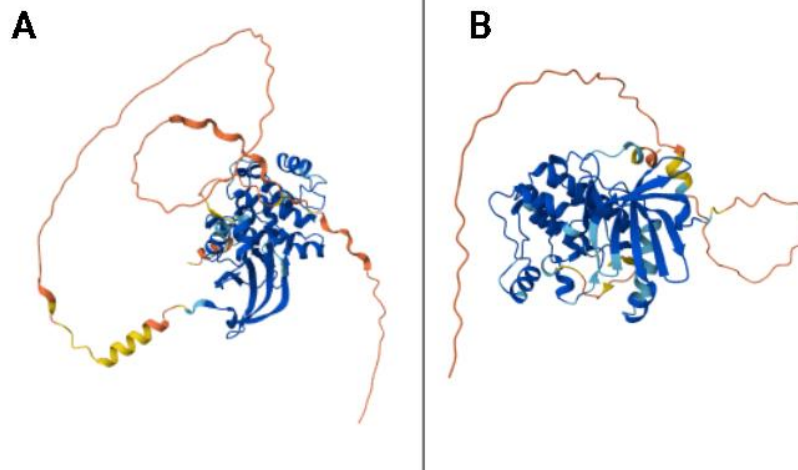
possui grande relevância na manutenção genômica, na identificação e reparo de danos ao DNA e por atuar no controle da proliferação das células de diferentes tecidos (HANAHAN; WEINBERG, 2011; MACHADO *et al.*, 2021; HANAHAN, 2022).

O controle dos eventos atrelados ao ciclo celular é influenciado por diversas moléculas, especialmente as de origens proteicas e enzimáticas, que modulam o início do ciclo, bem como a progressão celular dentro dele (LEVY *et al.*, 2011; GOLDBERG, 2018).

A Aurora quinase (AURK) é uma família de proteínas quinases com importante atuação na modulação dos processos de divisão celular, nas quais podem ser de três tipos: AURKA, AURKB e AURKC. As duas primeiras podendo ser encontradas em vários tipos celulares atuando nos mecanismos de mitose e meiose, enquanto que AURKC se limita às células gaméticas, sendo, portanto, mais relevante na regulação meiótica (NGUYEN; SCHIDLER, 2018; MACHADO *et al.*, 2021).

As proteínas AURKA e AURKB, possuem alta homologia em diferentes espécies e são compostas por 403 e 344 aminoácidos, respectivamente. Além disso, ambas possuem três domínios: um domínio C-terminal, um domínio quinase proteico e um N-terminal. Este último possui pouca similaridade de sequência entre essas quinases e fornece a cada uma delas atividades únicas e lhes promovendo a capacidade de interação com proteínas específicas para funcionalidades distintas (GOLDENSON; CRISPINO, 2015).

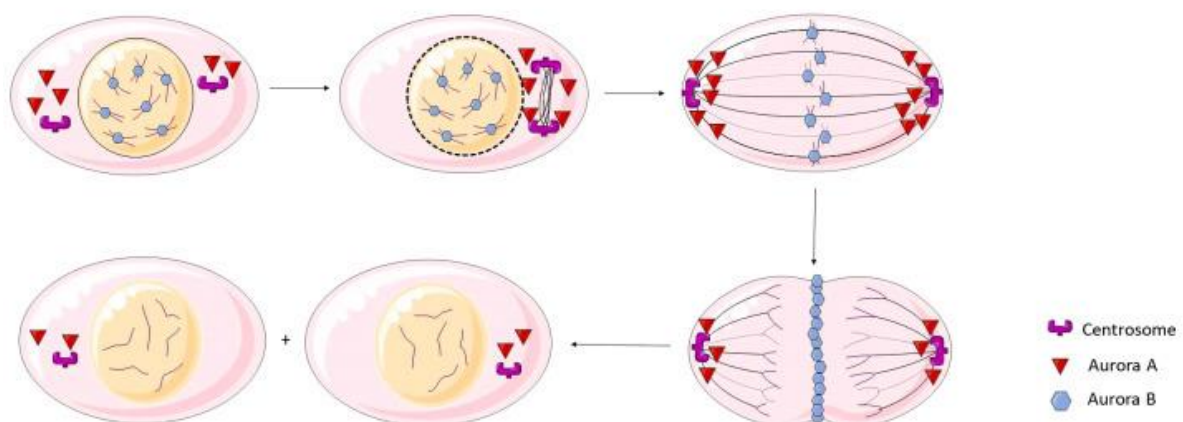
A regulação da atividade das AURKs ocorre de diferentes maneiras. Um importante mecanismo envolve a fosforilação de resíduos conservados de treonina, denominado de resíduo de alça T, que se localiza dentro da região catalítica dessas enzimas. Essa modificação é indispensável para a ativação da AURK e acontece por meio de autofosforilações através de agrupamentos com outras moléculas quinases. Essa fosforilação ocorre especificamente nos resíduos Thr288 da Aurora A e Thr232 da Aurora B (**Figura 2**) (GOLDENSON; CRISPINO, 2015).

**Figura 2:** Estrutura das proteínas Aurora Quinases

**Legenda:** A: Representação ilustrativa da estrutura da proteína Aurora Quinase A (disponível em: <https://alphafold.ebi.ac.uk/entry/O14965>); B: Estrutura da proteína Aurora quinase B (disponível em: <https://alphafold.ebi.ac.uk/entry/Q96GD4>).

**Fonte:** AlphaFold, 2025.

A AURKA é uma molécula-chave para o ciclo celular, em que ao longo do ciclo ela pode ser encontrada nas regiões centrossomais e/ou no fuso mitótico. De um modo geral, seus níveis são reduzidos durante a fase G1/S do ciclo celular, mas se elevam no decorrer da fase G2 e possuem seu pico na fase M (GOLDENSON; CRISPINO, 2015). Já a AURKB aumenta os seus níveis logo após a elevação de AURKA, localizando-se na região cromossômica durante a etapa da metáfase, auxiliando no alinhamento cromossômico, mas também na zona média do fuso mitótico durante a anáfase e participando da citocinese (**Figura 3**) (GOLDENSON; CRISPINO, 2015; NGUYEN; SCHINDLER, 2018).

**Figura 3:** Localizações das Auroras Quinases ao longo do ciclo celular

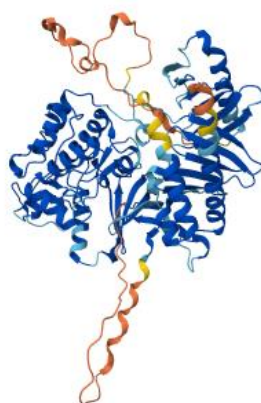
**Legenda:** Ao longo do ciclo celular a AURKA (Aurora quinase A) pode se localizar no centrossomo durante as fases S/G2 até o período da telófase da mitose, porém, durante o período mitótico, ela se localiza no fuso mitótico. A AURKB (Aurora quinase B), outra AURK que também atua no ciclo celular,

localiza-se na região dos cinetócoros e centrômeros durante a prófase até a metáfase, para em seguida ser encaminhada para as proximidades do sulco de clivagem na citocinese.

**Fonte:** MACHADO *et al.*, 2021.

Outra quinase importante para o ciclo celular é a Polo like kinase 1 (PLK1), uma serina/treonina quinase que é uma das cinco proteínas integrantes da família de PLK. É uma proteína que possui uma cadeia polipeptídica formada por 603 aminoácidos e possui dois domínios funcionais. Um deles é o domínio quinase N-terminal com maior especificidade para resíduos de serina/treonina, em que contém uma região denominada T-loop (também conhecida como loop de ativação) que, quando fosforilado, promover a ativação de seu domínio quinase. O segundo é um domínio regulatório C-terminal, conhecido como Domínio Polo-box (PBD) (Figura 4) (GOROSHCHUK *et al.*, 2018; SHAKEEL *et al.*, 2020).

**Figura 4:** Estrutura da proteína PLK1



**Legenda:** Imagem com representação ilustrativa da estrutura da proteína Polo Like Kinase 1 (PLK1), disponível em: <https://alphafold.ebi.ac.uk/entry/P53350>.

**Fonte:** AlphaFold, 2025.

A localidade de PLK1, assim das AURKs, variam a depender a sua demanda funcional ao longo do ciclo celular. Durante a interfase, essa quinase encontra-se dispersa no citoplasma e em regiões próximas aos centrômeros, porém, à medida que as células iniciam a divisão celular, podem ser detectados tanto nas regiões polares do fuso mitótico, quanto na região do cinetócoro, devido aos processos de condensação cromossômica em que participam dos alinhamento dos cromossomos na placa metafásica. Por fim, durante as etapas da citocinese, a PLK1 pode ser encontrada na região da ponte de interconexão citoplasmática, também denominada de ponte citocinética (GOROSHCHUK *et al.*, 2018; CÁRCER, 2019).

### 3.4. Caracterização da Via AURKA/PLK1

Para que AURKA seja ativada é necessária uma autofosforilação no seu resíduo conservado de treonina em seu seguimento de ativação, que acarreta em modificações no seu sítio ativo. Para isso, ela conta ainda com a interação e fosforilação de outras proteínas, dentre elas podemos Proteína LIM AJUBA (AJUBA), que promove um loop de feedback positivo (CARVALHAL *et al.*, 2015; YAN *et al.*, 2016; MACHADO *et al.*, 2021).

Entre a fase S tardia e a prometáfase, período esse que antecede a formação do fuso bipolar, a AURKA localiza-se nos centrossomos, onde desempenha um papel essencial na sua maturação e estabilização, além de participar ativamente do recrutamento da matriz pericentriolar (CARVALHAL *et al.*, 2015; YAN *et al.*, 2016; VANHEESBEEN *et al.*, 2017; JOUKOV; WALTER; NICOLO, 2018; MACHADO *et al.*, 2021).

À medida que a célula progride para a fase M, a AURKA se redistribui ao longo dos microtúbulos, contribuindo diretamente para a formação do fuso bipolar, o controle dos pontos de checagem do fuso e o alinhamento e estabilização dos cromossomos. Além disso, exerce um papel importante nas etapas finais da mitose, auxiliando no início da citocinese (CARVALHAL *et al.*, 2015; YAN *et al.*, 2016; VANHEESBEEN *et al.*, 2017; JOUKOV; NICOLO, 2018; MACHADO *et al.*, 2021).

No que se refere a ação centrossomal de AURKA, além da necessidade de ocorrência de autofosforilação, a atividade dessa proteína também irá requerer a ação de moduladores alostéricos, como é o caso da proteína Proteína centrossomal 192 (Cep192). Vale salientar que Cep192 não gera a ativação direta de AURKA. Isto, pois tal molécula irá promover uma oligomerização de AURKA, fazendo com que haja uma maior concentração da mesma no centrossomo, resultando em uma maior estimulação da sua autofosforilação (JOUKOV;WALTER; NICOLO, 2018; ASTERITE; MATTIA; GUARGUAGLINI, 2015; NICOLO, 2014; PARK *et al.*, 2023).

Além disso, a AURKA na região dos centrossomos, promove a fosforilação e ativação do Grande supressor de tumor cinase 2 (LATS2) para promover o recrutamento de moléculas de  $\gamma$ -tubulina para os processos de nucleação dos microtúbulos e a formação do fuso mitótico (WANG; JIANG; ZHANG, 2014; WILLEMS *et al.*, 2018; MACHADO *et al.*, 2021).

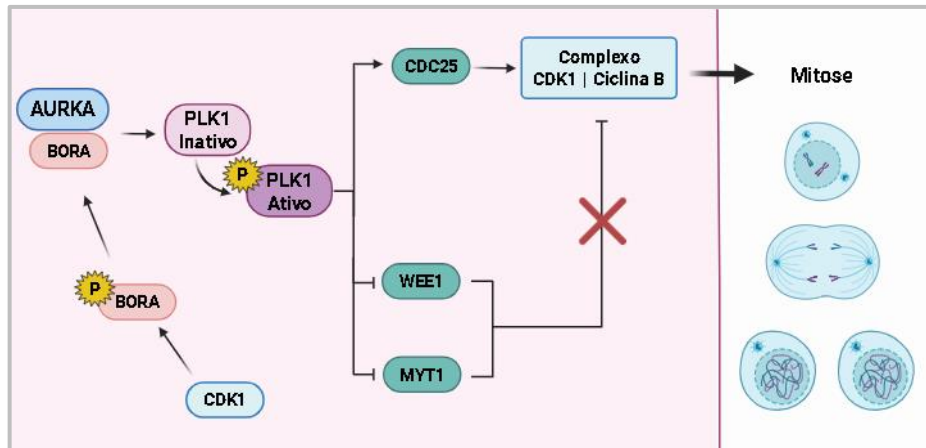
Outro modulador importante de AURKA é o Fator de nucleação de microtúbulo TPX2 (TPX2), uma proteína que se localiza na região das extremidades polares dos microtúbulos do fuso mitótico e que é modulada pela GTPase RAN. Sua ação começa entre as fases S e G2 do ciclo celular, de modo a auxiliar nos mecanismos iniciais da mitose, sofrendo degradação proteossomal no final da divisão celular. Deste modo, TPX2 auxiliando AURKA, estabiliza os microtúbulos e regula a montagem do fuso mitótico, mas também promove a inibição da atividade de Proteína fosfatase 1 (PP1) impedindo sua habilidade de desfosforilação (ASTERITE; MATTIA; GUARGUAGLINI, 2015; TSUCHIYA *et al.*, 2020; NASO *et al.*, 2020; MACHADO *et al.*, 2021; TAVERNIER; SICHERI; PINTARDI, 2021; ASTERITI *et al.*, 2023).

Um importante mecanismo atrelado a AURKA diz respeito a sua capacidade de ativar PLK1, através de reações de fosforilações no seu domínio T-loop, especialmente do resíduo Thr-210, no qual necessita do coativador Ativador BORA aurora quinase A, também conhecido como Proteína aurora boreal (BORA) (BRUINSMA *et al.*, 2014; ASTERITE; MATTIA; GUARGUAGLINI, 2015; PARRILHA *et al.*, 2016; SHAKEEL *et al.*, 2020; KALOUS; ALESHKINA, 2023).

Uma vez que PLK1 é ativada, ela estimular o início da mitose modulando o complexo formado por Quinase dependente de ciclina 1(CDK1) e Ciclina B, através do controle de reguladores negativos, tais como Quinase WEE1 de pontos de verificação G2 (WEE1) e Fator de transcrição de mielina 1 (MYT1) que atuam inibição por fosforilação de CDK1, mas também age sobre regulares positivos, como a fosfatase Ciclo de divisão celular 25 (CDC25), que desfosforila CDK1 para possibilitar a sua ativação e na posterior formação do seu complexo com a Ciclina B que atuem na transição entre as fases G2 e M (JOUKOV;WALTER; NICOLO, 2018; MA; POON, 2020; TAVERNIER; SICHERI; PINTARDI, 2021).

A CDK1 também pode realizar a fosforilação de BORA, para que esta estimule ainda mais a ativação de PLK1 por AURKA. Além disso, CDK1 pode modular a localização subcelular de PLK1, em que auxilia no direcionamento dos seus substratos (**Figura 5**) (BRUINSMA *et al.*, 2013; ASTERITE; MATTIA; GUARGUAGLINI, 2015; PARRILHA *et al.*, 2016).

**Figura 5:** Representação da influência da via AURKA/PLK1 no início da mitose



**Legenda:** A Aurora quinase A (AURKA) atua em conjunto com a proteína Proteína aurora boreal (BORA) para promover a ativação de Polo like kinase 1 (PLK1) por intermédio de reações de fosforilações (representado na figura pela letra “P”). Uma vez que PLK1 está ativada, ela atuará impedindo a ação de reguladores negativos da transição das fases G2/M, tais como Quinase de pontos de verificação (WEE1) e Fator de transcrição de mielina 1 (MYT1), podendo, inclusive, estimular a degradação por ubiquitinação de tais moléculas, pois elas promovem a inibição por fosforilação de Quinase dependente de ciclina 1 (CDK1). Além de modular moléculas reguladoras negativas da via, PLK1 também atuará na ativação de componentes reguladores positivos da mitose, sendo um dos principais o Ciclo de divisão celular 25 (CDC25). O CDC25 atuará, portanto, na desfosforilação de CDK1 para que esta possa prosseguir no desencadeamento da mitose por possibilitar que ela forme um complexo com Ciclina B. Vale ainda salientar, que CDK1 também tem a capacidade de fosforilar BORA, para estimular ainda mais a sua ação na ativação de PLK1.

**Fonte:** Elaborada pelo autor, 2025.

Uma vez que a célula entra em mitose, a proteína BORA sofre degradação proteossomal por intermédio de PLK1, porém, essa degradação é limitada, mantendo-a em níveis residuais para que possa sustentar a atividade de PLK1 durante a mitose (BRUINSMA *et al.*, 2013; PARRILHA *et al.*, 2016).

Além disso, PLK1 na sua forma ativa também participará de processos associados a montagem e maturação do centrossomo através de fosforilações das proteínas dos centríolos e alguns fatores de nucleação, por exemplo, a proteína centrossomal Kizuna,  $\gamma$ -tubulina, pericentrina, entre outras. A PLK1 também pode influenciar na quebra do envelope nuclear, na maturação do cinetócoro, na estabilização dos microtúbulos, na formação do fuso mitótico, segregação cromossômica e também auxilia na degradação de Emi1 (também conhecido como FBXO5, Proteína F-box 5) que é um inibidor do Complexo promotor de anáfase/ciclossomo (APC/C) possibilitando a saída da fase M para que se inicie a citocinese (KIM, 2022; KALOUS; ALESHKINA, 2023).

### 3.5. Caracterização das proteínas AURKB

Para que ocorra a ativação de AURKB é necessária à sua ligação à região IN-box da proteína interna do centrômero (INCENP), que promove a ativação da sua atividade quinase, ao menos parcialmente. Essa interação possibilita ainda a fosforilação dos motivos conservados de treonina-serina-serina (TSS) na própria INCENP, mas também do domínio T-loop da AURKB no resíduo Thr232, o que leva à ativação total da quinase (CARMENA *et al.*, 2012; GOHARD *et al.*, 2014).

Semelhante à isoforma AURKA, a AURKB possui funções cruciais na regulação do ciclo celular e na condução dos processos de divisão celular. Para isso, associa-se ao Complexo Cromossômico Passageiro (CPC), formado por AURKB, INCENP, Borealina e Survivina. Além disso, a ocorrência de ativação de AURKB depende da concentração local de complexo CPC, sendo estimulado por sua associação a cromatina ou aos microtúbulos (VADER *et al.*, 2005; JEYAPRAKASH *et al.*, 2007; CARMENA *et al.*, 2012; GOLDENSON; CRISPINO, 2015; MACHADO *et al.*, 2021).

A atuação desse complexo é indispensável para garantir eventos-chave durante a mitose, como a condensação dos cromossomos, a segregação adequada das cromátides-irmãs e a finalização da divisão celular por meio da citocinese (VADER *et al.*, 2005; JEYAPRAKASH *et al.*, 2007; GOLDENSON; CRISPINO, 2015; MACHADO *et al.*, 2021).

A proteína do ponto de verificação quinase 1 (CHK1), conhecida por sua atuação na resposta a danos ao DNA, também contribui para que AURKB assuma sua forma ativa, principalmente durante a prometáfase, através da fosforilação de seu resíduo Ser311. Esse processo promove a regulação espacial da AURKB, permitindo sua atuação nas regiões adjacentes aos cinetócoros (PETSALAKI *et al.*, 2011; CARMENA *et al.*, 2012).

Uma importante função associada a AURKB diz respeito ao seu papel na condensação de heterocromatina pericentromérica e na formação adequada dos cromossomos, que se deve, principalmente, a sua capacidade de fosforilar as proteínas histônicas H3. Tal fosforilação ocorre durante as fases G2 e M, em pelo

menos dois resíduos de serina da histona H3, sendo eles Ser10 e Ser28 (CROSIO *et al.*, 2002; GOTO *et al.*, 2002; LI; DONG; ZHU, 2017; MACHADO *et al.*, 2021).

Na prófase, ocorre o recrutamento de AURKB para as regiões centroméricas. Para isso a proteína do ponto de verificação mitótico BUB1 serina/treonina quinase (BUB1) fosforila inicialmente as histonas H2A para gerar um acúmulo de AURKB e sua posterior ancoragem ao cinetócoro. Em seguida, a quinase Haspin fosforila a histona H3, promovendo o deslocamento de AURKB para o centrômero interno, onde se mantém ao longo da prófase (MACHADO *et al.*, 2021).

A estabilização da ligação entre o cinetócoro e os microtúbulos nas fases iniciais da mitose, também podem ser influenciadas por AURKB, em que para que isso aconteça ela promove a fosforilação de componentes de um complexo proteico composto pela proteína nula do cinetócoro 1 (KNL1), Mis-segregation 12 (MIS12) e ciclo de divisão nuclear 80 (NDC80), também denominado de rede KMN, que atua na modulação das interações entre cinetócoro e microtúbulo (CHAN *et al.*, 2012; MACHADO *et al.*, 2021; YATSKEVICH *et al.*, 2024).

Porém, em casos de ligações defeituosas e/ou incorretas dos microtúbulos do fuso mitótico ao cinetócoro, a AURKB contribui atuando em pontos de verificações do fuso ao fosforilar a proteína Cinesina associada ao centrômero mitótico (MCAK). Esse processo direciona a MCAK para os cinetócoros, onde ela atua na correção dessas ligações incorretas, bem como impedindo defeitos na segregação de cromátides-irmãs (GOLDENSON; CRISPINO, 2014).

Por fim, AURKB exerce funções essenciais na citocinese, sendo inicialmente realocada dos centrômeros internos para a zona média do fuso devido a atividade da cinesina MKLP2, também denominada de KIF20A, e interagindo posteriormente com as cinesinas KIF4A e KIF2A para promover o agrupamento de microtúbulos e a formação do fuso central, garantindo a correta formação do sulco de clivagem. Outro mecanismo adotado por AURKB para auxiliar na citocinese envolve a fosforilação da proteína ativadora da GTPase Rac 1 (MgcRacGAP), também conhecida como RACGAP1, que é uma proteína ativadora de GTPase, que, ao ser fosforilada, estimula a atividade da membro da família homóloga Ras A (RHOA), promovendo a contração do anel contrátil e a finalização eficiente da divisão celular (GOLDENSON; CRISPINO, 2014; MACHADO *et al.*, 2021).

### 3.6. Associação das proteínas AURKA, AURKB e PLK1 com a carcinogênese

Como mencionado anteriormente, AURKA e AURKB são duas quinases de extrema relevância para o ciclo e a divisão celular. Portanto, alterações funcionais ou nos seus níveis de expressão, podem levar ao desencadeamento de neoplasias devido a comprometimentos na divisão celular, especialmente nas etapas de segregação cromossômica, pontos de controle mitótico, aneuploidias e instabilidade genômica (GOLDENSON; CRISPINO, 2015; MACHADO *et al.*, 2020).

Estudos com culturas de células neoplásicas apontaram que a hiperexpressão de AURKA associava-se a falhas na progressão mitótica e divisão celular, sendo esta última relacionada, principalmente, a mitoses abortivas. Como consequência, observou-se a formação de células multinucleadas, com aumento no número de centrosomos e ocorrência de tetraploidização (MERALDI; HONDA; NIGG, 2002).

Em um estudo realizado para investigar as consequências da hiperexpressão de AURKA em culturas celulares, foi observado um comprometimento no alinhamento cromossômico na placa metafásica, mesmo diante da formação de fusos bipolares. Ademais, os cromossomos apresentaram atrasos na dinâmica do ciclo celular e ligações ineficazes aos microtúbulos, principalmente devido a falhas na montagem do fuso mitótico. Consequentemente, ocorreram falhas nas segregações cromossômicas com distribuição desigual dos cromossomos entre as células-filhas, com formação de fusos tripolares e tetrapolares e o surgimento de aneuploidias. Além disso, foram apontados defeitos nos pontos de checagem do fuso, que permitiram a continuidade do ciclo celular, mesmo diante de anormalidades mitóticas (ANAND; PENRHYNLOWE; VENKITARAMAN, 2002).

Em um estudo acerca da presença de AURKA e AURKB em amostras de pacientes com LMA, foi observado que ambas as proteínas tiveram elevados índices de expressão nas amostras que continham anormalidades citogenéticas desfavoráveis. Além disso, também ressaltaram que os pacientes que possuíam aumento da expressão de AURKA e AURKB também possuíam números de leucócitos mais elevados (LUCENA-ARAÚJO *et al.*, 2011).

Poulard *et al.* (2019) em seus estudos com pacientes com LLA-B, identificaram uma hiperexpressão de AURKB e a associaram a maiores casos de

recidiva dessa patologia. Além disso, relataram que essa quinase tem a capacidade de promover a resistência aos tratamentos com glicocorticoides ao promover a fosforilação de histona lisina metiltransferase eucariótica 1 e 2 (EHMT1 e EHMT2), que são moléculas proteicas que, juntamente com Chromobox 3 (CBX3), formam um complexo que é essencial para ação efetiva de glicocorticoides. Ao testarem a inibição de AURKB, notaram um aumento da morte celular e do potencial citotóxico desses medicamentos.

Tratando-se de PLK1, sua superexpressão tem se mostrado presente em diversas neoplasias devido sua relação com o aumento proliferativo celular, bem como o controle do ciclo celular. Ademais, são comumente associados a piores prognósticos a depender do tipo de câncer (GOROSHCHUK *et al.*, 2019; CÁRCER, 2019).

Estudos realizados com células de LMA para verificar os índices de expressão de PLK1, não apenas descobriram que ela é hiperexpressa na LMA, como que ela também influencia na capacidade proliferativa desses tipos celulares e, ao realizarem experimentos com a inibição da PLK1, observaram uma redução do potencial clonogênico das células leucêmicas e de células progenitoras hematopoiéticas primárias, havendo, portanto, uma interferência na capacidade reprodutiva das células (RENNER *et al.*, 2009). Wang *et al.* (2015) também observaram índices elevados de expressão de PLK1 em suas pesquisas com células de LMA humanas, identificando ainda uma elevada expressão de PLK1 em células de pacientes pediátricos com LMA.

Vale ainda salientar que diversos mecanismos associados a PLK1 também podem implicar no desencadeamento tumoral. Dentre eles, podemos destacar a modulação de fatores de transcrição, tais como Forkhead box M1 (FOXM1), Fator de transcrição 3 (E2F), p53 e Fator de transcrição MYC (MYC), bem como a inativação de genes supressores tumorais (WEE1, Emi1 e PTEN, entre outros) e a relação com a sua participação em diferentes vias oncogênicas (CÁRCER, 2019).

Estudos com cultura de células neoplásicas demonstraram que p53 pode regular a expressão de PLK1, estabelecendo uma relação inversamente proporcional entre essas moléculas. No entanto, a presença de E2F é capaz de reverter a regulação negativa gerada por p53, uma vez que a região promotora de PLK1 contém sítios específicos de ligação para E2F. Dessa forma, E2F favorece a ativação transcricional de PLK1, estimulando sua superexpressão (ZHOU *et al.*, 2013).

Mancini *et al.* (2019) em pesquisas com células de LMC *BCR::ABL1+*, relataram o aumento da expressão de AURKA, PLK1 e FOXM1 e que esses elementos formam um complexo que gera a resistência ao tratamento com Imatinibe. Já Yu *et al.* (2022) comprovaram que tanto PLK1 quanto FOXM1 apresentam expressão aumentada em casos de linfoma difuso de grandes células B, nos quais estão diretamente associados com a regulação da mitose e na resposta a danos ao DNA. O bloqueio da atividade dessas proteínas foi capaz de induzir uma parada do ciclo celular, na fase G2/M, mediante controle negativo de CDK1 e Ciclina B1.

Kim *et al.* (2013) ao realizarem estudos com células leucêmicas, identificaram aumentos na expressão de PLK1, bem como de Fator de transcrição Twist-1 (Twist1), em que esse aumento está relacionado à hiperexpressão e à maior atividade do receptor neurotrófico tirosina quinase 3 (TRKC) que por sua vez promove um aumento da ativação da via PI3K/AKT/mTOR. Como consequência, foi observado um aumento proliferativo e na sobrevivência das células leucêmicas.

### **3.7. Uso de inibidores farmacológicos como tratamentos de leucemias**

Os tratamentos oncológicos convencionais têm se mostrado cada vez menos eficazes no combate às leucemias, uma vez que fazem uso de terapias com elevadas taxas de toxicidades e especificidades reduzidas. Com o avanço biotecnológico tornou-se possível a obtenção de informações mais minuciosa sobre os fundamentos moleculares atrelados a LMA, bem como a descoberta e desenvolvimento de medicamentos com abordagem e direcionamento a moléculas-alvo pertencentes a vias de sinalizações celulares (MACHADO *et al.*, 2021; LIU *et al.*, 2020; PADMAKUMAR *et al.*, 2021).

O desenvolvimento e aplicabilidade de inibidores moleculares como medidas terapêuticas tem se mostrado uma alternativa promissora, não apenas por serem formas de personalizações terapêuticas, mas também por visarem melhorias prognósticas e a promoção de uma melhor qualidade de vida aos pacientes (MACHADO *et al.*, 2021; LIU *et al.*, 2020; PADMAKUMAR *et al.*, 2021).

### **3.7.1. Inibidores de AURKA e AURKB**

Atualmente existem muitos estudos em busca do desenvolvimento de inibidores de auroras quinases (AURK), nos quais encontram-se em fases pré-clínicas e clínicas para verificar a eficácia antineoplásica e os efeitos gerados por essas substâncias (GOLDENSON; CRISPINO, 2015).

Um dos mais populares é o Alisertib, que se trata de um inibidor seletivo de AURKA e atua impedindo a progressão mitótica, em que para isso ele promove a ativação dos *checkpoints* da mitose, deformidades na divisão celular, impede a formação do fuso bipolar e induz a morte celular (FATHI *et al.*, 2017; LIEWER; HUDDLESTON, 2018; BRUNNER *et al.*, 2020).

Outro importante inibidor é o Barasertib. Tal medicamento trata-se de um inibidor seletivo de AURKB que atua de modo competitivo pelos sítios de ligação de moléculas de Adenosina trifosfato (ATP) nessa quinase. Como consequência a sua utilização, são observadas reduções da proliferação celular, ocorrências de aneuploidias e aumento da morte celular por apoptose em células neoplásicas (BORAH; REDDY, 2021).

O VX-680, também chamado de Tozasertib, se trata de um inibidor pan de AURK, estudado para o tratamento de anormalidades hematológicas, uma vez que promove bloqueios do ciclo celular, impede a formação do fuso bipolar, promove a apoptose, induz ativação de caspases, aumenta níveis do fator pró-apoptótico BAX, diminui os níveis da proteína anti-apoptótica BCL2 (BCL2), entre outras funcionalidades (HUANG *et al.*, 2008; HOFMANS *et al.*, 2018).

Outro medicamento que cujas propriedades estão sendo analisadas é o Radotinib, comumente atrelado a casos de LMC devido a sua capacidade de inativação de *BCR::ABL1*, possuindo, inclusive aprovação na Coreia do Sul como tratamento de segunda linha para LMC em fase crônica (KIN *et al.*, 2014; ESKAZANE; KESKIN, 2017). Apesar disso, descobriu-se que esse medicamento possui efeitos anti-leucêmicos em casos de LMA, devido ser capaz de suprimir a atividade de AURK, especialmente a AURKA, como demonstrado nos estudos de Heo *et al.* (2019). Eles relataram ainda que Radotinib foi capaz de reduzir a viabilidades e a proliferação das

células de LMA, bem como reduzir os níveis das proteínas BCL-xL, BCL-2, Ciclina B1, CDK1 e  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ - tubulina e aumentar as taxas de morte celular.

Entre outros inibidores das AURK que estão sendo investigados quanto às suas efetividades e seguranças, podemos ainda citar o MLN8054, PF-03814735, AT9283, AS703569 (também chamado de Cenisertib), entre outros GOLDENSON; CRISPINO, 2015).

### **3.7.2. Inibidores de PLK1**

Tratando-se de inibidores de PLK1, estes também estão em estados de teste pré-clínicos e clínicos. Entre mecanismos de ação dos inibidores de PLK1 há os que atuam como competitivos pelos sítios de ATP, os inibidores do domínio PBD de PLK1 e as terapias baseadas em Ácido ribonucleico de interferência (RNAi) direcionadas para o mRNA de PLK1 (GOROSHCHUK *et al.*, 2019).

O BI2536 é um inibidor seletivo de PLK1, no qual é derivado da di-hidropteridinona e age na competição pelos sítios de ligação de ATP na enzima. Possui capacidade de promover a parada do ciclo celular, influenciar na formação de fusos mitóticos anormais, retardar o crescimento tumoral ao impedir a proliferação celular neoplásica e promove a indução da apoptose. (WÄSCH *et al.*, 2009; BRANDWEIN, 2015; MÜNCH *et al.*, 2015; CHENG *et al.*, 2018; GOROSHCHUK *et al.*, 2019; LIN *et al.*, 2023).

Outro inibidor competitivo pelos sítios de ATP em PLK1, que também é derivado da di-hidropteridinona, é o Volasertib. Suas atividades antineoplásicas estão associadas principalmente a retardos do crescimento tumoral, parada do ciclo celular e subsequente indução da apoptose. Vale salientar que esse medicamento possui uma especificidade questionável, pois também pode afetar outros membros da família de PLK, como é o caso de PLK2 e 3 (HAO; KITA, 2015; BRANDWEIN, 2015; GOROSHCHUK *et al.*, 2019).

Poloxina é um inibidor que atua diretamente nas regiões PBD da PLK1 e, como consequência, são observadas reduções da proliferação celular, defeitos na integridade dos centrossomal, falhas no alinhamento cromossômico ao longo da divisão celular, parada do ciclo celular na etapa da prometáfase devido a ativações

dos pontos de checagem do fuso mitótico e a indução da apoptose (YUAN *et al.*, 2011; GOROSHCHUK *et al.*, 2019).

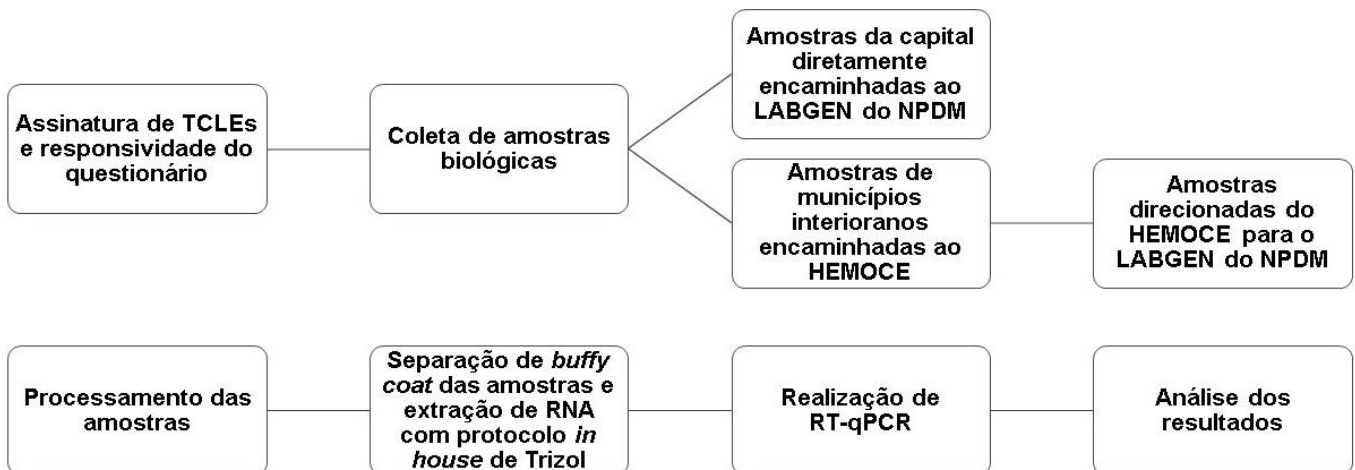
Há ainda outros inibidores de PLK1 nos quais também se encontram em fases de testes quanto a sua eficácia, em que podemos citar o Rigosertib, GSK461364, NMS-P937, entre outros (BRANDWEIN, 2015; GOROSHCHUK *et al.*, 2019).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Desenho experimental

O fluxograma da realização do projeto é descrito na figura abaixo (**Figura 6**) e se divide em dois momentos. O primeiro diz respeito ao momento de introdução dos pacientes no estudo e a segunda tratando-se do processamento das amostras.

**Figura 6:** Fluxograma do delineamento experimental proposto



### 4.2. Tipo de estudo

O projeto de pesquisa trata-se de um estudo clínico prospectivo analítico e observacional, no qual envolve formação de coorte de indivíduos adultos com diagnóstico de LMA. O acompanhamento da coorte foi realizado antes, durante e após o diagnóstico, sendo realizada regularmente conforme os protocolos de seguimento dos centros participantes desse estudo. Tal acompanhamento possui extrema relevância para a possibilidade de realizarmos a análise de sobrevida dos participantes do estudo.

### 4.3. Locais de realizações do estudo e os aspectos éticos

As coletas as amostras foram realizadas em hospitais cearenses, sendo eles o Hospital Geral de Fortaleza (HGF) e Hospital Geral Dr. César Cals (HGCC), ambos localizados em Fortaleza, e no Hospital e Maternidade São Vicente de Paulo (HMSVP) situado no município de Barbalha. As amostras obtidas do HMSVP foram devidamente acondicionadas e transportadas mediante colaboração do Centro de Hematologia e

Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), as trazendo para Fortaleza; local de realização dos experimentos.

As análises moleculares das amostras foram realizadas no Laboratório de Genética Clínica (LABGEN) do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

O projeto de pesquisa, bem como os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foram submetidos à apreciação dos comitês de éticas dos hospitais envolvidos no projeto e que consideraram a aprovação sob os números de parecer:

- Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Geral de Fortaleza (ANEXO 1):
  - CAAE: 38680520.9.3001.5040
  - Número do Parecer: 4.798.575
- Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Geral Dr. César Cals (ANEXO 2):
  - CAAE: 38680520.9.3002.5041
  - Número do Parecer: 5.823.921
- Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará (ANEXO 3):
  - CAAE: 38680520.9.0000.5054
  - Número do Parecer: 4.339.719

Os TCLEs utilizados nos hospitais (Anexo 4), foram assinados por cada participante do estudo ou seus representantes legais antes dos demais procedimentos. Posteriormente, aplicou-se um questionário (ANEXO 5) pela equipe de saúde treinada e/ou equipe de pesquisadores, recolhendo-se dados pessoais, bem como as demais informações clínicas dos participantes, que fossem relevantes para o estudo, tais como a presença ou ausência dos principais sinais e sintomas relacionados à LMA. Somente após a realização da coleta de dados que ocorrerá as coletas das amostras biológicas de sangue periférico (SP) e medula óssea (MO).

Todas as diretrizes de Biossegurança e de Boas Práticas Laboratoriais foram aplicadas aos hospitais e laboratórios de realização do projeto de pesquisa.

#### **4.4. Coleta das amostras**

Foram coletadas amostras de todos os pacientes com suspeitas diagnósticas de LMA que deram entrada nos centros de atendimentos hospitalares cearenses que colaboraram com o estudo durante o período de julho de 2021 a agosto de 2024. Foram adquiridas cerca de 5 mL de amostras de SP através de punção venosa em tubos de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), mas também, quando possível, foram coletados cerca de 1 mL de amostras de MO durante o momento do exame diagnóstico.

As amostras foram devidamente acondicionadas e encaminhadas para o LABGEN no NPDM, onde realizamos os processamentos das mesmas. Também foram coletados dados clínicos presentes nos prontuários de cada paciente, tais como idade, sexo, exames laboratoriais, sintomatologias, entre outras informações que se apresentassem relevantes para o estudo.

Vale ressaltar que as amostras, bem como os dados clínico-laboratoriais dos participantes do estudo, foram realizadas anteriormente ao início de seus tratamentos, de modo a evitar a ocorrência de interferências farmacológicas nos resultados desta pesquisa.

#### **4.5. Critérios de elegibilidade**

##### ***4.5.1. Critérios de inclusão***

Foram incluídas neste projeto de pesquisa as amostras de indivíduos cearenses adultos ( $\geq 18$  anos), do sexo masculino e feminino e que possuíssem confirmação diagnóstica de LMA.

Além disso, os participantes do estudo deviam estar de acordo com as requisições estabelecidas para o projeto e nos casos de aceitação para a inclusão no estudo, confirmaram participação mediante assinatura do TCLE.

#### **4.5.2. Critérios de exclusão**

Foram excluídas amostras de indivíduos com idades inferiores a 18 anos, originários e habitantes de outros estados que não seja o Ceará e que possuem diagnósticos clínicos e laboratoriais excludentes para LMA.

Foram excluídas do estudo os indivíduos nas quais não foi possível a obtenção os dois tipos amostrais (SP e MO), uma vez que para esta análise tínhamos o intuito de realizar testes pareados em relação a esses dois sítios anatômicos.

Além disso, caso algum participante apresentasse alguma outra condição que o pesquisador julgasse impeditiva para a sua continuidade no estudo ou que tais indivíduos e/ou seus representantes legais solicitaram mediante quaisquer motivos a sua retirada do estudo, o pesquisador realizou suas respectivas remoções da pesquisa.

#### **4.6. Classificação e estratificação de risco dos participantes do estudo**

As classificações de leucemias para fins diagnósticos dos pacientes participantes do estudo foram realizadas conforme os critérios mais recentes estabelecidos pela OMS. Já no que se refere a estratificação de risco dos indivíduos diagnosticados com LMA, estas foram baseadas nas diretrizes mais recentes do ELN. Tais diretrizes levam em consideração a ocorrência de alterações citogenéticas e moleculares e em seguida classifica cada pacientes em três subgrupos: risco favorável, intermediário e adverso (DÖHNER *et al.*, 2022; SHIMONY; STAHL; PEDRA, 2023).

Vale ainda salientar que os pacientes foram submetidos a estratificações clínico-epidemiológica a partir dos dados clínicos obtidos como, por exemplo, idade, sexo, resultados de hemogramas (contagem de leucócitos, níveis de hemoglobina, quantidade de plaquetas, percentuais de células blásticas etc.) e outros testes laboratoriais, localização geográfica, entre outros aspectos.

#### **4.7. Processamento das amostras**

##### **4.7.1. Extração de RNA**

Inicialmente, a camada leuco-plaquetária (*buffy coat*) das amostras foi separada a partir do processo de centrifugação, para posteriormente serem aliqüotadas 250 µL das mesmas em tubos *ependorff* e sem seguida foram realizadas as extrações de RNA através do protocolo *in house* de Trizol. Após a extração, o RNA obtido foi eluído com 20 µL de água ultrapura para que fosse possível realizar a determinação de sua concentração de material genético e pureza.

As concentrações de RNA foram determinadas por espectrofotometria através do equipamento *NanoDrop (Applied Biosystems®)*, com as leituras sendo efetuadas a 260 nm. A verificação da pureza dessas amostras foi realizada com base nas razões entre as densidades das absorbâncias que serão observadas a 260 e 280 nm.

#### **4.7.2. Transcrição reversa (RNA-cDNA)**

A Transcrição Reversa (RT) foi realizada a partir dos 20 µL da amostragem de RNA que foram extraídas para que fossem sintetizados os cDNA (DNA complementar) através do kit *High Capacity cDNA Reverse Transcriptase (Applied Biosystems®)*, seguindo as instruções do fabricante.

A conversão foi realizada por intermédio do equipamento *Veriti™ 96-Well Fast Thermal Cycler (Applied Biosystems®)*. A configuração das ciclagens que foram utilizadas pelo equipamento foram de 25°C por 10 minutos e 37°C por 120 minutos. Ao final, as amostras foram armazenadas em freezer cuja temperatura é de -20°C até que sejam utilizadas para realizar os processos de Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR).

### **4.8. Avaliação molecular**

#### **4.8.1. Reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) e detecção**

Para a realização qPCR foi utilizado o equipamento *QuantStudio 5 (Applied Biosystems®)* e o kit comercial *TaqMan Gene Expression Master Mix (Applied Biosystems®)* para a realização da detecção dos níveis de expressão gênica, cujas quantidades de reagentes estão descritas na **Tabela 1**.

**Tabela 1:** Reagentes utilizados na PCR em tempo real

Reagentes	$\mu\text{L}$
Água deionizada	3,5
Tampão (TaqMan® Gene Expression Master Mix	5
TaqMan® Gene Expression Assay	0,5
cDNA	1
<b>Volume Final</b>	<b>10</b>

Para analisar os níveis de expressões gênicas nos pacientes com LMA foram utilizadas sondas da *ThermoFisher™ Scientific*, dos genes AURKA (Hs01582072\_m1), AURKB (Hs00945858\_g1) e PLK1 (Hs00983227\_m1). Como controle endógeno foi utilizado o gene *ABL* (Hs01104728\_m1), sintetizado pela mesma empresa.

O protocolo de amplificação estabelece a configuração das ciclagens da seguinte forma: 50°C por 2 minutos, 95°C por 10 minutos e 50 ciclos de 95°C por 15 segundos e 60°C por 1 minuto.

Após a amplificação do cDNA ser realizada, os fragmentos adquiridos foram quantificados de modo relativo pela análise dos dados fluorescentes realizada pela versão 1.1 no equipamento *QuantStudio® 5 (Applied Biosystems®)*.

#### **4.8.2. Validação da expressão gênica por qPCR quantitativo**

Para que os níveis de expressão dos genes alvos fossem determinados, foram utilizados os graus de expressão dos genes endógenos nos processos de validação, que apresentam uma expressão constitutiva e que puderam ser aplicados como referências de expressão nas amostras testadas.

A quantificação dos fragmentos resultantes da qPCR se basearam no Ciclo de Quantificação (CQ), que se trata do primeiro ciclo de amplificação no qual a fluorescência sinaliza que os produtos adquiridos da qPCR puderam ser detectados. Além disso, o CQ é inversamente proporcional ao logaritmo do número de cópias iniciais (TYAGI *et al.*, 1998). Desta forma, para determinarmos a linha de corte das

expressões gênicas alteradas das células dos pacientes com LMA, também determinamos os valores de CQ em células de pessoas saudáveis.

Ao estabelecermos o CQ das amostras do estudo, o próximo passo foi a realização dos cálculos do nível das expressões e para isso utilizamos o Método CQ comparativo ou Método  $2^{-\Delta\Delta CQ}$ , em que com isso a expressão do gene de interesse foi relatada com relação ao gene de referência para cada amostra (SCHMITTGEN; LIVAK, 2008):

$$\text{Expressão do gene de interesse} = 2^{-\Delta\Delta CQ}$$

Onde  $\Delta CQ = (\text{CQ gene de interesse}) - (\text{CQ gene controle})$  para amostra em triplicata

$$\Delta\Delta CQ = (\Delta CQ \text{ gene de interesse}) - (\Delta CQ \text{ controle})$$

Para que a utilização do método  $2^{-\Delta\Delta CQ}$  seja validada, devemos considerar que a amplificação dos genes de interesse e dos controles internos são eficientes, além de deverem ser aproximadamente iguais (SCHMITTGEN; LIVAK, 2008). Além disso, para que as validações da técnica e dos valores de CQ fossem feitas, foram realizadas triplicatas de cada amostra analisada.

#### 4.9. Análise estatística

Foram utilizados os testes de *Chi-Quadrado* para a realização de análises comparativas com base nos dados das amostras que foram obtidos, assumindo um *p-valor* com nível de significância de 99% ( $p \leq 0,001$ ) e 95% ( $p \leq 0,05$ ) e para isso utilizaremos o programa *GraphPad Prism* (versão 9.4.1).

Os dados estatísticos para as análises das expressões das proteínas AURKA, AURKB e PLK1 foram fornecidos a partir da média  $\pm$  desvio padrão da média (EPM) dos grupos experimentais em triplicatas no resultado do estudo.

Parte das análises estatísticas foram realizadas no software *GraphPad Prism* (versão 9.4.1), adotando-se nível de significância de  $p < 0,05$ . Para comparar a expressão dos genes entre o grupo estudo e o controle, utilizou-se o teste t de Student para dados com distribuição normal e o teste de Mann-Whitney para dados sem distribuição normal. Nas comparações de dados pareados, aplicou-se o teste t pareado para distribuição normal e o teste de Wilcoxon para distribuição não normal.

Para três ou mais medidas relacionadas, utilizou-se o teste de Friedman, e, para três ou mais grupos independentes sem distribuição normal, o teste de Kruskal-Wallis.

Já as análises de correlação e de sobrevida, foram realizadas através do software *Jamovi 2.6.2.6*. As associações entre variáveis foram avaliadas por meio do teste de correlação de Spearman. As análises de sobrevida foram realizadas por meio da curva de Kaplan-Meier, com comparação entre os grupos utilizando o teste de Log-rank. Além disso, a influência de variáveis na sobrevida foi avaliada por meio da Regressão de Cox.

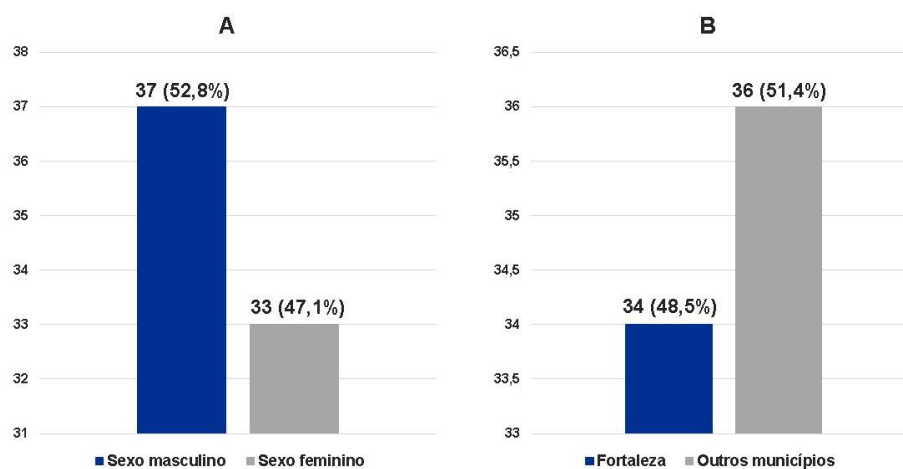
## 5. RESULTADOS

### 5.1 Análise geral do perfil dos participantes do estudo

Foram realizadas as coletas das amostras biológicas (SP e MO) de 310 indivíduos com suspeitas diagnósticas de LMA no período de julho de 2021 a agosto de 2024, dos quais 70 estavam de acordo com os critérios de inclusão deste estudo. Tais participantes foram atendidos no Hospital Geral de Fortaleza (HGF), Hospital Geral Dr. César Cals (HGDCC) ou no Hospital e Maternidade São Vicente de Paulo (HMSVP) e também foram coletados seus dados pessoais e informações de prontuários.

Do total de participantes, 33 deles eram do sexo feminino (47,1%) e 37 do sexo masculino (52,8%). Além disso, 34 indivíduos (48,5%) eram habitantes da capital (Fortaleza) e 36 (51,4%) eram de outros municípios cearenses (**Gráfico 1**).

**Gráfico 1:** Distribuição dos pacientes com LMA quanto ao sexo e localidade de habitação



**Legenda:** Representação gráfica da distribuição de pacientes com leucemia mieloide aguda participantes do estudo com base no sexo (A) e a localidade em que habitam (B).

Os pacientes do estudo possuíam de 18 a 91 anos, cuja média de idade foi de 52,2 anos (desvio padrão: 19,64). A média de idade das participantes femininas foi de 55,8 anos (desvio padrão: 18,4) e os participantes masculinos tiveram uma média de 49,08 anos (desvio padrão: 20,34). A tabela a seguir (**Tabela 2**) apresenta um maior detalhamento acerca da faixa etária dos pacientes.

**Tabela 2:** Distribuição etárias dos participantes do estudo

Faixa etária	Frequência em números absolutos	Percentual de frequência
18 a 19 anos	3	4,2%
20 a 39 anos	20	28,5%
40 a 59 anos	18	25,7%
60 a 79 anos	26	37,1%
≥ 80 anos	3	4,2%

Entre as ocupações laborais exercidas pelos participantes foram reportadas as atividades de agricultor(a), autônomo(a), representante de vendas, aposentado(a), professor (a), dona de casa, comerciante, operário de construção civil, mecânico, motoboy, entre outras (**Tabela 3**), sendo possível observar uma maior frequência da ocupação de agricultor(a) (n=8). Além disso, 25 indivíduos não informaram quais eram suas ocupações laborais.

**Tabela 3:** Ocupações laborais dos participantes do estudo

Ocupações laborais	Frequência entre os participantes
Autônomo(a)	2
Comerciante	1
Motoboy	1
Mecânico	1
Agricultor(a)	8
Pecuarista	1
Representante de vendas	3
Pescador	2
Dona de casa	6
Operário de construção civil	6
Aposentado(a)	2
Segurança / Vigilante	1
Professor(a)	3
Projetos sociais	1
Estudantes	1
Empregada doméstica / Serviços gerais	3

Porteiro	1
Músico	1
Gari	1
<b>Não reportados</b>	<b>25</b>

## 5.2 Dados clínicos dos participantes do estudo

Entre as informações clínicas obtidas dos participantes do estudo, foram coletados dados referentes de exames hematológicos. Cerca de 61 indivíduos (87,1%) possuíam os níveis de hemoglobina inferiores ou iguais a 10g/dL, enquanto que 9 (12,8%) a possuíam em níveis superiores a 10g/dL. Tratando-se da quantidade de leucócitos, 34 participantes (48,5%) possuíam leucometria menor ou igual a 10.000/mm<sup>3</sup>, 26 (37,1%) possuíam índices leucocitários superiores a 10.000/mm<sup>3</sup>, porém, menores a 100.000/mm<sup>3</sup> e 10 (14,2%) possuíam 100.000/mm<sup>3</sup> ou mais. Além disso, 63 indivíduos (90%) apresentaram quadros de plaquetopenias (níveis inferiores a 150.000/mm<sup>3</sup>) e 7 (10%) possuíam plaquetas normais em número. No que se refere a presença de células blásticas em sangue periférico, 46 indivíduos (65,7%) possuíam esses tipos celulares, enquanto que 24 (34,2%) não as apresentaram.

Ao realizarmos a análise da medula óssea dos participantes por intermédios dos resultados de mielograma, evidenciou-se uma média de 65,5% de blastos medulares. Entre os participantes, 7,1% (n=5) deles possuíam até 10% de blastos, enquanto 25,7% (n=18) apresentaram percentuais superiores a 10% e menores que 70% desses tipos celulares e 55,7% (n=39) possuíam mais 70% de blastos, porém, 11,4% (n=8) não possuíam resultados deste teste.

Também foram analisados os níveis de LDH (Lactato desidrogenase), nos quais 18 participantes (25,7%) possuíam LDH de até 400 µL e 33 (47,1%) possuíam níveis superiores a 400 µL e menores ou iguais a 1000 µL, mas nenhum deles obtiveram LDH acima de 1.000 µL. Ademais, 18 indivíduos (25,7%) não possuíam resultados para esta análise.

O resumo acerca desses dados clínico-laboratoriais dos pacientes portadores de LMA participantes do estudo podem ser vistas a seguir (**Tabela 4**).

**Tabela 4:** Dados clínicos dos participantes do estudo

Parâmetros clínico-laboratoriais	Estratificação de parâmetros	Distribuição em números absolutos	Distribuição em números relativos
Hemoglobina	< 10 g/dL	61	87,1%
	> 10 g/dL	9	12,8%
Leucócitos	≤ 10.000/mm <sup>3</sup>	34	48,5%
	< 10.000 a < 100.000/mm <sup>3</sup>	26	37,1%
	≥ 100.000/mm <sup>3</sup>	10	14,2%
Blastos no sangue periférico	Sim	46	65,7%
	Não	24	34,2%
Plaquetas	< 150.000/mm <sup>3</sup>	63	90%
	> 150.000/mm <sup>3</sup>	7	10%
Blastos na medula óssea	Média		65,5%
	≤ 10%	5	7,1%
	≤ 70%	18	25,7%
	> 70%	39	55,7%
	Sem resultado	8	11,4%
Lactato desidrogenase (LDH)	≤ 400 μL	18	25,7%
	> 400 μL a ≤ 1.000 μL	33	47,1%
	> 10000 μL	0	0%
	Sem resultado	18	25,7%

Ao se analisar os resultados dos testes imunofenotípicos, foram identificados como biomarcadores mais frequentes o CD13 (n=49; 70%), CD33 (n=56; 80%), CD34 (n=36; 51,4%), CD45 (n=53; 75,7%), CD64 (n=39; 55,7%), CD117 (n=48; 68,5%), MPO (n=43; 61,4%) e HLA-DR (n=39; 55,7%).

Outro parâmetro analisado foram os testes de cariótipo, em que dos 70 participantes do estudo, 53 (75,7%) deles possuíam resultados de cariótipo. Destes, 21 (39,6%) apresentaram-se com ausência de alterações e 32 (60,3%) possuíam anormalidades citogenéticas. Dentre os tipos de alterações que foram observadas entre os pacientes, evidenciou-se a presença de cariótipos complexos, translocações,

deleções, inserções, inversões, trissomias e monossomias. Os dados mais detalhados podem ser vistos na tabela a seguir (**Tabela 5**).

**Tabela 5** Panorama geral das alterações citogenéticas dos participantes do estudo

Anormalidades citogenéticas	Frequência de alterações
Cariótipos Complexos	6
2 alterações	10
Translocações gênicas	16
Deleções de regiões cromossômicas	7
Inversões	5
Adições de regiões cromossômicas	6
Aneuploidias	13

Através da realização de testes de biologia molecular foram ainda verificadas a presença de alterações gênicas, cujos dados podem ser vistos na tabela a seguir (**Tabela 6**):

**Tabela 6:** Alterações em testes moleculares dos participantes do estudo

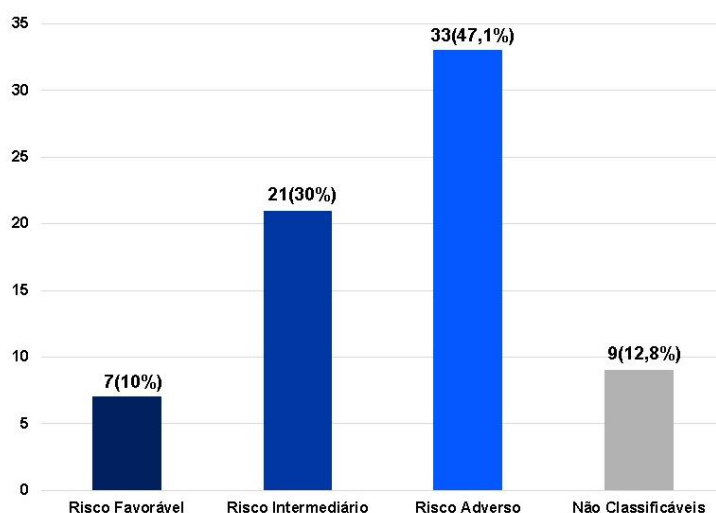
Alterações moleculares	Frequência em números absolutos	Frequência em números relativos
<i>PML::RARA</i>	9	12,8%
<i>RUNX1::RUNX1T1</i>	11	15,7%
<i>CBFB::MYH11</i>	13	18,5%
<i>BCR::ABL1</i>	23	32,8%
<i>FLT3</i>	5	7,1%
Ausência de alterações detectáveis	24	34,2%

### 5.3. Estratificação de risco dos participantes do estudo

A estratificação de risco dos portadores de LMA participantes do estudo foram realizadas conforme os critérios da ELN, em que os pacientes foram agrupados quanto aos prognósticos em “risco favorável”, “risco intermediário e “risco adverso”.

Dos 70 participantes, cerca de 10% (n=7) deles tinham risco favorável, 30% (n=21) apresentaram risco intermediário e 47,1% (n=33) possuíam risco adverso. Além disso, não foi possível estratificar 12,8% dos pacientes (n=9) devido à falta de resultados referentes aos testes de cariótipos e de biologia molecular (**Gráfico 2**).

**Gráfico 2:** Estratificação de risco dos participantes do estudo segundo critérios da ELN



#### 5.4. Análise de Chi-Quadrado dos dados clínico-epidemiológicos dos participantes do estudo

Foi realizado o teste do Chi-Quadrado com o intuito de comparar a provável influência entre duas variáveis clínicas. Para a obtenção dos resultados parciais foram feitas comparações entre as estratificações de risco dos pacientes e as variáveis: idade, gênero, localidade, contagem de leucócitos, presença de células blásticas em sangue periférico, presença de alterações no cariótipo, quantificação de LDH e quantidades de óbito. O *p-valor* quando estatisticamente significativo, assume o nível de significância de 99% ( $p \leq 0,001$ ) e 95% ( $p \leq 0,05$ ), e demonstra a provável influência na correlação entre as variáveis comparadas.

Analisando-se os resultados das comparações, na maioria delas não foi possível realizar a identificação de correlações estatisticamente significativas. Porém, as comparações entre as estratificações de risco e os resultados das presenças de blastos em sangue periférico, foi identificada prováveis influências entre essas variáveis. No **Quadro 5** podem ser encontrados os respectivos resultados das análises.

**Quadro 5:** Análise de Chi-Quadrado dos dados clínico-epidemiológicos dos portadores de LMA participantes do estudo

		Estratificação de Risco de Pacientes com LMA			
		Favorável	Intermediário	Adverso	Não Classificáveis
Idade	< 20	1	1	1	0
	20 a 39	2	5	10	3
	40 a 59	2	5	9	2
	60 a 79	2	8	12	4
	> 80	0	2	1	0
<b>p- valor</b>					<b>0,9081</b>
Gênero	Masculino	4	13	17	3
	Feminino	3	8	16	6
<b>p- valor</b>					<b>0,7528</b>
Localidade	Fortaleza	4	10	15	5
	Outros municípios	3	11	18	4
<b>p- valor</b>					<b>0,8537</b>
WBC (10 <sup>3</sup> )/mm <sup>3</sup>	< 10	3	12	14	5
	> 10	1	7	14	4
	> 100	3	2	5	0
<b>p- valor</b>					<b>0,2327</b>
Blastos em SP	Sim	5	10	27	4
	Não	2	11	6	5
<b>p- valor</b>					<b>0,0298</b>
Cariótipo	Normal	4	7	10	0
	Alterado	3	12	17	0
	Sem resultado	0	2	6	9
<b>p- valor</b>					<b>0,5239</b>
LDH (U/L)	< 400	1	6	9	2
	> 400	4	3	11	2

	>1000	2	4	6	1
	Sem resultado	0	8	7	4
	<b><i>p- valor</i></b>				<b>0,2517</b>
<b>Óbito</b>	Sim	1	6	14	1
	Não	6	15	19	8
	<b><i>p- valor</i></b>				<b>0,2848</b>

**Legenda:** LMA: Leucemia mieloide aguda; WBC: Contagem de células brancas; SP: Sangue periférico; LDH: Lactato desidrogenase.

### 5.5. Análise da expressão gênica de *AURKA*, *AURKB* e *PLK1*

As amostras de sangue periférico e medula óssea dos 70 participantes do estudo foram submetidas as análises de expressão por RT-qPCR utilizando-se quatro genes, um deles sendo o *ABL*, usado nas etapas de validação da expressão do teste, e os outros três genes abordados, tratavam-se dos nossos genes-alvo (*AURKA*, *AURKB* e *PLK1*). Além disso, para a validação do teste, amostras de 15 indivíduos saudáveis (controle negativo) foram submetidas as mesmas análises de expressão para serem utilizadas posteriormente para fins comparativos.

Das 70 amostras provenientes de indivíduos portadores de LMA, 63 (90%) deles apresentaram amplificação bem-sucedida dos elementos-alvo, enquanto que em 7 (10%) não foi possível observar amplificação de pelo menos um dos genes.

Dentre os casos de ausência de amplificação, um deles não amplificou *AURKA* e *PLK1*, tanto na MO quanto no SP. Outro indivíduo obteve amplificação dos três genes na medula, porém, no sangue periférico, foi detectada apenas a expressão de *AURKB*. Além disso, em cinco participantes não foi detectada a expressão de *PLK1*, sendo que, em quatro deles, essa ausência ocorreu apenas em SP, e em um caso, na MO. De um modo geral, o perfil hematológico desses indivíduos foi caracterizado predominantemente por quadros de leucopenia, anemia, plaquetopenia, ausência de blastos em sangue periférico, além de medulas hipoproliferativas em relação à presença de células blásticas. Informações detalhadas estão dispostas no quadro a seguir (**Quadro 6**).

**Quadro 6:** Perfil hematológico dos participantes que não expressaram pelo menos um dos genes- alvo

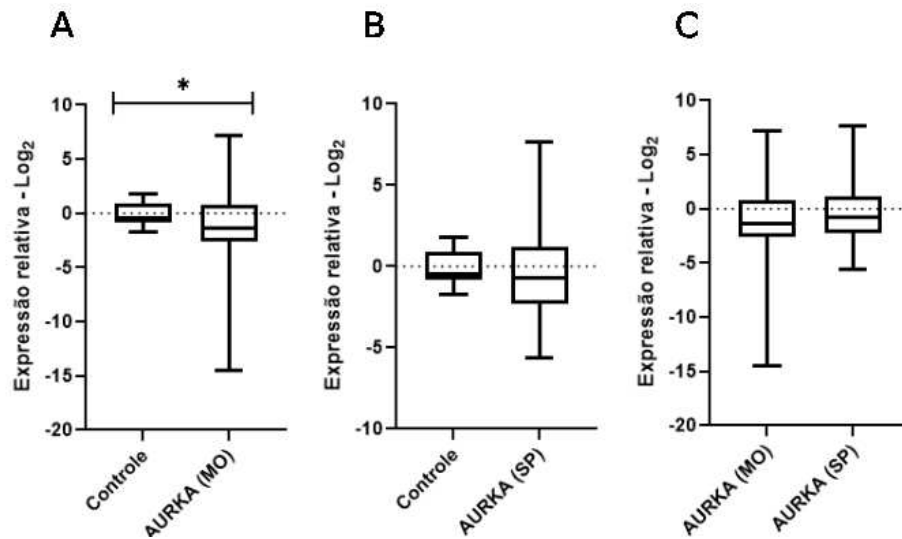
Parâmetro clínico-epidemiológico	Agrupamentos	Quantidade de Participantes
Gênero	Homens	3
	Mulheres	4
Localidade	Fortaleza	3
	Outros municípios	4
Hemoglobina	< 10 g/dL	5
	> 10 g/dL	2

	$\leq 10.000/\text{mm}^3$	5
Leucometria	$< 10.000$ a $< 100.000/\text{mm}^3$	2
	$\geq 100.000/\text{mm}^3$	0
Blastos em sangue periférico	Sim	3
	Não	4
Plaquetas	$< 150.000/\text{mm}^3$	5
	$> 150.000/\text{mm}^3$	2
Medula óssea	Hipocelular	4
	Normocelular	0
	Hiper celular	3
<b>Total de Indivíduos</b>		<b>7</b>

O método do  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  foi aplicado diante dos valores de expressão para a obtenção do *Fold change* (FC) das amostras, que em seguida foram transformados em escala logarítmica ( $\text{Log}_2$ ) com o intuito de corrigir a assimetria dos dados e reduzir o impacto de *outliers*.

Realizamos análises comparativas da expressão de *AURKA* em MO entre os indivíduos saudáveis e os participantes com LMA através de testes de Mann-Whitney, que obteve diferença estatisticamente significativa ( $p = 0,0254$ ), com indícios de uma redução da expressão desse gene na LMA. Por outro lado, nas amostras de SP, não observamos diferenças significativas em relação aos controles ( $p = 0,2310$ ), embora os níveis de expressão também apontem indícios de redução. Além disso, com as análises pareadas (teste de Wilcoxon) entre amostras leucêmicas de MO e SP também não foram observadas diferenças significativas ( $p = 0,0778$ ) (**Figura 7**).

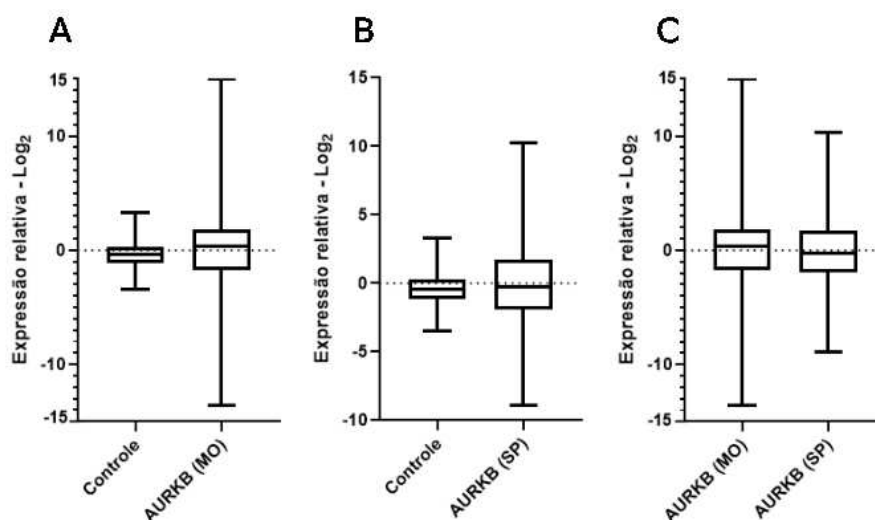
**Figura 7:** Análises comparativas das expressões de *AURKA* entre amostras de portadores de LMA e indivíduos saudáveis



**Legenda:** Resultados comparativos da expressão de Aurora quinase A (*AURKA*) entre a coorte de pacientes com leucemia mieloide aguda (LMA) e controle saudáveis. (A) Expressão da *AURKA* em amostras de medula óssea (MO) em comparação com os controles (Teste de Mann-Whitney;  $p = 0,0254^*$ ). (B) Expressão da *AURKA* em amostras de sangue periférico (SP) (Teste de Mann-Whitney;  $p = 0,2310$ ). (C) Resultados do teste de Wilcoxon entre as amostras de MO e SP dos pacientes com LMA ( $p = 0,0778$ ).

O teste de Mann-Whitney também foi aplicado para as análises da expressão de *AURKB*, não sendo observadas diferenças estatisticamente significativas entre amostras controle e de indivíduos com LMA, tanto na MO ( $p = 0,3078$ ) quanto em SP ( $p = 0,6224$ ). Com a aplicação de testes de Wilcoxon para comparar as amostras de MO e SP dos pacientes leucêmicos, também não foi detectada variações significativas ( $p = 0,8357$ ). Com isso, pudemos supor que a expressão deste gene se manteve relativamente equilibrada entre os tipos amostrais e havendo uma equivalência com indivíduos saudáveis (**Figura 8**).

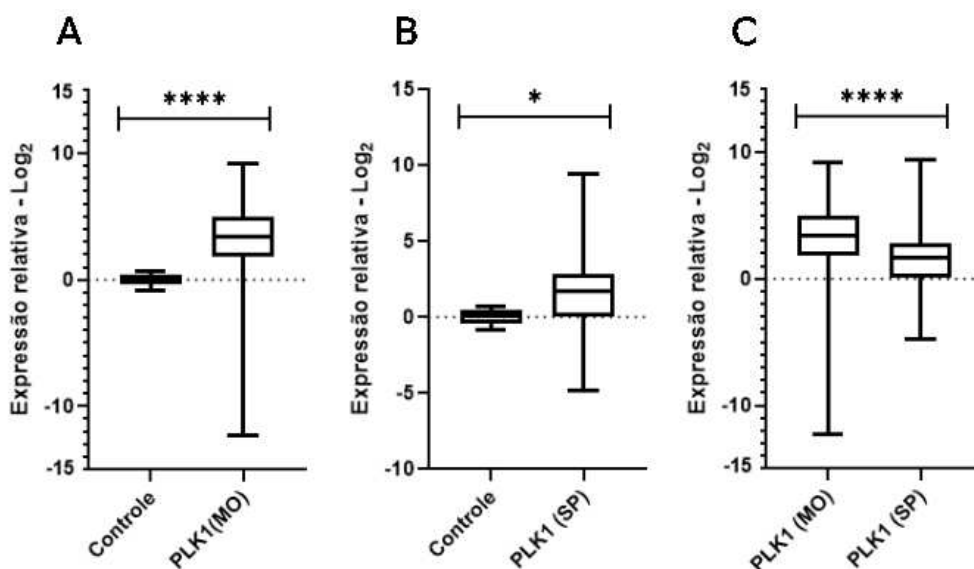
**Figura 8:** Análises comparativas das expressões de *AURKB* entre amostras de portadores de LMA e indivíduos saudáveis



**Legenda:** Resultados comparativos da expressão de Aurora quinase B (*AURKB*) entre a coorte de pacientes com leucemia mieloide aguda (LMA) e controle saudáveis. A) Expressão da *AURKB* em amostras de medula óssea (MO) em comparação com os controles (Teste de Mann-Whitney;  $p = 0,3078$ ). B) Expressão da *AURKB* em amostras de sangue periférico (SP) (Teste de Mann-Whitney;  $p = 0,6224$ ). C) Resultados do teste de Wilcoxon entre as amostras de MO e SP dos pacientes com LMA ( $p = 0,8357$ ).

A expressão de *PLK1* apresentou-se estatisticamente significativa tanto na MO (Mann-Whitney;  $p < 0,0001$ ) quanto no SP (Teste T de Student;  $p = 0,0144$ ), em comparação com o grupo controle, indicando uma hiperexpressão desse gene entre os indivíduos com LMA. Na comparação entre SP e MO dos pacientes leucêmicos através do Teste T pareado, foi evidenciada significância estatística ( $p < 0,0001$ ), com expressão de *PLK1* medular superior à de SP (**Figura 9**).

**Figura 9:** Análises comparativas das expressões de *PLK1* entre amostras de portadores de LMA e indivíduos saudáveis



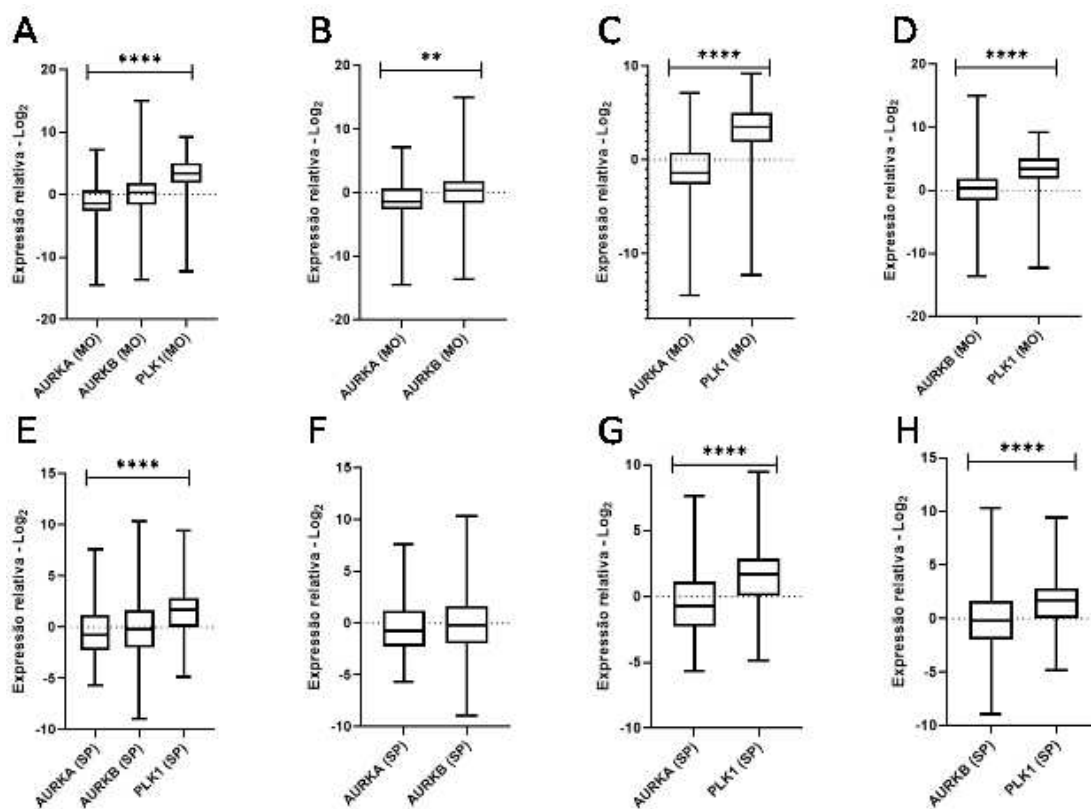
**Legenda:** Resultados comparativos da expressão de *Polo Like Kinase (PLK1)* entre a coorte de pacientes com leucemia mieloide aguda (LMA) e controle saudáveis. (A) Expressão da *PLK1* em amostras de medula óssea (MO) em comparação com os controles (Teste de Mann-Whitney;  $p < 0,0001$ \*\*\*\*). (B) Expressão da *PLK1* em amostras de sangue periférico (SP) (Teste T de Student;  $p = 0,0144$ \*). (C) Resultados do teste T pareado entre as amostras de MO e SP dos pacientes com LMA ( $p < 0,0001$ \*\*\*\*).

Para avaliar simultaneamente a expressão dos três genes-alvo em amostras pareadas de MO e SP de indivíduos com LMA, usamos o teste não paramétrico de Friedman, sendo observada significância em ambos os tecidos e adquirindo-se um  $p < 0,0001$  em ambos os cenários ( $\chi^2$  de MO = 80,89;  $\chi^2$  de SP = 21,94). Isso indica que pelo menos uma das distribuições de expressão gênica difere das demais. Por essa razão, realizamos em seguida comparações pareadas através do teste de Wilcoxon para determinar os pares responsáveis por essa diferença. Os pares avaliados foram: *AURKA* com *AURKB*, *AURKA* com *PLK1* e *AURKB* com *PLK1*.

Na análise da MO, todas as comparações apresentaram diferenças significativas, com  $p = 0,0019$  entre *AURKA* e *AURKB*, e  $p < 0,0001$  tanto para *AURKB* e *PLK1*, quanto para *AURKA* e *PLK1*, evidenciando, portanto, expressões distintas entre os três genes-alvo. Em contrapartida, nas análises com SP, a significância foi observada apenas nas comparações entre *AURKA* e *PLK1* e *AURKB* e *PLK1*, ambas com  $p < 0,0001$ , não sendo detectada diferença relevante entre *AURKA* e *AURKB* ( $p = 0,4897$ ) (Figura 10). Com isso, sugerimos que *AURKA* e *AURKB* apresentaram

níveis de expressividade semelhantes em SP e que *PLK1* revelou-se como o gene mais expresso dentre os genes avaliados em ambos os tecidos.

**Figura 10:** Testes comparativos pareados em amostras leucêmicas da medula óssea e sangue periférico quanto a expressão de *AURKA*, *AURKB* e *PLK1*



**Legenda:** Representação gráfica dos resultados comparativos da expressão de Aurora quinase A (*AURKA*), Aurora quinase B (*AURKB*) e Polo like kinase (*PLK1*) em amostras de pacientes com leucemia mieloide aguda (LMA). (A) Comparação pareada da expressão dos três genes-alvo em amostras de medula óssea (MO) (Teste de Friedman;  $p < 0,0001$ \*\*\*\*). (B) Análise da expressão pareada de *AURKA* e *AURKB* em amostras de MO (Teste de Wilcoxon;  $p = 0,0019$ \*\*). (C) Análise da expressão pareada de *AURKA* e *PLK1* em amostras de MO (Teste de Wilcoxon;  $p < 0,0001$ \*\*\*\*). (D) Análise da expressão pareada de *AURKB* e *PLK1* em amostras de MO (Teste de Wilcoxon;  $p < 0,0001$ \*\*\*\*). (E) Comparação pareada da expressão dos três genes-alvo em amostras de sangue periférico (SP) (Teste de Friedman;  $p < 0,0001$ \*\*\*\*). (F) Análise da expressão pareada de *AURKA* e *AURKB* em amostras de SP (Teste de Wilcoxon;  $p = 0,4897$ ). (G) Análise da expressão pareada de *AURKA* e *PLK1* em amostras de SP (Teste de Wilcoxon;  $p < 0,0001$ \*\*\*\*). (H) Análise da expressão pareada de *AURKB* e *PLK1* em amostras de SP (Teste de Wilcoxon;  $p < 0,0001$ \*\*\*\*).

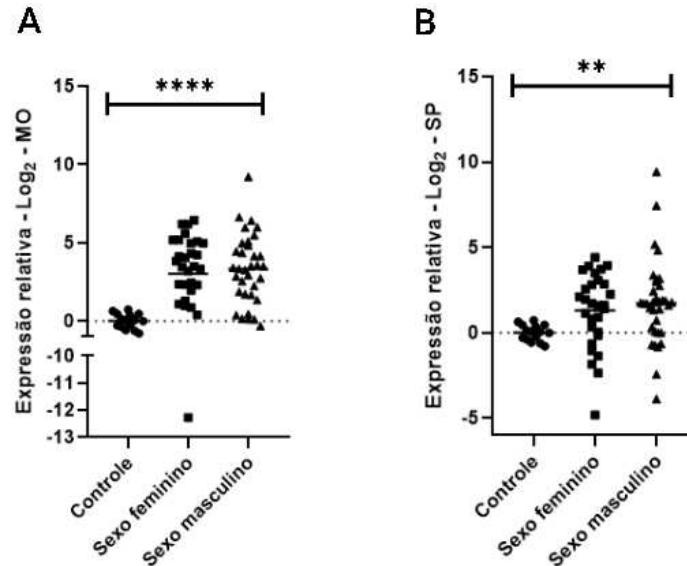
## 5.6. Análise comparativas adicionais para *PLK1*

Por *PLK1* ser o gene com maior padrão de hiperexpressão em comparação aos demais, realizamos análises adicionais para explorar melhor o potencial desse gene como alvo terapêutico e/ou como um biomarcador diagnóstico na LMA.

Foram feitos testes comparativos entre as expressões de *PLK1* com base no gênero dos participantes em relação aos controles, tanto nas amostras de MO

quanto de SP e para isso, aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis e foi observada significância em ambos os tecidos, com  $p < 0,0001$  para as amostras medulares e  $p = 0,0069$  para SP (**Figura 11**).

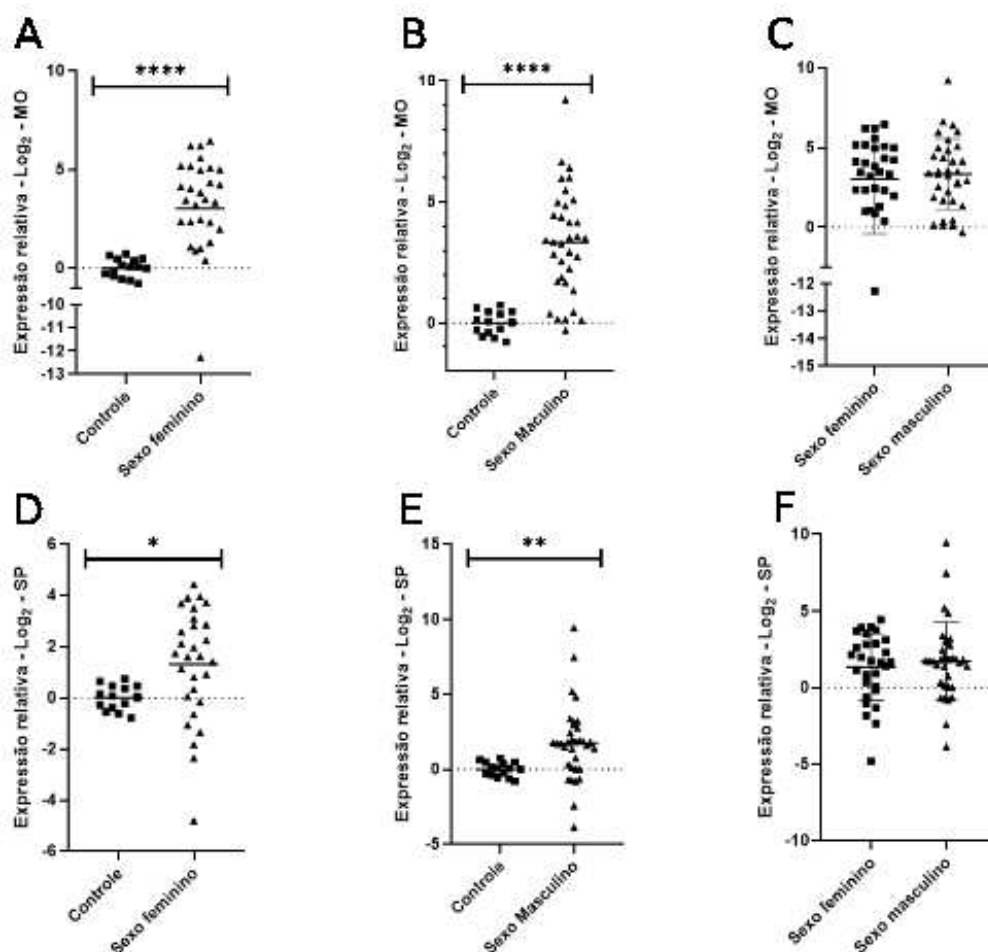
**Figura 11:** Comparação entre os níveis de expressão de *PLK1* entre os participantes do estudo com base no gênero



**Legenda:** Gráfico com a comparação da expressão de *Polo like kinase (PLK1)* e o gênero dos participantes do estudo com leucemia mieloide aguda (LMA). (A) Expressão de *PLK1* em amostras de medula óssea (MO) com  $p < 0,0001$ \*\*\*\*. (B) Expressão de *PLK1* em amostras de sangue periférico (SP) com  $p = 0,0069$ \*\*.

Para identificar qual gênero é responsável por essa significância, realizamos comparações entre controles saudáveis e os portadores de LMA separando-os por gênero. Verificou-se diferença significativa tanto no grupo feminino (Teste de Mann-Whitney em MO:  $p < 0,0001$ ; Teste T de Student em SP:  $p = 0,0271$ ), quanto no masculino (Teste T de Student em MO:  $p < 0,0001$ ; Teste de Mann-Whitney em SP:  $p = 0,0017$ ). Compararmos diretamente os níveis de expressão de *PLK1* entre os sexos, tanto na MO (Teste de Mann-Whitney:  $p = 0,7373$ ) quanto em SP (Teste de Mann-Whitney:  $p = 0,9192$ ), mas não foram identificadas diferenças significativas. Esses resultados indicam que a hiperexpressão de *PLK1* na LMA é semelhante em ambos os gêneros, independentemente do tecido analisado (**Figura 12**).

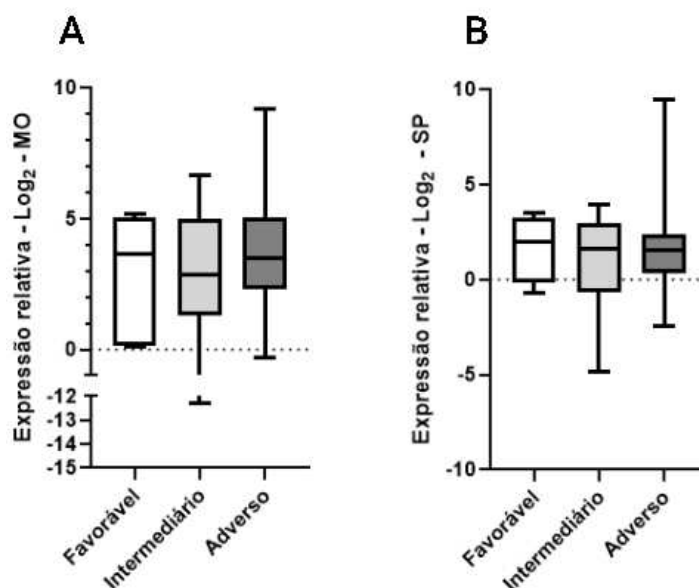
**Figura 12:** Comparações mais detalha entre os níveis de expressão de *PLK1* e o gênero dos participantes do estudo.



**Legenda:** Comparações entre as expressões de *Polo like kinase (PLK1)* e o gênero dos portadores de leucemia mieloide aguda (LMA). (A) Comparação da expressão de *PLK1* entre grupo controle e pacientes do sexo feminino em amostras de medula óssea (MO) (Teste de Mann-Whitney;  $p < 0,0001$ \*\*\*\*). (B) Comparação da expressão de *PLK1* entre grupo controle e pacientes do sexo masculino em amostras de MO (Teste T de Student;  $p < 0,0001$ \*\*\*\*). (C) Comparação da expressão de *PLK1* em amostras de MO entre pacientes de ambos os sexos (Teste de Mann-Whitney:  $p = 0,7373$ ). (D) Comparação da expressão de *PLK1* entre grupo controle e pacientes do sexo feminino em amostras de sangue periférico (SP) (Teste T de Student em SP:  $p=0,0271$ \*). (E) Comparação da expressão de *PLK1* entre grupo controle e pacientes do sexo masculino em amostras de SP (Teste de Mann-Whitney em SP:  $p=0,0017$ \*\*). (F) Comparação da expressão de *PLK1* em amostras de SP entre pacientes de ambos os sexos (Teste de Mann-Whitney:  $p = 0,9192$ ).

Também foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis para realizar a comparação entre a expressão de *PLK1* com os dados da estratificação de risco dos pacientes com base critérios estabelecidos pela ELN para LMA. Porém, tanto para as análises em amostras de MO, quanto de SP não foram observadas significâncias estatísticas, cujo valor de  $p$  foi de 0,6763 e 0,7790, respectivamente (**Figura 13**), indicando que a expressão de *PLK1* não difere entre os grupos de riscos.

**Figura 13:** Testes comparativos entre os níveis de expressão de *PLK1* e a estratificação de risco dos participantes do estudo.



**Legenda:** Representação gráfica da comparação da expressão de *Polo like kinase (PLK1)* e a estratificação de risco dos participantes do estudo com leucemia mieloide aguda (LMA). Os gráficos refletem a comparação da expressão de *PLK1* entre os grupos de risco favorável, intermediário e adverso em amostras de medula óssea (MO) (teste de Kruskal-Wallis;  $p = 0,6763$ ) (A) e de sangue periférico (SP) (teste de Kruskal-Wallis;  $p = 0,7790$ ) (B).

As análises adicionais realizadas com a expressão de *PLK1* apontam que, apesar deste gene apresentar-se hiperexpresso em comparação com indivíduos saudáveis, seus níveis de expressão não variam quanto ao prognóstico dos pacientes e nem tampouco demonstram variação significativa em função do gênero. Esses achados sugerem que a expressão de *PLK1* pode se configurar como uma característica recorrente na LMA e que esse gene possui potencial como biomarcador de detecção ou apoio diagnóstico na LMA, mas para a confirmação desse papel, há a necessidade de validações adicional por meio de estudos com coortes maiores e abordagens complementares.

### 5.7. Análise de correlação associada aos genes *AURKA*, *AURKB* e *PLK1*

Foi realizado o teste de correlação de Spearman para a investigação de possíveis associações entre as expressões dos três genes-alvos em amostras de MO e SP e algumas variáveis clínicas dos participantes do estudo.

Avaliamos primeiramente a correlação entre a expressão desses genes com parâmetros hematológicos de SP dos pacientes, sendo eles: níveis de

hemoglobina, leucometria, quantidade de blastos e plaquetas. Os resultados estão dispostos na tabela a seguir (**Tabela 7**).

**Tabela 7:** Correção entre as expressões de *AURKA*, *AURKB* e *PLK1* e os parâmetros hematológicos dos participantes do estudo

		AURKA (MO)	AURKA (SP)	AURKB (MO)	AURKB (SP)	PLK1 (MO)	PLK1 (SP)	Hb	Leucócitos	BLASTOS	PLT
<b>AURKA (MO)</b>	Rho de Spearman	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	p-value	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<b>AURKA (SP)</b>	Rho de Spearman	0.413***	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	p-value	<.001	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<b>AURKB (MO)</b>	Rho de Spearman	0.465***	0.172	—	—	—	—	—	—	—	—
	p-value	<.001	0.155	—	—	—	—	—	—	—	—
<b>AURKB (SP)</b>	Rho de Spearman	0.201	0.157	0.232	—	—	—	—	—	—	—
	p-value	0.095	0.194	0.053	—	—	—	—	—	—	—
<b>PLK1 (MO)</b>	Rho de Spearman	0.726***	0.317**	0.422***	0.301*	—	—	—	—	—	—
	p-value	<.001	0.008	<.001	0.012	—	—	—	—	—	—
<b>PLK1 (SP)</b>	Rho de Spearman	0.146	0.308**	0.065	0.332**	0.283*	—	—	—	—	—
	p-value	0.226	0.010	0.595	0.005	0.018	—	—	—	—	—
<b>Hb</b>	Rho de Spearman	0.226	0.369**	0.071	0.001	0.201	0.046	—	—	—	—
	p-value	0.059	0.002	0.561	0.992	0.096	0.707	—	—	—	—
<b>Leucócitos</b>	Rho de Spearman	-0.083	-0.432***	0.000	0.032	-0.072	-0.067	-0.265*	—	—	—
	p-value	0.495	<.001	0.999	0.792	0.553	0.580	0.027	—	—	—
<b>Blastos</b>	Rho de Spearman	0.025	0.124	0.012	0.016	0.017	-0.077	-0.093	0.407**	—	—
	p-value	0.869	0.407	0.937	0.913	0.909	0.606	0.534	0.004	—	—
<b>PLT</b>	Rho de Spearman	0.207	0.327**	-0.011	0.115	0.205	-0.100	0.376**	-0.308**	-0.097	—
	p-value	0.085	0.006	0.928	0.342	0.088	0.411	0.001	0.009	0.515	—

**Legenda:** *AURKA*: Aurora quinase A; *AURKB*: Aurora quinase B; *PLK1*: Polo like kinase 1; MO: medula óssea; SP: Sangue periférico; Hb: Hemoglobina; PLT: Plaquetas; Níveis de significância estatística:  $p < 0.05^*$ ,  $p < 0.01^{**}$  e  $p < 0.001^{***}$ .

Foram identificadas algumas correlações estatisticamente significativas, porém, nem todas tiveram coeficientes de correlação realmente relevantes. De um modo geral, tais significâncias remeteram a ideia de relação diretamente proporcional entre as variáveis testadas, ou seja, que os níveis de expressão aumentam ou diminuem de modo equivalente com relação as variáveis correlatas.

A única correlação considerada como forte ocorreu entre *AURKA* e *PLK1* na MO (Rho de Spearman: 0,726;  $p < 0,001$ ), provavelmente em função da ocorrência de coexpressão entre eles neste tecido, uma vez que já é sabido que fazem parte de uma via biológica comum. Duas associações apresentaram coeficientes de correlação que podem ser considerados como moderados, que ocorreram entre *AURKA* e *AURKB* (Rho de Spearman: 0,465;  $p < 0,001$ ) e entre *AURKB* e *PLK1* (Rho de Spearman: 0,422;  $p < 0,001$ ), ambos em amostras medulares, presumindo uma

regulação coordenada entre esses pares de genes. Além disso, a associação entre os níveis de expressão de *AURKA* na MO e SP também gerou significância estatística com uma correlação moderada (Rho de Spearman: 0,413;  $p < 0,001$ ), sugerindo um padrão de expressão ao menos parcialmente consistente entre esses dois tecidos.

Ao correlacionarmos a expressão de *AURKA*, *AURKB* e *PLK1* com os parâmetros hematológicos dos pacientes, não foram evidenciados coeficientes de correlação fortes entre as variáveis, apesar da identificação de significância estatística entre a expressão *AURKA* em SP e os níveis de hemoglobina (Rho de Spearman: 0,369;  $p = 0,002$ ), quantidades de leucócitos (Rho de Spearman: - 0,432;  $p < 0,001$ ) e de plaquetas (Rho de Spearman: 0,327;  $p = 0,006$ ). Isto nos mostra que nesta coorte de indivíduos com LMA, os níveis mais elevados de *AURKA* em SP, se correlacionaram como as maiores concentrações de hemoglobina e contagem de plaquetas, mas também com menores quantidade de leucócitos. Posteriormente, avaliamos outras variáveis clínicas, sendo elas: níveis de blastos na medula óssea, LDH e a idade dos participantes do estudo (Tabela 8).

**Tabela 8:** Correção entre as expressões de *AURKA*, *AURKB* e *PLK1* e a presença de blastos em MO, níveis de LDH e a idade dos participantes do estudo

		AURKA (MO)	AURKA (SP)	AURKB (MO)	AURKB (SP)	PLK1 (MO)	PLK1 (SP)	Blastos (MO)	LDH	Idade
<b>AURKA (MO)</b>	Rho de Spearman	—								
	p-value	—								
<b>AURKA (SP)</b>	Rho de Spearman	0.413***	—							
	p-value	<.001	—							
<b>AURKB (MO)</b>	Rho de Spearman	0.465***	0.172	—						
	p-value	<.001	0.155	—						
<b>AURKB (SP)</b>	Rho de Spearman	0.201	0.157	0.232	—					
	p-value	0.095	0.194	0.053	—					
<b>PLK1 (MO)</b>	Rho de Spearman	0.726***	0.317**	0.422***	0.301*	—				
	p-value	<.001	0.008	<.001	0.012	—				
<b>PLK1 (SP)</b>	Rho de Spearman	0.146	0.308**	0.065	0.332**	0.283*	—			
	p-value	0.226	0.010	0.595	0.005	0.018	—			
<b>Blastos (MO)</b>	Rho de Spearman	-0.277*	-0.367**	-0.019	-0.023	-0.347**	-0.104	—		
	p-value	0.028	0.003	0.354	0.859	0.005	0.415	—		
<b>LDH</b>	Rho de Spearman	-0.153	-0.235	0.031	0.859	-0.077	0.376**	0.349*	—	
	p-value	0.285	0.097	0.828	0.738	0.592	0.007	0.015	—	
<b>Idade</b>	Rho de Spearman	-0.103	0.142	-0.146	0.132	0.101	0.026	-0.073	0.133	—
	p-value	0.395	0.242	0.227	0.275	0.404	0.833	0.569	0.353	—

**Legenda:** *AURKA*: Aurora quinase A; *AURKB*: Aurora quinase B; *PLK1*: Polo like kinase 1; MO: medula óssea; SP: Sangue periférico; LDH: Lactato desidrogenase; Níveis de significância estatística:  $p < 0.05^*$ ,  $p < 0.01^{**}$  e  $p < 0.001^{***}$ .

Embora algumas associações tenham apresentado significância estatística, nenhuma foi acompanhada de um coeficiente de correlação que pudesse ter impacto relevante. Ainda assim, os resultados sugerem uma relação inversamente proporcional entre a contagem de blastos medulares e os níveis de expressão de *AURKA* na MO e SP e de *PLK1* na MO. Por outro lado, os níveis de LDH apresentaram uma correlação positiva com a expressão de *PLK1* no sangue periférico.

## 5.8. Taxas de mortalidade e análise de sobrevida

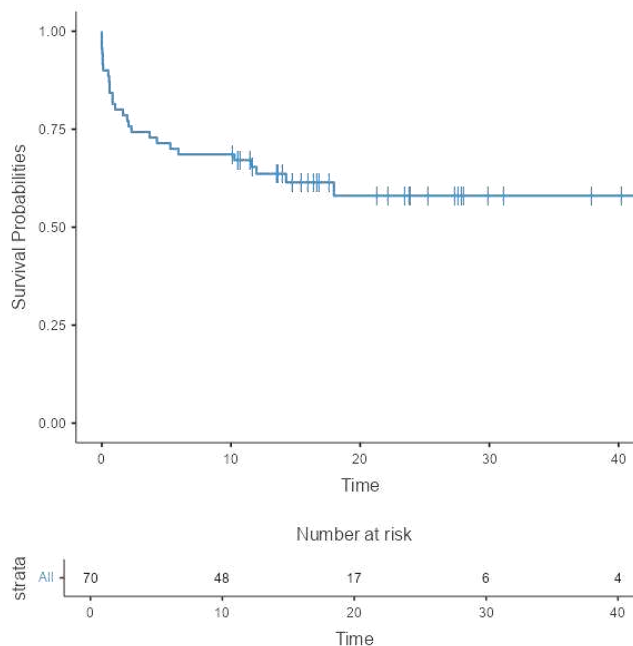
### 5.8.1. Aspectos gerais dos óbitos

Dos 70 participantes deste estudo, 27 deles (35,5%) tiveram evolução dos quadros clínicos que resultaram em óbito. Entre os indivíduos falecidos, 9 (12,8%) eram do sexo feminino e 18 (25,7%) do sexo masculino. Além disso, 15 pacientes (21,4%) eram oriundos da capital cearense (Fortaleza) e 12 (17,1%) de outros municípios.

Ao realizarmos as análises prognósticas dos indivíduos falecidos com base na estratificação de risco estabelecida pelo ELN, 16 deles (22,8%) faziam parte do grupo de riscos adversos, 9 (12,8%) de riscos intermediários e apenas 1 possuía risco favorável. Ademais, houve ainda o óbito de um participante cuja estratificação foi impossibilitada devido à falta de resultados de testes citogenéticos e moleculares.

Com base nos índices de mortalidade na coorte deste estudo, tornou-se necessário o emprego de métodos estatísticos que possibilitassem não apenas a análise das ocorrências de óbitos, mas que também avaliassem a distribuição desse evento ao longo do tempo. Neste contexto, a análise de sobrevida emprega-se como uma ferramenta robusta para avaliar o impacto que as variáveis clínicas e biológicas abordadas neste trabalho assumem diante do desfecho dos pacientes (óbito). Portanto, foram elaboradas curvas de Kaplan-Meier com *Log-Rank* para avaliar esses parâmetros.

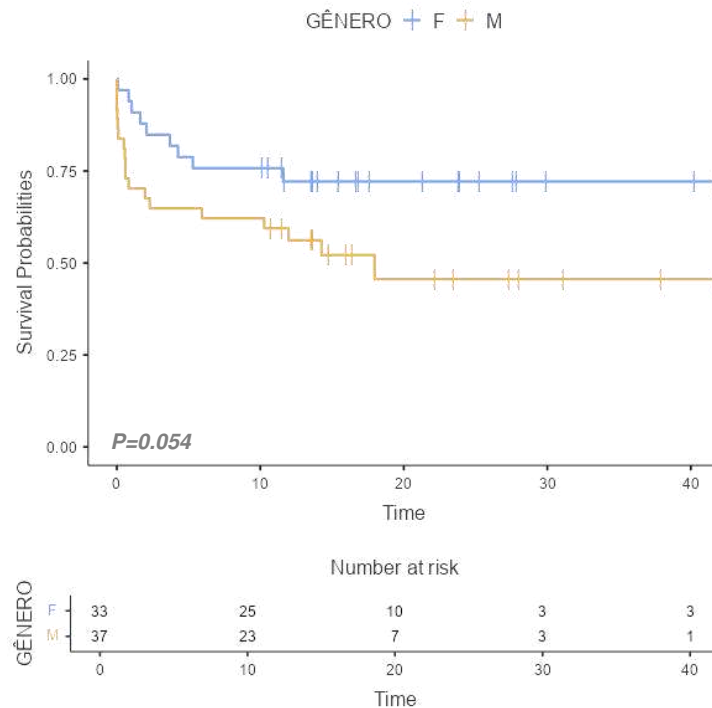
No gráfico seguir (**Gráfico 3**) mostra a curva de sobrevida global da coorte deste estudo. Vale ressaltar que não foi possível estimar a mediana de sobrevida, pois não foram alcançados os 50% de ocorrência do desfecho, ou seja, que mais da metade dos participantes do estudo permanecem vivos.

**Gráfico 3:** Curva de sobrevida global dos participantes do estudo

**Legenda:** Curva de Kaplan-Meier representando a sobrevida global dos participantes do estudo ao longo do tempo, mesmo diante de dados censurados (riscos na vertical).

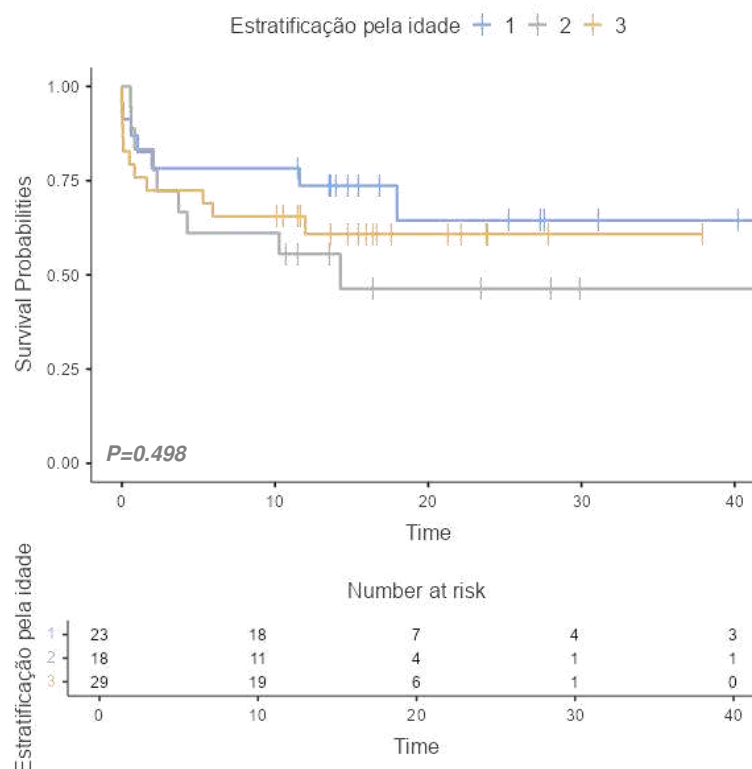
Através do gráfico é possível observar uma acentuada redução da sobrevida dos pacientes ao longo dos primeiros meses do estudo, que poderia ser justificada pela ocorrência do evento entre os indivíduos com quadros clínicos mais graves e/ou que possuíam alguma dificuldade de adesão ou efetividade terapêutica. Porém, após aproximadamente 10 meses de seguimento, ocorreu um declínio desses eventos, alcançando uma estabilização completa após o 20º mês, com uma sobrevida residual superior a 50%.

Ao avaliarmos a sobrevida dos pacientes com relação ao gênero não foi identificada diferenças estatisticamente significativas (Log-rank:  $\chi^2=3,70$ ;  $p=0,054$ ). Apesar disso, ao observamos as curvas, é possível notar que a sobrevida do sexo feminino foi superior a masculina (**Gráfico 4**).

**Gráfico 4:** Curva de sobrevida baseada no gênero dos participantes do estudo

**Legenda:** O teste de Log-Rank utilizado para comparar as curvas de sobrevida entre os grupos de indivíduos estratificados com base no gênero ( $\chi^2=3,70$ ;  $p=0,054$ ). O grupo feminino foi representado pela letra “F” (linha azul), enquanto que o grupo masculino foi identificado pela letra “M” (linha amarela).

Também foi realizada a análise de sobrevida com base na idade dos pacientes. Para isso, os estratificados em três grupos: grupo 1 (18 a 39 anos), grupo 2 (40 a 59 anos) e grupo 3 ( $\geq 60$  anos). As curvas de Kaplan-Meier não apresentaram um valor de  $p$  estatisticamente significativo (Log-rank:  $\chi^2=1,39$ ;  $p=0,498$ ), mas, apesar disso, nos demonstram visualmente uma tendência dos indivíduos do grupo 2 em apresentarem as maiores taxas de mortalidade em comparação com demais grupos (**Gráfico 5**).

**Gráfico 5:** Curva de sobrevida baseada na idade dos participantes do estudo

**Legenda:** O teste de Log-Rank utilizado para comparar as curvas de sobrevida entre os grupos de indivíduos estratificados com base na idade ( $\chi^2=1,39$ ;  $p=0,498$ ). A linha azul representa o grupo 1 (18 a 39 anos), enquanto que o grupo 2 (40 a 59 anos) está representado pela linha cinza, grupo 3 ( $\geq 60$  anos) pela linha amarela.

### 5.8.2. Análise de taxas de óbito e curvas de sobrevida com base na expressão de *AURKA*, *AURKB* e *PLK1*

Foi realizada a análise de correlação entre a expressão dos genes- alvos e o óbito dos pacientes que fazem parte da coorte deste estudo. Apesar da ausência de correlações fortemente relevantes, o teste de Spearman apontou significância estatística entre os óbitos e as expressões de *AURKB* e *PLK1* na MO, mas também de *PLK1* em SP. Tais associações mostraram-se inversamente proporcionais e, portanto, nos remetem a ideia de que quanto maiores as expressões desses genes, menores são as associações com os índices de morte dos pacientes (**Tabela 9**).

**Tabela 9:** Correção entre a expressão de *AURKA*, *AURKB* e *PLK1* e as taxas de óbito no estudo

		AURKA (MO)	AURKA (SP)	AURKB (MO)	AURKB (SP)	PLK1 (MO)	PLK1 (SP)	Óbitos
<b>AURKA (MO)</b>	Rho de Spearman	—						
	p-value	—						
<b>AURKA (SP)</b>	Rho de Spearman	0.413***	—					
	p-value	<.001	—					
<b>AURKB (MO)</b>	Rho de Spearman	0.465***	0.172	—				
	p-value	<.001	0.155	—				
<b>AURKB (SP)</b>	Rho de Spearman	0.201	0.157	0.232	—			
	p-value	0.095	0.194	0.053	—			
<b>PLK1 (MO)</b>	Rho de Spearman	0.726***	0.317**	0.422***	0.301*	—		
	p-value	<.001	0.008	<.001	0.012	—		
<b>PLK1 (SP)</b>	Rho de Spearman	0.146	0.308**	0.065	0.332**	0.283*	—	
	p-value	0.226	0.010	0.595	0.005	0.018	—	
<b>Óbitos</b>	Rho de Spearman	-0.094	-0.191	-0.322**	-0.213	-0.236*	-0.269*	—
	p-value	0.440	0.113	0.007	0.077	0.049	0.024	—

**Legenda:** *AURKA*: Aurora quinase A; *AURKB*: Aurora quinase B; *PLK1*: Polo like kinase 1; MO: medula óssea; SP: Sangue periférico; Níveis de significância estatística:  $p < 0.05^*$ ,  $p < 0.01^{**}$  e  $p < 0.001^{***}$ .

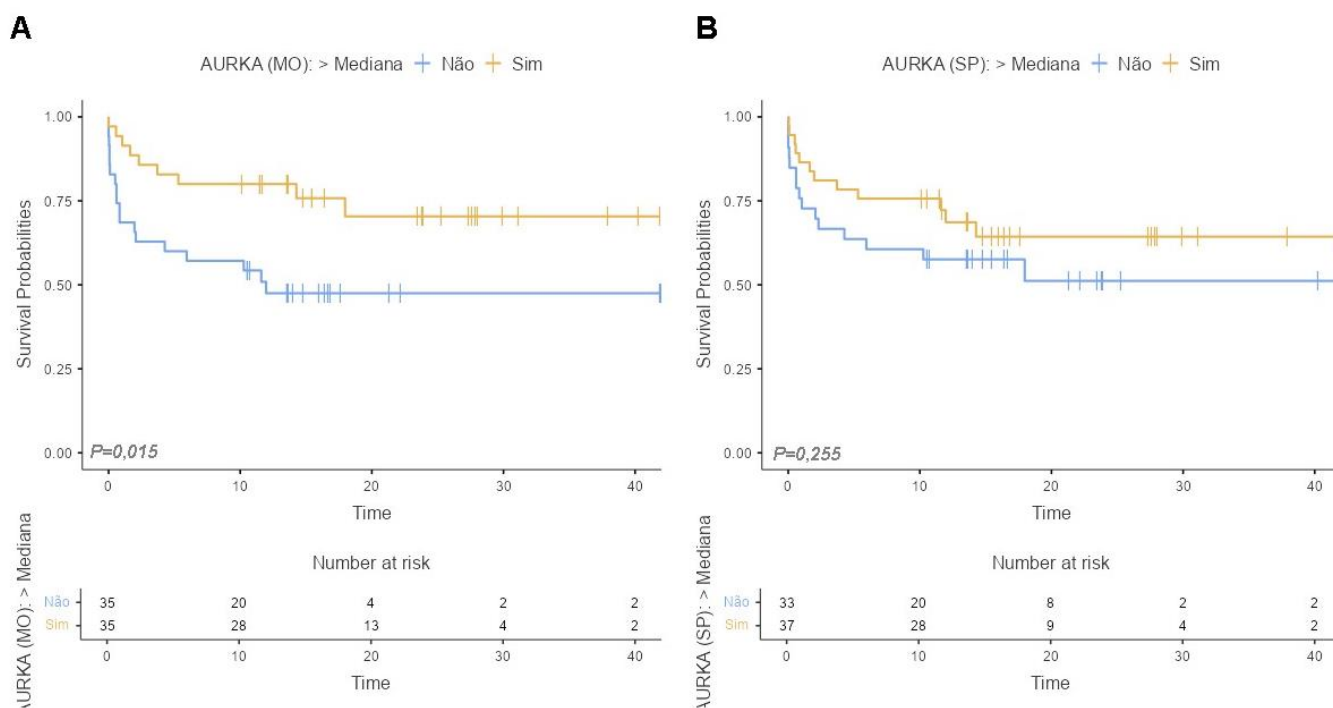
Com o objetivo de investigar a existência de associações entre a expressão dos nosso genes-alvos e os óbitos em meio a coorte ao longo do tempo de estudo, foi executada a análise de sobrevida através das curvas de Kaplan-Meier com teste de Log-Rank para avaliar a significância estatística.

Para tornar viável a análise de sobrevida, as medidas contínuas de expressão dos genes *AURKA*, *AURKB* e *PLK1*, foram transformadas em variáveis ordinais, avaliando-se o tempo de sobrevida em meses e utilizando a mediana como ponto de corte em cada gene para categorizar os pacientes dois grupos: alta expressão (valores acima da mediana) e baixa expressão (valores abaixo da mediana).

Avaliamos inicialmente as curvas de sobrevida da expressão de *AURKA* em amostras medulares e sangue periférico. Apenas as análises em MO gerou significância estatisticamente entre os dois grupos (Log-rank:  $\chi^2=5,94$  e  $p=0,015$ ), enquanto que em SP o *p-valor* foi de 0,255 (Log-rank:  $\chi^2=1,29$ ). Apesar disso, em ambos os casos os grupos de alta expressão de *AURKA* pareceu demonstrar uma melhora na sobrevida dos pacientes, porém, a nível medular essa discrepância entre

os grupos foi mais relevante, sendo até mesmo possível notar através da tabela de riscos uma maior perda de integrantes do grupo de baixa expressão ao longo do tempo, principalmente, entre os períodos de 10 a 20 meses (**Figura 14**).

**Figura 14:** Curva de sobrevida dos participantes do estudo com base na expressão de *AURKA* na medula óssea e sangue periférico



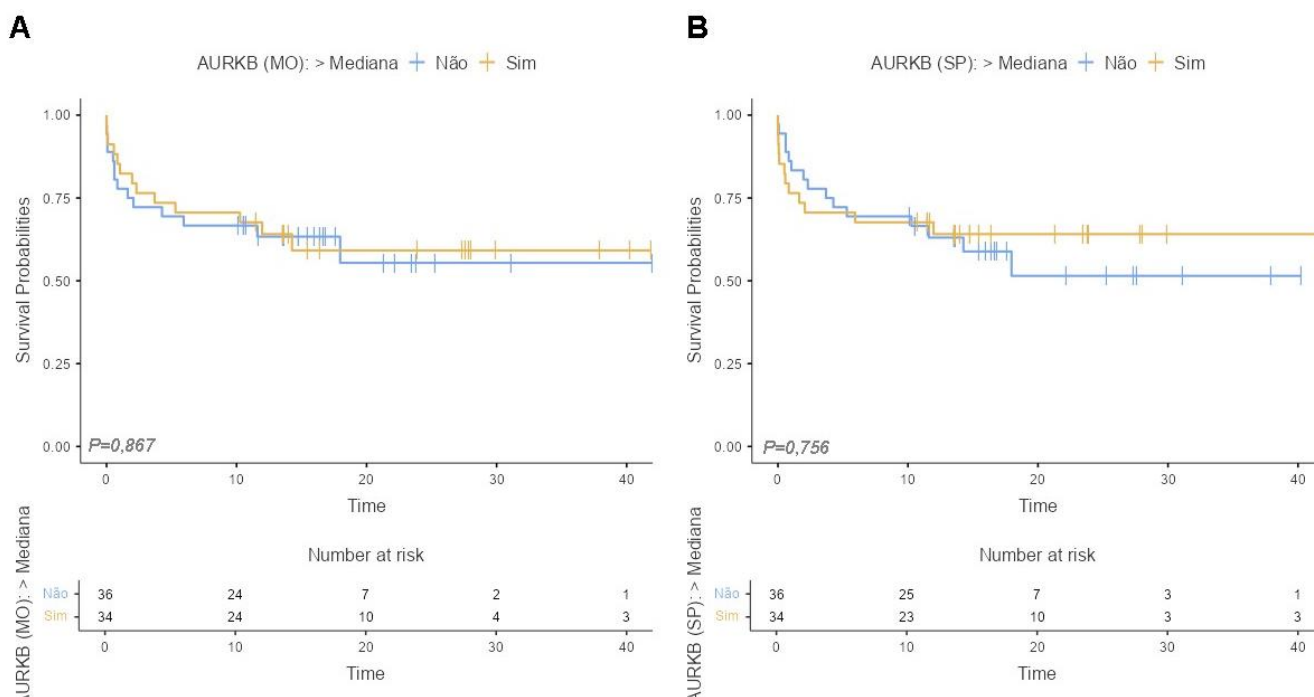
**Legenda:** Representação das curvas de sobrevida levando-se em consideração as expressões de Aurora quinase A (*AURKA*). A linha azul representando os indivíduos que não apresentaram expressão acima da mediana (baixa expressão) e nas linhas amarelas os que apresentaram expressão acima da mediana (alta expressão). (A) Curva de sobrevida de *AURKA* a partir de análises de amostras de medula óssea (MO) (Log-rank:  $\chi^2=5,94$  e  $p=0,015$ ). (B) Curva de sobrevida de *AURKA* a partir de análises de amostras de sangue periférico (SP) (Log-rank:  $\chi^2=1,29$  e  $p=0,255$ ).

Foi possível notar através das curvas um declínio acentuado durante os primeiros meses para os grupos de alta e baixa expressão, tanto na MO quanto em SP, mas que em seguida essas quedas de sobrevida passaram a assumir um aspecto mais gradativo e alcançando estabilidade em até 20 meses de seguimento.

Ao avaliarmos a sobrevida de *AURKB*, tanto as análises de MO, quanto de SP tiveram ausência de significância com  $p$ -valor de 0,867 (Log-rank:  $\chi^2=0,0282$ ) e 0,756 (Log-rank:  $\chi^2=0,0964$ ), respectivamente e em ambas as análises as curvas foram praticamente sobrepostas com o decorrer do tempo. Os dados das tabelas de risco nos mostram uma quantidade de indivíduos em risco de desenvolver o desfecho

que, de certo modo, apresentou-se equilibrada, nos fornecendo a ideia de eventos proporcionalmente semelhantes entre os grupos (**Figura 15**).

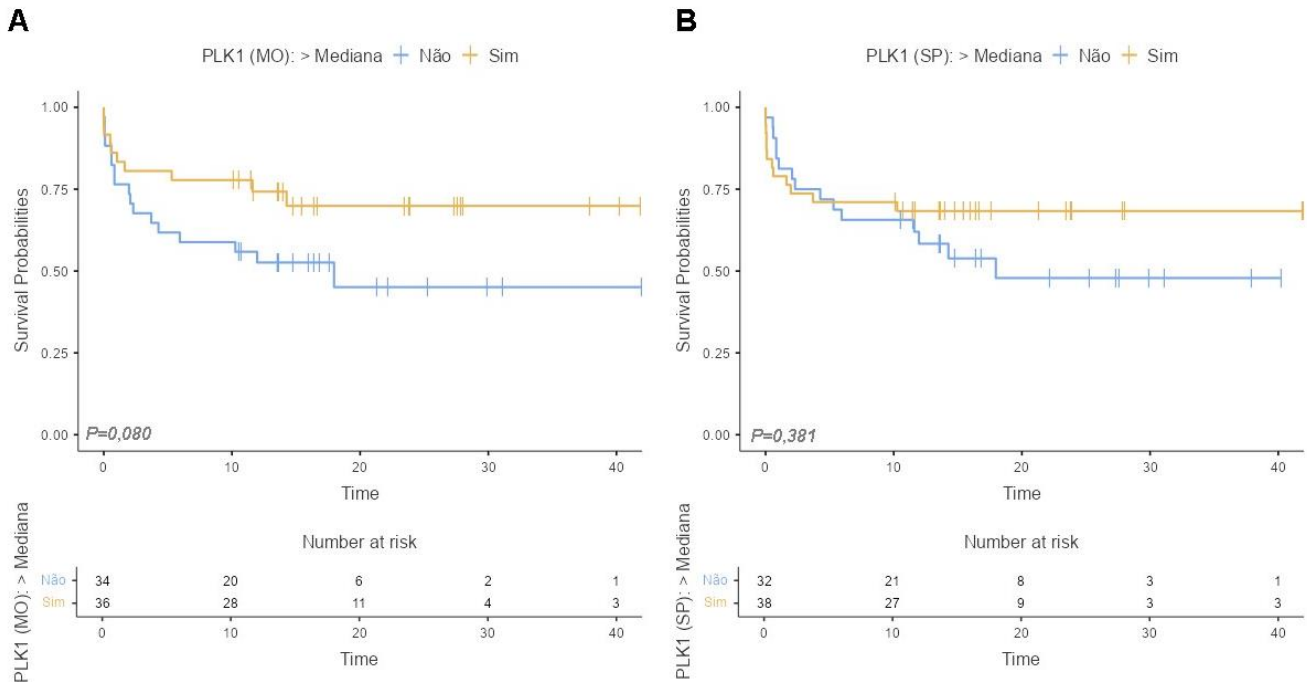
**Figura 15:** Curva de sobrevida dos participantes do estudo com base na expressão de *AURKB* na medula óssea e sangue periférico



**Legenda:** Representação das curvas de sobrevida levando-se em consideração as expressões de Aurora quinase B (*AURKB*). (A) Curva de sobrevida de *AURKB* a partir de análises de amostras de medula óssea (MO) (Log-rank:  $\chi^2=0,0282$  e  $p=0,867$ ). (B) Curva de sobrevida de *AURKB* a partir de análises de amostras de sangue periférico (SP) (Log-rank:  $\chi^2=0,0964$  e  $p=0,756$ ).

As curvas de sobrevida de *PLK1* para as análises de MO e SP também não indicaram significância, em que o *p*-valor em cada tecido foi de 0,880 (Log-rank:  $\chi^2=3,07$ ) e 0,381 (Log-rank:  $\chi^2=0,767$ ), respectivamente. Contudo, avaliando-se a curva visualmente, os indivíduos com expressão de *PLK1* acima da mediana mostraram-se com uma maior probabilidade de sobrevida em comparação com os de baixa expressão, principalmente nas análises de MO. Nas duas curvas foram observados declínios acentuados durante os primeiros meses, seguidos de reduções gradativas até que, em ambos os casos, a estabilização das curvas foi alcançada antes dos 20 meses de seguimento (**Figura 16**).

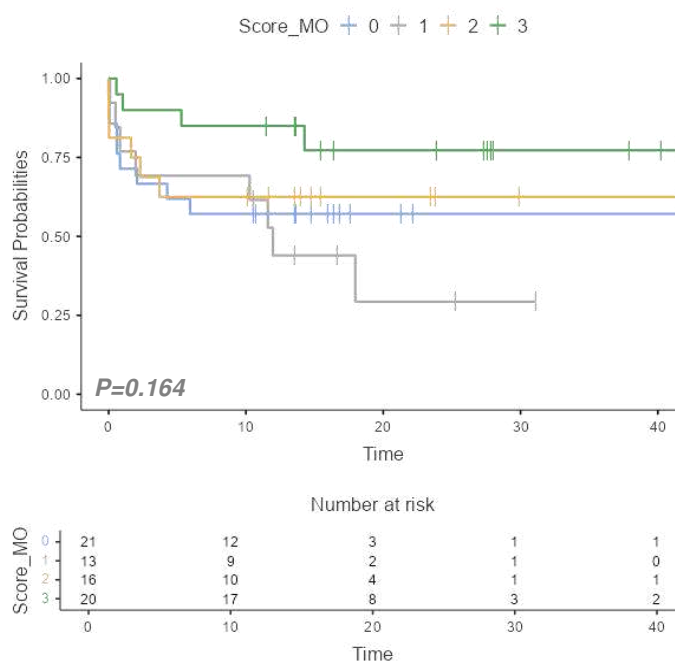
**Figura 16:** Curva de sobrevida dos participantes do estudo com base na expressão de *PLK1* na medula óssea e sangue periférico



**Legenda:** Representação das curvas de sobrevida levando-se em consideração as expressões de *Polo like kinase 1 (PLK1)*. (A) Curva de sobrevida de *PLK1* a partir de análises de amostras de medula óssea (MO) (Log-rank:  $\chi^2= 3,07$  e  $p=0,080$ ). (B) Curva de sobrevida de *PLK1* a partir de análises de amostras de sangue periférico (SP) (Log-rank:  $\chi^2=0,767$  e  $p=0,381$ ).

Devido os melhores resultados de sobrevida terem se mostrado em amostras de MO, resolvemos explorar ainda mais esses dados. Deste modo, elaboramos uma espécie de *score* para estratificar os pacientes em 4 grupos com base na expressão dos genes-alvos: Grupo 0 (não expressou nenhum dos três genes-alvos acima da mediana), grupo 1 (expressou apenas um genes acima da mediana), grupo 2 (expressou dois dos genes acima da mediana) e grupo 3 (expressou os três genes-alvos acima da mediana) (**Gráfico 6**).

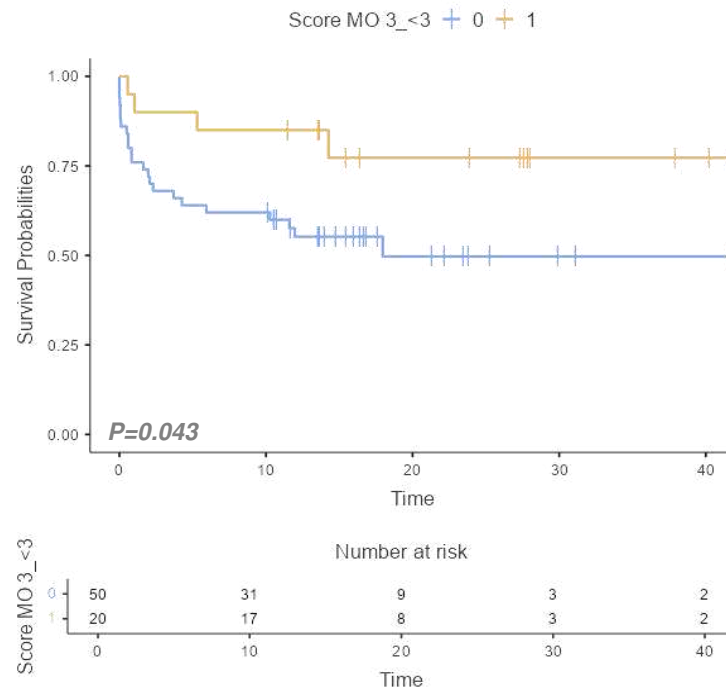
**Gráfico 6:** Curva de sobrevida abordando esquema de *scores* baseado na expressão de *AURKA*, *AURKB* e *PLK1* nas amostras de medula óssea



**Legenda:** Curva de sobrevida elaborada com o esquema de *scores* para a verificação da sobrevida dos pacientes do estudo diante da expressão dos nossos genes-alvo. Linha azul: Representação do grupo 0, que não expressou nenhum dos três genes-alvo acima da mediana. Linha cinza: Representação do grupo 1 que expressou apenas um dos genes acima da mediana. Linha amarela: Representação do grupo 2 que expressou dois dos genes acima da mediana. Linha verde: Representação do grupo 3 que expressou os três genes-alvos acima da mediana.

Apesar dos resultados não se mostrarem estatisticamente significativos (Log-rank:  $\chi^2=5,11$  e  $p=0,164$ ), percebemos que grupo 3 mostrou-se visualmente com uma melhor sobrevida em relação aos demais, onde alcançaram a sua estabilidade com cerca de 12 a 13 meses de seguimento e com uma probabilidade de sobrevida superior a 75%. Devido a isso, tentamos explorar ainda mais essas informações, afinando nossa estratificação para apenas dois grupos: grupo 0 (Indivíduos que não expressaram os três genes-alvos acima da mediana) e grupo 1 (Indivíduos com expressão dos três genes-alvos acima da mediana) (**Gráfico 7**).

**Gráfico 7:** Curva de sobrevida com abordagens aprimoradas do esquema de *scores* baseado na expressão dos genes-alvos nas amostras de medula óssea



**Legenda:** Curva de sobrevida elaborada com o esquema de *scores* para a verificação da sobrevida dos pacientes do estudo diante da expressão dos nossos genes-alvos. Linha azul: Representação do grupo 0, em que não houve expressam dos três genes acima da mediana. Linha amarela: Representação do grupo 1 que expressou os três genes-alvos acima da mediana

Após essa segunda análise, as curvas mostram-se estatisticamente significativas (Log-rank:  $\chi^2=4,09$  e  $p=0,043$ ), ressaltando claramente uma melhora de sobrevida em meio a esses pacientes e nos fazendo supor que a presença desses genes na medula óssea devem estar associados a algum mecanismo de modulação biológica que favoreceu a sobrevida dos indivíduos desses grupos. Porém, ao realizarmos análises de regressão para a obtenção do *Hazard Ratio* desses dados, não foi obtida uma significância estatística ( $p=0,053$ ).

Por fim, foi realizada a Regressão de Cox (univariada e multivariada) para verificar os possíveis efeitos de cada um dos nossos genes-alvo com relação ao tempo até a ocorrência do desfecho (óbito) dentro da coorte deste estudo. A tabela a seguir (**Tabela 10**) apresenta dos resultados referentes as análises da Regressão de Cox univariada e multivariada.

**Tabela 10:** Resultados das regressões de Cox univariável e multivariável

Variável Dependente	Análise Univariável			Análise Multivariável		
	HR	IC	P-valor	HR	IC	P-valor
AURKA (MO)	0.89	0.81-0.97	0.007	0.81	0.66-0.99	0.039
AURKA (SP)	0.92	0.82-1.04	0.187	0.97	0.87-1.08	0.544
AURKB (MO)	0.97	0.90-1.05	0.459	1.06	0.94-1.19	0.345
AURKB(SP)	0.88	0.80-0.98	0.018	0.87	0.77-0.98	0.021
PLK1 (MO)	0.91	0.83-1.00	0.052	1.04	0.91-1.19	0.559
PLK1(SP)	0.96	0.90-1.02	0.211	0.98	0.91-1.05	0.505

**Legenda:** *AURKA*: Aurora quinase A; *AURKB*: Aurora quinase B; *PLK1*: *Polo like kinase 1*; MO: medula óssea; SP: Sangue periférico; HR: *Hazard Ratio*; IC: Intervalo de confiança.

Com base nos resultados obtidos, observamos que em meio a nossa coorte, a expressões de *AURKA* em MO estava associada a efeitos mais protetores, cujo percentual de redução de riscos de desenvolvimento do evento (óbito) foi de cerca de 11% na análise univariada e de 19% na multivariada. De forma semelhante, a expressão de *AURKB* em SP também demonstrou uma associação estatisticamente significativa, com uma redução de risco, de cerca de 12% na análise univariada e de 13% na multivariada. Já as demais variáveis analisadas, não foram estatisticamente relevantes.

## 6. DISCUSSÃO

No contexto do câncer, não há como nos desvencilharmos dos chamados “*hallmarks of cancer*” (marcas do câncer), em que são listadas como aspectos fundamentais para o desenvolvimento tumoral, dentre as quais podemos citar a imortalidade replicativa, sustentação da sinalização replicativa, evasão de supressores de crescimento, resistência a morte celular, instabilidade genômica, entre outras (HANAHAN, 2022).

As leucemias são umas das principais neoplasias dos tecidos hematopoiéticos, caracterizada pela ocorrência de diversas mutações nas células-tronco desses tecidos, gerando alterações, principalmente, quantitativas dos elementos figurados sanguíneos (NEMKOV; D'ALESSANDRO; REISZ, 2018). Dentre elas, a LMA é uma das mais agressivas e heterogêneas em comparação com as demais leucemias, associando-se à expansão de células progenitoras mieloides de forma desordenada (SHALLIS *et al.*, 2019; POLLYEA *et al.*, 2021).

No presente estudo, analisamos uma coorte de pacientes com LMA, que se apresentou com média global de idade de 52,2 anos e com predominância de casos no sexo masculino (52,8%). Stabellini *et al.* (2022) avaliaram a diferença entre os sexos na LMA e identificaram um maior percentual de homens acometidos (57,4%), bem como alegaram que a mediana da idade geral dos pacientes foi de 65 anos, com intervalo interquartil de 53 a 74 anos. Yi *et al.* (2020) também relataram uma maior quantidade de casos de LMA em homens e verificaram uma idade global dos portadores na faixa dos 50 anos ou mais.

Ao avaliarmos as ocupações laborais dos pacientes, a mais frequente foi “agricultor(a)”. Trabalhadores rurais são potencialmente expostos a agrotóxicos, tornando-os um grupo de risco devido a exposição constante a esses compostos carcinogênicos (BURNS; JUBERG, 2021). Ferri *et al.* (2018) estudaram 116 pacientes com leucemias agudas infantis e apontaram associações significativas entre a leucemogênese e o uso materno de inseticidas e rodenticidas domiciliares durante a gestação, bem como a casos de residências próximas (<100m) de campos tratados com pesticidas. Rafeenia *et al.* (2022), avaliaram 109 casos de LMA quanto a exposição a pesticidas organoclorados (PO) e identificaram que os níveis séricos de PO eram maiores entre os enfermos do que entre os indivíduos saudáveis. Já nos estudos de Park *et al.* (2023), em que analisaram 376 portadores de LMA, encontraram associações positivas entre os casos de indivíduos do sexo masculino com essa doença e a exposição a pesticidas. Além disso, alegaram relação entre portadores de LMA com idades superiores ou iguais a 60 anos não apenas com as exposições a essas substâncias, mas também a ocupações laborais atreladas a indústrias de pesticidas.

A LMA possui características hematológicas típicas como a redução nos níveis de hemoglobina, alterações numéricas em leucócitos, principalmente, com ocorrências de leucocitose, trombocitopenia e a presença de células blásticas na MO e SP (NARAYANAN; WEINBERG, 2019; DÖHNER *et al.*, 2022). Tais achados foram identificados na maioria dos nossos pacientes, em que 87,1% possuíam anemias, uma fração predominante apresentavam alterações quantitativas leucocitárias; quadros de leucopenias, leucocitoses e até mesmo alguns casos de hiperleucocitoses (WBC >100.000/mm<sup>3</sup>); 90% tinham plaquetopenias, 65,7% possuíam blastos circulantes e a grande maioria tinham esses mesmo tipos celulares na MO em elevados percentuais.

Em nossa coorte, os marcadores imunofenotípicos mais frequentes foram CD13, CD33, CD34, CD45, CD64, CD117, MPO e HLA-DR. A identificação de antígenos de superfície celular, nos quais podem atuar como marcadores a serem identificados por testes imunofenotípicos, são uma importante ferramenta para o direcionamento diagnóstico da LMA (KHALIDI *et al.*, 1998; THOMAS; MAJETI, 2017; BASHARAT *et al.*, 2019; HAFERLACH; SCHMIDT, 2020). Com base nisso, tornou-se possível realizar associações quanto aos níveis desses biomarcadores e alterações genéticas presentes na LMA, tais como a fusão *RUNX1::RUNX1T1* que é associada ao aumento de CD34, CD 117, CD19, CD13, CD33, CD38, CD56, HLA-DR e MPO, a fusão *PML::RARA* que relaciona-se a aumentos de CD2, CD13, CD19, CD33 e CD34, bem como a redução de CD7, CD11b e CD14, a fusão *CBFB::MYH11* relacionada com os aumento de CD14, CD15, CD33, CD34, CD64, CD117 e HLA-DR, as mutações em *FLT3* com a elevação de CD25, CD33, CD34, CD99 e CD123, mutações me *NPM1* que associa-se a elevação de CD33, CD117 e CD123 e com reduções de CD13, CD15, CD34 e CD64, entre outras alterações (PESSOA *et al.*, 2023).

Em nosso estudo tínhamos o intuito de verificar os níveis de expressão de *AURKA*, *AURKB* e *PLK1* nesse grupo de pacientes com LMA. Porém, 7 indivíduos não amplificaram *AURKA* e/ou *PLK1* em nossa coorte. Essas quinases possuem relevantes papéis na divisão celular, tais como a maturação e regulação centrossomal e de microtúbulos, formação do fuso mitótico, estabilização e segregação cromossômica e a citocinese (LENS; VOEST; MEDENA, 2010; MACHADO *et al.*, 2021; KIM, 2022). Portanto, notamos que os parâmetros hematológicos dos pacientes com ausência de amplificação refletiam essa ausência, sendo marcados

predominantemente por anemias, leucopenias, plaquetopenias, ausência de blastos periféricos e medulas óssea hipoproliferativas.

Ao longo da leucemogênese as células tumorais são capazes de favorecer sua sobrevivência e desenvolvimento modificando o microambiente da MO, tornando-o mais hipóxico, estimulando a secreção de moléculas pró-leucêmicas (por exemplo, citocinas, quimiocinas e fatores de crescimentos) e, principalmente, bloqueando da hematopoese normal. Com isso, as células da MO assumem um estado quiescente, com redução da sua capacidade proliferativa e metabólica (BATSIVARI; GREY; BONNET, 2021; URS; GODA; KULKARNI, 2024).

Dentre esses mecanismos de modulação no microambiente tumoral, podemos salientar as alterações no nicho endosteal, que ocorre principalmente mediante modulações na diferenciação osteogênica de células-tronco mesenquimais. Em condições normais, essas células podem se diferenciar em adipócitos, osteoblastos e condrócitos, que liberam citocinas e fatores de crescimento relevantes para a sobrevivência, proliferação e manutenção das células-tronco hematopoiéticas (HSC), tais como o Ligante de quimiocina com motivo CXC 12(CXCL12), Interleucina 12 (IL-12), Fator estimulante de colônia de granulócitos (G-CSF), Fator estimulante de colônia de granulócitos e macrófagos (GM-CSF), citocinas, dentre outras. Portanto, as células leucêmicas desregulam essa diferenciação, podendo tanto estimulá-la, gerando células com funcionalidade ineficiente para a hematopoese, como também podem bloquear esse mecanismo (BATSIVARI; GREY; BONNET, 2021; URS; GODA; KULKARNI, 2024).

Uma das formas de regular negativamente a diferenciação osteogênica ocorre através da liberação de exossomos que irão promover a redução de fatores de suporte que são importantes para as HSC, como CXCL12, Interleucina 7 (IL-7) e Fator de crescimento semelhante à insulina 1(IGF1), entre outros (KUMAR *et al.*, 2017; AMIN *et al.*, 2022). Além disso, as células leucêmicas também podem gerar a diminuição dos osteoblastos maduros e dos vasos sanguíneos endosteais, promovendo a redução de HSC funcionais (DUARTE *et al.*, 2018; URS; GODA; KULKARNI, 2024).

Além disso, podem ainda ocorrer modificações na morfologia das células adiposas, que podem sustentar a necessidade metabólica das células leucêmicas,

induzir maiores ocorrências de lipólise devido a limitações nas cavidades medulares e promover mecanismos de escape dos sistema imunológico (BATSIVARI; GREY; BONNET, 2021; URS; GODA; KULKARNI, 2024).

Outra forma das células leucêmicas modularem o microambiente tumoral, pode ocorrer devido ao aumento de vasos sanguíneos sinusoidais na MO, nos quais apresentam uma maior permeabilidade devido, principalmente a um aumento de seguimento da via do óxido nítrico, promovendo um maior aporte nutritivo para as células tumorais, bem como gerando uma remodelação vascular para que o microambiente se torne mais hipóxico (PASSARO *et al.*, 2017; URS; GODA; KULKARNI, 2024). Com a MO tornando-se mais hipóxica, ocorre uma diminuição do funcionamento e proliferação das HSC normais e um maior favorecimento das células neoplásicas que são mais adaptadas a ambientes com baixas concentrações de oxigênio (ABDUL-AZIZ *et al.*, 2018).

Nesse contexto em que ocorre um bloqueio da hematopoiese normal, diversos genes que, em condições fisiológicas, são promotores do ciclo celular, podem ter sua expressão suprimida, favorecendo a substituição progressiva das células hematoieticas sadias por células neoplásicas, que são sustentadas por um acúmulo de mutações somáticas (CHENG *et al.*, 2015; ENNIS *et al.*, 2023).

Em nosso estudo identificamos uma hipoexpressão de *AURKA* na MO em comparação com os controles saudáveis ( $p=0,0254$ ), nos sugerindo a hipótese de que em nossa coorte, essa hipoexpressão possa estar intimamente relacionada com a supressão proliferativa das células hematológicas normais, em decorrência da expansão clonal de células neoplásicas. Yang *et al.* (2023) realizaram análises quanto a expressão de *AURKA* em 27 tipos distintos de cânceres, entre eles a LMA, e observaram que esse gene se mostrou hiperexpresso entre as neoplasias avaliadas, sendo a LMA a única com hipoexpressão.

Fortalecendo ainda mais essa teoria, nossos dados também nos mostraram, através dos testes de correlação de Spearman, que a expressão de *AURKA*, tanto em SP quanto em MO apresentaram-se inversamente proporcionais à quantidade de blastos medulares, ou seja, conforme ocorre a expansão clonal de células leucêmicas, especialmente com ausência da atividade de *AURKA*, menor é a quantidade de células expressando corretamente essa enzima. Do mesmo modo, em

SP a expressão desse gene também se correlacionou negativamente com a contagem de leucócitos e se correlacionaram positivamente com os níveis de hemoglobina e contagem de plaquetas.

Há outras possibilidades justificáveis para a hipoexpressão de *AURKA*, que dizem respeito às células promoverem a regulação negativa dessa enzima por processos de ubiquitinação através de regiões dessa proteína chamada de D-box (*Destruction boxes*) que são reconhecidas por APC/C em parceria com o fator de especificidade CDC 20 homólogo 1 (Cdh1), ou ainda pela degradação via Cdc4/Fbxw7 e/ou pela ação da proteína interativa aurora A1 (GOLDENSON; CRISPINO, 2014).

A hipoexpressão de *AURKA* pode ainda ser resultado da heterogeneidade da LMA diante da nossa coorte, pois temos uma grande variedade de subtipos de LMA compondo nosso estudo, podendo refletir nos padrões de expressão dessa enzima. Walsby *et al.* (2008) observaram os níveis de expressão de auroras quinases em diferentes subtipos de LMA, notando diferenças quanto a esses níveis, ressaltando a LPA como a que possuiu melhores expressões e a leucemia mielomonocítica aguda como a que apresentou os menores índices em relação aos demais tipos.

Vale ainda salientar, que tratando-se de *AURKA*, esta pode se apresentar sob duas isoformas alternativas de clivagem e poliadenilação de seu mRNA, sendo uma curta e uma longa. A isoforma longa tornou-se alvo de estudos devido a existência de indícios de sua regulação mediante ação de micro-RNA (miRNA), sendo o principal deles o miRNA Let-7. Esses miRNAs possuem suas funções intimamente relacionadas com o controle da proliferação e diferenciação de células-tronco, especialmente, as hematopoiéticas (YAZARLOU; KADKHODA; GHAFOURI-FARD, 2021; MA *et al.*, 2021).

Desta forma o miRNA Let-7 pode regular os mecanismos de tradução de *AURKA*, porém, não a nível de iniciação, mas sim no decorrer do alongamento do mRNA, possibilitando que este seja posteriormente degradado. Tais mecanismos ocorrem normalmente nas fases G1 e S do ciclo celular, gerando baixos níveis de *AURKA*, porém, com início da fase G2 ocorre a saturação de fatores que impedem a sua ligação com a isoforma longa, promovendo a elevação de *AURKA*. Quando há alterações que geram a superexpressão de miRNA Let-7 na fase G2, podem haver reduções nos níveis de *AURKA* (CACIOPPO *et al.*, 2023; CACIOPPO *et al.*, 2024).

Deste modo, a ação de miRNA Let-7 poderia ser mais uma justificativa para a hipoexpressão de *AURKA* evidenciada em nosso estudo.

Já no que se refere a *AURKB*, esta não apresentou significância estatística dentro da nossa coorte com LMA em comparação com os controles saudáveis. Apesar disso, os estudos de Carlos *et al.* (2020) com amostras de pacientes com LLA, identificaram um aumento na expressão de *AURKB* em comparação com linfócitos normais. Moreira-Nunes *et al.* (2020), ao avaliarem amostras de pacientes com LLA pediátrico, não apenas identificaram uma hiperexpressão de *AURKA* e *AURKB*, como também observaram que *AURKB* se mostrou superior a expressão de *AURKA*.

Entre os três genes analisados, o que mais se destacou foi *PLK1*. Em nosso estudo sua expressão foi estatisticamente significativa em comparação ao grupo controle tanto na MO ( $p < 0,0001$ ), quanto em SP ( $p = 0,0144$ ), cujos níveis na MO se revelaram mais relevante. Alterações associadas a essa enzima têm se mostrado relevantes quanto a sua influência na carcinogênese, especialmente devido a ocorrência de alterações que promovem sua hiperexpressão se associarem a casos de LMA (RENNER *et al.*, 2009; WANG *et al.*, 2015; BRANDWEIN, 2015).

Devidos os resultados promissores de *PLK1*, nos questionamos quanto a probabilidade de sua relevância como biomarcador de ocorrência da LMA. Os biomarcadores são moléculas medidas com base em suas expressões e/ou concentrações, visando sempre uma maior confiabilidade e especificidade aplicativa. Para isso, é necessária uma série de comparações atreladas aos seus níveis diante de um estado de doença e em um estado dentro da normalidade (TANG; YUAN; CHEN, 2022).

Por essa razão, fizemos ainda outras análises associadas a *PLK1*, em que verificamos a possibilidade de existirem diferenças quanto ao gênero e as estratificações de risco de LMA segundo critérios da ELN. *PLK1* se apresentou hiperexpressa em ambos os sexos e sem significância estatística quanto a diferenças entre eles. Essa quinase também não revelou discrepâncias entre as estratificações de riscos. Tais dados somados a não significância das correlações de Spearman atreladas a idade, nos fazem crer que *PLK1* possui um forte potencial como marcador da presença da doença independente de características ou até mesmo como molécula alvo para terapias.

Há diversos estudos na literatura que buscam por inibidores eficientes de *PLK1*. Münch *et al.* (2015) realizaram testes com Volacertibe e BI2536 em células leucêmicas da MO, em que ambos os inibidores são competitivos por sítios de ATP em *PLK1* e notaram a ocorrência da parada mitótica com promoção da apoptose. Resultados semelhantes foram obtidos por Scharow *et al.* (2015) em seus estudos com células neoplásicas realizando análises quanto a eficiência de Poloxina, que se trata de um inibidor com foco em regiões PBD da *PLK1*, em que o medicamento surtiu efeito mesmo em poucas concentrações nanomolares. Okabe *et al.* (2015) testaram os efeitos de Rigocertibe em células leucêmicas cromossomo *Philadelphia* positivas, em que observaram uma inibição da proliferação celular acrescida de estimulação da apoptose, além da ativação de moléculas pró-apoptóticas, como a Caspase 3.

Apesar de *PLK1* ter se mostrado hiperexpressa em meio aos nossos pacientes, os testes de correlação nos mostraram uma possível relação inversamente proporcional aos blastos medulares. Tais resultados podem inicialmente parecer contraintuitivos se focarmos apenas no papel dessa molécula na divisão celular. Na realidade, diante dos nossos resultados, que sugerem o cenário de substituições celulares a nível medular, característica essa que é comum ao longo do percurso da doença, os resultados dos testes de correlação não parecem tão absurdos.

Não é incomum que na LMA, em meio ao acúmulo blastos leucêmicos na MO, exista uma parcela significativa de células que se encontram com bloqueios na sua diferenciação, não se apresentando com ciclo celular ativo (STUBBINS; KARSAN, 2021; SUN *et al.*, 2023). Com base nisso, apesar de *PLK1* estar hiperexpressa em nossa coorte, sua expressão é um reflexo da presença majoritária de populações celulares leucêmicas no tecido medular que ainda possuem seu ciclo celular ativo. Tais células podem estar utilizando desta quinase para controlar o seu ciclo, sustentar a proliferação e até mesmo para executar mecanismos de escapes da morte celular. Portanto, quanto maior a quantidade de células com bloqueios na diferenciação, menor é a representatividade de células ativas nesse tecido, justificando-se os dados da correlação.

Vale salientar que *PLK1* pode ter sua expressão regulada positivamente por outras moléculas além do complexo AURKA/BORA. Uma dessas formas ocorrem devidos sua região promotora apresentar sítios de ligação para os fatores de

transcrição FOXM1 e E2F, nos quais são responsáveis por promover o aumento de mRNA de *PLK1* (WENG NG *et al.*, 2016) Além disso, há indícios que no sítio de ativação T-loop em *PLK1* há uma região consenso de fosforilação para *AURKA* e *AURKB*. Com isso *AURKB* pode promover a ativação de *PLK1* para que atuem em conjunto na estabilização da ligação entre os microtúbulos e cinetócoro (CARMENA *et al.*, 2012; SHAO *et al.*, 2015; BARBOSA; SUNKEL; CONDE, 2022).

Por fim, ao avaliarmos taxas de mortalidade do nosso estudo identificamos um índice de 35,5% óbitos, dentre os quais a maioria eram indivíduos do sexo masculino. Não foi possível calcular a mediana de sobrevida dos nossos pacientes, uma vez que não foi alcançado 50% dos eventos (óbitos), o que se trata de uma boa notícia, pois mais da metade dos participantes deste estudo mantiveram-se vivos. No ano de 2019 as previsões para as taxas de mortalidade de LMA apresentou um percentual de cerca de 62% dos óbitos por leucemias e representou umas das 5 piores sobrevidas por tipo de câncer nos Estados Unidos (SHALLIS *et al.*, 2019).

Realizamos análises de sobrevida quanto a expressão de *AURKA*, *AURKB* e *PLK1* em meio a nossa coorte e vimos que os participantes que apresentaram os três genes acima da mediana possuíam uma sobrevida maior ( $p=0,043$ ), nos fazendo refletir que em nossa coorte a presença desses genes estava mais associada a melhores prognósticos.

Além disso, vimos que a presença de *AURKA* em MO acima da mediana resultou em uma melhora significativa na sobrevida dos pacientes ( $p=0,015$ ), enquanto que em SP ( $p=0,255$ ) não houve significância, embora as curvas mostraram-se melhores entre os indivíduos com expressões acima do ponto de corte. Além disso, na regressão de Cox este foi o gene em MO se mostrou como o fator mais protetor dentre os avaliados (HR univariável=0,89; HR multivariável=0,81). Nos estudos de Borges *et al.* (2018) em que analisaram os níveis de expressão de *AURKA* em pacientes com SMD, relataram que os pacientes com expressão abaixo do ponto de corte tiveram menor sobrevida global em comparação aos que estavam acima do ponto de corte. Já Puccio *et al.* (2024), avaliaram dados genéticos e clínicos de amostra de pacientes com mieloma múltiplo providos pela base de dados *Relating Clinical Outcomes in Multiple Myeloma to Personal Assessment of Genetic Profiles* (CoMMpass) quanto a expressão de *AURKA*, em que relataram não apenas que as

maiores expressões desse gene associaram-se com marcadores da doença mais agressiva, como também com reduções da probabilidade de sobrevida global e aumento da progressão da doença.

Os dados de sobrevida associados a *AURKA* corroboram com nossa teoria de que a hipoexpressão de *AURKA* possa estar mais relacionada com a supressão proliferativa das células medulares normais por uma repopulação de células neoplasias, do que com as alterações nas células leucêmicas propriamente ditas. Isto, pois os indivíduos com essa quinase acima da mediana, provavelmente possuíam um número maior de células sadias na medula óssea que conseguiram realizar a hematopoese de forma mais eficiente. Yang *et al.* (2023) identificaram em seus estudos com diferentes neoplasias, dentre elas a LMA, que ao verificarem o valor prognóstico da expressão de *AURKA*, esta associou-se à melhores prognósticos. Apesar disso, dados da literatura apontam que diante de uma hiperexpressão de *AURKA* em células leucêmicas se correlacionam com alterações citogenéticas desfavoráveis (LUCENA-ARAÚJO *et al.*, 2011).

As curvas de Kaplan-Meier quanto a expressão de *AURKB* em nosso estudo não apresentaram significância estatísticas, porém, os resultados gerados pelos de regressão mostraram que *AURKB* em SP obteve significância com um *Hazard ratio* que lhe aponta como um fator protetor (HR univariável=0,88; HR multivariável=0,87), enquanto que em MO não foi evidenciada significância. Borges *et al.* (2018) avaliaram a sobrevida de pacientes com SMD diante da expressão de *AURKB*, em que relataram que os indivíduos com menores expressões associaram-se a uma menor sobrevida. Em contrapartida, Li, Cheng e Zhang (2024) verificaram as expressões de *AURKB* em múltiplos cânceres e alegaram que o aumento na expressão de *AURKB* associou-se à sobrevidas desfavoráveis em cerca de onze neoplasias distintas, que incluem sarcomas, mesotelioma, adenocarcinoma pulmonar e pancreático, carcinomas renais de células pilares e de células claras, carcinomas adrenocorticais, carcinomas hepatocelulares, gliomas e mesoteliomas.

Os dados de sobrevida de *PLK1*, apesar da ausência de significância tanto para as amostras de MO quanto de SP, nos revelaram pela curva de Kaplan-Meier que indivíduos com expressão acima do ponto de corte possuíam uma melhoria na sobrevida. Apesar disso, nos estudos de Wang *et al.* (2015) com LMA pediátrica em

que avaliaram a expressão de *PLK1*, observaram que os indivíduos que possuíam maiores expressões desse gene associaram-se a menores sobrevidas. De mesmo modo, nas pesquisas de Jiawai *et al.* (2022) avaliaram que *PLK1* estava associada sobrevidas desfavoráveis em casos de neoplasias mamária.

## 7. CONCLUSÃO

Através deste estudo pudemos caracterizar um panorama novo diante da atuação das proteínas Aurora e Polo quinases na leucemogênese. Uma vez que essas proteínas comumente associam-se a mecanismos de controle do ciclo e proliferação celular em estados fisiológicos e que diante da ocorrência de alterações em suas vias elas podem vir a favorecer o desenvolvimento tumoral.

Muitos estudos apontam a hiperativação de Aurora quinases em casos de LMA, por vezes até se associando a piores prognósticos, mas em nossa pesquisa, não apenas vimos que a *AURKB* se apresentou com níveis de expressão semelhantes aos controles negativos, indicando um papel menos evidente no contexto analisado, como também que *AURKA* encontrava-se hipoexpressa, o que, associando-se aos testes de correlação e sobrevida, sugerem a ocorrência de uma possível associação entre a sua hipoexpressão e a interrupção da hematopoese normal devido a infiltrações leucêmicas ocasionadas por modificações no microambiente tumoral. Com isso, as células neoplásicas perdem sua capacidade de manter o ciclo celular e, conseqüentemente a divisão celular por mecanismos tradicionais, tal como a via replicativa que envolve a *AURKA*.

As células neoplásicas que não se encontram em estado de quiescência, recorrem a mecanismos alternativos para sustentar sua sobrevivência e replicação como, por exemplo, através da hiperatividade de *PLK1*, como foi vista em nossa coorte, além de se mostrar um potencial biomarcador da presença dessa doença, independentemente de aspectos como sexo, estratificação de risco ou idade, e reforçando seu potencial como alvo terapêutico.

Apesar disso, não podemos negligenciar a possibilidade de modulação dessas quinases por outras moléculas pertencentes ao ciclo celular, cujas regulações podem promover sua ativação ou inibição, bem como regulações ao longo dos processos de tradução mediante ação de miRNA ou haverem diferenças nos níveis de expressão devido aos diferentes tipos de LMA.

Esses achados reforçam a importância da avaliação integrada dos fatores moleculares e hematológicos na LMA, pois nos mostra o quão complexas são as quinases e as vias para favorecer a leucemogênese. Isso, acrescido da grande

heterogeneidade e magnitude da LMA, nos sugere a necessidade de estudos mais aprofundados que possam esclarecer ainda mais tanto sobre o papel dessas moléculas nas leucemias, como também sobre o papel do microambiente tumoral na modulação desses elementos abrindo caminhos promissores para o desenvolvimento de novas estratégias diagnósticas e terapêuticas mais direcionadas.

## 8. REFERÊNCIAS

- ABDUL-AZIZ *et al.*. HIF1  $\alpha$  drives chemokine factor pro-tumoral signaling pathways in acute myeloid leukemia. **Oncogene**, [S.L.], v. 37, n. 20, p. 2676-2686, 28 fev. 2018.
- ALAGGIO, Rita *et al.*. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: lymphoid neoplasms. **Leukemia**, [S.L.], v. 36, n. 7, p. 1720-1748, 22 jun. 2022. Springer Science and Business Media LLC.
- AL-HARBI, Sayer *et al.*. An update on the molecular pathogenesis and potential therapeutic targeting of AML with t(8;21)(q22;q22.1);RUNX1-RUNX1T1. **Blood Advances**, [S.L.], v. 4, n. 1, p. 229-238, 14 jan. 2020. American Society of Hematology.
- AMIN *et al.*. Role of Acute Myeloid Leukemia (AML)-Derived exosomes in tumor progression and survival. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [S.L.], v. 150, jun. 2022.
- ANAND, Shubha; PENRHYN-LOWE, Sue; VENKITARAMAN, Ashok R. AURORA-A amplification overrides the mitotic spindle assembly checkpoint, inducing resistance to Taxol. **Cancer Cell**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 51-62, jan. 2003.
- APPELBAUM, Frederick R. *et al.*. Age and acute myeloid leukemia. **Blood**, [S.L.], v. 107, n. 9, p. 3481-3485, 1 maio 2006. American Society of Hematology.
- ARBER, Daniel A. *et al.*. International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. **Blood**, [S.L.], v. 140, n. 11, p. 1200-1228, 15 set. 2022.
- ARBER, Daniel A. *et al.*. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. **Blood**, [S.L.], v. 127, n. 20, p. 2391-2405, 19 maio 2016.
- ASTERITI, Italia Anna *et al.*. Aurka nuclear localization is promoted by TPX2 and counteracted by protein degradation. **Life Science Alliance**, [S.L.], v. 6, n. 5, 16 fev. 2023.
- ASTERITI, Italia Anna; MATTIA, Fabiola de; GUARGUAGLINI, Giulia. Cross-Talk between AURKA and Plk1 in Mitotic Entry and Spindle Assembly. **Frontiers In Oncology**, [S.L.], v. 5, 23 dez. 2015.
- BARBOSA, João; SUNKEL, Claudio E.; CONDE, Carlos. The Role of Mitotic Kinases and the RZZ Complex in Kinetochore-Microtubule Attachments: doing the right link. **Frontiers In Cell And Developmental Biology**, [S.L.], v. 10, p. 1-27, 28 jan. 2022.
- BASHARAT, Maria *et al.*. Immunophenotypic characterisation of morphologically diagnosed cases of Acute Myeloid Leukaemia (AML). **Pakistan Journal Of Medical Sciences**, [S.L.], v. 35, n. 2, p. 470-476, 20 mar. 2019.
- BATSIVARI, Antoniana; GREY, William; BONNET, Dominique. Understanding of the crosstalk between normal residual hematopoietic stem cells and the leukemic niche in acute myeloid leukemia. **Experimental Hematology**, [S.L.], v. 95, p. 23-30, mar. 2021.
- BENNETT, J. M. *et al.*. Proposals for the Classification of the Acute Leukaemias French-American-British (FAB) Co-operative Group. **British Journal Of Haematology**, [S.L.], v. 33, n. 4, p. 451-458, ago. 1976.
- BORAH, Naheed Arfin; REDDY, Mamatha M.. Aurora Kinase B Inhibition: a potential therapeutic strategy for cancer. **Molecules**, [S.L.], v. 26, n. 7, p. 1-30, 1 abr. 2021.
- BORGES, Daniela de Paula *et al.*. Prognostic importance of Aurora Kinases and mitotic spindle genes transcript levels in Myelodysplastic syndrome. **Leukemia Research**, [S.L.], v. 64, p. 61-70, jan. 2018.
- BRANDWEIN, Joseph M.. Targeting polo-like kinase 1 in acute myeloid leukemia. **Therapeutic Advances In Hematology**, [S.L.], v. 6, n. 2, p. 80-87, 25 fev. 2015.
- BRUINSMA, Wytse *et al.*. Bora and Aurora-A continue to activate Plk1 in mitosis. **Journal Of Cell Science**, [S.L.], v. 127, n. 4, p. 801-811, 1 jan. 2014.
- BRUNNER, Andrew M. *et al.*. Alisertib plus induction chemotherapy in previously untreated patients with high-risk, acute myeloid leukaemia: a single-arm, phase 2 trial. **The Lancet Haematology**, [S.L.], v. 7, n. 2, p. 122-133, fev. 2020.

- BRUNNING, Richard D. Classification of acute leukemias. **Seminars In Diagnostic Pathology**, [S.L.], v. 20, n. 3, p. 142-153, ago. 2003.
- BURNS, Carol J.; JUBERG, Daland R.. Cancer and occupational exposure to pesticides: an umbrella review. **International Archives Of Occupational And Environmental Health**, [S.L.], v. 94, n. 5, p. 945-957, 25 jan. 2021.
- CACIOPPO, Roberta *et al.*. Differential translation of mRNA isoforms underlies oncogenic activation of cell cycle kinase Aurora A. **Elife**, [S.L.], v. 12, p. 1-30, 29 jun. 2023.
- CÁRCER, Guillermo de. The Mitotic Cancer Target Polo-Like Kinase 1: oncogene or tumor suppressor?. **Genes**, [S.L.], v. 10, n. 3, p. 1-14, 11 mar. 2019.
- CARLOS, Jorge Antonio Elias Godoy *et al.*. Reversine exerts cytotoxic effects through multiple cell death mechanisms in acute lymphoblastic leukemia. **Cellular Oncology**, [S.L.], v. 43, n. 6, p. 1191-1201, 28 ago. 2020. ASTERITI, Italia Anna; MATTIA, Fabiola de; GUARGUAGLINI, Giulia. Cross-Talk between AURKA and Plk1 in Mitotic Entry and Spindle Assembly. **Frontiers In Oncology**, [S.L.], v. 5, n. 283, p. 1-9, 23 dez. 2015.
- CARMENA *et al.*. The chromosomal passenger complex (CPC): from easy rider to the godfather of mitosis. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, [S.L.], v. 13, n. 12, p. 789-803, 23 nov. 2012.
- CARVALHAL, Sara *et al.*. The nucleoporin ALADIN regulates Aurora A localization to ensure robust mitotic spindle formation. **Molecular Biology Of The Cell**, [S.L.], v. 26, n. 19, p. 3424-3438, out. 2015.
- CASTILLA, Lucio H. *et al.*. The fusion gene Cbfb-MYH11 blocks myeloid differentiation and predisposes mice to acute myelomonocytic leukaemia. **Nature Genetics**, [S.L.], v. 23, n. 2, p. 144-146, out. 1999.
- CHAN *et al.*. Aurora B controls kinetochore–microtubule attachments by inhibiting Ska complex–KMN network interaction. **Journal Of Cell Biology**, [S.L.], v. 196, n. 5, p. 563-571, 27 fev. 2012.
- CHEN, Chenlin *et al.*. AURKA promotes cancer metastasis by regulating epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell properties in hepatocellular carcinoma. **Biochemical And Biophysical Research Communications**, [S.L.], v. 486, n. 2, p. 514-520, abr. 2018.
- CHEN, Menghua *et al.*. Research progress on the relationship between AURKA and tumorigenesis: the neglected nuclear function of aurka. **Annals Of Medicine**, [S.L.], v. 56, n. 1, 13 maio 2024.
- CHENG *et al.*. Leukemic marrow infiltration reveals a novel role for Egr3 as a potent inhibitor of normal hematopoietic stem cell proliferation. **Blood**, [S.L.], v. 126, n. 11, p. 1302-1313, 10 set. 2015.
- COFFMAN, James. Cell Cycle Development. **Developmental Cell**, [S.L.], v. 6, n. 3, p. 321-327, mar. 2004.
- DAVER, Naval *et al.*. Targeting FLT3 mutations in AML: review of current knowledge and evidence. **Leukemia**, [S.L.], v. 33, n. 2, p. 299-312, 16 jan. 2019.
- DOHNER, Hartmut *et al.*. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. **Blood**, [S.L.], v. 140, n. 12, p. 1345-1377, set. 2022.
- DONG, Ying *et al.*. Leukemia incidence trends at the global, regional, and national level between 1990 and 2017. **Experimental Hematology & Oncology**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 1-12, 19 jun. 2020.
- DUARTE *et al.*. Inhibition of Endosteal Vascular Niche Remodeling Rescues Hematopoietic Stem Cell Loss in AML. **Cell Stem Cell**, [S.L.], v. 22, n. 1, p. 64-77, jan. 2018.
- ENNIS *et al.*. Cell-cell interactome of the hematopoietic niche and its changes in acute myeloid leukemia. **Iscience**, [S.L.], v. 26, n. 6, p. 1-25, jun. 2023.
- ESKAZAN, Ahmet Emre; KESKIN, Dilek. Radotinib and its clinical potential in chronic-phase chronic myeloid leukemia patients: an update. **Therapeutic Advances In Hematology**, [S.L.], v. 8, n. 9, p. 237-243, 25 jul. 2017.
- FATHI, Amir T. *et al.*. Phase I study of the aurora A kinase inhibitor alisertib with induction chemotherapy in patients with acute myeloid leukemia. **Haematologica**, [S.L.], v. 102, n. 4, p. 719-727, 29 dez. 2016.
- FUJITA, Thiago Cezar *et al.*. Acute lymphoid leukemia etiopathogenesis. **Molecular Biology Reports**, [S.L.], v. 48, n. 1, p. 817-822, jan. 2021. Springer Science and Business Media LLC.

- GOHARD *et al.*. Targeting the INCENP IN-box–Aurora B interaction to inhibit CPC activity in vivo. **Open Biology**, [S.L.], v. 4, n. 11, p. 1-10, nov. 2014.
- GOLDBERG, Michael L.. Cell Cycle: abrogating interphase/m phase bistability. **Current Biology**, [S.L.], v. 28, n. 23, p. 1342-1345, dez. 2018.
- GOLDENSON, B; CRISPINO, J D. The aurora kinases in cell cycle and leukemia. **Oncogene**, [S.L.], v. 34, n. 5, p. 537-545, 17 mar. 2014.
- GOROSHCHUK, Oksana *et al.*. Polo-like kinases and acute leukemia. **Oncogene**, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 1-16, 13 ago. 2018.
- GOTO, Hidemasa; YASUI, Yoshihiro; NIGG, Erich A.; INAGAKI, Masaki. Aurora-B phosphorylates Histone H3 at serine28 with regard to the mitotic chromosome condensation. **Genes To Cells**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 11-17, jan. 2002.
- HAFERLACH, Torsten; SCHMIDTS, Ines. The power and potential of integrated diagnostics in acute myeloid leukaemia. **British Journal Of Haematology**, [S.L.], v. 188, n. 1, p. 36-48, 6 dez. 2019.
- HALLEK, Michael. Chronic lymphocytic leukemia: 2020 update on diagnosis, risk stratification and treatment. **American Journal Of Hematology**, [S.L.], v. 94, n. 11, p. 1266-1287, 4 out. 2019.
- HANAHAHAN, Douglas. Hallmarks of Cancer: new dimensions. **Cancer Discovery**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 31-46, 1 jan. 2022.
- HAO, Zhonglin; KOTA, Vamsi. Volasertib for AML: clinical use and patient consideration. **Oncotargets And Therapy**, [S.L.], v. 8, p. 1761-1771, jul. 2015.
- HE, Zi-Li *et al.*. Overexpression of polo-like kinase1 predicts a poor prognosis in hepatocellular carcinoma patients. **World Journal Of Gastroenterology**, [S.L.], v. 15, n. 33, p. 4177-4182, 2009.
- HEAD, David R. *et al.*; SAVAGE, Richard A.; CERESO, Lizardo; CRAVEN, Catherine M.; BICKERS, John N.; HARTSOCK, Robert; HOSTY, Thomas A.; SAIKI, John H.; WILSON, Henry E.; MORRISON, Francis S.. Reproducibility of the French-American-British classification of acute Leukemia: the southwest oncology group experience. **American Journal Of Hematology**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 47-57, jan. 1985.
- HEO, Sook-Kyoung *et al.*. Radotinib inhibits mitosis entry in acute myeloid leukemia cells via suppression of Aurora kinase A expression. **Tumor Biology**, [S.L.], v. 41, n. 5, p. 1-2, maio 2019.
- HOFMANS, Sam *et al.*. Tozasertib Analogues as Inhibitors of Necroptotic Cell Death. **Journal Of Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 61, n. 5, p. 1895-1920, 13 fev. 2018.
- HUANG, Huai-Hsuan *et al.*. The epidemiology, treatment patterns, healthcare utilizations and costs of Acute Myeloid Leukaemia (AML) in Taiwan. **Plos One**, [S.L.], v. 17, n. 1, p. 1-13, 21 jan. 2022.
- HUANG, Xue-Fei *et al.*. Aurora kinase inhibitory VX-680 increases Bax/Bcl-2 ratio and induces apoptosis in Aurora-A-high acute myeloid leukemia. **Blood**, [S.L.], v. 111, n. 5, p. 2854-2865, 1 mar. 2008.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Estimativa 2020**: incidência de câncer no brasil. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva/ Ministério da Saúde., 2019. 120 p.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Ceará - estimativa dos casos novos**. 2022b. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa/estado-capital/ceara>. Acesso em: 10 set. 202408 jun 2025.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. **Região Nordeste - estimativa dos casos novos**: estimativas para o ano de 2023 das taxas brutas e ajustadas de incidência por 100 mil habitantes e do número de casos novos de câncer. 2022a. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa/regiao/nordeste>. Acesso em: 08 jun 202510 set. 2024.
- JEYAPRAKASH *et al.*. Structure of a Survivin–Borealin–INCENP Core Complex Reveals How Chromosomal Passengers Travel Together. **Cell**, [S.L.], v. 131, n. 2, p. 271-285, out. 2007.
- JIAWEI, Wang *et al.*. Comprehensive analysis of PLKs expression and prognosis in breast cancer. **Cancer Genetics**, [S.L.], v. 268-269, p. 83-92, nov. 2022.

- JOUKOV, Vladimir; NICOLO, Arcangela de. Aurora-PLK1 cascades as key signaling modules in the regulation of mitosis. **Science Signaling**, [S.L.], v. 11, n. 543, p. 1-25, 14 ago. 2018.
- JULIUSSON, Gunnar; HOUGH, Rachael. Leukemia. **Progress In Tumor Research**, [S.L.], p. 87-100, 2016.
- KALOVS, Jaroslav; ALESHKINA, Daria. Multiple Roles of PLK1 in Mitosis and Meiosis. **Cells**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 1-15, 2 jan. 2023.
- KHALIDI, Hasan S. *et al.*. The Immunophenotype of Adult Acute Myeloid Leukemia: high frequency of lymphoid antigen expression and comparison of immunophenotype, french-american-british classification, and karyotypic abnormalities. **American Journal Of Clinical Pathology**, [S.L.], v. 109, n. 2, p. 211-220, 1 fev. 1998.
- KHOURY, Joseph D. *et al.*. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: myeloid and histiocytic/dendritic neoplasms. **Leukemia**, [S.L.], v. 36, n. 7, p. 1703-1719, 22 jun. 2022.
- KIM, S.-H. *et al.*. Efficacy and safety of radotinib in chronic phase chronic myeloid leukemia patients with resistance or intolerance to BCR-ABL1 tyrosine kinase inhibitors. **Haematologica**, [S.L.], v. 99, n. 7, p. 1191-1196, 4 abr. 2014.
- KIM, Taekyung. Recent Progress on the Localization of PLK1 to the Kinetochore and Its Role in Mitosis. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 23, n. 9, 8 maio 2022.
- KINDLER, Thomas; LIPKA, Daniel B.; FISCHER, Thomas. FLT3 as a therapeutic target in AML: still challenging after all these years. **Blood**, [S.L.], v. 116, n. 24, p. 5089-5102, 9 dez. 2010.
- KUMAR *et al.*. Acute myeloid leukemia transforms the bone marrow niche into a leukemia-permissive microenvironment through exosome secretion. **Leukemia**, [S.L.], v. 32, n. 3, p. 575-587, 17 ago. 2017.
- KUNDU, Mondira *et al.*. Role of Cbfb in hematopoiesis and perturbations resulting from expression of the leukemogenic fusion gene Cbfb-MYH11. **Blood**, [S.L.], v. 100, n. 7, p. 2449-2456, 1 out. 2002.
- LENS, Susanne M. A.; VOEST, Emile E.; MEDEMA, René H.. Shared and separate functions of polo-like kinases and aurora kinases in cancer. **Nature Reviews Cancer**, [S.L.], v. 10, n. 12, p. 825-841, 24 nov. 2010.
- LEVY, Antonin *et al.*. Cycle cellulaire, mitose et applications thérapeutiques. **Bulletin Du Cancer**, [S.L.], v. 98, n. 9, p. 1037-1045, set. 2011.
- LI, Jun; CHENG, Cui; ZHANG, Jiajun. An analysis of AURKB's prognostic and immunological roles across various cancers. **Journal Of Cellular And Molecular Medicine**, [S.L.], v. 28, n. 12, p. 1-19, jun. 2024.
- LI, Miao; DONG, Qiang; ZHU, Bing. Aurora Kinase B Phosphorylates Histone H3.3 at Serine 31 during Mitosis in Mammalian Cells. **Journal Of Molecular Biology**, [S.L.], v. 429, n. 13, p. 2042-2045, jun. 2017.
- LIEWER, Susanne; HUDDLESTON, Ashley. Alisertib: a review of pharmacokinetics, efficacy and toxicity in patients with hematologic malignancies and solid tumors. **Expert Opinion On Investigational Drugs**, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 105-112, 2 jan. 2018.
- LIMA, Mariana Cardoso de *et al.*. Acute Myeloid Leukemia: analysis of epidemiological profile and survival rate. **Jornal de Pediatria**, [S.L.], v. 92, n. 3, p. 283-289, maio 2016. Elsevier BV.
- LIN *et al.*. Polo-like kinase 1 selective inhibitor BI2536 (dihydropteridinone) disrupts centrosome homeostasis via ATM-ERK cascade in adrenocortical carcinoma. **Oncology Reports**, [S.L.], v. 50, n. 3, p. 1-10, 20 jul. 2023.
- LIU, Qiao *et al.*. Therapeutic Target Discovery Using High-Throughput Genetic Screens in Acute Myeloid Leukemia. **Cells**, [S.L.], v. 9, n. 8, p. 1-20, 12 ago. 2020.
- LOPES, Letícia Paula *et al.*. Abordagens do tratamento da leucemia mieloide aguda: revisão integrativa / approaches to treatment of acute myeloid leukemia. **Brazilian Journal Of Development**, [S.L.], v. 8, n. 2, p. 9586-9601, 7 fev. 2022.
- LUCENA-ARAUJO, Antonio R. *et al.*. High expression of AURKA and AURKB is associated with unfavorable cytogenetic abnormalities and high white blood cell count in patients with acute myeloid leukemia. **Leukemia Research**, [S.L.], v. 35, n. 2, p. 260-264, fev. 2011.


- MA, Hoi Tang; POON, Randy Y.C.. Aurora kinases and DNA damage response. **Mutation Research/Fundamental And Molecular Mechanisms Of Mutagenesis**, [S.L.], v. 821, maio 2020.
- MA, Yuxi *et al.*. The Roles of the Let-7 Family of MicroRNAs in the Regulation of Cancer Stemness. **Cells**, [S.L.], v. 10, n. 9, p. 1-20, 14 set. 2021.
- MACHADO, Caio Bezerra *et al.*. The Relevance of Aurora Kinase Inhibition in Hematological Malignancies. **Cancer Diagnosis & Prognosis**, [S.L.], v. 1, n. 3, p. 111-126, 3 jul. 2021.
- MACHADO, Caio Bezerra *et al.*. PARP Inhibitors as Therapeutic Options for Tyrosine Kinase-dependent Leukemia: a review. **Anticancer Research**, [S.L.], v. 40, n. 6, p. 3055-3063, jun. 2020.
- MANCINI *et al.*. Hyper-activation of Aurora kinase a-polo-like kinase 1-FOXM1 axis promotes chronic myeloid leukemia resistance to tyrosine kinase inhibitors. **Journal Of Experimental & Clinical Cancer Research**, [S.L.], v. 38, n. 1, p. 1-11, 23 maio 2019.
- MANNAN, Abdul *et al.*. Genotypic and Phenotypic Characteristics of Acute Promyelocytic Leukemia Translocation Variants. **Hematology/Oncology And Stem Cell Therapy**, [S.L.], v. 13, n. 4, p. 189-201, dez. 2020.
- MCMAHON, Christine M.; PERL, Alexander E.. Management of primary refractory acute myeloid leukemia in the era of targeted therapies. **Leukemia & Lymphoma**, [S.L.], v. 60, n. 3, p. 583-597, 20 set. 2018.
- MERALDI, P.; HONDA, R.; NIGG, E.A.. Aurora-A overexpression reveals tetraploidization as a major route to centrosome amplification in p53<sup>-/-</sup> cells. **The Embo Journal**, [S.L.], v. 21, n. 4, p. 483-492, 15 fev. 2002.
- MINCIACCHI, Valentina R.; KUMAR, Rahul; KRAUSE, Daniela S.. Chronic Myeloid Leukemia: a model disease of the past, present and future. **Cells**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 1-23, 10 jan. 2021.
- MORAIS, Rahuany Velleda de *et al.*. Epidemiological evaluation and survival of children with acute myeloid leukemia. **Jornal de Pediatria**, [S.L.], v. 97, n. 2, p. 204-210, mar. 2021.
- MOREIRA-NUNES, Caroline Aquino *et al.*. Targeting aurora kinases as a potential prognostic and therapeutical biomarkers in pediatric acute lymphoblastic leukaemia. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 1-10, 4 dez. 2020.
- MRÓZEK, Krzysztof *et al.*. Outcome prediction by the 2022 European LeukemiaNet genetic-risk classification for adults with acute myeloid leukemia: an alliance study. **Leukemia**, [S.L.], v. 37, n. 4, p. 788-798, 23 fev. 2023.
- MÜNCH *et al.*. Therapeutic polo-like kinase 1 inhibition results in mitotic arrest and subsequent cell death of blasts in the bone marrow of AML patients and has similar effects in non-neoplastic cell lines. **Leukemia Research**, [S.L.], v. 39, n. 4, p. 462-470, abr. 2015.
- NARAYANAN, Damodaran; WEINBERG, Olga K.. How I investigate acute myeloid leukemia. **International Journal Of Laboratory Hematology**, [S.L.], v. 42, n. 1, p. 3-15, 10 dez. 2019.
- NASO, Francesco D. *et al.*. Excess TPX2 Interferes with Microtubule Disassembly and Nuclei Reformation at Mitotic Exit. **Cells**, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 1-21, 6 fev. 2020.
- NEMKOV, Travis; D'ALESSANDRO, Angelo; REISZ, Julie A.. Metabolic underpinnings of leukemia pathology and treatment. **Cancer Reports**, [S.L.], v. 2, n. 2, p. 1-13, 7 out. 2018.
- NGUYEN, Alexandra L.; SCHINDLER, Karen. Specialize and Divide (Twice): functions of three aurora kinase homologs in mammalian oocyte meiotic maturation. **Trends In Genetics**, [S.L.], v. 33, n. 5, p. 349-363, maio 2017.
- OKABE *et al.*. Efficacy of the polo-like kinase inhibitor rigosertib, alone or in combination with Abelson tyrosine kinase inhibitors, against break point cluster region-c-Abelson-positive leukemia cells. **Oncotarget**, [S.L.], v. 6, n. 24, p. 20231-20240, 8 maio 2015.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Cancer Today**. 2022b. Disponível em: [https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=population&cancers=36&group\\_populations=0&sexes=0](https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=population&cancers=36&group_populations=0&sexes=0). Acesso em: 08 jun 2025.

- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Cancer Tomorrow**. 2022a. Disponível em: [https://gco.iarc.fr/tomorrow/en/dataviz/isotype?cancers=36&multiple\\_populations=0&single\\_unit=50000&years=2025](https://gco.iarc.fr/tomorrow/en/dataviz/isotype?cancers=36&multiple_populations=0&single_unit=50000&years=2025). Acesso em: 08 jun 2025.
- PADMAKUMAR, Devipriya *et al.*. A concise review on the molecular genetics of acute myeloid leukemia. **Leukemia Research**, [S.L.], v. 111, dez. 2021.
- PARK, Jin-Gyeong *et al.*. Structural basis for CEP192-mediated regulation of centrosomal AURKA. **Science Advances**, [S.L.], v. 9, n. 16, p. 1-3, 21 abr. 2023.
- PARRILLA, Alfonso *et al.*. Mitotic entry: the interplay between cdk1, plk1 and bora. **Cell Cycle**, [S.L.], v. 15, n. 23, p. 3177-3182, 10 nov. 2016.
- PASSARO *et al.*. Increased Vascular Permeability in the Bone Marrow Microenvironment Contributes to Disease Progression and Drug Response in Acute Myeloid Leukemia. **Cancer Cell**, [S.L.], v. 32, n. 3, p. 324-341, set. 2017.
- PESSOA, Flávia Melo Cunha de Pinho *et al.*. Association between Immunophenotypic Parameters and Molecular Alterations in Acute Myeloid Leukemia. **Biomedicines**, [S.L.], v. 11, n. 4, p. 1-13, 5 abr. 2023.
- PETRY, Sabine. Mechanisms of Mitotic Spindle Assembly. **Annual Review Of Biochemistry**, [S.L.], v. 85, n. 1, p. 659-683, 2 jun. 2016.
- PETSALAKI *et al.*. Phosphorylation at serine 331 is required for Aurora B activation. **Journal Of Cell Biology**, [S.L.], v. 195, n. 3, p. 449-466, 24 out. 2011.
- POLLYEA, Daniel A. *et al.* NCCN Guidelines Insights: acute myeloid leukemia, version 2.2021. **Journal Of The National Comprehensive Cancer Network**, [S.L.], v. 19, n. 1, p. 16-27, 6 jan. 2021.
- POULARD *et al.*. Relapse-associated AURKB blunts the glucocorticoid sensitivity of B cell acute lymphoblastic leukemia. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 116, n. 8, p. 3052-3061, 7 fev. 2019.
- PUCCIO, Noemi *et al.*. Combinatorial strategies targeting NEAT1 and AURKA as new potential therapeutic options for multiple myeloma. **Haematologica**, [S.L.], p. 4040-4055, 11 jul. 2024.
- RENNER, Annelies G. *et al.*. Polo-like kinase 1 is overexpressed in acute myeloid leukemia and its inhibition preferentially targets the proliferation of leukemic cells. **Blood**, [S.L.], v. 114, n. 3, p. 659-662, 16 jul. 2009.
- ROSE-INMAN, Hayley; KUEHL, Damon. Acute Leukemia. **Hematology/Oncology Clinics Of North America**, [S.L.], v. 31, n. 6, p. 1011-1028, dez. 2017.
- SANTI, Anna Li *et al.*. Let-7 Family microRNAs Regulate the Expression of the Urokinase-Receptor in Acute Myeloid Leukemia Cells. **Cells**, [S.L.], v. 14, n. 9, p. 1-14, 22 abr. 2025.
- SCHAROW *et al.*. Optimized Plk1 PBD Inhibitors Based on Poloxin Induce Mitotic Arrest and Apoptosis in Tumor Cells. **ACS Chemical Biology**, [S.L.], v. 10, n. 11, p. 2570-2579, 27 ago. 2015.
- SCHMITTGEN, T. D.; LIVAK, K. J. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. **Nature Protocols**, v. 3, n. 6, p. 1101-1108, 2008.
- SHAKEEL *et al.*. Polo-like Kinase 1 as an emerging drug target: structure, function and therapeutic implications. **Journal Of Drug Targeting**, [S.L.], v. 29, n. 2, p. 168-184, 14 set. 2020.
- SHALLIS, Rory M. *et al.*. Epidemiology of acute myeloid leukemia: recent progress and enduring challenges. **Blood Reviews**, [S.L.], v. 36, p. 70-87, jul. 2019.
- SHAO *et al.*. Spatiotemporal dynamics of Aurora B-PLK1-MCAK signaling axis orchestrates kinetochore bi-orientation and faithful chromosome segregation. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 1-16, 24 jul. 2015.
- SHIMONY, Shai; STAHL, Maximilian; STONE, Richard M.. Acute myeloid leukemia: 2023 update on diagnosis, risk stratification, and management. **American Journal Of Hematology**, [S.L.], v. 98, n. 3, p. 502-526, 13 jan. 2023.
- SONG, Moo-Kon; PARK, Byeong-Bae; UHM, Ji-Eun. Clinical Efficacies of FLT3 Inhibitors in Patients with Acute Myeloid Leukemia. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 23, n. 20, p. 1-19, 21 out. 2022.

- STABELLINI *et al.*. Sex differences in adults with acute myeloid leukemia and the impact of sex on overall survival. **Cancer Medicine**, [S.L.], v. 12, n. 6, p. 6711-6721, 23 nov. 2022.
- STUBBINS, Ryan J.; KARSAN, Aly. Differentiation therapy for myeloid malignancies: beyond cytotoxicity. **Blood Cancer Journal**, [S.L.], v. 11, n. 12, p. 1-9, 4 dez. 2021.
- SU, Long *et al.*. Acute Myeloid Leukemia With CEBPA Mutations: current progress and future directions. **Frontiers In Oncology**, [S.L.], v. 12, n. 806137, p. 1-7, 1 fev. 2022.
- SU, Long *et al.*. Mutational spectrum of acute myeloid leukemia patients with double CEBPA mutations based on next-generation sequencing and its prognostic significance. **Oncotarget**, [S.L.], v. 9, n. 38, p. 24970-24979, 3 jan. 2018.
- SUN, Luchen *et al.*. A novel mesenchymal stem cell-based regimen for acute myeloid leukemia differentiation therapy. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, [S.L.], v. 13, n. 7, p. 3027-3042, jul. 2023.
- TANG, Shijie; YUAN, Kai; CHEN, Luonan. Molecular biomarkers, network biomarkers, and dynamic network biomarkers for diagnosis and prediction of rare diseases. **Fundamental Research**, [S.L.], v. 2, n. 6, p. 894-902, nov. 2022.
- TAVERNIER, Nicolas; SICHERI, Frank; PINTARD, Lionel. Aurora A kinase activation: different means to different ends. **Journal Of Cell Biology**, [S.L.], v. 220, n. 9, 21 jul. 2021.
- THOMAS, Daniel; MAJETI, Ravindra. Biology and relevance of human acute myeloid leukemia stem cells. **Blood**, [S.L.], v. 129, n. 12, p. 1577-1585, 23 mar. 2017.
- TSUCHIYA, Kenta *et al.*. Ran-GTP Is Non-essential to Activate NuMA for Mitotic Spindle-Pole Focusing but Dynamically Polarizes HURP Near Chromosomes. **Current Biology**, [S.L.], v. 31, n. 1, p. 115-127, jan. 2021.
- TYAGI, Sanjay; BRATU, Diana P.; KRAMER, Fred Russell. Multicolor molecular beacons for allele discrimination. *Nature biotechnology*, v. 16, n. 1, p. 49, 1998.
- URS, Amog P.; GODA, Chinmayee; KULKARNI, Rohan. Remodeling of the bone marrow microenvironment during acute myeloid leukemia progression. **Annals Of Translational Medicine**, [S.L.], v. 12, n. 4, p. 1-20, ago. 2024.
- VADER *et al.*. Survivin mediates targeting of the chromosomal passenger complex to the centromere and midbody. **Embo Reports**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 85-92, jan. 2006.
- VAN HEESBEEN, Roy G. H. P. *et al.*. Aurora A, MCAK, and Kif18b promote Eg5-independent spindle formation. **Chromosoma**, [S.L.], v. 126, n. 4, p. 473-486, 29 jun. 2016.
- VEMPRALA, Arushi *et al.*. Clinico-Hematological Profile of Acute Myeloid Leukemia: experience from a tertiary care cancer center in north india. **Cureus**, [S.L.], v. 15, n. 12, p. 1-8, 20 dez. 2023.
- WALSBY *et al.*. Effects of the aurora kinase inhibitors AZD1152-HQPA and ZM447439 on growth arrest and polyploidy in acute myeloid leukemia cell lines and primary blasts. **Haematologica**, [S.L.], v. 93, n. 5, p. 662-669, 1 maio 2008.
- WANG, Gang; JIANG, Qing; ZHANG, Chuanmao. The role of mitotic kinases in coupling the centrosome cycle with the assembly of the mitotic spindle. **Journal Of Cell Science**, [S.L.], p. 4111-4122, 1 jan. 2014.
- WANG, Na-Na *et al.*. Molecular Targeting of the Oncoprotein PLK1 in Pediatric Acute Myeloid Leukemia: ro3280, a novel plk1 inhibitor, induces apoptosis in leukemia cells. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 16, n. 1, p. 1266-1292, 7 jan. 2015.
- WANG, Na-Na *et al.*. Molecular Targeting of the Oncoprotein PLK1 in Pediatric Acute Myeloid Leukemia: ro3280, a novel plk1 inhibitor, induces apoptosis in leukemia cells. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 16, n. 1, p. 1266-1292, 7 jan. 2015.
- WÄSCH, R. *et al.*. BI\_2536 - Targeting the Mitotic Kinase Polo-Like Kinase 1 (Plk1). **Recent Results In Cancer Research**, [S.L.], p. 215-218, 7 out. 2009.
- WATTS, Justin M.; TALLMAN, Martin S.. Acute promyelocytic leukemia: what is the new standard of care?. **Blood Reviews**, [S.L.], v. 28, n. 5, p. 205-212, set. 2014.
- WILLEMS, Estelle *et al.*. The functional diversity of Aurora kinases: a comprehensive review. **Cell Division**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 1-17, 19 set. 2018.

- YAN, Min *et al.*. Aurora-A Kinase: a potent oncogene and target for cancer therapy. **Medicinal Research Reviews**, [S.L.], v. 36, n. 6, p. 1036-1079, 13 jul. 2016.
- YANG, Chuang *et al.*. Pan-cancer analysis and in vitro validation of the oncogenic and prognostic roles of AURKA in human cancers. **Frontiers In Oncology**, [S.L.], v. 13, p. 1-14, 27 out. 2023.
- YATSKEVICH *et al.*. Structure of the human outer kinetochore KMN network complex. **Nature Structural & Molecular Biology**, [S.L.], v. 31, n. 6, p. 874-883, 8 mar. 2024.
- Yazarlou, Fatemeh *et al.*. Emerging role of let-7 family in the pathogenesis of hematological malignancies. **Biomed Pharmacother**. 2021; 144: 112334.
- YI *et al.*. The global burden and attributable risk factor analysis of acute myeloid leukemia in 195 countries and territories from 1990 to 2017: estimates based on the global burden of disease study 2017. **Journal Of Hematology & Oncology**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 1-16, 8 jun. 2020.
- YU *et al.*. Vulnerabilidade direcionável do eixo de sinalização FOXM1/PLK1 desregulado no linfoma difuso de grandes células B. **Am J Cancer Res**, [S. L.], 12(10), p. 4666-4679, 15 out. 2022.
- YUAN *et al.*. Polo-Box Domain Inhibitor Poloxin Activates the Spindle Assembly Checkpoint and Inhibits Tumor Growth in Vivo. **The American Journal Of Pathology**, [S.L.], v. 179, n. 4, p. 2091-2099, out. 2011.
- ZHAO, Jennifer C. *et al.*. A review of FLT3 inhibitors in acute myeloid leukemia. **Blood Reviews**, [S.L.], v. 52, n. 100905, p. 1-33, mar. 2022.
- ZHOU *et al.*. P53 Suppresses E2F1-dependent PLK1 expression upon DNA damage by forming p53–E2F1–DNA complex. **Experimental Cell Research**, [S.L.], v. 319, n. 20, p. 3104-3115, dez. 2013.

## ANEXO 1: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DO HOSPITAL GERAL DE FORTALEZA (HGF)

<p>HOSPITAL GERAL DE FORTALEZA - HGF/SUS</p> 
<p><b>PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP</b></p> <p>Elaborado pela Instituição Coparticipante</p>
<p><b>DADOS DO PROJETO DE PESQUISA</b></p> <p><b>Título da Pesquisa:</b> RASTREAMENTO GENÉTICO PARA A DETECÇÃO PRECOCE DE BIOMARCADORES EM PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIAS AGUDAS NO</p> <p><b>Pesquisador:</b> MANOEL ODORICO DE MORAES FILHO</p> <p><b>Área Temática:</b></p> <p><b>Versão:</b> 3</p> <p><b>CAAE:</b> 38680520.9.3001.5040</p> <p><b>Instituição Proponente:</b> Hospital Geral de Fortaleza/SUS</p> <p><b>Patrocinador Principal:</b> Financiamento Próprio</p>
<p><b>DADOS DO PARECER</b></p> <p><b>Número do Parecer:</b> 4.798.575</p>

## ANEXO 2: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DO HOSPITAL DR. CÉSAR CALS

<p>HOSPITAL GERAL DR. CÉSAR CALC/SES/SUS</p> 
<p><b>PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP</b></p> <p>Elaborado pela Instituição Coparticipante</p>
<p><b>DADOS DO PROJETO DE PESQUISA</b></p> <p><b>Título da Pesquisa:</b> RASTREAMENTO GENÉTICO PARA A DETECÇÃO PRECOCE DE BIOMARCADORES EM PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIAS AGUDAS NO</p> <p><b>Pesquisador:</b> MANOEL ODORICO DE MORAES FILHO</p> <p><b>Área Temática:</b></p> <p><b>Versão:</b> 1</p> <p><b>CAAE:</b> 38680520.9.3002.5041</p> <p><b>Instituição Proponente:</b> Hospital Geral Dr. César Cals/SES/SUS</p> <p><b>Patrocinador Principal:</b> Financiamento Próprio</p>
<p><b>DADOS DO PARECER</b></p> <p><b>Número do Parecer:</b> 5.823.921</p>

**ANEXO 3: APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**

<b>UFC - UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ /</b>	
<b>PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP</b>	
<b>DADOS DO PROJETO DE PESQUISA</b>	
<b>Título da Pesquisa:</b> RASTREAMENTO GENÉTICO PARA A DETECÇÃO PRECOCE DE BIOMARCADORES EM PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIAS AGUDAS NO	
<b>Pesquisador:</b> MANOEL ODORICO DE MORAES FILHO	
<b>Área Temática:</b>	
<b>Versão:</b> 1	
<b>CAAE:</b> 38680520.9.0000.5054	
<b>Instituição Proponente:</b> NÚCLEO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS	
<b>Patrocinador Principal:</b> Financiamento Próprio	
<b>DADOS DO PARECER</b>	
<b>Número do Parecer:</b> 4.339.719	

**ANEXO 4: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

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

**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

O objetivo da pesquisa é conhecer melhor as características da doença a qual você é portador. Gostaríamos de lhe convidar e pedir sua autorização para através de pesquisas de seu prontuário clínico analisar a idade, sexo e outras características clínicas da sua doença, bem como informações do seu prontuário. Serão coletadas amostras do seu sangue e medula óssea para o 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.

Com a sua autorização serão coletados cerca de 5 mL (correspondente a uma colher de chá) de amostra de seu sangue através de punção venosa em tubos de tampa roxa (EDTA) para estudos de seu material genético (DNA e RNA). Com sua autorização também serão coletados cerca de 1mL de (correspondente a uma colher de café) de medula óssea que serão obtidas no momento do seu exame diagnóstico. Para a punção e/ou biópsia da crista íliaca (osso da bacia situado abaixo da cintura), o paciente fica em decúbito lateral e a área a ser puncionada é limpa com solução antisséptica e anestesiada com anestésico local. A agulha de aspiração é inserida, através da pele, na cavidade medular removendo a parte líquida da medula óssea. Após o procedimento, o paciente fica deitado de costas e monitorado durante 5-10 minutos. Nos materiais coletados, sangue e medula óssea será avaliado a presença de alterações genéticas nesse material, juntamente com a sua resposta ao tratamento realizado, gerando resultados que favoreçam uma melhor compreensão do surgimento e progressão desta doença.

Esta pesquisa atende as recomendações dos aspectos éticos e legais da pesquisa com seres humanos da Resolução 466/12. Os riscos relacionados à coleta de sangue são contornáveis, 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 sem cuidados maiores e sem necessidade de intervenção terapêutica. Os materiais utilizados nessa pesquisa serão somente aqueles considerados excedentes dos coletados para exames laboratoriais de rotina para o diagnóstico da sua doença, não havendo excedentes de guarda de material biológico. Os riscos físicos e inconvenientes não serão diferentes daqueles previstos durante os procedimentos normais para a obtenção de amostras biológicas para o diagnóstico da sua doença.

Os prováveis riscos e efeitos adversos (efeitos danosos) de se realizar uma coleta de medula óssea incluem: sangramento e dor no local onde a agulha foi inserida, um inchaço debaixo da pele que contém sangue (hematoma), sonolência. Para minimizar os possíveis riscos e desconfortos, as coletas de material biológico serão conduzidas no ambulatório clínico do hospital, e somente serão coletadas no momento dos exames diagnósticos para o seu atendimento clínico. Caso haja

algum tipo de intercorrência dentro desses procedimentos de coleta você será pronto atendido no ambulatório para reverter quaisquer desconfortos ou efeitos adversos.

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, não existindo nenhuma remuneração ou indenização para os participantes. O (a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelos Pesquisadores. Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum prejuízo, nem haverá modificação na assistência que vem recebendo na Instituição. Você concordando em participar da pesquisa receberá uma via deste documento, assinada por você (ou seu representante legal) e pelo pesquisador responsável por esta pesquisa, para que tenha ciência deste documento e caso tenha dúvidas consiga entrar em contato nos telefones e endereços disponíveis.

Os pesquisadores estarão à sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa. Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, poderá entrar em contato com os pesquisadores Dr. Manoel Odorico de Moraes Filho e Dra. Caroline de Fátima Aquino Moreira Nunes pelos telefones: (085 - 991980227 ou 085 - 31017078) ou pelo endereço: Rua Coronel Nunes de Melo n 1000, Bairro Rodolfo Teófilo, Fortaleza, Ceará.

#### **Termo de consentimento Pós-Informado**

Considerando, que fui informado(a) dos objetivos e da relevância do estudo proposto, de como será minha participação, dos procedimentos e riscos decorrentes deste estudo, declaro o meu consentimento em participar da pesquisa, como também concordo que os dados obtidos na investigação sejam utilizados para fins científicos (divulgação em eventos e publicações). Estou ciente que receberei uma via desse documento.

Ceará, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_ .

---

Assinatura do participante ou responsável legal

## ANEXO 5: QUESTIONÁRIO CLÍNICO PARA OS PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

### IDENTIFICAÇÃO

<b>NÚMERO DE REGISTRO</b>	
<b>Data de nascimento</b>	
<b>Naturalidade</b>	
<b>Procedência</b>	
<b>Ocupação (ou ocupação anterior, se aposentado):</b>	
<b>Manipulação ou exposição a corantes, derivados de petróleo, agentes químicos em geral/ agrotóxicos. (sim ou não; se SIM, QUAIS?)</b>	

<b>SINAIS E/OU SINTOMAS</b>	<b>SIM</b>	<b>NÃO</b>	<b>IGNORADO</b>
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	<b>DATA</b>	<b>TIPO DE TUMOR</b>	<b>LOCAL DO CORPO</b>