

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA

MARINUS DE MORAES LIMA

IMPORTÂNCIA CLÍNICA E PROGNÓSTICA DO DNA MITOCONDRIAL NA
LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA

Recife

2023

MARINUS DE MORAES LIMA

**IMPORTÂNCIA CLÍNICA E PROGNÓSTICA DO DNA MITOCONDRIAL NA
LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutor em Genética.

Orientador: Antônio Roberto Lucena de Araujo

Coorientador: Marcos André Cavalcanti Bezerra

Recife

2023

Catálogo na Fonte:
Bibliotecária Natália Nascimento, CRB4/1743

Lima, Marinus de Moraes.

Importância clínica e prognóstica do DNA mitocondrial na leucemia mielóide aguda. / Marinus de Moraes Lima. – 2023.

144 f. : il., fig.; tab.

Orientador: Antônio Roberto Lucena de Araújo.

Coorientador: Marcos André Cavalcanti Bezerra.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Genética, 2023.

Inclui referências.

1. Leucemia mielóide aguda. 2. Leucemia promielocítica aguda. 3. Mitocôndria. 4. DNA mitocondrial. I. Araújo, Antônio Roberto Lucena de. (Orient.). II. Bezerra, Marcos André Cavalcanti. (coorient.). III. Título.

587

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023-111

Marinus de Moraes Lima

IMPORTÂNCIA CLÍNICA E PROGNÓSTICA DO DNA MITOCONDRIAL NA
LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA

Aprovado em 27/02/2023

Banca Examinadora:

Dr. Antônio Roberto de Lucena Araújo
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Tercílio Calsa Junior
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Aderson da Silva Araújo
Fundação Hemope

Dr. Thiago Carneiro Xavier
Universidade Estadual do Pará

Dr. Ronald Feitosa Pinheiro
Universidade Federal do Ceará

Recife

2023

Agradeço a Deus acima de tudo, e dedico a minha família. Vale dizer que deixo de ser a “ovelha negra” e passo a integrar ao time de doutores de casa. Aos meus filhos, o exemplo para seguir no futuro.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, inteligência suprema, que me deu a oportunidade de viver e me fortalece a cada dia com desafios impostos na batalha da minha existência.

Aos meus pais, prof. Dr. Antônio Nustenil de Lima e Maria de Moraes Fernandes Lima, meus exemplos de luta e determinação. Hoje sou o reflexo de suas ações, sinto-me honrado por ser filho de vocês.

A minha esposa amada, profa. Dra. Maria Wanderleya de Lavor Coriolano-Marinus, minha companheira para todas as horas. Você é uma luz que preenche minha vida; contigo quero viver cada momento por toda essa e as próximas existências. Muito obrigado pelos puxões de orelha objetivados pela pergunta – e a tese?

Aos meus maiores presentes nessa existência, meus filhos Ana Cecília, Lorenzo e Alícia. Hoje não entendo como conseguia viver sem as suas presenças, vocês são um marco da minha existência, meus maiores tesouros.

Aos meus irmãos Dr. João Vilian de Moraes Lima Marinus e Dr. Nustenil Segundo de Moraes Lima Marinus, meus amigos e companheiros, mesmo a distância física não impede as nossas sintonias. A minha cunhada Germana pela amizade e meus sobrinhos Mariana, Túlio e Lucas que tornam a vida mais feliz.

A minha cunhada Sanny Emanuely (in memoriam). Sua partida repentina no início dessa minha jornada no doutorado deixou uma tristeza profunda que o tempo está curando e deixando a saudade dos momentos bons prevalecer; tenho certeza que estás em um bom lugar, ao lado do nosso pai maior.

Meu agradecimento mais que especial é para meu orientador prof. Dr. Antônio Roberto Lucena de Araújo. Não tenho palavras para agradecer a oportunidade, a compreensão e a amizade. Espero que possamos ser parceiros científicos por um longo tempo, principalmente agora que estarei adentrando ao ensino superior público.

Ao prof. Dr. Marcos André Cavalcanti Bezerra, pela coorientação, apoio e amizade, além da parceria antes, durante e após o doutorado.

A Diego Martins, pelo tempo, auxílio, ensinamentos relacionados ao trabalho.

A Juan, Aleide, Amanda, Maria Luiza, colegas de pesquisa, dos encontros remotos, pelas discussões e troca de conhecimento.

Aos professores Drs. Diego Cle, Leonardo Palma por terem aceitado participar no meu exame de qualificação e pela colaboração dada para o término dessa tese.

Aos professores Drs. Aderson Araújo, Thiago Carneiro, Ronald Feitosa e Tercílio Calsa pela disponibilidade e aceite em participar desse momento tão importante na minha existência e pelas futuras contribuições que enriquecerão esse trabalho.

Aos amigos que adquiri nessa jornada de pós-graduação.

Aos professores da pós-graduação pelos conhecimentos transmitidos.

Agradeço à Medicina, minha profissão que tanto amo e que tento praticá-la de forma ética, com muito amor e luz.

Aos meus pacientes, pela confiança, pela entrega e aos seus familiares. Escolhi uma especialidade desafiadora, com muitas perdas, mas também repleta de vitórias. A cada paciente, uma nova experiência, um enorme crescimento profissional, como também pessoal.

Aos meus colegas de trabalho, amigos na labuta diária, pelas coberturas, incentivo e companheirismo, sempre.

Agradeço a espiritualidade amiga, meus guias, que me intuem a sempre fazer o que é certo, apesar da minha teimosia.

Fé, força e foco!

*Papai do céu está no comando! Ele não coloca
fardo pesado em quem não pode carregar... Então
podes superar tudo que está passando eno final,
darás um lindo testemunho de vitória...*

*Ao falar com paciente sobre o diagnóstico
de câncer.*

RESUMO

A leucemia mielóide aguda (LMA) é uma neoplasia do sistema hematopoiético caracterizada por alterações genéticas de origem clonal que leva a um bloqueio na maturação, aumento da proliferação e uma reprogramação metabólica com consequente aumento da atividade mitocondrial dos precursores mielóides. Uma das maneiras de se avaliar a atividade mitocondrial de uma célula é por meio da quantificação do DNA mitocondrial (mtDNA). Este vem sendo amplamente estudado em vários tumores sólidos como um marcador metabólico capaz de prever processos essenciais para manutenção celular. Contudo, muito pouco se sabe sobre seu papel na fisiopatologia da LMA. O objetivo dessa tese é avaliar a importância clínica da quantificação do DNA mitocondrial em pacientes adultos com diagnóstico recente de LMA. No total, foram analisadas duas coortes independentes: uma composta por 156 pacientes com leucemia promielocítica aguda (LPA) e outra formada por 482 pacientes com LMA não-LPA. Na primeira coorte foi demonstrado que pacientes com alto conteúdo de mtDNA tiveram melhores desfechos clínicos (maior sobrevida livre de doença [SLD] e menor incidência cumulativa de recidiva [ICR]), independentemente da carga tumoral. Esses resultados foram mais evidentes no grupo de pacientes de baixo risco de recaída. Já na segunda coorte, os pacientes com alto conteúdo de mtDNA foram associados a piores desfechos quando comparados com os pacientes com conteúdo normal de mtDNA. Um alto conteúdo de mtDNA foi independentemente associado a menor SLD e aumento da ICR.

Palavras-chave: Leucemia Mielóide Aguda; Leucemia Promielocítica Aguda; mitocôndria; DNA mitocondrial

ABSTRACT

Acute myeloid leukemia (AML) is a neoplasm of the hematopoietic system characterized by genetic changes of clonal origin that lead to a block in maturation, increased proliferation and metabolic reprogramming with consequent increase in mitochondrial activity of myeloid precursors. One of the ways to evaluate the mitochondrial activity of a cell is through quantification of the mitochondrial DNA (mtDNA). This has been widely studied in several solid tumors as a metabolic marker capable of predicting essential processes for cell maintenance. However, very little is known about its role in the pathophysiology of AML. The objective of this thesis is to evaluate the clinical importance of mitochondrial DNA quantification in adult patients with a recent diagnosis of AML. In total, two independent cohorts were analyzed: one consisting of 156 patients with acute promyelocytic leukemia (APL) and another consisting of 482 patients with non-APL. In the first cohort, it was demonstrated that patients with high mtDNA content had better clinical outcomes (greater disease-free survival [DFS] and lower cumulative incidence of relapse [CIR]), regardless of tumor burden. These results were more evident in the group of patients at low risk of relapse. In the second cohort, patients with high mtDNA content were associated with worse outcomes when compared to patients with normal mtDNA content. A high mtDNA content was independently associated with lower SLD and increased ICR.

Keywords: Acute Myeloid Leukemia; Acute Promyelocytic Leukemia; mitochondria; mitochondrial DNA



LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1A	Representação do processo de leucemogênese. A: processo de hematopoese. B: representação do processo de bloqueio da maturação e proliferação de precursores mieloides.....	19
Figura 1B		
Figura 2	Classificação de risco de acordo com European Leukemianet 2022.....	25
Figura 3	Protocolos de tratamento para Leucemia Promielocítica Aguda.....	32
Figura 4	Metabolismo energético celular.....	36
Figura 5	Representação do DNA mitocondrial humano.....	41
CI Figura 1A E 1B	Avaliação da quantificação de mtDNA.....	57
CI Figura 2	Avaliação da quantificação de mtDNA – ponto de corte da avaliação entre conteúdo normal e alto de mtDNA.....	58
CI Figura 3	Representação gráfica da dicotomização entre os grupos: conteúdo normal e acima do normal de mtDNA.....	58
CI Figura 4	Representação gráfica: Sobrevida Livre de doença.....	59
CI Figura 5	Representação gráfica: Incidência cumulativa de recidiva.....	59
CI Figura 6	Representação gráfica: Estratificação de risco – mtDNA x AGR.....	60
CI Figura 7A e 7B	Análise multivariada da coorte.....	60
CII Figura 1	Figure 01	72
CII Figura 1S	Correlação do mtDNA de amostras de sangue periférico e medula.....	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Classificação da LMA de acordo com a Organização Mundial de Saúde - OMS 2017.....	21
Tabela 2	Expressão de Marcadores Citoplasmáticos da Superfície Celular e para o Diagnóstico de LMA	23
Tabela S1 C I	Características clínica e laboratoriais da coorte.....	68
Tabela S1 CII	Tabela referente a dispersão e frequências.....	78
Tabela S2 CII	Características clínica e laboratoriais da coorte.....	79

LISTA DE ABREVIações

ABL1	Abelson Leukemia gene
Acetil-Co-A	Acetilcoenzima-A
AGR	Risco Citogenético Adaptado
AML	Acute Myeloid Leukemia
AMPK	Proteína Kinase ativada por monofosfato de adenosina
ASXL1	Additional sex combs like 1
ATO	Trióxido de arsênico
ATP	Adenosina trifosfato
ATRA	Ácido transretinóico
BCR	Breakpoint Cluster Region
BCR/ABL1	Gene de fusão resultante do cromossomo Filadélfia
bZIP	Basic leucine zíper
CB	Ciências biológicas
CBFb	Core binding factor
CD	Cluster of differentiation
CEBPA	CCAAT enhancer binding protein alpha
CEP	Comitê de ética e pesquisa
CN	Cariótipo Normal
CNS	Conselho Nacional de Saúde
CR	Remissão completa
CRI	Cumulative incidence of relapse
Ct	cycle threshold
DFS	disease-free survival
D-loop	Laço de deslocamento
DMR	Doença residual mensurável
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNMT3A	DNA methyltransferase 3 alpha
EDTA	Ácido Etileno-diamino tetracético
ELN	European LeukemiaNet
ETC	Cadeia transportadora de elétrons
EVI1	Ecotropic viral integration site 1
FAB	Franco-Americano-Britânico
FADH2	Flavin adenine dinucleotide
FISH	Hibridização in situ por fluorescência
FLT3	FMS-like tyrosine kinase 3
GLS	Glutaminase
HSC	Célula tronco hematopoética
IC	Intervalo confiança
ICR	Incidência cumulativa de recidiva
INCA	Instituto Nacional do Câncer
ITD	Internal tandem duplication
KMT2A	Histone-lysine N-methyltransferase
LabCEN	Laboratório Central do Centro de Ciências Biológicas
LMA	Leucemia Mielóide Aguda
LPA	Leucemia Promielocítica Aguda
LSC	célula-tronco leucêmica
LSP	Região promotora de fita leve

MCR	Medical Research Council
MECOM	MDS and EVI1 complex locus protein
MLL	Mixed-lineage leucemia gene
mM	Milimolar
MO	Medula Óssea
MSC	células mesenquimais transformadas de células-tronco
mtDNA	DNA mitocondrial
MYH11	Smooth muscle myosin heavy chain 11 gene
NADH	Nicotinamida adenina dinucleotideo hidrogênio
NHCL	Núcleo de Hematologia Clínica e Laboratorial
NPM1	Nucleofosmina
NRAS	Neuroblastoma-ras gene
OH	Origem de replicação de fita pesada
OMS	Organização Mundial de saúde
OXPHOS	Fosforilação oxidativa
PCR	Reação por cadeia de polimerase
PDK	piruvato desidrogenase kinase
pH	Potencial hidrogeniônico
PK1	Piruvato kinase 1
PML	Leukemia promyelocytic gene
POLG	Polimerase gama
qPCR	PCR em tempo real
QT	Real-time
RARa	Receptor do ácido all-trans retinóico α
REDOX	Reações de oxidação-redução
RI	Risco genético intermediário
RNA	Ácido ribonucléico
ROS	Espécies reativas de oxigênio
Rpm	Rotações por minuto
RT	Transcriptase reversa
RUNX1	Run-related transcription factor 1 gene
RUNX1T1	Run-related transcription factor 1 translocation partner 1 gene
SDS	Dodecil sulfato de sódio
SLD	Sobrevida Livre de Doença
TCA	Ácido tricarboxílico
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TDK	Tyrosine kinase domain
TET2	Methylcytosine dioxygenase 2 gene
TMO	Transplante de célula-tronco
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	16
2.	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA	19
2.2	LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA	28
2.3	MITOCÔNDRIAS	33
2.4	PRINCIPAIS CAMINHOS ENERGÉTICOS	34
2.5	METABOLISMO ENERGÉTICO NA HEMATOPOESE	37
2.6	METABOLISMO ENERGÉTICO NA LEUCEMOGÊNESE	38
2.7	DNA MITOCONDRIAL	40
3.	OBJETIVOS	45
4.	CAPÍTULO I	46
5	CAPÍTULO II	70
6.	DISCUSSÃO	82
7.	CONCLUSÃO	91
8.	REFERÊNCIAS	93
9.	ANEXOS	99
10.	APÊNDICE	128

1. INTRODUÇÃO

A leucemia mieloide Aguda (LMA) se desenvolve a partir da aquisição em série de mutações somáticas nas células-tronco hematopoiéticas e progenitoras com capacidade de auto-renovação. É uma neoplasia hematológica de alta morbimortalidade. Ao mesmo tempo, com o avanço de novas tecnologias e com o conceito de medicina de precisão, o conhecimento sobre essa entidade vem se tornando cada vez mais amplo, o que auxilia a uma melhor assistência clínica e terapêutica.

O diagnóstico de LMA é definido pela avaliação do aspirado medular e análise fenotípica dos blastos leucêmicos. Esta doença apresenta uma alta variabilidade citogenética e molecular, sendo necessária a análise genética para definição de prognóstico. Entre os subtipos de LMA, destaca-se a leucemia promielocítica aguda (LPA) por apresentar características distintas dos outros subtipos de LMA, como alta incidência em indivíduos de origem latina e uma alta propensão a eventos hemorrágicos. Antigamente de alta mortalidade, mas, com o advento de terapias específicas e o início do conceito de medicina de precisão, atualmente é o subtipo com maior probabilidade de cura, desde que iniciado o tratamento de forma precoce.

De maneira geral, a LMA é uma doença grave com necessidade imediata de tratamento. Este se baseia em quimioterapia associada a fármaco- alvo específico (quando indicado). A depender da estratificação de risco genético, como também comportamento clínico, pode ser necessária a consolidação com transplante de células-tronco (TMO) alogênico, que pode ser aparentado ou não aparentado. Entretanto, mesmo com os avanços em pesquisas sobre LMA, esta

ainda é uma doença extremamente heterogênea em termos de características clínicas, genética e desfechos. Essa heterogeneidade torna os estudos em LMA desafiadores, principalmente quando relacionados à reprogramação e ao estado metabólico dessas células.

Vários estudos descrevem características diferentes no programa metabólico entre diferentes tipos de tumores humanos, e essa programação metabólica é frequentemente associada à resistência ao tratamento e desfecho clínico dos pacientes. Aparentemente a LMA não é exceção a essa regra, embora as poucas evidências disponíveis sobre o assunto não tenham sido exploradas nas mesmas proporções que em tumores sólidos.

Conhecida por estar envolvida em múltiplos processos celulares, principalmente no controle do metabolismo energético, a mitocôndria e o estudo do seu material genético (DNA mitocondrial, mtDNA) vem ganhando destaque nos últimos anos. Uma importante característica deste genoma é a ausência de histonas e de mecanismos de reparo de DNA, fato este que torna o mtDNA relativamente mais vulnerável a mutações. Além disso, o conteúdo de mtDNA pode ser modulado de acordo com as condições fisiológicas das células, o que, consequentemente, repercute em alterações funcionais das mitocôndrias. Estas adaptações também são utilizadas por células tumorais. Assim, mutações somáticas no mtDNA, com consequente alterações no número de cópias, são frequentemente observadas em diversos tipos de câncer.

Em resumo, fica evidente que existe um interesse crescente sobre o papel da mitocôndria na fisiopatologia do câncer. Além disso, embora ainda não sejam completamente compreendidos, esses achados apontam para um importante papel do conteúdo mitocondrial nas neoplasias hematológicas. Numa

tentativa de contribuir com novas ideias sobre este tema, a presente tese visa primeiramente determinar o número de cópias de mtDNA em neoplasias hematológicas agudas de origem mielóide e, subsequentemente, avaliar o impacto destes achados no desfecho e evolução clínica de pacientes com essas enfermidades.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA

A Leucemia Mielóide Aguda (LMA) é uma forma de câncer caracterizada pela infiltração da medula óssea, sangue periférico e outros órgãos por células proliferativas, clonais anormalmente diferenciadas do sistema hematopoiético (Döhner H et al. 2015). Na verdade, é um grupo heterogêneo de alterações clonais que levam a um bloqueio na maturação e/ou uma proliferação de precursores mieloides (Estey, 2013).

Figura 1A

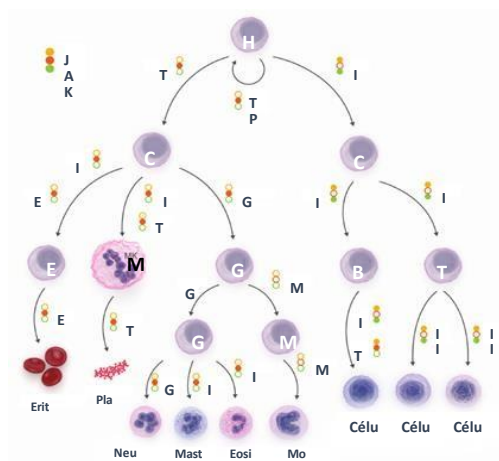


Figura 1B

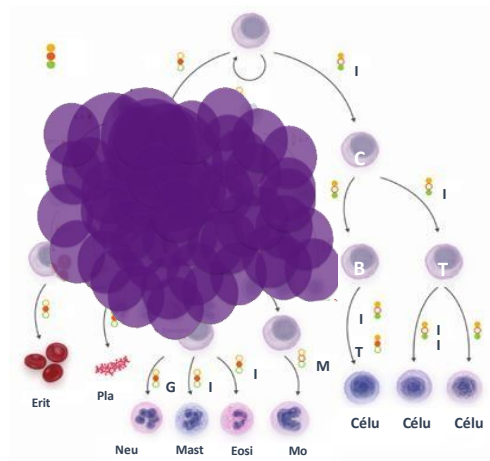


Figura 1: Representação do processo de leucemogênese. A: processo de hematopoese. B: representação do processo de bloqueio da maturação e proliferação de precursores mieloides.

FONTE: Dohner, 2015 (adaptado).

É uma doença grave, com alta morbimortalidade. De acordo com estimativas do American Cancer Society, deverá haver cerca de 20050 novos casos de LMA em 2022, com aproximadamente 50% de mortalidade (ACS, 2022). Já no Brasil, segundo estimativas do Instituto Nacional de Câncer (INCA), para o

triênio 2020/2022, serão diagnosticados no Brasil, cerca de 5920 casos novos em homens e 4890 casos novos em mulheres. Entre todos os tipos de cânceres, as LMAs correspondem a 1% e afeta principalmente adultos a partir da 4ª década de vida, sendo infrequente em crianças, mas não nula (INCA 2020).

Como dito, A LMA é uma doença heterogênea em termos de características clínicas, desfechos e genética. A leucemia se desenvolve a partir da aquisição em série de mutações somáticas em células-tronco hematopoiéticas e progenitoras com capacidade de auto-renovação e propagação do clone neoplásico (Papaemmanuil, 2016). Embora algumas mutações, como as de DNMT3A, TET2 e ASXL1 são mais comuns na hematopoiese clonal e parecem ser eventos relativamente precoces na leucemogênese, outras tendem a ser adquiridas mais tarde no curso do desenvolvimento de leucemia, incluindo mutações em FLT3, NRAS e RUNX1. As combinações das mutações que acabam por conduzir à leucemogênese são influenciadas pela cooperação biológica e exclusividade mútua entre genes mutados (Döhner H et al. 2022).

Antigamente, a classificação da LMA levava em consideração achados morfológicos, citoquímicos e imunofenotípicos das células leucêmicas. Desde a década de 1970, diversas anormalidades citogenéticas têm sido identificadas em subtipos específicos de LMA, alguns dos quais apresentam características clínicas e laboratoriais definidas. No contexto das alterações cariotípicas, destacam-se translocações cromossômicas, que em alguns casos possuem correlação com a morfologia celular e características clínicas (Schoch; Haferlach, 2002).

Com base na premissa de que todas as características biológicas e clinicamente relevantes deveriam ser levadas em consideração para classificação da LMA, a OMS recomendou em 2001 a presença dos achados citogenéticos

entre os critérios de classificação, refletindo uma mudança de paradigma em relação a esquemas prévios (Vardiman et al. 2009). Após algumas revisões, atualmente a OMS reconhece entidades com alterações estruturais recorrentes, além de clones sem alterações citogenéticas, as quais correspondem a quase 50% dos casos (Aber et al. 2016).

Tabela 1: Classificação da LMA de acordo com OMS 2017

LMA com anormalidades genéticas recorrentes:

- LMA com t(8;21) (q22;q22.1), *RUNX1-RUNX1T1* (*AML1-ETO*)
- LMA com inv(16) (p13.1q22) or t(16;16) (p13.1;q22), *CBFβ-MYH11*;
- Leucemia promielocítica aguda (LPA) com *PML-RARα*
- LMA com t(9;11)(p21.3;q23.3), *MLLT3-KMT2A*
- LMA com t(6;9)(p23;q34.1), *DEK-NUP214*
- LMA com inv(3) (q21.3q26.2) ou t(3;3) (q21.3;q26.2), *GATA2, MECOM*
- LMA (megacarioblástica) com t(1;22) (p13.3;q13.3), *RBM15-MKL1*
- Entidade provisória: LMA com *BCR-ABL1*+e LMA com mutação *RUNX1*
- LMA com mutação *NPM1*
- LMA com mutação bialélica em *CEBPA*

LMA relacionadas a alterações mielodisplásicas

Neoplasias mielóides associadas a terapias

LMA não anteriormente especificadas, classificadas morfollogicamente em:

- LMA minimamente diferenciada (equivalente à LMA M0 da FAB)
- LMA sem maturação (equivalente à LMA M1 da FAB)
- LMA com maturação (equivalente à LMA M2 da FAB)
- Leucemia mielomonocítica aguda (equivalente à LMA M4 da FAB)
- Leucemia monoblástica/monocítica aguda (equivalente à LMA M5 da FAB)
- Leucemia eritroide pura (equivalente à LMA M6 pura da FAB, sendo excluída a antiga LMA M6 mielóide/eritroide)
- Leucemia mega carioblástica aguda (equivalente à LMA M7 da FAB)
- Leucemia basofílica aguda
- Panmielose aguda com mielofibrose

FONTE: OMS 2017 (adaptado)

O aspirado de medula é um exame essencial para o diagnóstico de LMA, podendo ser realizado avaliação histológica quando o aspirado é seco. A análise morfológica é realizada após o esfregaço ser corado com corantes May- Grunwald-Giemsa ou Wright-Giemsa, sendo recomendado a contagem de pelo

menos 500 células na medula óssea. O diagnóstico é definido pela presença de pelo menos 20% de células blásticas. A imunofenotipagem, utilizando-se a citometria de fluxo, é importante para determinar a linhagem envolvida no diagnóstico de LMA, identificando a superfície celular e marcadores intracelulares. Devido a heterogeneidade da doença, nenhum marcador é expresso em todos os casos. Não há um ponto de corte definido para determinar se o marcador é positivo ou não (Craig et al, 2008). De acordo com Bene et al, em 1995 quando propuseram a classificação de EGIL, a maioria dos marcadores usa 20% de células clonais, exceto marcadores selecionados, onde o marcador é 10% (mieloperoxidase [MPO], CD117, CD34, CD3 citoplasmático [CD: cluster of differentiation]). Também é importante identificar esses imunofenótipos associados à leucemia (LAIP) para monitoramento subsequente de doença residual mensurável (DRM).

Tabela 2: Expressão de Marcadores Citoplasmáticos da Superfície Celular e para o Diagnóstico de LMA

Precursosores	CD34, CD117, CD33, CD13, HLA-DR
Marcadores granulocíticos	CD65, MPO citoplasmático
Marcadores monocíticos	CD14, CD36, CD64
Marcadores megacariocíticos	CD41 (glicoproteína IIb/IIIa), CD61 (glicoproteína IIIa)
Marcadores eritróides	CD235a (glicoforina A), CD36

FONTE: ELN2022 (adaptado)

Recentemente, houve uma atualização nas recomendações do European LeukemiaNet (ELN 2022). Para o estabelecimento do diagnóstico de LMA, para todas as anormalidades genéticas recorrentes que definem subtipos específicos de LMA (com a exceção de LMA com t(9;22)(q34.1;q11.2)/BCR/ABL1) são definidas se houver $\geq 10\%$ de blastos na medula óssea ou no sangue. O comportamento clínico dessas neoplasias mieloides com esses rearranjos reflete uma anormalidade genética específica, mesmo para casos que apresentam $< 20\%$ de blastos (ELN 2022). Este limite de 10% de blastos está alinhado com anormalidades anteriormente definidoras de LMA, como PML/RARA, CBFB/MYH11 e RUNX1/RUNX1T1 (Foucar et al, 2015). Para evitar a sobreposição potencial com leucemia mielóide crônica em fase acelerada, AML com BCR/ABL1 ainda requer $\geq 20\%$ de blastos.

Embora todos os outros subtipos de LMA exijam $\geq 20\%$ de blastos para diagnóstico, uma nova categoria de síndrome mielodisplásica (SMD)/LMA foi introduzida em associação com anormalidades genômicas para incluir casos com 10-19% de blastos na medula óssea ou sangue, para reconhecer o fato de que esses casos estão na fronteira entre LMA e SMD em termos de sua biologia e prognóstico (ELN 2022). Pacientes diagnosticados com SMD/LMA devem ser elegíveis para ensaios clínicos e abordagens de tratamento para SMD ou para LMA (ELN 2022).

A estratificação de risco na LMA baseia-se em características clínicas, citogenéticas e moleculares e reflete a refratariedade da terapia e o risco de recaída (Dohner, 2017). As classificações de risco genético têm sido usadas para orientar a terapia de escalonamento ou descalonamento em pacientes de alto e baixo risco, respectivamente. No entanto, o maior grupo de pacientes se enquadra na categoria de risco genético intermediário (RI) (Papaemmanuil, 2016). Os esforços para refinar RI levou a um aumento dos pacientes como também da complexidade na avaliação ao adicionar novos marcadores moleculares (Swerdlow, 2017).

De acordo com o ELN 2022, as anormalidades genéticas recorrentes foram expandidas, sendo que agora incluem translocações variantes adicionais envolvendo RARA, KMT2A e MECOM, além de outras raras translocações recorrentes, que agora são reconhecidas como entidades definidoras de LMA ((Figura 2). Estudos recentes mostram que mutações “in-frame” que afetam a região do *basic leucine zipper* (bZIP) do CEBPA conferem um resultado, independentemente de sua ocorrência como mutações bialélicas ou monoalélicas. As análises de expressão gênica observam uma biologia distinta associada a

essa mutação CEBPA bZIP na LMA. Assim, este subtipo de LMA foi redefinido para apenas para evidência da mutação bZIP CEBPA para classificação (Tarlock et al. 2021; Taube et al. 2022).

Risk Category	Genetic Abnormality
Favorable	- t(8;21)(q22;q22.1)/<i>RUNX1::RUNX1T1</i> - inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22)/<i>CBFB::MYH11</i> - Mutated <i>NPM1</i>^a without <i>FLT3</i>-ITD bZIP in-frame mutated <i>CEBPA</i>
Intermediate	- Mutated <i>NPM1</i>^a with <i>FLT3</i>-ITD - Wild-type <i>NPM1</i> with <i>FLT3</i>-ITD - t(9;11)(p21.3;q23.3)/<i>MLL T3::KMT2A</i> - Cytogenetic and/or molecular abnormalities not classified as favorable or adverse
Adverse	- t(6;9)(p23;q34.1)/<i>DEK::NUP214</i> - t(v;11q23.3)/<i>KMT2A</i>-rearranged - t(9;22)(q34.1;q11.2)/<i>BCR::ABL1</i> - t(8;16)(p11;p13)/<i>KAT6A::CREBBP</i> - inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2)/<i>GATA2, MECOM(EVI1)</i> - t(3q26.2:v)/<i>MECOM(EVI1)</i>-rearranged -5 or del(5q); -7; -17/abn(17p) - Complex karyotype, monosomal karyotype Mutated <i>ASXL1, BCOR, EZH2, RUNX1, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1, or ZRSR2</i> - Mutated <i>TP53</i>

Figura 2: Classificação de risco de acordo com ELN 2022. FONTE: ELN2022

A análise citogenética convencional é obrigatória na avaliação da LMA. Se não houver crescimento de metáfases, a hibridização “in situ” por fluorescência é uma alternativa para detectar anormalidades como *RUNX1/RUNX1T1*, *CBFB/MYH11*, *KMT2A (MLL)* e *MECOM (EVI1)*, ou mesmo fusões de genes ou anormalidades cromossômicas relacionadas à mielodisplasia, por exemplo, perda de cromossomo 5q, 7q ou 17p (Figura 2).

O teste genético molecular deve rastrear todas as anormalidades genéticas que definem a doença e categorias de risco ou que são necessárias para modalidades de tratamento direcionadas (Figura 2). Esses testes podem ser realizados por meio de diagnósticos ou plataformas de painéis de genes disponíveis comercialmente e simultaneamente testando mutações e rearranjos.

Quando há suspeita de uma LMA com predisposição germinativa, faz-se necessário um painel de genes dedicado incluindo alelos predisponentes conhecidos. No entanto, deve-se ter cautela na interpretação de dados de tumores baseados em painéis, uma vez que os tecidos hematopoiéticos sofrem reversão somática frequentemente levando a resultados falso-negativos, e os testes baseados em painel geralmente não são capazes de detectar o número de cópias da linhagem germinativa variantes, que são alelos de predisposição relativamente comuns (Tarlock et al. 2021).

Algumas mutações somáticas adquiridas foram identificadas, tal como o gene NPM1, o gene FLT3 e o gene CEBPA e o gene de linhagem mista conhecido como MLL. O “screening” para esses genes, principalmente para o FLT3 vem se tornando cada vez mais rotineiros, após a incorporação na classificação da OMS, como também a possibilidade de terapia-alvo, como no caso do FLT3 (ELN 2022).

As alterações moleculares de maior frequência em Leucemia Mielóide Aguda são a mutação do gene NPM1 e do gene FLT3. Ambas apresentam impacto prognóstico. Em torno de 30% dos portadores de LMA apresentam mutação no gene NPM1, que se correlaciona com cariótipo normal em aproximadamente 50% dos casos. Essa mutação, quando isolada, confere alta taxa de resposta completa, ganho de sobrevida livre de doença e de sobrevida global, comparáveis com os pacientes portadores de citogenética favorável (ELN 2022).

Já a mutação do FLT3 apresenta duas classes ativas e inclui pontos de mutação em duplicação em tandem interna (ITD), sendo a mais comum, em torno de 30%, e do domínio de Tirosino-kinase (TDK), que ocorre em cerca de 10% dos

pacientes. A mutação do gene FLT3-ITD confere impacto prognóstico negativo quando comparado a pacientes com gene selvagem. O advento de terapias-alvo direcionadas a esse gene fez com que fosse estratificado como risco intermediário, independente da sua razão alélica (ELN 2022).

Em 2020, foi publicado por Silveira et al, a partir da análise de uma coorte nacional, um modelo de avaliação de risco genético adaptado (AGR), projetada para estratificar o risco dos pacientes em ambientes de cuidados de saúde em que não há acesso à realização dos exames necessários para o diagnóstico genético e molecular de acordo com a coorte do European Leukemianet 2017 (ELN2017). Esse modelo de estratificação visa oferecer informações importantes para a assistência dos pacientes com LMA em um ambiente de saúde com limitações financeiras e de recursos de infraestrutura, pois permite que esses pacientes possam ter seu risco estratificado usando informações citogenéticas moleculares mínimas (Döhner H et al. 2022).

Em relação ao tratamento para LMA, a primeira linha não mudou radicalmente nos últimos cinquenta anos (Yates et al, 1973). A terapia de indução denominada '3+7', consiste em um análogo de nucleosídeo (como citarabina) e um tratamento combinado de antraciclina (geralmente daunorrubicina ou idarrubicina). Isso geralmente é seguido por ciclos de consolidação pós indução (Döhner et al, 2017) e, quando os pacientes atendem aos critérios de elegibilidade, transplante de células-tronco hematopoiéticas (HSC) (Shimoni et al, 2006). Lamentavelmente, a taxa de sobrevida em 5 anos de pacientes com LMA permanece baixa, média de 40% para pacientes com menos de 60 anos, e apenas 5-15% para pacientes mais velhos, apesar dos avanços terapêuticos na última década, com a adição de terapias-alvo, modificando a história natural da

doença, tal como os inibidores de BCL2 (venetoclax), inibidores de IDH1 (ivosidenibe), IDH2 (enasidenibe) e inibidores de FLT3 (midostaurina, sorafenibe, gilterotinibe, quizartinibe) (ELN 2022).

De maneira crítica, embora o desenvolvimento de tratamentos específicos para mutações tenha melhorado o resultado de um grande número de pacientes com LMA, porém não produziram o sucesso clínico generalizado que se esperava. Especificamente na LMA, isso pode ser atribuído à heterogeneidade da doença e a natureza de rápida evolução, o uso limitado de técnicas de sequenciamento profundo para monitoramento da doença, que é necessário para a identificação de novos clones emergentes, e a pura falta de terapêuticas direcionadas opções para muitas mutações genéticas (ELN2022).

2.2 LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA

A leucemia promielocítica aguda (LPA) é um subtipo de leucemia mieloide aguda (LMA) com características biológicas e clínicas distintas, já foi considerada a leucemia humana mais agressiva e com o pior prognóstico, e atualmente é considerada uma leucemia frequentemente curável (Lo-coco et al 2011; Watts et al 2014; Ravandi et al, 2017). A maioria dos pacientes são jovens e apresentam alto risco de desenvolvimento de uma coagulopatia ameaçadora à vida, que é a manifestação mais impactante da doença (Ravandi et al, 2017). Recebe a denominação de M3 ou M3-variante pela classificação do grupo conhecido como Franco-Americano Britânico (FAB), que utiliza a morfologia e a citotóxica para dividir em oito grupos a Leucemia Mielóide Aguda. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a LPA está incluída no grupo das leucemias com anormalidades genéticas recorrentes, já que as células de quase

todos os pacientes têm uma translocação recíproca balanceada entre os cromossomos 15 e 17 (Rowley et al, 1977; de Braekeller et al, 2014). Essa translocação gera um transcrito de fusão unindo os genes PML (promyelocytic leukemia) e o RAR- α (receptor α - ácido retinóico) dando origem a genes e oncoproteínas quiméricas (Grignani et al 1993; de Braekeller et al, 2014). O gene RAR- α codifica um fator de transcrição 5. A proteína desse gene controla a transcrição de genes que são importantes para a maturação dos leucócitos em geral (de Braekeller et al, 2014).

A LPA constitui cerca de 10 a 15% de todas as LMAs. Segundo Melo (2020), a mortalidade por LPA no Brasil cresceu 146% na comparação entre os anos de 2008 e 2017, partindo de 30 óbitos em 2008 para 74 em 2017 registrados. Este crescimento, representou um aumento das taxas de mortalidade por LPA específicas de todas as faixas etárias. A maior parte dos óbitos por LPA, ocorreu na população com idade entre 20 e 49 anos, o que está de acordo com resultados da literatura que evidenciam maior incidência nesta faixa etária (Thuler et al, 2017).

O aumento das taxas de mortalidade por LPA é preocupante, pois evidências da literatura indicam que o acesso ao tratamento com ATRA precocemente é um fator determinante para a redução da sua mortalidade (Lehmann et al, 2011). Desta forma, é possível que o aumento da mortalidade observado no Brasil, sejam decorrentes da dificuldade de diagnóstico precoce e/ou rápido início do tratamento.

Estudos intensivos da biologia e tratamento da doença resultaram em uma compreensão extraordinariamente completa de sua patogênese (Melnick et al 1999; Ravandi et al, 2017). Os promielócitos leucêmicos têm a capacidade

única de sofrer diferenciação com a exposição ao ácido retinóico e diferenciação quanto à apoptose sob exposição ao trióxido de arsênio (ATO). Além disso, uma taxa de cura de aproximadamente 80% a 90% dos pacientes que sobrevivem à indução e atingem remissão (CR) pode ser esperada (Tallman et al, 2002). No entanto, existem nuances na abordagem para pacientes com LPA que muitas vezes são negligenciadas, e questões complicadas no tratamento que ainda precisam ser estudadas. O ideal manejo da LPA também requer diagnóstico precoce, instituição de medidas de suporte agressivas, manejo adequado de complicações relacionadas ao tratamento e monitoramento de doença residual (DRM) (Sanz et al, 2019). Após a demonstração de que o ATRA de agente único atividade de remissão significativa, foi incorporado em regimes de indução, o que levou a uma melhora significativa na sobrevida livre de recaídas e global e anunciou uma era de terapia dirigida molecularmente no câncer em geral.

Morfologicamente, a medula óssea é hipercelular secundário a uma infiltração por promielócitos anômalos. Observam-se células que caracteristicamente se apresentam com núcleo retorcido, dobrado sobre si, presença de abundante granulação citoplasmática e bastonetes de Auer, podendo já ser encontrados em sangue periférico, podendo estar associado a citopenias, tal como anemia e trombocitopenia (que pode ser secundária a agregados plaquetários). Antigamente, no auge do processo de citoquímica, a detecção pela reação mieloperoxidase produzida pelos promielócitos anormais fechava o diagnóstico. Atualmente podendo-se contar com a análise de imunofenotipagem na tarefa investigatória (análise da expressão de CD33, CD34, HLA-DR, CD13 e outros) (Greer et al, 2014).

A confirmação rápida do diagnóstico genético é obrigatória e deve ser realizada, se possível, em amostras de medula óssea (MO). A identificação da lesão genética específica da LPA pode ser feita por citogenética convencional (menos sensível), hibridização in situ por fluorescência (FISH), reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa (RT-PCR) ou em tempo real (RQ-PCR) (Spinelli et al, 2015). Este último é a única técnica que permite definir o tipo de isoforma do PML/RARA e sua quantificação para posterior avaliação de doença residual mensurável (DRM).

O tratamento estabelecido para LPA depende do risco o qual o paciente apresenta ao diagnóstico. Este é definido pelos valores hematimétricos das plaquetas e dos leucócitos totais. Essa estratificação é dividida em baixo, intermediário e alto risco (Sanz et al, 2010).

Os principais agentes terapêuticos para o tratamento da LPA são os antracíclicos, o ATRA e ATO. Em estudos mais recentes, o tratamento de primeira linha nos pacientes considerados de baixo e intermediário risco baseia-se em ATRA e ATO, quando se é possível acesso ao ATO, pois é de maior custo. Nos pacientes de alto risco, a estratégia terapêutica tanto na indução como na consolidação é a base de antracíclicos e ATRA. A alternativa quando não se é disponível o uso de ATO é o uso da combinação de antracíclicos e ATRA em ambos os riscos, com doses escalonadas de acordo com a estratificação (McCulloch et al, 2017).

Os antracíclicos, em especial a idarrubicina e a daunorrubina, tem como mecanismo de ação a interação/inibição com a enzima Topoisomerase II, formação de adutos e pontes intercadeias no DNA, bem como indução de radicais

livres dentro da célula, levando a senescência e a morte celular por apoptose ou necrose (Russo et al, 2021).

O ATRA induz a maturação de promielócitos, pois se ligando a receptores nucleares no gene RARa para reduzir a proliferação e promover a diferenciação celular. Essa diferenciação pode provocar um aumento de secreção de mediadores inflamatórios por esses granulócitos, levando a uma injúria tissular, consequentemente vasodilatação e aumento da permeabilidade capilar levando a febre, dispneia, infiltrado pulmonar (síndrome do ácido retinóico), cefaleia, alterações neurológicas e hepáticas (Tallman et al, 2000; Greer et al, 2014).

O papel do ATO no tratamento da LPA é devido a sua função de degradação de um produto da fusão PML-RARa, interagindo com grupos tióis nas células, induzindo a apoptose e/ou necrose celular. Como principais toxicidades a síndrome de diferenciação da LPA, alargamento do intervalo qt, náusea e fadiga (Greer et al, 2014).

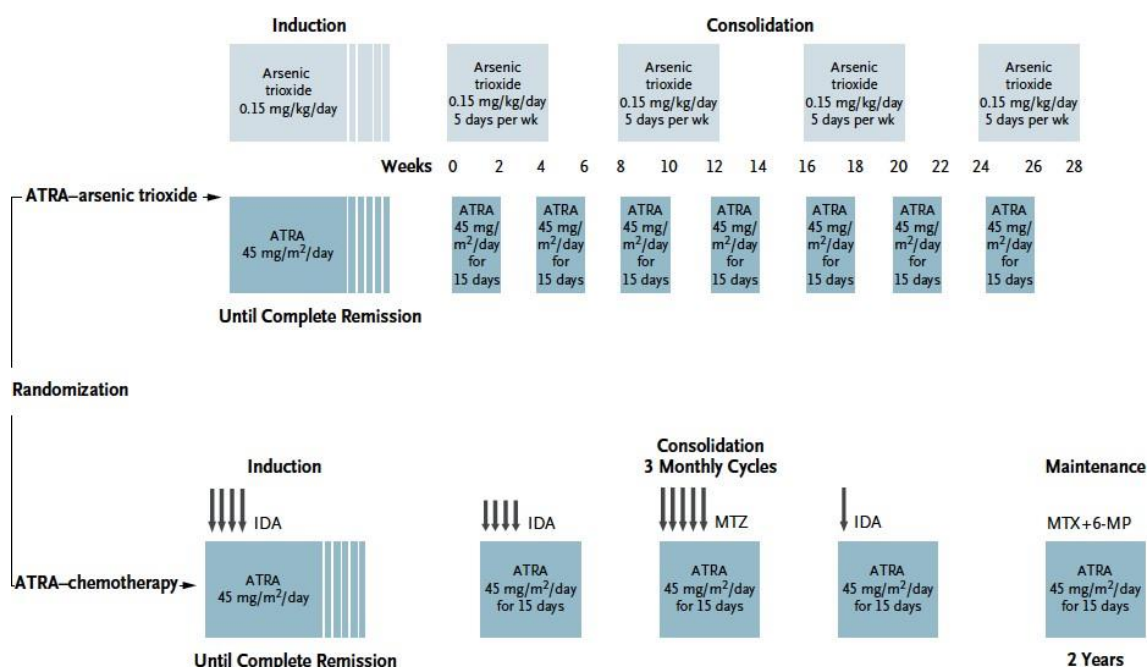


Figura 3: Protocolos de tratamento para LPA. FONTE: European Medicines Agency

2.3 MITOCÔNDRIAS

As mitocôndrias são organelas celulares com características bioenergéticas, biossintéticas e de sinalização que são parte integrante do processo de sensoriamento que permite a adaptação celular de acordo com ambiente. Uma das principais funções das mitocôndrias é a produção de ATP. No entanto, as mitocôndrias desempenham muitas funções além da produção de energia, incluindo a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), reações de oxidação-redução (redox), regulação da sinalização celular e morte celular e metabolismo biossintético (Vyas et al, 2016). Essas funções multifacetadas das mitocôndrias na fisiologia normal os tornam importantes detectores de estresse e permitem a adaptação celular ao ambiente (Vyas et al, 2016; de Beauchamp et al, 2022).

Portanto, não é surpreendente que as mitocôndrias são importantes mediadores da tumorigênese, pois este processo requer flexibilidade para se adaptar alterações celulares e ambientais hostis, como durante a depleção de nutrientes, hipóxia e tratamentos anti-tumorais. Múltiplos aspectos da mitocôndria a biologia além da bioenergética apoia a transformação, incluindo a biogênese mitocondrial e seu turnover, dinâmica de fissão e fusão, suscetibilidade à morte celular, regulação do estresse oxidativo, metabolismo e sinalização. Assim, entender os mecanismos da função mitocondrial durante A tumorigênese será fundamental para a próxima geração de terapias contra o câncer. (Vyas et al, 2016; de Beauchamp et al, 2022).

Não existe um ponto simples para o papel das mitocôndrias no desenvolvimento do câncer. Em vez disso, as funções mitocondriais em processos neoplásicos variam dependendo de fatores genéticos, ambientais e do

tecido de origem, além das diferenças entre os tumores. É claro que a biologia das mitocôndrias no câncer é importante para melhor compreensão da biologia tumoral, já que muitas características clássicas resultam em alterações da função mitocondrial. Entre elas: a biogênese e renovação mitocondrial, fissão e dinâmica de fusão, morte celular, estresse oxidativo, metabolismo e bioenergética, sinalização e DNA mitocondrial (mtDNA). (Vyas et al, 2016; de Beauchamp et al, 2022).

2.4 PRINCIPAIS CAMINHOS ENERGÉTICOS

O metabolismo energético pode ser amplamente definido como a coleção de vias com pelo menos um produto destinado à produção de energia, na forma de ATP (Figura 04). Cerca de 80% de toda produção de ATP celular é produzido pela combinação de dois processos: o ciclo do ácido tricarboxílico (TCA), ou ciclo de Krebs, e a fosforilação oxidativa (OXPHOS), alimentado pela cadeia de transporte de elétrons (ETC) (Zu et al, 2004). Para que o ETC funcione, um fornecimento constante de NADH e FADH₂ é necessários para doar elétrons ao oxigênio, e esses cofatores são disponibilizados pela atividade do ciclo TCA. Por sua vez, para que o ciclo TCA entre em função, ele precisa de um fornecimento constante de oxaloacetato e acetilcoenzima A (acetil-CoA) (Salway, 2017). É importante ressaltar que as células podem sintetizar acetil-CoA de três fontes principais: carboidratos, lipídios e proteínas, seguindo diferentes vias catabólicas. No caso de um desequilíbrio entre acetil-CoA e oxaloacetato, ciclo TCA, intermediários podem ser sintetizados por vias paralelas, um processo conhecido como anaplerose (Salway, 2017). Portanto, a ligação de OXPHOS com outras vias catabólicas, incluindo glicólise, metabolismo de ácidos graxos e

metabolismo de glutamina é crucial para a energia celular, metabolismo no qual as células geram energia e sobrevivem (Figura 4).

Conforme citado anteriormente, as células normalmente usam OXPHOS para geração de ATP, através da interligação do ciclo TCA e da ETC, onde fornece NADH e FADH₂. Os elétrons são doados pelo NADH ao complexo I e pelo FADH₂ ao complexo II, depois transferidos para a coenzima Q, para o complexo III, para o citocromo C e finalmente ao complexo IV. Este transporte de elétrons permite uma série de reações de oxidação e redução dentro dos complexos I, II e IV, que por sua vez permite que esses complexos transfiram prótons de hidrogênio de dentro da mitocôndria para o espaço intermembranar mitocondrial (Zu et al, 2004; de Beauchamp et al, 2022). O acúmulo de prótons nesse espaço cria uma diferença na carga entre a mitocôndria interna e seu espaço intermembranar. este potencial mitocondrial permite que os prótons fluam de volta para a mitocôndria através do complexo V, fornecendo a energia para ligar um inorgânico fosfato a uma molécula de ADP, produzindo ATP (de Beauchamp et al, 2022). A glicólise é o processo metabólico no qual a glicose é convertida em piruvato, que pode em seguida, converter o piruvato em acetil-CoA usado no ciclo do TCA, portanto, em OXPHOS. Uma molécula de frutose-6fosfato produz dois gliceraldeído 3-fosfato, assim, uma molécula de glicose pode produzir duas moléculas de piruvato (Zu et al, 2004; de Beauchamp et al, 2022). O metabolismo dos ácidos graxos também pode suprir o ciclo do TCA com acetil- CoA através a β -oxidação de ácidos graxos. O metabolismo da glutamina é o processo no qual a glutaminase (GLS) converte a glutamina em glutamato, que pode então ser passado para a mitocôndria através da lançadeira de glutamato e

pode ser convertido em α -cetoglutarato, fornecendo ainda mais o ciclo do TCA e aumentar a atividade OXPHOS (de Beauchamp et al, 2022).

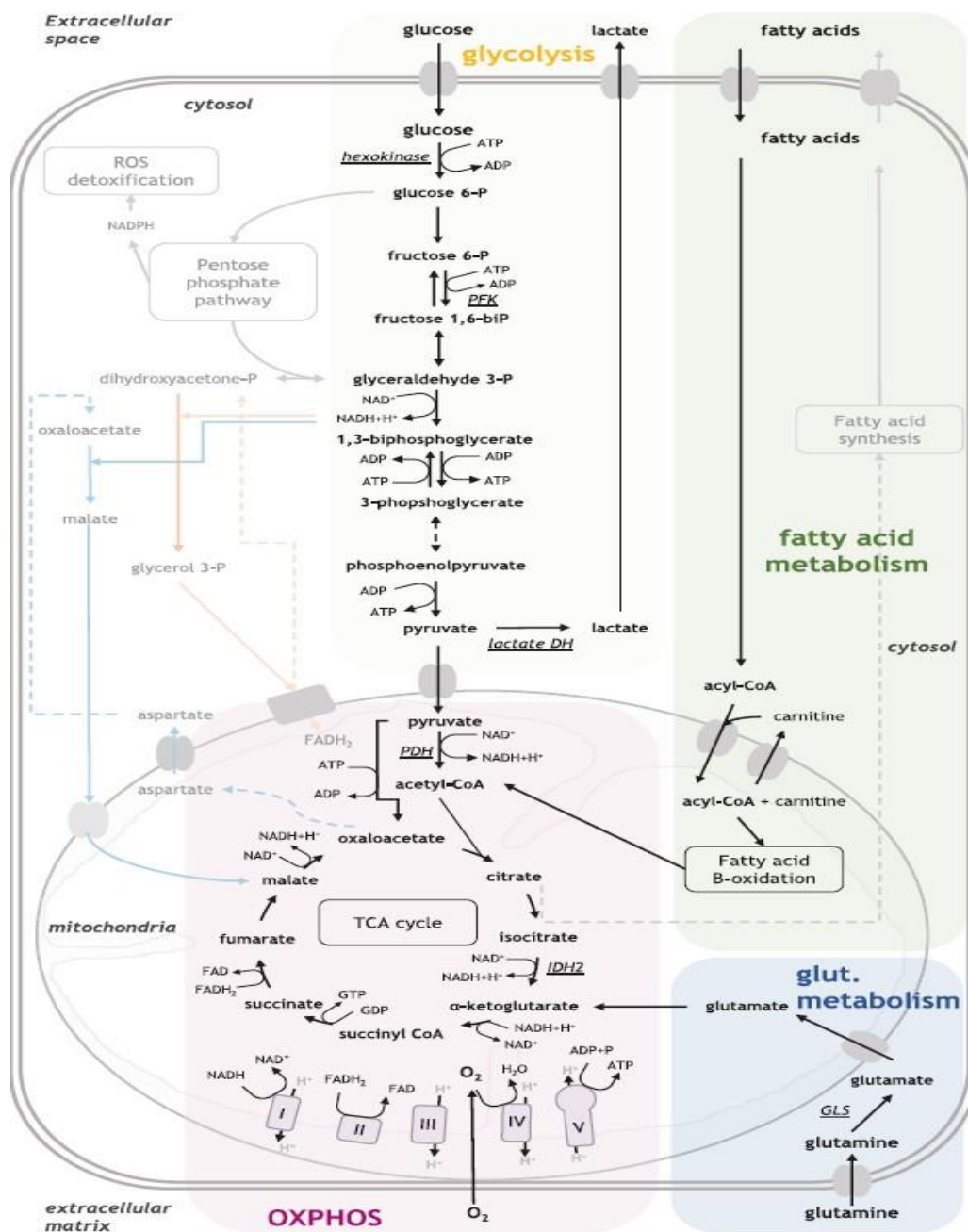


Figura 4: Metabolismo energético celular. FONTE: de Beauchamp, 2022

2.5 METABOLISMO ENERGÉTICO NA HEMATOPOESE

Embora essencial para praticamente todas as células do corpo humano, o ciclo do TCA e atividade OXPHOS estão ligados e suportam diferentes processos em cada tipo de célula. Na hematopoiese, as células tronco hematopoiéticas (HSC) tendem a ser glicolíticas, com baixos níveis de OXPHOS quando estão em seu estado senescente e passam por uma mudança metabólica para um fenótipo mais oxidativo quando se diferenciam (Ito et al, 2018; Filippi et al, 2019). Para sobreviver no microambiente medular, que é hipóxico e manter sua integridade, HSCs dependem da via de glicólise anaeróbica para atender suas demandas de energia (Simseck et al, 2010). Apoiando isso, a manutenção do HSC em quiescência é dependente da glicólise mediada pela piruvato desidrogenase kinase (PDK) (Takubo et al, 2013).

Observe que as dependências metabólicas específicas do estado celular existem tanto na leucemogênese, mas também na hematopoiese normal, modulando o metabolismo da glicose e sensibilizando as células-tronco progenitoras de forma diferente (Wang et al, 2014). HSCs também têm baixos níveis de OXPHOS, devido em parte à expressão do coativador do receptor de esteróides 3 (Hu et al, 2018). Foi formulada a hipótese de que níveis baixos de OXPHOS protegem HSCs da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) que são prejudiciais. É fato que as ROS são conhecidas como culpadas por mutações no DNA mitocondrial, e essas mutações podem inibir a diferenciação de HSC (Norrdahl et al, 2011).

2.6 METABOLISMO ENERGÉTICO NA LEUCEMOGÊNESE

A heterogeneidade da LMA pode está associada ao metabolismo necessário para fornecer energia para o desenvolvimento da célula clonal. Diante disso, é importante entender o conceito do que é célula-tronco leucêmica (LSC).

Quando se analisa o processo de leucemogênese em LMA, observa-se que as células iniciadoras de leucemia são sensíveis à inibição de AMPK e redução do transporte de glicose (Skrtić et al, 2011). No entanto, muitos estudos também revelaram a importância da fosforilação oxidativa (OXPHOS) e transferência mitocondrial em LMA LSCs. Notavelmente, Lagadinou et al. Demonstrou que embora os LSCs sejam metabolicamente menos ativas do que a população de células em massa, elas são incapazes de mobilizar a glicólise e, portanto, dependem de OXPHOS. Além disso, uma comparação recente baseada em proteômica de LSCs de LMA com as células-tronco hematopoiéticas (HSCs) e explosões de células leucêmicas revelou que vários componentes dos complexos das cadeias transportadoras de elétrons (ETC) dos tipos I e V eram consistentemente mais abundantes em LSCs . Aliás, a importância de OXPHOS no células primordiais neoplásicas também foram observadas em células mesenquimais transformadas de células-tronco (MSCs), tumores cerebrais ecâncer de mama, destacando que esta via metabólica é crítica para a célula- tronco da célula neoplásica (CSCs) em uma variedade de doenças malignas. A regulação rígida da dinâmica mitocondrial também é crítica para LMA LSCs. Na verdade, essas células exibem uma característica morfológica mitocondrial única em comparação com células da LMA em massa.

LSCs e células resistentes ao tratamento, no entanto, permanecem uma das principais causas para o nosso fracasso persistente em erradicar a leucemia mielóide.

Assim, o estudo de características independentes de mutação exclusivas para células malignas parece ser uma estratégia particularmente relevante na busca de novas opções terapêuticas. Isto é exemplificado pelo sucesso da droga antiapoptótica venetoclax, que mostrou eficácia em uma variedade de subtipos de LMA como parte dos regimes de tratamento de combinação (de Beauchamp et al, 2022).

Como já dito, a reprogramação metabólica é uma das marcas emergentes do câncer, e a LMA não é exceção a isso. Porém, no contexto da LMA, devido à alta heterogeneidade molecular observada entre os diferentes pacientes, o que se reflete em significativa heterogeneidade clínica, o estudo do estado metabólico em células leucêmicas é desafiador. Os trabalhos de Erdem et al, descrevem algumas das características observadas em relação às diferenças no programa metabólico entre os diferentes subtipos de LMA. Nesse contexto, foi demonstrado que os pacientes portadores da mutação FLT3-ITD apresentavam um programa metabólico associado ao aumento da função mitocondrial (principalmente a atividade do Complexo II), que pode estar relacionado à quimiorresistência. Mas, apesar das mutações no gene FLT3, alguns pacientes com LMA também apresentam aumento da atividade mitocondrial, que pode estar ligada à quimiorresistência. Portanto, outros marcadores para prever a atividade metabólica são necessários para a estratificação de risco de LMA neste sentido.

2.7 DNA MITOCONDRIAL

Conhecida por estar envolvida em múltiplos processos celulares, principalmente no controle do metabolismo energético, a mitocôndria e o estudo

do seu material genético (DNA mitocondrial, mtDNA) vem ganhando destaque nesses últimos anos.

O genoma mitocondrial é composto por um DNA extra cromossomal circular de dupla fita com extensão de 16.500 pares de bases, responsável por codificar 37 genes, dos quais 13 RNAs mensageiros, relacionados a produção de enzimas envolvidas na cadeia transportadora de elétrons, 2 RNAs ribossomais e 22 RNAs transportadores, relacionados à síntese das proteínas essenciais para sua função. Em células somáticas, cada mitocôndria possui em torno de 2 a 10 cópias de mtDNA, podendo variar consideravelmente dependendo do tipo de célula, estágio de diferenciação, tecido de origem, atividade metabólica, resposta ao estresse oxidativo e processos patológicos, como a tumorigênese (Xin Sun, St John 2016). Uma importante característica deste genoma é a ausência de histonas e de mecanismos de reparo de DNA, fato este que torna o mtDNA relativamente mais vulnerável a mutações (Clay-Montier et al. 2009; Mengel-Fromet al. 2014; van Gisbergen et al. 2015). Além disso, o conteúdo de mtDNA pode ser modulado de acordo com as condições fisiológicas das células, o que, consequentemente, repercute em alterações funcionais das mitocôndrias. Estas adaptações também são utilizadas por células tumorais (Mi et al. 2015). Assim, mutações somáticas no mtDNA, com consequente alterações no número de cópias, são frequentemente observadas em diversos tipos de câncer (Mi et al. 2015).

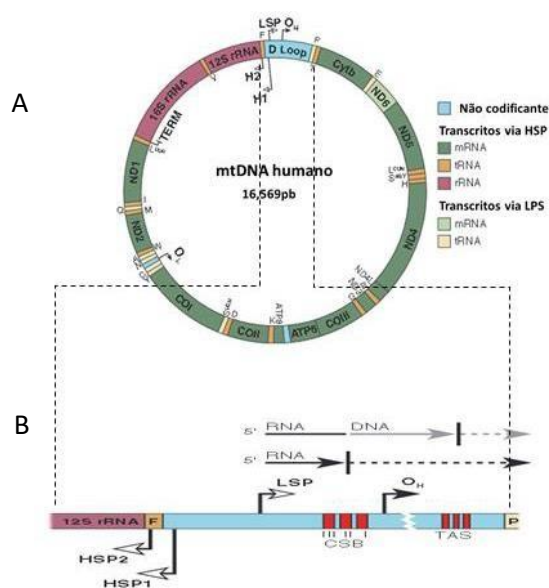


Figura 5: Representação do DNA mitocondrial humano. (A) DNA mitocondrial humano e (B) Detalhamento da região regulatória (D-loop) do DNA mitocondrial. LSP: Região promotora da fita leve; OH: Origem de replicação da fita pesada; HSP1; HSP2: Região promotora 1 e 2 da fita pesada; CSB I, II, III: Blocos de sequências conservadas; TAS: sequências associadas a terminação. **Fonte:** Modificado de Falkenberg et al 2007

Neste sentido, duas teorias se propõem a explicar o significado biológico da alteração no número de cópias de mtDNA em tumores humanos. A primeira delas é que em condições de estresse oxidativo, devido ao aumento na produção de radicais livres e espécies reativas de oxigênio, o mtDNA invariavelmente encontra-se mais susceptível a mutações. Afim de compensar as consequências metabólicas dessas alterações, a mitocôndria passa a sintetizar múltiplas cópias de mtDNA na tentativa de corrigir os danos gerados por essas mutações, levando a um aumento do conteúdo de mtDNA. Em contrapartida, essas mutações podem afetar de forma irreversível o metabolismo mitocondrial, com consequente mitofagia. Este cenário frequentemente relaciona-se com adiminuição no número de cópias de mtDNA. Desta forma, fica evidente que a variação do número de cópias de mtDNA (aumento ou diminuição) pode

desempenhar um papel importante na patogênese do câncer e, consequentemente, na sua resposta a terapia (Yu et al 2011; van Gisbergen et al. 2015). O que fica por ser esclarecido é como o conteúdo de mtDNA varia nos diferentes tipos de tumores e qual seria o significado clínico desta variação.

É interessante ressaltar que não existe um consenso sobre como a variação do número de mtDNA afeta a fisiologia e o prognóstico do câncer. Além disso, sua utilização como um marcador prognóstico pode depender do tipo de tratamento oferecido e do estadiamento clínico do paciente. Alguns trabalhos relataram um aumento do número de cópias de mtDNA em câncer de cabeça e pescoço (Jiang et al. 2005), endométrio (Wang et al. 2005), mama (Shen et al. 2010) e próstata, cólon e ovário (Hofmann et al. 2014) quando pareados com seus respectivos controles. Em contrapartida, uma diminuição do número de cópias de mtDNA foi reportada em pacientes com astrocitoma (Correia et al. 2011), câncer gástrico e carcinoma hepatocelular (Vivekanandan et al. 2010) com consequente impacto na evolução clínica destes tumores. Wu e colaboradores demonstrou em pacientes com câncer gástrico que apresentaram um menor número de mtDNA uma maior frequência de processos ulcerativos, com consequente piora na sobrevivência dos pacientes (Wu et al. 2005). Por outro lado, em cânceres de cabeça e pescoço, um aumento do número de cópias de mtDNA foi associado com estágios mais avançados do tumor (Kim et al. 2004). Em câncer de ovário, pacientes com alto grau de agressividade também apresentaram um maior conteúdo de mtDNA em relação a pacientes com tumores de baixo grau de agressividade (Mi et al.; Cormio et al. 2015). Desta forma, o impacto clínico do número de mtDNA (aumentado ou diminuído) pode depender do tipo de tecido acometido pelo tumor.

No que diz respeito a neoplasias hematológicas, a quantidade de relatos na literatura ainda é pequena, porém crescente. Primeiramente em 1996, Boulwood e colaboradores demonstram que blastos primários de LMA frequentemente apresentam um aumento consistente da massa mitocondrial em comparação com células progenitoras hematopoiéticas não malignas CD34-positivas (Boulwood et al. 1996). Em 2013, Silkjaer e colaboradores sequenciaram o genoma mitocondrial completo de 56 pacientes adultos com LMA e mostraram que a sobrevida livre de doença é inferior naqueles pacientes que apresentaram mutações no mtDNA (Silkjaer et al. 2013). Kang e colaboradores demonstraram uma associação entre alterações no genoma mitocondrial com um risco aumentado de desenvolvimento de LMA pediátrica (Kang et al. 2016). Mais recentemente, Marlein e colaboradores demonstraram uma transferência *in vivo* de mitocôndrias funcionais de células estromais da medula óssea para blastos leucêmicos. De acordo com os autores, essas células leucêmicas poderiam utilizar o acúmulo de mitocôndrias para se auto-preservar, aumentando sua sobrevida e, eventualmente, resultando em recaída (Marlein et al. 2017). Seguindo a mesma linha de raciocínio, Oosterwijk e colaboradores demonstram que o tratamento de pacientes com LMA com inibidores de tirosina quinase (sorafenibe) pode alterar o nicho da medula óssea, levando a um estado de hipóxia e, conseqüentemente, contribuir para resistência terapêutica (Oosterwijk et al. 2017). Fica ainda por ser esclarecido se e como o número de cópias de mtDNA varia durante esse processo de leucemogênese e se essa variação pode alterar a resposta clínica frente a esquemas terapêuticos.

A exemplo de tumores sólidos, o significado clínico do número de cópias de mtDNA também pode variar entre as leucemias agudas. Resultados

preliminares mostram que uma menor quantificação relativa de mtDNA em blastos leucêmicos encontra-se associada com uma menor sobrevida livre de doença e uma maior taxa cumulativa de recaída em pacientes com leucemia promielocítica aguda (LPA) tratados com ATRA e quimioterapia. Por outro lado, considerando-se outras LMAs não-LPA, esses resultados se invertem, mostrando que quanto maior o número de cópias de mtDNA, menor é a sobrevida livre de doença dos pacientes (dissertação de Mestrado, Guilhermy V Araujo). É importante destacar que em ambos os casos (pacientes com LMA ou LPA) existe um aumento do número de cópias de mtDNA em relação controles saudáveis, o que corrobora resultados de outros grupos (Boulton et al. 1996).

Em resumo, fica evidente que existe um interesse crescente sobre o papel da mitocôndria na fisiopatologia do câncer. Além disso, embora ainda não seja completamente compreendido, esses achados apontam para um importante papel do conteúdo mitocondrial nas neoplasias hematológicas. Numa tentativa de contribuir com novas ideias sobre este tema, o presente projeto visa primeiramente determinar o número de cópias de mtDNA em neoplasias hematológicas de origem mielóide (agudas e crônicas) e, subsequentemente, avaliar o impacto destes achados no desfecho e evolução clínica de pacientes com essas enfermidades.

3. OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Determinar o impacto prognóstico do conteúdo de DNA mitocondrial em pacientes adultos com leucemia mielóide aguda.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar o conteúdo de DNA mitocondrial.
- Comparar frente a uma coorte de indivíduos saudáveis o conteúdo de mtDNA dos pacientes e categorizá-los como pacientes com conteúdo de DNA mitocondrial alto e normal
- Associar o conteúdo de DNA mitocondrial com outras alterações moleculares associadas a doença.
- Avaliar o desfecho clínico dos pacientes frente ao conteúdo de DNA mitocondrial.

4. CAPITULO I

IMPORTÂNCIA CLÍNICA E PROGNÓSTICA DO CONTEÚDO DE DNA MITOCONDRIAL EM LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA

Marinus M Lima,¹ Diego A Pereira-Martins,^{1,2,4} Juan L Coelho-Silva,^{1,2} Isabel Weinhäuser,^{2,4} Pedro L Franca-Neto,¹ Matheus F Bezerra,³ Aleide S Lima,¹ Amanda Moreira-Aguiar,¹ Maria L Salustiano,¹ Bruno K Duarte,⁵ Fabiola Trainer,³ Lorena L F Pontes,³ Eduardo M Rego,³ Marcos A Bezerra,¹ Antonio R Lucena-Araujo^{1*}

Filiações: 1 Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil; 2 Centro de Terapia Celular, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil; 3 Divisão de Hematologia, LIM31, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil; 4 Departamento de Hematologia, Cancer Research Centre Groningen, University Medical Center Groningen, University of Groningen, Groningen, Holanda; Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP.

RESUMO

A Leucemia Mielóide Aguda (LMA) é um grupo heterogêneo de alterações clonais que levam a um bloqueio na maturação e/ou uma proliferação de precursores mielóides. A reprogramação metabólica é uma das marcas emergentes em LMA. Porém, devido à alta heterogeneidade molecular observada entre os diferentes pacientes, o estudo do estado metabólico em células leucêmicas pode ser desafiador, já que alguns pacientes com LMA

também apresentam aumento da atividade mitocondrial, o que pode está relacionado a desfechos adversos. O objetivo desse trabalho é avaliar qual a importância da quantificação do DNA mitocondrial em pacientes com diagnóstico recente de Leucemia Mielóide Aguda, associando o número de cópias de DNA mitocondrial com outras alterações moleculares associadas e estabelecer correlações com o escore de risco citogenético adaptado (AGR), demonstrando o seu papel prognóstico. Foi demonstrado que pacientes com alto conteúdo de mtDNA obtiveram piores desfechos quando comparados com os pacientes com conteúdo normal de mtDNA. os altos níveis de mtDNA foi independentemente associado a menor sobrevida livre de doença (SLD) e aumento da incidência cumulativa de recidiva (ICR), denotando como possível marcador prognóstico. A possibilidade de estudar e descobrir dependências específicas do metabolismo de energia e / ou suas ligações com o microambiente das células poderá abrir novos caminhos de pesquisa e, em última análise, novas opções de tratamento para Pacientes com LMA.

Palavras-chave: Leucemia Mielóide Aguda; Leucemia Promielocítica Aguda; mitocôndria; DNA mitocondrial

INTRODUÇÃO

A reprogramação metabólica é uma das marcas emergentes do câncer, incluindo a LMA. Entretanto, no contexto da LMA, a alta heterogeneidade molecular observada entre os diferentes pacientes, o que traduz em heterogeneidade clínica, o estudo do estado metabólico se torna desafiador¹.

A LMA é uma doença heterogênea em termos de características clínicas, desfechos e genética. A leucemia se desenvolve a partir da aquisição em série de mutações somáticas em células-tronco hematopoiéticas e progenitoras com capacidade de auto-renovação e propagação clone neoplásico^{1,2}.

Considerando múltiplos aspectos envolvendo a função da mitocôndria no câncer², sua capacidade de resgatar células tumorais da quimioterapia pode ser de particular interesse na quimiorresistência da LMA. Como parte dessa maquinaria metabólica, foi relatado que o conteúdo do DNA mitocondrial (mtDNA) é alterado em diferentes tipos de tumores com implicação clínica nos resultados do tratamento do paciente³⁻⁷.

Sendo uma parte importante da maquinaria metabólica, o a biossíntese do DNA mitocondrial (mtDNA) foi associada ao aumento da biogênese mitocondrial dependente da fosforilação oxidativa⁸. Além disso, estudos em tumores sólidos sugeriram que alterações no conteúdo de mtDNA (mtDNAc) pode ter implicações clínicas^{3,7}. No entanto, o impacto das alterações no mtDNAc alterado nos desfechos clínicos de pacientes com neoplasias hematológicas (em particular a leucemia mieloide aguda - LMA) permanece amplamente desconhecido. Aqui, levantamos a hipótese de que pacientes com LMA com alto mtDNAc e consequentemente, um alto metabolismo impulsionado pela fosforilação oxidativa teria uma pior resposta as terapias citotóxicas padrão⁹. Para testar essa hipótese, determinamos o mtDNAc em amostras de 482 pacientes tratados com quimioterapia citotóxica (citarabina associado a antraciclina) em 03 centros de referência para o tratamento de LMA.

MÉTODO

Trata-se de uma coorte retrospectiva, multicêntrica, onde foram incluídos 482 pacientes consecutivos com diagnóstico recente de LMA, acompanhados de junho de 2003 a dezembro de 2019 seguindo os critérios de classificação, diagnósticos e tratamento preconizados pela OMS, sendo excluídos pacientes com Leucemia promielocítica aguda (LPA) e LMA secundária ou ainda indisponibilidade ao acesso dos prontuários dos pacientes.

Foram analisadas as seguintes variáveis: idade, sexo, subtipos de classificação, dados do hemograma (contagem de leucócitos e plaquetas, e níveis de hemoglobina e hematócrito) e dados moleculares com base nos critérios supracitados da OMS. O material utilizado na pesquisa foi originário da medula óssea ou sangue periférico com pelo menos 80% de blastos na periferia e foi o mesmo encaminhado aos laboratórios de rotina para fins diagnósticos, não sendo feita nenhuma coleta adicional nos pacientes. Para fins de comparação, foram incluídas amostras de sangue periférico de 293 indivíduos saudáveis de ambos os sexos, com idade mediana de 42 anos (variando de 18 a 60 anos). O estudo obedeceu aos princípios da Declaração de Helsinque e o consentimento informado foi obtido de todos os pacientes ou de seus familiares. O Comitê de Ética em Pesquisa local de cada centro participante aprovou o estudo. Os grupos de risco citogenético foram inicialmente definidos de acordo com a classificação do Medical Research Council (MRC). Como alternativa, usamos a avaliação do risco genético (AGR) adaptado (Silveira, 2020) para categorizar os pacientes de acordo com a citogenética e o risco molecular. Esse modelo de estratificação visa oferecer informações importantes para a assistência dos pacientes com LMA em um

ambiente de saúde com limitações financeiras e de recursos de infraestrutura, pois permite que esses pacientes possam ter seu risco estratificado usando informações citogenéticas moleculares mínimas podendo-se incluir mais pacientes porque permite algum grau de perda de dados sem comprometer seu poder prognóstico. mtDNAc foi quantificado usando reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real e os resultados foram normalizados e expressos como mudança de dobra em relação a um DNA de referência. Detalhes podem ser encontrados no Suplemento dados. Análises descritivas foram realizadas para os pacientes características na linha de base. Detalhes da análise estatística e os desfechos clínicos são descritos no suplemento dados.

RESULTADOS

Inicialmente, buscou-se determinar se o conteúdo de mtDNA poderia ser comparado entre diferentes fontes hematológicas (ou seja, células mononucleares do sangue periférico e medula óssea). Ao medir o conteúdo de mtDNA de 22 pacientes com LMA, para os quais amostras pareadas estavam disponíveis no momento do diagnóstico, detectamos uma forte correlação entre sangue periférico e amostras de medula óssea (coeficiente de correlação de Pearson, $r = 0,78$, intervalo de confiança de 95%, CI: 0,54 a 0,9; Figura 1A). Além disso, demonstramos que o conteúdo de mtDNA é significativamente maior em 482 pacientes com LMA em comparação com 293 voluntários saudáveis ajustados para idade e sexo, enquanto nenhuma diferença foi observada entre os subgrupos de LMA definidos citogeneticamente ($P < 0,05$; Figura 1B). Para categorizar os pacientes com LMA com alto conteúdo de

mtDNA e conteúdo normal, usamos o limite superior dos valores de mtDNA dentro do IC de 95% de indivíduos saudáveis ($\geq 1,63$) como um ponto de corte para definir pacientes com LMA com alto conteúdo de mtDNA. Os pacientes que apresentaram conteúdo de mtDNA dentro da faixa de amostras de controle normais ($< 1,63$) foram classificados como conteúdo de mtDNA normal (Figura 2). 34% dos pacientes apresentavam conteúdo do mtDNA acima do normal (Figura 3). As principais características basais estão resumidas na tabela suplementar 1. O acompanhamento do paciente foi atualizado pela última vez em julho de 2020. O acompanhamento médio entre os sobreviventes foi de 29 meses (95% CI: 25-35 meses). Apenas os pacientes tratados intensivamente com quimioterapia citotóxica foram incluídos nas análises de sobrevida (411 pacientes). No geral, 281/411 (68%) dos pacientes alcançaram remissão hematológica completa (CR), em que o conteúdo de mtDNA não teve impacto na obtenção de CR ($P = 0,478$). Pacientes com alto conteúdo de mtDNA tiveram menor sobrevida livre de doença em 3 anos ($P < 0,0001$) (Figura 4). Este resultado foi consistente com a análise multivariada de riscos proporcionais usando mtDNA como uma variável categórica (Figura 7A) ou contínua (Figura 7B). Considerando a morte sem recaída como uma causa concorrente de falha, a incidência cumulativa de 3 anos da taxa de recaída foi maior em pacientes com mtDNA alto ($P < 0,0001$) (Figura 5). mtDNA não teve impacto na sobrevida global ($P = 0,27$). Além disso, aplicando a estratificação de mtDNA à estratificação de risco genético (AGR) adaptada, notamos que o mtDNA foi capaz de melhorar a estratificação de risco genético (Figura 6).

DISCUSSÃO

Nossos dados suportam algumas considerações. Em primeiro, o conteúdo do mtDNA pode ser clinicamente relevante para pacientes com LMA. Quantidades alteradas de conteúdo de mtDNA são amplamente relatadas em vários tumores humanos. No entanto, não há consenso sobre como essa variação afeta sua fisiopatologia e prognóstico. Dependendo do tecido sob exame, o conteúdo alto ou baixo de mtDNA pode estar associado à progressão do tumor e pior prognóstico^{3,5,7,10}. Essas discrepâncias podem resultar de diferentes tipos de câncer, locais de tecido e tratamentos administrados, indicando diferentes funções específicas do tecido e do contexto para conteúdo mtDNA. Em nossa experiência, um conteúdo de mtDNA maior que o normal foi identificado em quase um terço dos pacientes, que também apresentou resultados pós-indução ruins, independentemente da carga tumoral, idade e citogenética no diagnóstico. Até o momento, pouco se sabe sobre o conteúdo do mtDNA em neoplasias hematológicas. A maioria dos dados envolvendo o genoma mitocondrial na LMA está relacionada a mutações do mtDNA^{11,12}, e poucos estudos abordaram esses achados em um ambiente clínico^{13,14}. Até onde se sabe, este é o primeiro estudo a associar o conteúdo do mtDNA e os resultados clínicos em uma série relativamente grande de pacientes adultos que foram tratados com quimioterapia citotóxica fora de um ensaio clínico prospectivo. Com base na forte correlação entre o conteúdo de mtDNA de diferentes fontes (medula óssea versus sangue periférico), mesmo os pacientes para os quais a aspiração de medula óssea não pôde ser realizada por causa de aspiração seca, poderiam se beneficiar desses dados.

Portanto, diferentes tipos de tumores têm diferentes requisitos bioenergéticos, que podem ser modulados tanto pela variação genética do nDNA ou do mtDNA e pelo número de cópias do mtDNA^{6,7}. Em alguns tumores, a mudança no número de cópias do mtDNA pode ser uma resposta adaptativa secundária ao efeito de uma mutação que confere uma vantagem de crescimento para um determinado tipo de tumor^{7,8}. Assim, onde o número de cópias do mtDNA pode ser um fator contribuinte para o crescimento de certos tipos de tumor, a significância das alterações no número de cópias do mtDNA parece ser específica ao contexto⁹. Um tipo de tumor pode aumentar o número de cópias do mtDNA para funcionar em um ambiente aeróbio. O número de cópias do mtDNA também pode mudar em resposta às mutações do mtDNA. Pode compensar as reduções na função da cadeia de transporte de elétrons devido à presença de uma variante de mtDNA ou o número de cópias de mtDNA pode ser modulado em resposta ao aumento da produção de ROS¹⁵.

Em segundo lugar, o conteúdo de mtDNA desempenha um papel crítico no contexto da apoptose induzida por drogas. Na verdade, o estudo do metabolismo do câncer tem sido um campo em rápido crescimento, dando origem a novas abordagens terapêuticas.

Embora a maioria dos pacientes com LMA responda inicialmente à quimioterapia, muitos deles recaem posteriormente. A recidiva da doença é provavelmente causada por células-tronco de leucemia (LSCs) que não são afetadas pela quimioterapia e, portanto, mantêm suas propriedades de iniciação da doença, sendo que a base mecânica para a persistência de LMA após a quimioterapia não foi determinada¹⁶.

Historicamente, acredita-se que o fracasso da terapia seja devido a mutações que produzem resistência aos medicamentos, possivelmente decorrentes das propriedades mutagênicas dos medicamentos quimioterápicos¹⁷. No entanto, outras linhas de evidência apontaram para a pré-existência de células resistentes a drogas¹⁸. Por exemplo, o sequenciamento profundo de amostras de LMA de diagnóstico pareado e recidiva forneceu evidências diretas de que a recidiva em alguns casos é gerada a partir de subclones genéticos menores presentes no diagnóstico que sobrevivem à quimioterapia^{19,20}, sugerindo que células resistentes são geradas por processos evolutivos antes do tratamento e são selecionadas pela terapia.

Embora o mecanismo fisiológico de aquisição mitocondrial ainda não esteja claro, está bem estabelecido que células não malignas do estroma da medula óssea para células LMA durante a quimioterapia^{21,22}. No entanto, corroborando estudos anteriores, encontramos um efeito protetor de alto conteúdo de mtDNA em blastos leucêmicos primários humanos contra a apoptose^{23,24}.

O mecanismo de recaída de LMA permanece obscuro. Embora a maioria dos pacientes com LMA responda inicialmente à quimioterapia, muitos deles apresentam recidiva subsequente, enquanto os mecanismos biológicos para a persistência da LMA após a quimioterapia não foram totalmente determinados. Embora algum mecanismo ainda necessite de confirmação, é concebível que a transferência mitocondrial do microambiente para as células leucêmicas possa funcionar como um mecanismo de proteção contra a quimioterapia^{21,22}.

Com base em sua complexidade, a LMA não pode ser definida apenas por seu cariótipo, mas requer uma visão geral que inclua alterações epigenéticas, Interação com o microambiente, e desregulação metabólica¹⁵. Dados esses vários parâmetros, a eficácia do medicamento pode exigir regimes terapêuticos individuais. Compreender os mecanismos da função mitocondrial durante o tratamento do câncer pode ser fundamental para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas¹⁵. O estudo do metabolismo do câncer tem sido um campo em rápido crescimento, dando origem a novas abordagens terapêuticas. Como parte da maquinaria metabólica, no entanto, em uma doença tão heterogênea como a LMA, mais estudos são necessários para confirmar nossos dados e determinar se o conteúdo de mtDNA também pode ser relevante no contexto de refratariedade e doença residual mínima após o tratamento quimioterápico. Além disso, outras questões precisam ser elucidadas: (1) se e como o conteúdo de mtDNA varia durante o processo de leucemogênese, (2) se essas flutuações podem alterar a resposta clínica aos regimes terapêuticos e (3) se as células depletadas de mtDNA conservam essa sensibilidade a drogas se co-cultivadas com células estromais da medula óssea não malignas.

Embora agora tenhamos uma compreensão completa do genoma e das anormalidades subjacentes à leucemia mieloide aguda²⁵, tornou-se evidente que nosso conhecimento da biologia das células leucêmicas, no entanto, ainda permanece incompleto. A religação do metabolismo de energia é o exemplo perfeito de um processo, que é fundamental para essas células, embora seja principalmente independente de mutação. Quando avaliamos o conteúdo do mtDNA nos pacientes com LMA foi visto que estes exibiram maior

conteúdo de mtDNA do que células CD34+ saudáveis e que os altos níveis de mtDNA foi independentemente associado a SLD reduzido e ICR aumentada, denotando como possível marcador prognóstico.

CONCLUSÃO

Enquanto ainda há necessidade de estratégias terapêuticas clinicamente aplicáveis, temos a esperança de descobrir dependências específicas do metabolismo de energia e/ou suas ligações com o microambiente das células, abrindo novos caminhos de pesquisa e, em última análise, novas opções de tratamento para Pacientes com LMA. Com isso, torna-se necessário mais estudos para entender melhor a atuação do metabolismo no contexto da heterogeneidade da leucemia mielóide aguda.

FIGURAS

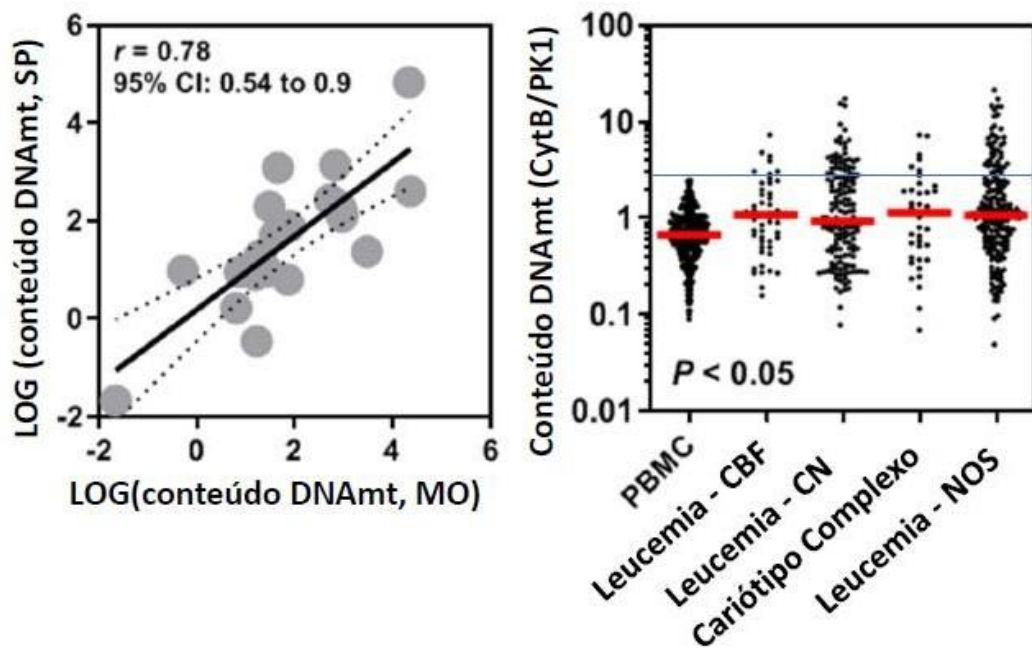


Figura 1A e 1B: demonstram a quantificação relativa do número de cópias de mtDNA em pacientes com LMA de novo em comparação com indivíduos saudáveis. Os pacientes com LMA foram subclassificados de acordo com alterações genéticas apresentadas ao diagnóstico. Esta classificação incluiu pacientes com core-binding factor-leukemia (CBF-leukemia), pacientes com cariótipo normal (LMA-CN), pacientes com cariótipo complexo e pacientes cujo as alterações genéticas são menos recorrentes, ou melhor, estes pacientes foram agrupados como LMA-não especificadas.

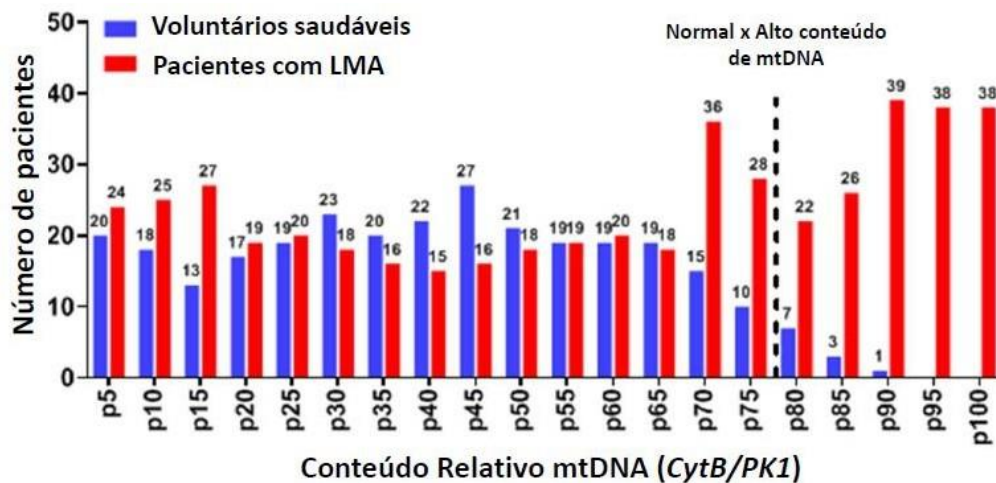


Figura 2: Avaliação da quantificação de mtDNA – ponto de corte da avaliação entre conteúdo normal e alto de mtDNA

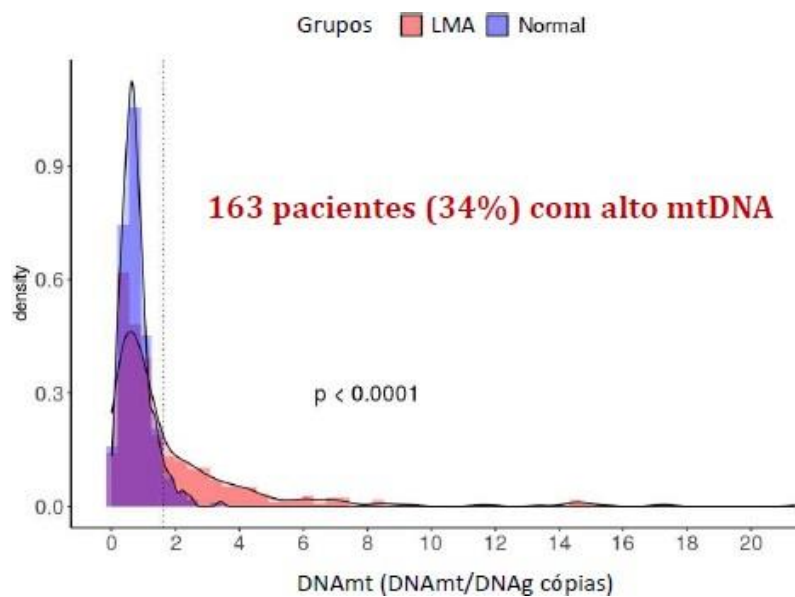


Figura 3: Representação gráfica da dicotomização entre os grupos: conteúdo normal e acima do normal de mtDNA. 34% dos pacientes com LMA apresentavam conteúdo de mtDNA acima do normal. Esse resultado dicotomizou as amostras de LMA em dois grupos - pacientes com conteúdo de mtDNA igual ao normal e pacientes com conteúdo de mtDNA acima do normal.

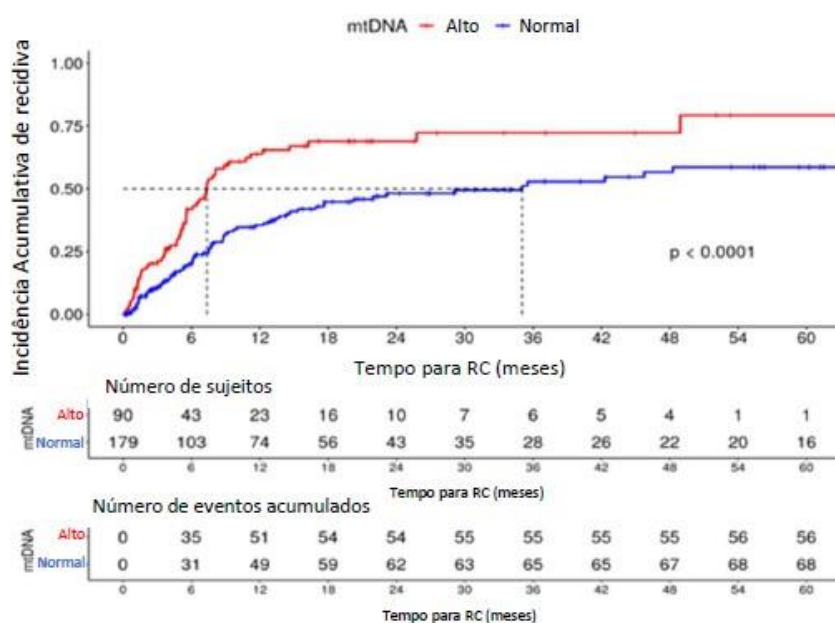
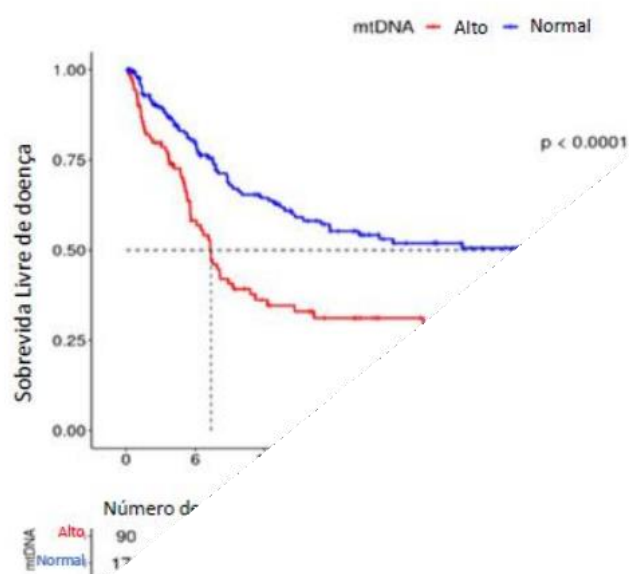


Figura 4 e 5: Representação gráfica: Sobrevida Livre de doença. os pacientes com conteúdo de mtDNA acima do normal exibiram diminuição da sobrevida livre de doença e aumento da incidência aculativa de recidiva (CIR)

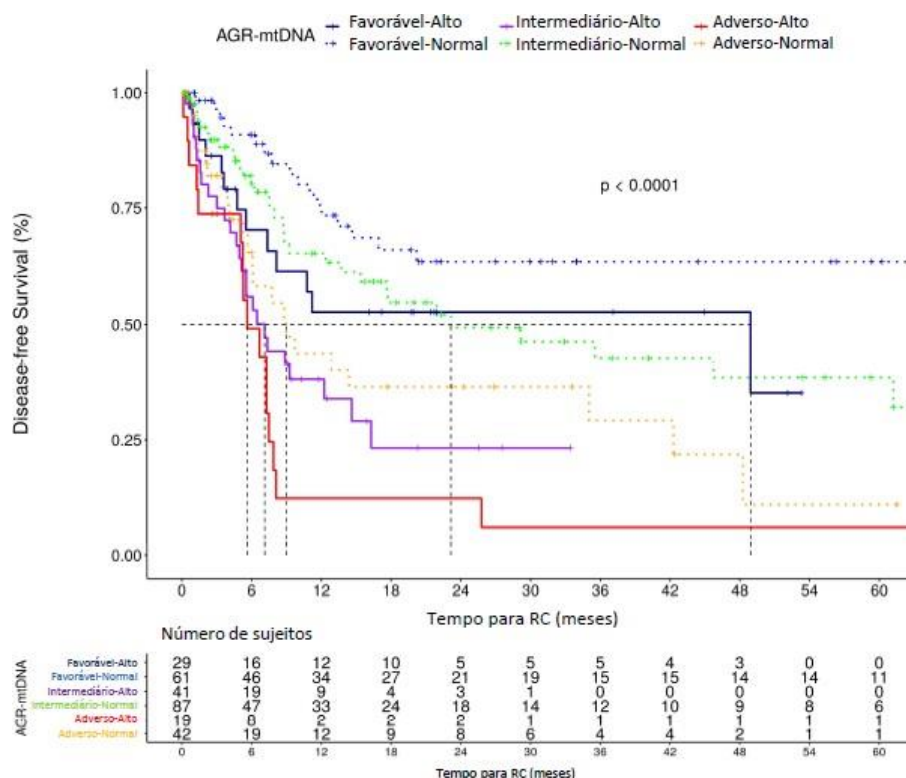


Figura 6: Representação gráfica: Estratificação de risco – mtDNA x AGR. aplicando a estratificação de mtDNA à estratificação de risco genético (AGR) adaptada, notamos que o mtDNA foi capaz de melhorar a estratificação de risco genético.

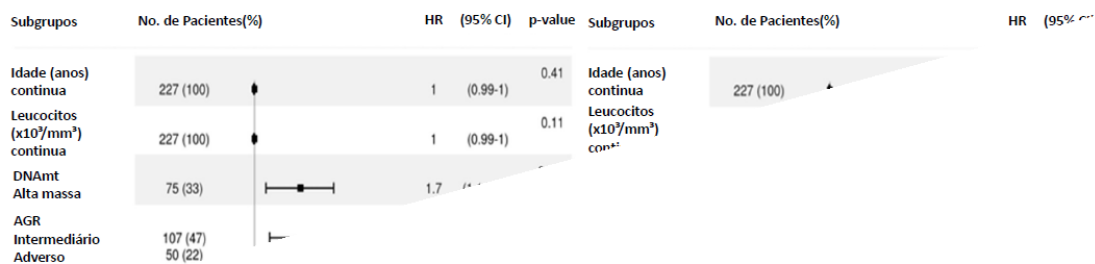


Figura 7A e 7B: Análise multivariada da coorte. Denota o mtDNA como uma possível alvo de avaliação prognóstica de acordo com o modelo de estratificação do AGR, sendo estatisticamente significativo quando avaliamos as variáveis com alto conteúdo de mtDNA e os riscos intermediário e adverso pelo AGR.

REFERÊNCIAS

1. Bezerra, Matheus F., et al. "Co-occurrence of DNMT3A, NPM1, FLT3 mutations identifies a subset of acute myeloid leukemia with adverse prognosis." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 135.11 (2020): 870-875.
2. Vyas S, Zaganjor E, Haigis MC. Mitochondria and Cancer. *Cell*. 2016;166(3):555–566.
3. He X, Qu F, Zhou F, et al. High leukocyte mtDNA content contributes to poor prognosis through ROS-mediated immunosuppression in hepatocellular carcinoma patients. *Oncotarget*. 2016;7(16):22834–45.
4. Qu F, Chen Y, Wang X, et al. Leukocyte mitochondrial DNA content: a novel biomarker associated with prognosis and therapeutic outcome in colorectal cancer. *Carcinogenesis*. 2015;36(5):543–52.
5. Wang Y, He S, Zhu X, Qiao W, Zhang J. High copy number of mitochondrial DNA predicts poor prognosis in patients with advanced stage colon cancer. *Int. J. Biol. Markers*. 2016;31(4):e382–e388.
6. Weerts MJA, Sieuwerts AM, Smid M, et al. Mitochondrial DNA content in breast cancer: Impact on in vitro and in vivo phenotype and patient prognosis. *Oncotarget*. 2016;7(20):29166–76.
7. Dang S, Qu Y, Wei J, et al. Low copy number of mitochondrial DNA (mtDNA) predicts worse prognosis in early-stage laryngeal cancer patients. *Diagn. Pathol*. 2014;9:28.
8. Basak NP, Banerjee S. Mitochondrial dependency in progression of acute myeloid leukemia. *Mitochondrion* [Internet] 2015;21:41–8. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567724915000173>
9. Wierenga ATJ, Cunningham A, Erdem A, Lopera NV, Brouwers-Vos AZ, Puijs M, et al. HIF1/2-exerted control over glycolytic gene expression is not functionally relevant for glycolysis in human leukemic stem/progenitor cells. *Cancer Metab* [Internet]. 2019 27;7(1):11. <https://doi.org/10.1186/s40170-019-0206-y>. <https://cancerandmetabolism.biomedcentral.com/articles/>
10. Qu, Falin, et al. "Leukocyte mitochondrial DNA content: a novel biomarker associated with prognosis and therapeutic outcome incolorectal cancer." *Carcinogenesis* 36.5 (2015): 543-552.
11. Yao Y-G, Ogasawara Y, Kajigaya S, et al. Mitochondrial DNA sequence variation in single cells from leukemia patients. *Blood*. 2007;109(2):756–62.
12. Grist SA, Lu X-J, Morley AA. Mitochondrial mutations in acute leukaemia. *Leukemia*. 2004;18(7):1313–6.
13. Kang M-G, Kim Y-N, Lee JH, et al. Clinicopathological Implications of Mitochondrial Genome Alterations in Pediatric Acute Myeloid Leukemia. *Ann. Lab. Med*. 2016;36(2):101–10.
14. Silksjaer, Trine, et al. "Characterization and prognostic significance of mitochondrial DNA variations in acute myeloid leukemia." *European journal of haematology* 90.5 (2013): 385-396.
15. de Beauchamp, Lucie, Ekaterini Himonas, and G. Vignir Helgason. "Mitochondrial metabolism as a potential therapeutic target in myeloid leukaemia." *Leukemia* 36.1 (2022): 1-12.

16. Kang M-G, Kim Y-N, Lee JH, et al. Clinicopathological Implications of Mitochondrial Genome Alterations in Pediatric Acute Myeloid Leukemia. *Ann. Lab. Med.* 2016;36(2):101–10.
17. Marlein, Christopher R., et al. "NADPH oxidase-2 derived superoxide drives mitochondrial transfer from bone marrow stromal cells to leukemic blasts." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 130.14 (2017): 1649-1660.
18. Ding L, Ley TJ, Larson DE, et al. Clonal evolution in relapsed acute myeloid leukaemia revealed by whole-genome sequencing. *Nature.* 2012;481(7382):506–510.
19. Garg M, Nagata Y, Kanojia D, et al. Profiling of somatic mutations in acute myeloid leukemia with FLT3-ITD at diagnosis and relapse. *Blood.* 2015;126(22):2491–2501.
20. Krönke J, Bullinger L, Teleanu V, et al. Clonal evolution in relapsed NPM1-mutated acute myeloid leukemia. *Blood.* 2013;122(1):100–108.
21. Moschoi R, Imbert V, Nebout M, et al. Protective mitochondrial transfer from bone marrow stromal cells to acute myeloid leukemic cells during chemotherapy. *Blood.* 2016;128(2):253–64.
22. Shafat MS, Gnaneswaran B, Bowles KM, Rushworth SA. The bone marrow microenvironment - Home of the leukemic blasts. *Blood Rev.* 2017;31(5):277–286.
23. Marlein, Christopher R., et al. "NADPH oxidase-2 derived superoxide drives mitochondrial transfer from bone marrow stromal cells to leukemic blasts." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 130.14 (2017): 1649-1660.
24. Mei, H., et al. "Reduced mtDNA copy number increases the sensitivity of tumor cells to chemotherapeutic drugs." *Cell death & disease* 6.4 (2015): e1710-e1710.
25. Döhner, Hartmut, et al. "Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 140.12 (2022): 1345-1377.

SUPLEMENTO

Métodos

Pacientes e desenho do estudo

Realizamos um estudo de coorte retrospectivo investigando a relevância clínica do conteúdo relativo de mtDNA em pacientes com LMA. No geral, foram incluídos 482 pacientes consecutivos com LMA recém-diagnosticados, que foram acompanhados de junho de 2003 a dezembro de 2019 em três centros de referência brasileiros especializados no tratamento de LMA. O diagnóstico de LMA foi baseado nos critérios da Organização Mundial da Saúde. Foram incluídos neste estudo os pacientes com diagnóstico recente de LMA de novo em amostras de medula óssea (MO, preferencialmente) ou amostras de sangue periférico (SP), caso disponíveis. Todas as amostras SP continham pelo menos 80% ou mais de células blásticas. Para fins de comparação, a análise incluiu amostras de SP de 293 voluntários saudáveis ajustados por idade e sexo, sem histórico de doenças hematológicas. Células mononucleares da medula óssea (BMMC) e células mononucleares do sangue periférico (PBMC) foram isoladas, respectivamente, usando gradiente de densidade.

O Comitê de Ética em Pesquisa de cada centro participante aprovou o estudo. Em conformidade com o protocolo aprovado pelo conselho de revisão institucional (#7147/2005), o consentimento informado foi obtido de todos os pacientes ou seus familiares (representantes). Todos os subtipos de LMA foram considerados elegíveis para estudo, exceto pacientes com leucemia

promielocítica aguda ou com história prévia de síndrome mielodisplásica ou LMA relacionada à terapia. Todos os protocolos de estudo estavam de acordo com a Declaração de Helsinque e aprovados pelos conselhos de revisão institucional dos centros participantes. Todos os pacientes forneceram consentimento informado por escrito para inclusão no ensaio clínico e análises genéticas. Os protocolos de tratamento foram previamente descritos¹.

Análises citogenéticas e moleculares

Todos os materiais utilizados para as análises genéticas foram obtidos no momento do diagnóstico e processados nos laboratórios de referência de cada centro participante. A análise citogenética foi realizada a partir de aspirados de medula óssea de acordo com técnicas padrão para bandeamento cromossômico. Grupos de risco citogenético foram inicialmente definidos de acordo com a classificação do Medical Research Council (MRC)². Alternativamente, usamos a avaliação de risco genético adaptada (AGR) (REF) para categorizar os pacientes de acordo com a citogenética e o risco molecular. Tal estratégia permite incluir mais pacientes porque permite algum grau de falta de dados sem comprometer seu poder prognóstico³.

Para as análises moleculares, o DNA genômico foi extraído usando o kit Puregene (Gentra System) de acordo com o protocolo do fabricante. Técnicas padrão de reação em cadeia da polimerase e sequenciamento foram realizadas para a detecção de mutações NPM1 e FLT3-ITD⁴⁻⁷.

Quantificação relativa do conteúdo de mtDNA

Após a extração de DNA genômico total, o conteúdo de mtDNA foi determinado por PCR quantitativo em tempo real (qPCR) usando primers específicos para o gene mitocondrial citocromo B (CYTB) (representando o mtDNA) e para o gene de piruvato quinase nuclear de cópia única (PK), usado para representar o DNA nuclear (nDNA). As sequências dos primers para o gene PK foram: forward 5'-AGCCCAAATGGCCTTGAA-3'; reverso 5'-AGAGACAGAATGCCAGTGAGC-3'; os primers para o gene CYTB foram: forward 5'-CACGATTCTTTACCTTTCACTTCATC-3'; reverso 5'-TGATCCCGTTTCGTGCAAG-3'. Todos os ensaios de qPCR foram realizados em triplicata usando DNA derivado de amostra em placas ópticas de 96 poços MicroAmp usando um sistema 7500 Real-Time PCR (Applied BioSystems, Foster City, CA, EUA). A solução de reação foi preparada combinando o PowerSYBR™ Green PCR Master Mix (Applied BioSystems) e 320 nM cada um dos primers. A concentração de DNA em cada amostra foi diluída para 20 ng/μL e 1 μL de DNA foi adicionado a cada poço como modelo. Controles negativos sem molde foram executados para cada gene. O programa de amplificação foi de 10 minutos a 95°C, seguido de 40 ciclos de 15 segundos a 95°C e 60 segundos a 60°C. Ao final do processo de amplificação, a especificidade de amplificação do gene foi avaliada pela curva de fusão entre 55-95°C. As eficiências de qPCR correspondentes para cada amplificação de gene mitocondrial e nuclear foram calculadas de acordo com a equação: $E = 10^{(-1/\text{slope})} - 1$. A eficiência dos genes CYTB e PK foi de 106% e 94%, respectivamente.

O conteúdo relativo de mtDNA foi definido como a quantidade total de mtDNA (gene CYTB) subtraída pela quantidade total de nDNA (gene PK).

Como tal, a diferença do número do limite do ciclo (Ct) ($\Delta Ct = Ct_{CYTB} - Ct_{PK}$) foi calculada para cada réplica. Sem amplificação detectável de CYTB em 40 ciclos (condições de amplificação padrão para qPCR), os valores de expressão foram definidos como 0. Amostras com amplificação Ct no gene PK superior a 25 foram excluídas da análise. Cada amostra foi normalizada para um DNA de referência e definido como 1. O mesmo DNA de referência foi usado como controle interno em todos os experimentos para garantir que os resultados de diferentes experimentos pudessem ser comparáveis. O conteúdo relativo de mtDNA foi obtido pelo método comparativo de Ct, e os resultados foram expressos usando $2^{-\Delta\Delta Ct}$, em que $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{pacientes}} - \text{grupo de referência } \Delta Ct$.

Análise estatística e desfechos clínicos

Para avaliar o impacto do conteúdo do mtDNA nos resultados clínicos sem buscar um ponto de corte ideal, os pacientes e voluntários saudáveis foram divididos em percentis de acordo com o conteúdo do mtDNA e posteriormente alinhados. Usando esse critério, dicotomizamos os pacientes em dois grupos de acordo com o valor mais baixo do conteúdo de mtDNA das amostras de pacientes com LMA capaz de excluir 95% das amostras de controle normais do alinhamento. Portanto, os pacientes foram considerados com conteúdo normal de mtDNA se tivessem valores relativos de mtDNA inferiores a 1,63 (319 pacientes; 60%). Os demais pacientes foram classificados como de alto conteúdo de mtDNA (163 pacientes; 30%), ou seja, aqueles com mtDNA maior que o grupo saudável normal. Também consideramos usar uma análise de curva de característica de operação do

receptor (ROC)⁸ para definir o corte ideal para o conteúdo de mtDNA. No entanto, o desempenho foi insatisfatório (área sob a curva: 0,571, IC 95%: 0,47 a 0,671). As características basais e clínicas foram então comparadas. Análises descritivas foram realizadas para as características basais do paciente. O teste exato de Fisher ou teste qui-quadrado, conforme apropriado, foi usado para comparar variáveis categóricas. O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para comparar variáveis contínuas⁹. Todos os valores-P foram bilaterais com um nível de significância de 0,05. Todos os cálculos foram realizados usando o software Stata Statistic/Data Analysis versão 12 (Stata Corporation, EUA) e R 3.3.2 (The CRAN project, www.r-project.org).

Tabela S1. características clínica e laboratoriais da coorte

CARACTERÍSTICAS		TODOS		NORMAL MTDNA		ALTO MTDNA		P
		No.	%	No.	%	No.	%	
IDADE								0.728
	18–40 anos	150	31.1	103	32.3	47	28.8	
	41–60 anos	167	34.6	109	34.2	58	35.6	
	> 60 anos	165	34.2	107	33.5	58	35.6	
MEDIANA		51.6 (18, 93.7)		51 (18, 93)		52.7 (18.1, 93.7)		0.768
SEXO								0.334
	Feminino	262	54.4	168	52.7	94	57.7	
	Masculino	220	45.6	151	47.3	69	42.3	
FAB SUBTIPO								0.073
	M0	99	20.5	57	17.9	42	25.8	
	M1	75	15.6	49	15.4	26	16	
	M2	134	27.8	99	31	35	21.5	
	M4	118	24.5	78	24.5	40	24.5	
	M5	40	8.3	28	8.8	12	7.4	
	M6	9	1.9	6	1.9	3	1.8	
	M7	7	1.5	2	0.6	5	3.1	

Características	todos		NORMAL mtDNAC		ALTO mtDNAC		p
Risco citogenético	No.	%	No.	%	No.		0.695
Favorável	54	16.8	37	17.3	17	5.9	
Intermediário	206	64.2	134	62.6	72	67.3	
Adverso	61	19	43	20.1	18	16.8	
Dados perdidos	161	-	105	-	56	-	
FLT3-ITD							
Mutado	113	24.3	66	21	47	31.3	
Não-mutado	352	75.7	249	79	103	68.7	
Dados perdidos	17	-	4	-	13	-	
NPM1							
Mutado	137	29.5	81	25.7	56	37.3	
Não mutado	328	70.5	234	74.3	94	62.7	
Dados perdidos	17	-	4	-	13	-	
Blastos em medula óssea, %, mediana	70 (20, 100)		68 (20, 100)		72 (20, 99)		0.245
Leucócitos, ×10⁹/l, mediana	26.2 (0.3, 790)		29.9 (0.3, 790)		19.1 (0.6, 43.5)		0.324
Hemoglobina, g/dl, mediana	8.3 (3, 16.2)		8.4 (3, 16.2)		8.1 (3.1, 12.3)		0.475
Plaquetas, ×10⁹/l, mediana	47.5 (3, 404)		45.5 (5, 404)		49 (3, 402)		0.442
DHL, u/l, mediana	674 (116, 7.027)		713 (116, 7.027)		627 (119, 5.390)		0.438

5. CAPITULO II

Received: 15 August 2022 | Accepted: 29 September 2022

DOI: 10.1111/bjh.18510



SHORT REPORT

Clinical significance of mitochondrial DNA content in acute promyelocytic leukaemia

Diego A. Pereira-Martins^{1,2,3,4} | Juan L. Coelho-Silva^{1,3,4} | Isabel Weinhäuser^{2,3,4} | Pedro L. Franca-Neto¹ | Douglas R. Silveira⁵ | César Ortiz^{3,4} | Amanda Moreira-Aguiar¹ | Marinus M. Lima¹ | Luisa C. Koury^{3,4} | Raul A. de Melo⁶ | Ana B. Glória⁷ | Evandro M. Fagundes⁷ | Bruno K. Lino⁸ | Katia Pagnano⁸ | Rosane Bittencourt⁹ | Elenaide Nunes¹⁰ | Fabiola Traina^{3,4} | Lorena Figueiredo-Pontes^{3,4} | Armand Keating¹¹ | Martin S. Tallman¹² | Raul C. Ribeiro¹³ | Richard Dillon¹⁴ | Arnold Ganzer¹⁵ | Miguel A. Sanz^{16,17} | Nancy Berliner¹⁸ | Peter Valk¹⁹ | Bob Löwenberg¹⁹ | Tiziana Ottone^{20,21} | Nelida I. Noguera^{20,21} | Maria T. Voso^{20,21} | Francesca Paoloni²¹ | Paola Fazi²² | Emanuele Ammatuna² | Gerwin Huls² | Jan Jacob Schuringa² | Eduardo M. Rego^{3,4,23} | Antonio R. Lucena-Araujo¹

¹Department of Genetics, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil²Department of Hematology, Cancer Research Centre Groningen, University Medical Centre Groningen, University of Groningen, Groningen, the Netherlands³Department of Medical Imaging, Haematology, and Oncology, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil⁴Center for Cell Based Therapy, São Paulo Research Foundation, Ribeirão Preto, SP, Brazil⁵Myeloid Leukaemia Genomics and Biology Group, School of Cancer and Pharmaceutical Sciences, King's College London, London, UK⁶Department of Internal Medicine, University of Pernambuco, Recife, Brazil⁷Hematology Division, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil⁸Hematology and Hemotherapy Center, University of Campinas, Campinas, Brazil⁹Hematology Division, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil¹⁰Hematology Division, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil¹¹Princess Margaret Cancer Centre, Toronto, Ontario, Canada¹²Leukemia Service, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center/Weill Cornell Medical College, New York City, New York, USA¹³Department of Oncology, St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, Tennessee, USA¹⁴Department of Medical and Molecular Genetics, King's College London School of Medicine, London, UK¹⁵Department of Hematology, Hemostasis, Oncology, and Stem Cell Transplantation, Hannover Medical School, Hannover, Germany¹⁶Department of Hematology, Valencia University Medical School, Valencia, Spain¹⁷CIBERONC, Instituto Carlos III, Madrid, Spain¹⁸Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, USA¹⁹Department of Hematology, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, The Netherlands²⁰Department of Biomedicine and Prevention, University of Tor Vergata, Rome, Italy²¹Santa Lucia Foundation, I.R.C.C.S., Neuro-Oncohematology, Rome, Italy²²Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (GIMEMA), GIMEMA Foundation, Rome, Italy²³Hematology Division, LIM31, Faculdade de Medicina, University of São Paulo, São Paulo, Brazil

Diego A. Pereira-Martins and Juan L. Coelho-Silva contributed equally for this study.

© 2022 British Society for Haematology and John Wiley & Sons Ltd.

Correspondence

Antonio R. Lucena-Araujo, Department of Genetics, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Recife, PE 50670-901, Brazil.
Email: araujoar@gmail.com

Funding information

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Grant/Award Number: 303479/2018-3; Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, Grant/Award Number: 2013/08135-2, 2015/09228-0, 2016/23191-4 and 2017/23117-1

Summary

Although a growing body of evidence demonstrates that altered mtDNA content (mtDNAc) has clinical implications in several types of solid tumours, its prognostic relevance in acute promyelocytic leukaemia (APL) patients remains largely unknown. Here, we show that patients with higher-than-normal mtDNAc had better outcomes regardless of tumour burden. These results were more evident in patients with low-risk of relapse. The multivariate Cox proportional hazard model demonstrated that high mtDNAc was independently associated with a decreased cumulative incidence of relapse. Altogether, our data highlights the possible role of mitochondrial metabolism in APL patients treated with ATRA.

KEYWORDS

anthracycline-based chemotherapy, ATRA, mtDNA content, oxidative phosphorylation

INTRODUCTION

Being in use in the clinics for more than three decades, all-trans retinoic acid (ATRA)-based treatment (in combination with chemotherapy or arsenic trioxide, ATO) represents the first-line therapy for standard-risk acute promyelocytic leukaemia (APL). Consequently, APL remains the most curable subtype of acute myeloid leukaemia (AML) to date. In addition to the degradation of the PML/RARA fusion protein,¹ ATRA modulates the mitochondria-mediated cellular metabolism and promotes a metabolic shift from glycolysis to oxidative phosphorylation.² Considering that mitochondrial alterations potentially represent a metabolic vulnerability in leukaemic cells,³ metabolic changes driven by ATRA could be clinically relevant.

Being an important part of the metabolic machinery, the biosynthesis of mitochondrial DNA (mtDNA) has been associated with increased mitochondrial biogenesis and dependence on oxidative phosphorylation.⁴ In addition, studies in solid tumours suggested that alterations in mtDNA content (mtDNAc) could have clinical implications.^{5,6} Yet, whether altered mtDNAc has an impact on clinical outcomes of patients with haematological malignancies (in particular APL and non-APL AML) remains largely unknown. Here, we hypothesize that APL patients with high mtDNAc, and consequently a high oxidative phosphorylation-driven metabolism, would be better responder to ATRA-based therapies.⁷ To test this hypothesis, we determined the mtDNAc in bone marrow (BM) samples of patients treated with ATRA and anthracycline-based chemotherapy as well as patients treated with the state-of-the-art combination ATRA+ATO.

METHODS

Overall, we enrolled 156 patients treated with ATRA and chemotherapy. Details of treatment protocols are published elsewhere.⁸ A second cohort was composed of 22 patients treated according to the APL 0406 protocol.⁹ All samples

were obtained at diagnosis. For comparison purposes, we included peripheral blood (PB) samples from 293 age- and sex-adjusted healthy volunteers with no history of haematological disorders. Additionally, we analysed CD34⁺ cells isolated from BM ($n = 3$), cord blood ($n = 9$), and apheresis ($n = 4$) samples from healthy donors. The study adhered to the tenets of the Declaration of Helsinki and informed consent was obtained from all patients or their relatives. The local Research Ethics Board of each participating centre approved the study. mtDNAc was quantified using quantitative real-time polymerase chain reaction and the results were normalized and expressed as fold-change relative to a reference DNA. Details can be found in the Supplemental data. Descriptive analyses (frequency and central tendency and dispersion measurements) were performed for patients' characteristics at baseline. Details of the statistical analysis and clinical endpoints are described in the supplemental data.

RESULTS AND DISCUSSION

First, we compared the mtDNAc between healthy (CD34⁺ and PB cells) and APL samples. Figure 1A shows that patients with APL had a higher-than-normal mtDNAc. Multiple comparison tests indicated no difference between healthy CD34⁺ and PB cells ($p = 0.956$), while the relative mtDNAc was significantly lower in CD34⁺ cells compared to APL ($p = 0.005$). Table S1 summarizes the central tendency and dispersion of mtDNAc measurements of all the enrolled subjects. Restricting our analyses to APL, we noticed that the relative mtDNAc of APL patients ranged between 0.1 and 39. To evaluate the impact of mtDNAc on clinical outcomes without seeking an optimal cut-point, we used values of mtDNA higher than the 95th percentile of healthy PB samples (i.e., ≥ 1.63 ; Figure 1A, dashed line) to define APL patients with high mtDNAc. Consequently, patients that presented values within the range of normal control samples (< 1.63) were classified as normal mtDNAc. To account

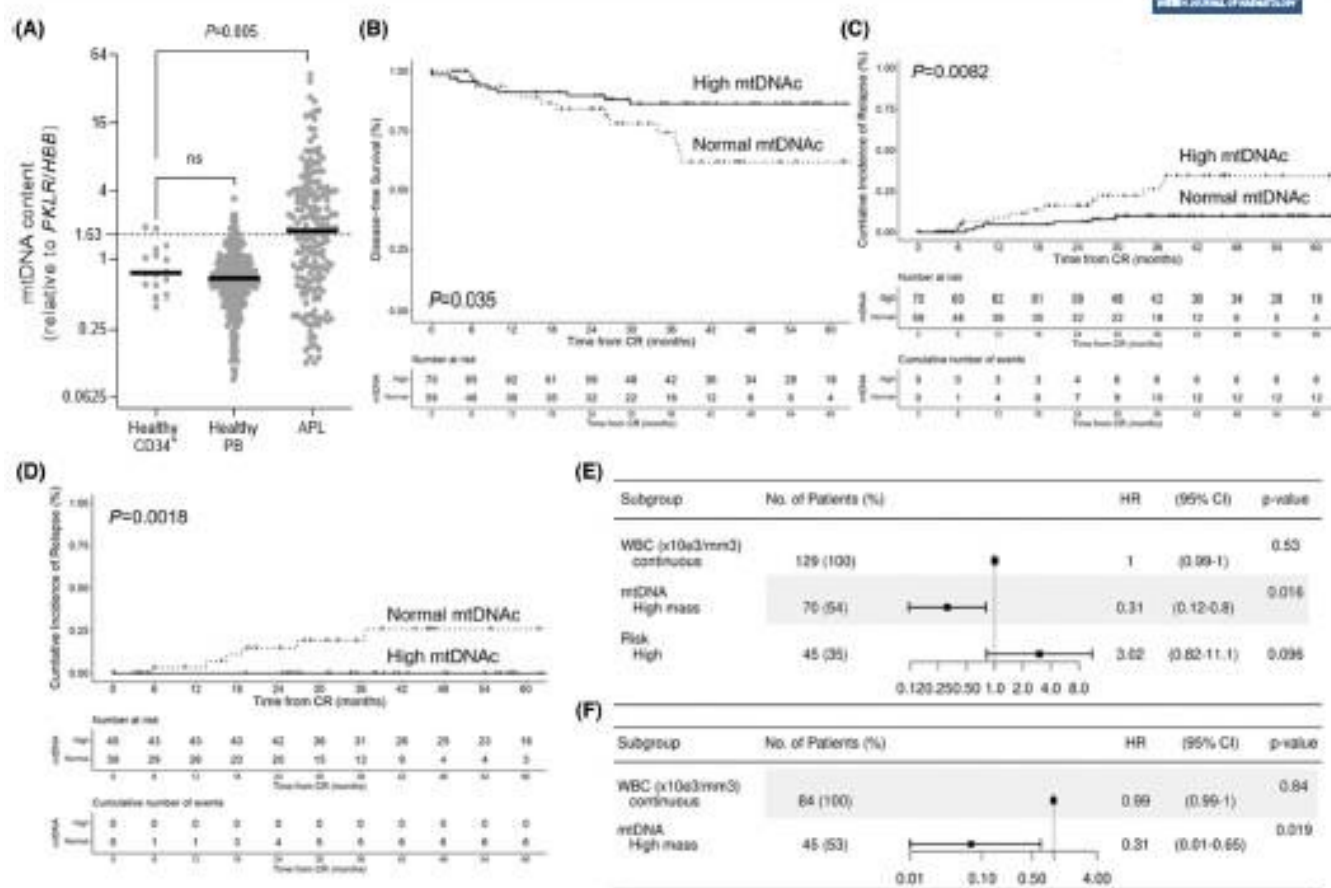


FIGURE 1 Relative quantification of mtDNA in CD34⁺ and peripheral blood cells from healthy donors and bone marrow cells from patients with acute promyelocytic leukaemia (APL) treated with ATRA + ATO (A + A) and ATRA + chemotherapy (A + C) (A). The relative quantification of mtDNAc was performed by quantitative real-time polymerase chain reaction relative to a single-copy nuclear gene (*PKLR* and *HBB*). The horizontal bars represent the median value of mtDNAc (fold-change). Patient survival. The probability of disease-free survival (B) and cumulative incidence of relapse (C) in APL patients treated with A + C according to the mtDNAc (entire cohort). Cumulative incidence of relapse in APL patients with low-risk of relapse (D) treated with A + C according to the mtDNAc. Survival curves were estimated using the Kaplan–Meier method, and the log-rank test was used for comparison. Cumulative incidence curves for non-relapse death and relapse with or without death were constructed to reflect time to relapse and time to non-relapse death as competing risks. Time to relapse and time to non-relapse death was measured from the date of complete remission. Forest plot representing the multivariate Cox proportional hazard model for the cumulative incidence of relapse in APL patients treated with A + C according to the mtDNAc (entire cohort) (E) and in low-risk patients (F). Confounding variables included in the model were mtDNAc (high mass versus normal mass), risk of relapse (high-risk versus low-risk),¹⁰ and white blood cells counts (continuous variable).

for the potential variability in mtDNAc between different sources, we measured the mtDNAc of 22 paired BM and PB samples from APL patients collected at the time of diagnosis. Our analysis showed a strong correlation between BM and PB measured mtDNAc of the same patient (Pearson correlation coefficient, $r = 0.78$, 95% confidence interval, CI: 0.54–0.9; Figure S1), suggesting that mtDNAc detected in BM and PB could be used interchangeably with little bias.

Analysis of baseline characteristics indicated significantly lower mtDNAc in *FLT3*-ITD mutated (median: 1.62, 95%CI: 1.6–4.4) compared to *FLT3*- wild-type patients (median: 2.7, 95%CI: 3.7–6.9) ($p = 0.03$; Figure S1). No other differences were found between patients with normal and high mtDNAc (Table S2). Patient follow-up was last updated in May 2022. All patients treated with the combination ATRA+ATO achieved complete haematological remission with no deaths or relapses until the last follow-up. Consequently, univariate or multivariate regression

analyses were performed only for patients treated with ATRA and chemotherapy. With a median follow-up of 40 months (95% CI: 34–47 months), the estimated 5-year overall survival rate was 79% (95% CI: 72–84%). Overall, 129/156 (83%) patients achieved complete haematological remission. mtDNAc had no impact on complete remission ($p = 0.518$) or overall survival ($p = 0.69$). Yet, patients with normal mtDNAc had significantly lower 5-year disease-free survival (DFS) (61%, 95% CI: 46%–82%) compared to patients with high mtDNAc (86%, 95% CI: 78%–95%) ($p = 0.035$; Figure 1B). Considering non-relapse mortality as a competing cause of failure, the 5-year cumulative incidence of relapse (CIR) for patients with normal and high mtDNAc was 35% (95%CI: 16%–49%) and 10% (95%CI: 2%–17%), respectively ($p = 0.0082$; Figure 1C). After stratifying patients into low- and high-risk of relapse,¹⁰ we observed that the prognostic impact of mtDNAc on CIR was applicable to the low-risk group (high mtDNAc: 3%,

95%CI: 1%–7% versus normal mtDNAC: 26%, 95% CI: 5%–43%) ($p = 0.0018$; Figure 1D), but not to the high-risk group (high mtDNAC: 34%, 95% CI: 12%–51% versus normal mtDNAC: 58%, 95% CI: 14%–80%) ($p = 0.41$). Finally, the multivariate Cox proportional hazard model indicated that high mtDNAC was independently associated with decreased CIR in the entire cohort (Figure 1F) and in patients assigned to the low-risk group (Figure 1F).

In summary, we show that patients with higher-than-normal mtDNAC had better clinical outcomes (DFS and CIR) regardless of tumour burden. In addition, mtDNAC was useful to sub-stratify low-risk patients and identify those with a higher probability of relapse. Despite our promising data, these findings are only applicable to patients treated with ATRA and chemotherapy due to the limited sample size of patients treated with ATRA+ATO. Yet, it is conceivable that the greater and more sustained antileukemic effect of the combination ATRA+ATO¹¹ may overcome characteristics at diagnosis associated with an adverse outcome,¹² abrogating the need and the use of mtDNAC as prognostic marker in APL. Therefore, perhaps more important than providing a new prognostic marker for APL, we are interested to determine how to integrate the metabolic profile of leukaemic blasts into clinical decision making. Unfortunately, most studies of the mitochondrial genome in acute leukaemia are related to mtDNA mutations,^{13,14} and very few studies have explored these findings in a clinical context.^{15,16} Most of our knowledge regarding mtDNAC in cancer comes from studies conducted in solid tumours and, although altered amounts of mtDNAC have been widely reported, there is no consensus on how it affects tumour development. Both high and low mtDNAC have been associated with tumour progression and worse prognosis.^{5,6} These inconsistencies may be a result of different types of tumours, tissue sites, and treatments, whereby acute leukaemias are no exception. Similarly in acute leukaemias, unpublished data from our group indicate contrasting results in non-APL AML patients treated with cytotoxic chemotherapy compared to the results presented herein (Pereira-Martins et al., manuscript in progress). Altogether, it is possible that different types of tumours (including APL and non-APL AML) present different bioenergetic requirements. Particularly in non-APL AML, it remains to be explored whether its genetic heterogeneity dictate different metabolic requirements.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

D.A.P.-M., J.L.C.-S., I.W. and P.L.F.-N., performed experiments, collected, analysed, and interpreted data; and drafted the manuscript. D.R.S. performed the statistical analyses, interpreted the data, and drafted the manuscript. A.M.-A., M.M.L., C.O., performed experiments data; and drafted the manuscript. L.C.K., R.A.M., A.B.G., E.M.F., B.K.L., K.P., R.B., E.N., F.T., L.L.F.-P., A.K., M.S.T., R.C.R., R.D., A.G., M.A.S., N.B., P.V., B.L., T.O., N.I.N., M.T.V., F.P., P.F., E.A., G.H., obtained patient samples, updated the clinical data, and drafted the manuscript. D.A.P.-M., J.L.C.-S., J.J.S., E.M.R., A.R.L.-A. conceived and designed the study and reviewed the

manuscript. A.R.L.-A. gave the final approval of the version to be submitted.

ACKNOWLEDGEMENTS

This investigation was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq; grant # 303479/2018-3) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP; Grant #2013/08135-2). D.A.P.-M. (Grant #2017/23117-1), J.L.C.-S. (Grant #2016/23191-4) and I.W. (Grant #2015/09228-0) received a fellowship from FAPESP. I.W. and D.A.P.-M. were sponsored by the Abel Tasman Talent Program of the Graduate School of Medical Sciences of the University of Groningen/ University Medical Center Groningen, The Netherlands.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have no competing financial interests.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

ORCID

Diego A. Pereira-Martins  <https://orcid.org/0000-0002-3302-4311>
Douglas R. Silveira  <https://orcid.org/0000-0001-5298-9592>
Bruno K. Lino  <https://orcid.org/0000-0002-6155-3253>
Katia Pagnano  <https://orcid.org/0000-0001-7975-0805>
Raul C. Ribeiro  <https://orcid.org/0000-0002-9956-5647>
Richard Dillon  <https://orcid.org/0000-0001-9333-5296>
Tiziana Ottone  <https://orcid.org/0000-0003-1936-3592>
Nelida I. Noguera  <https://orcid.org/0000-0001-7682-862X>
Maria T. Voso  <https://orcid.org/0000-0002-6164-4761>
Eduardo M. Rego  <https://orcid.org/0000-0003-1567-4086>
Antonio R. Lucena-Anaño  <https://orcid.org/0000-0003-1694-8958>

REFERENCES

- Zhu J, Gianni M, Kopf E, Honore N, Chelbi-Alt M, Koken M, et al. Retinoic acid induces proteasome-dependent degradation of retinoic acid receptor alpha (RARalpha) and oncogenic RARalpha fusion proteins. *Proc Natl Acad Sci*. 1999;96(26):14807–12. <http://www.pnas.org/cgi/https://doi.org/10.1073/pnas.96.26.14807>
- Tourniaire F, Mustovic H, Gouranton E, Astier J, Marcotrichino J, Arreguin A, et al. All-trans retinoic acid induces oxidative phosphorylation and mitochondrial biogenesis in adipocytes. *J Lipid Res* [Internet]. 2015;56(6):1100–9. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022272520317223>
- Pantna SB, Pet J, Kirilenko N V. Mitochondrial metabolism as a target for acute myeloid leukemia treatment. *Cancer Metab* [Internet]. 2021;9(1):17. <https://doi.org/10.1186/s40170-021-00253-w>. <https://cancerandmetabolism.biomedcentral.com/articles>
- Basak NP, Banerjee S. Mitochondrial dependency in progression of acute myeloid leukemia. *Mitochondrion* [Internet]. 2015;21:41–8. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567724915000173>
- He X, Qu F, Zhou F, Zhou X, Chen Y, Guo X, Li J, Huang Q, Yang Y, Lyu Z, Zhang H, Xing J. High leukocyte mtDNA content contributes to poor prognosis through ROS-mediated immunosuppression in hepatocellular carcinoma patients. *Oncotarget* [Internet]. 2016;7(16):22834–45.
- Dang S, Qu Y, Wei J, Shao Y, Yang Q, Ji M, et al. Low copy number of mitochondrial DNA (mtDNA) predicts worse prognosis in early-stage laryngeal cancer patients. *Diagn Pathol* [Internet]. 2014;5:9:28.

7. Wierenga ATJ, Cunningham A, Erdem A, Lopera NV, Brouwers-Vos AZ, Pruts M, et al. HIF1/2-exerted control over glycolytic gene expression is not functionally relevant for glycolysis in human leukemic stem/progenitor cells. *Cancer Metab* [Internet]. 2019 27;7(1):11. <https://doi.org/10.1186/s40170-019-0206-y>. <https://cancerandmetabolism.biomedcentral.com/articles/>
8. Rego EM, Kim HT, Ruiz-Argüelles GJ, Undurraga MS, Uriarte Mdel R, Jacomo RH, et al. Improving acute promyelocytic leukemia (APL) outcome in developing countries through networking, results of the International Consortium on APL. *Blood* [Internet]. 2013;121(11):1935–43.
9. Lo-Coco F, Avvisati G, Vignetti M, Thiede C, Orlando SM, Iacobelli S, et al. Retinoic acid and arsenic trioxide for acute promyelocytic leukemia. *N Engl J Med* [Internet]. 2013;369(2):111–21.
10. Sanz MA, Lo-Coco F, Martín G, Avvisati G, Rayón C, Barbut T, et al. Definition of relapse risk and role of nonanthracycline drugs for consolidation in patients with acute promyelocytic leukemia: a joint study of the PETHEMA and GIMEMA cooperative groups. *Blood* [Internet]. 2000;96(4):1247–53.
11. Platzbecker U, Avvisati G, Cicconi L, Thiede C, Paoloni F, Vignetti M, et al. Improved outcomes with retinoic acid and arsenic trioxide compared with retinoic acid and chemotherapy in non-high-risk acute promyelocytic leukemia: final results of the randomized Italian-German APL0406 trial. *J Clin Oncol* [Internet]. 2017;35(6):605–12.
12. Cicconi L, Divona M, Clardt C, Ottone T, Ferrantini A, Lavorgna S, Alfonso V, Paoloni F, Picocchi A, Avvisati G, Ferrara F, di Bona E, Albano F, Breccia M, Cerqui E, Sborgia M, Kropp MG, Santoro A, Levits A, Sica S, Amadori S, Voso MT, Mandelli F, Lo-Coco F. PML-RARA kinetics and impact of FLT3-ITD mutations in newly diagnosed acute promyelocytic leukaemia treated with ATRA and ATO or ATRA and chemotherapy. *Leukemia* [Internet]. 2016;30(10):1987–92.
13. Piccoli C, Ripoli M, Scrima R, Stanziale P, Di Ianni M, Moretti L, et al. MtDNA mutation associated with mitochondrial dysfunction in megakaryoblastic leukaemic cells. *Leukemia* [Internet]. 2008;22(10):1938–41.
14. Yao Y-G, Ogasawara Y, Kajigaya S, Molldrem JJ, Falcão RP, Pintão M-C, et al. Mitochondrial DNA sequence variation in single cells from leukemia patients. *Blood* [Internet]. 2007;109(2):756–62.
15. Silikjaer T, Nørgaard JM, Aggerholm A, Ebbesen LH, Kjeldsen E, Hokland P, Nyvold CG. Characterization and prognostic significance of mitochondrial DNA variations in acute myeloid leukemia. *Eur J Haematol* [Internet]. 2013;90(5):385–96.
16. Kang M-G, Kim Y-N, Lee JH, Szardenings M, Baek H-J, Kook H, Kim HR, Shin MG. Clinicopathological implications of mitochondrial genome alterations in pediatric acute myeloid leukemia. *Ann Lab Med* [Internet]. 2016; 36(2):101–10.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

How to cite this article: Pereira-Martins DA, Coelho-Silva JL, Weinhäuser I, Franca-Neto PL, Silveira DR, Ortiz C, et al. Clinical significance of mitochondrial DNA content in acute promyelocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2022;00:1–5. <https://doi.org/10.1111/bjh.18510>

Supplemental data

Methods

Determination of mtDNA content (mtDNAc)

All samples from patients used for the determination of mtDNAc were obtained at diagnosis and were processed using standard techniques. Following total genomic DNA extraction, mtDNAc was determined by quantitative real-time PCR (qPCR) using primers for the mitochondrial cytochrome B gene (*CYTB*, *CYTB* forward: 5'-CACGATTCTTTACCTTTCACTTCATC-3'; *CYTB* reverse 5'-TGATCCCGTTTCGTGCAAG-3') to represent the mtDNA, while the single-copy nuclear gene pyruvate kinase (*PKLR*) (*PKLR*, *PK* forward: 5'-AGCCCAAATGGCCTTGAA-3'; *PKLR* reverse: 5'-AGAGACAGAATGCCAGTGAGC-3') and hemoglobin subunit beta (*HBB*) (*HBB* forward: 5'-ACCTCAAGGGCACCTTTGC-3', *HBB* reverse: 5'-AAAACATCAAGCGTCCCATAGAC-3') were used to represent the nuclear DNA. These primers were purchased from Sigma (St Louis, MO, USA).

qPCR assays were performed in duplicate using sample-derived DNA on MicroAmp optical 96-well plates using a 7500 Real-Time PCR System (Applied BioSystems, Foster City, CA, USA). The reaction solution was prepared by combining the Power SYBR™ Green PCR Master Mix (Applied BioSystems, Foster City, CA, USA) and 320 nM each of primers. The DNA concentration in each sample was diluted to 20 ng/μL, and 1 μL of DNA was added to each well as the template. Negative controls without template were run for each gene. The amplification program was 10 min at 95 °C, followed by 40 cycles of 15 s at 95 °C and 60 s at 60 °C. At the end of the amplification process, the amplification specificity of the gene was assessed by a melting curve between 55 and 95 °C. The corresponding real-

time PCR efficiencies for each mitochondrial and nuclear gene amplification were calculated according to the equation: $E = 10^{(-1/\text{slope})} - 1$. The efficiency of *CYTB*, *PKLR* and *HBB* genes was higher than 97%.

The relative mtDNAC was defined as the total amount of mtDNA divided by the total amount of nuclear DNA (mtDNA amount/nDNA amount). Next, the ratio for each sample was normalized to a reference DNA (a genomic DNA sample from a healthy control subject) and then defined as the measurement of relative mtDNAC. Importantly, the same reference DNA was used as an internal control in all experiments to ensure that the results of different experiments could be comparable. Following standardization between different runs, the relative mtDNAC were obtained using the comparative cycle threshold (ΔCt) method, and the results were expressed using $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$, in which $\Delta\Delta\text{Ct} = \Delta\text{Ct}_{\text{patients}} - \Delta\text{Ct}_{\text{healthy volunteer}}$.

Statistical analysis and clinical endpoints

Patient baseline characteristics were reported descriptively. Fisher's exact test or Chi-square test, as appropriate, was used to compare categorical variables, and Wilcoxon rank-sum test was used to compare continuous variables. Correlation analysis was performed using the Spearman rank test. Overall survival (OS) and disease-free survival (DFS) were calculated using the Kaplan–Meier method. OS was defined as the time from the initiation of induction therapy to death from any cause; those alive or lost to follow-up were censored at the date last known alive. DFS was defined as the time from complete remission to disease relapse, development of secondary malignancy, or death from any cause, whichever occurred first. Patients who were alive without disease relapse or secondary

malignancy were censored at the time last seen alive and disease-free. The log-rank test was used for comparisons of Kaplan–Meier curves. Cumulative incidence curves for non-relapse death and relapse with or without death were constructed, reflecting time to relapse and time to non-relapse death as competing risks. Time to relapse and time to non-relapse death was measured from the date of complete remission.

Univariable and multivariable proportional hazards regression analysis was performed for potential prognostic factors for DFS and CIR. Potential prognostic factors examined in the multivariable regression analysis were white blood cell (WBC) counts, mtDNAC and risk of relapse (Sanz *et al*, 2000). The proportional hazards assumption for each variable of interest was tested. Linearity assumption for all continuous variables was examined using restricted cubic spline estimates of the relationship between the continuous variable and log relative hazard/risk. All *P* values were two-sided with a significance level of .05. All calculations were performed using SAS 9.2 (SAS Institute, Cary, NC) and R 2.10.1 (The CRAN project – www.r-project.org) software.

Results

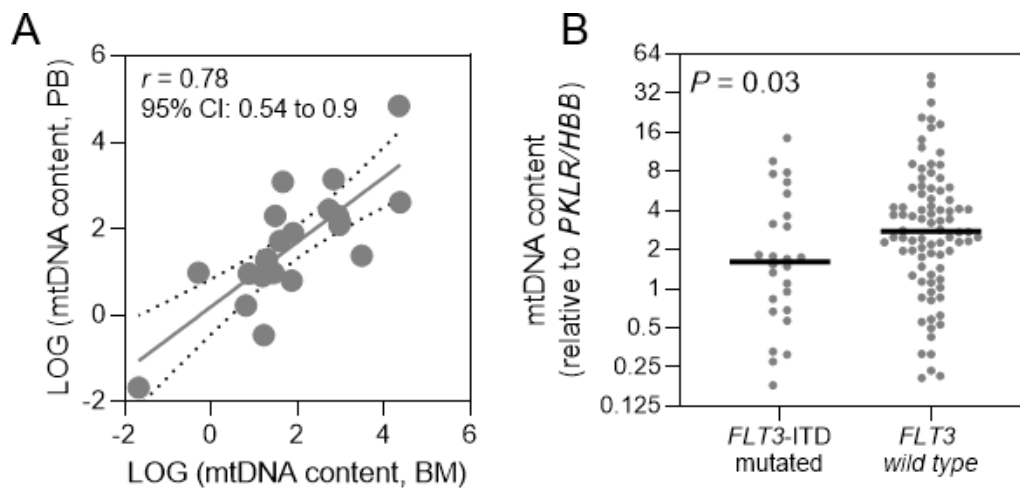
Supplemental table 1 summarizes the central tendency and dispersion measurements for all of the enrolled subjects.

Supplemental table 1. Central tendency and dispersion measurements relative to mtDNAC.

Variables	Healthy CD34 ⁺ cells, 16 donors	Healthy PB cells, 293 subjects	APL (A+A), 22 patients	APL (A+C), 156 patients
Mean, (range)	0.92 (0.39 to 1.9)	0.76 (0.1 to 3.4)	3.7 (0.1 to 24.9)	3.72 (0.13 to 38.6)
25 th percentile	0.58	0.46	0.91	0.58
Median	0.75	0.67	1.52	1.43
75 th percentile	1.17	0.93	2.8	3.5

Abbreviations: PB, peripheral blood.

Supplemental figure 1 shows a correlation between mtDNAC from bone marrow (BM) and peripheral blood (PB) samples.



Supplemental figure 1. (A) Correlation of mtDNA content of 22 paired APL samples from whom BM and PB samples were available at the time of diagnosis. Logarithmic values of the mtDNA content from BM and PB were used in the correlations analyses to better fit the data. (B) Comparison of mtDNA content between *FLT3*-ITD mutated versus non-mutated APL patients. The horizontal bars represent the median value of mtDNA content (fold-change). Differences between samples were determined by the Kruskal-Wallis test.

Supplemental table 2. Baseline characteristics.

Characteristic	mtDNA content						<i>P</i> value
	All patients		Normal		High		
			No.	%	No.	%	
Sex							0.873
Female	86	55.1	38	54.3	48	55.8	
Male	70	44.9	32	45.7	38	44.2	
Age, median (range)	34.8 (18.9, 82.5)		35.4 (18.9, 65.4)		34.8 (18.8, 82.5)		0.611
ECOG performance status							0.091
0	80	56.8	38	54.3	42	59.1	
1	31	22	12	17.1	19	26.8	
2	16	11.3	13	18.6	3	4.2	
≥3	14	9.9	7	10	7	9.9	
Unknown	15	-	-	-	15	-	
Relapse risk group							0.732
Low risk	25	16.2	12	17.1	13	15.5	
Intermediate risk	71	46.1	34	48.6	37	44	
High risk	58	37.7	24	34.3	34	40.5	
Unknown	2	-	-	-	2	-	
Morphologic subtype							1.00
Hypergranular	145	95.4	67	95.7	78	95.1	
Microgranular	7	4.6	3	4.3	7	4.9	
Unknown	4	-	-	-	4	-	
<i>PML</i> breakpoint							0.484
BCR1	70	61.4	41	51.2	29	61.7	
BCR2	2	1.8	2	3	-	-	
BCR3	42	36.8	24	38.8	18	38.3	
Unknown	42	-	3	-	39	-	
Fever							0.243
No	70	45.7	32	45.7	42	56.8	

Yes	74	54.3	38	54.3	32	43.2	
Unknown	12	-	4	-	8	-	
WBC counts ($\times 10^9/L$)							0.344
≤ 5	81	52.9	36	51.4	45	54.2	
5–10	15	9.8	10	14.3	5	6	
10–50	38	24.8	15	21.4	23	27.7	
> 50	19	12.4	9	12.9	10	12	
Unknown	3	-	-	-	3	-	
Median (range)	4.3 (0.8, 132.5)		4.95 (0.2, 132.5)		3.3 (0.8, 103)		0.568
Platelet counts ($\times 10^9/L$)							0.314
≤ 40	122	79.7	53	75.7	69	83.1	
> 40	31	20.3	17	24.3	14	16.9	
Unknown	3	-	-	-	3	-	
Median (range)	24 (7, 157)		27.5 (3, 128)		22 (7, 157)		0.192
Hemoglobin (g/dL)							0.572
≤ 10	117	76.5	52	74.3	65	78.3	
> 10	36	23.5	18	25.7	18	21.7	
Unknown	3	-	0	-	3	-	
Median (range)	8.7 (3.2, 21.8)		8.8 (3.4, 14.1)		8.6 (3.2, 21.8)		0.607
<i>FLT3</i> -ITD status							0.251
Non-mutated	117	77	57	81.4	60	73.2	
Mutated	35	23	13	18.6	22	26.8	
Unknown	4	-	-	-	4	-	

Abbreviation: WBC, white blood.

References

Sanz, M.A., Lo Coco, F., Martín, G., Avvisati, G., Rayón, C., Barbui, T., Díaz-Mediavilla, J., Fioritoni, G., González, J.D., Liso, V., Esteve, J., Ferrara, F., Bolufer, P., Bernasconi, C., Gonzalez, M., Rodeghiero, F., Colomer, D., Petti, M.C., Ribera, J.M. & Mandelli, F. (2000) Definition of relapse risk and role of nonanthracycline drugs for consolidation in patients with acute promyelocytic leukemia: a joint study of the PETHEMA and GIMEMA cooperative groups. *Blood*, **96**, 1247–53 Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10942364>.

7. DISCUSSÃO GERAL

No presente trabalho, foi possível categorizar pacientes adultos com LMA de acordo com o conteúdo de mtDNA e estabelecer uma associação com desfechos clínicos e resposta ao tratamento. A parte intrigante desses achados é que os resultados obtidos na segunda coorte constituída por pacientes com LPA apresentaram resultados diametralmente opostos, sugerindo diferenças em suas necessidades bioenergéticas. O mesmo foi observado em pacientes com LPA, entretanto, com conclusões diametralmente opostas. Nós demonstramos que pacientes com conteúdo de DNA mitocondrial acima do normal tiveram melhores resultados independentemente da carga tumoral (contagem de leucócitos ao diagnóstico). Em níveis funcionais, o uso de ATRA pode modular o metabolismo celular mediado por mitocôndrias e promover uma mudança metabólica de glicólise para um aumento da dependência da fosforilação oxidativa. (Tourniaire et al. 2015) Considerando que o sistema de fosforilação oxidativa mitocondrial é codificado parcialmente pelo mtDNA, é teoricamente possível que pacientes com diagnóstico recente de LPA com mtDNA elevado podem ser mais suscetíveis a terapias baseadas em ATRA e, conseqüentemente, serem melhores respondedores ao tratamento.

A reprogramação metabólica é uma marca registrada do câncer, sem exceção para a leucemia mieloide aguda (LMA). Considerando vários aspectos que envolvem a função da mitocôndria no câncer (Vyas et al, 2016), sua capacidade de resgatar células tumorais da quimioterapia pode ser de particular interesse na quimiorresistência de LMA. Como parte dessa maquinaria metabólica, o conteúdo do DNA mitocondrial (mtDNA) foi relatado como alterado em diferentes tipos de tumores com implicações clínicas nos resultados do

tratamento do paciente (He et al 2016; Qu et al, 2015; Wang et al 2016; Weerts et al 2016; Dang et al 2014). Esse estudo optou-se por estudar o comportamento do mtDNA durante o processo de tratamento para LMA (incluindo LPA, com dados distintos). Para LMA não-promielocítica, nossos dados indicam que o alto conteúdo de mtDNA promove aumento da resistência à apoptose e isso implicaria em um pior prognóstico. Por outro lado, a baixa quantidade do teor mtDNA anula essa resistência, o que traria uma maior responsividade ao tratamento. Em pacientes tratados com quimioterapia citotóxica, a presença de alto conteúdo de mtDNA foi independentemente associado à alta incidência cumulativa de recidiva, ressaltando o impacto do mtDNA nos resultados pós-indução (Bezerra et al 2021). Já para os paciente com LPA, o alto conteúdo de mtDNA foi visto como fator de melhor prognóstico, diferente dos paciente com conteúdo normal ou baixo de mtDNA, que tiveram pior desfecho, provavelmente associado com o uso do ATRA como base do tratamento.

Finalmente, o perfil da assinatura metabólica de células leucêmicas com alto conteúdo de mtDNA revelou um fenótipo mais imaturo, sugerindo características semelhantes às células-tronco leucêmicas. Acreditamos que nossos dados melhoram nossa compreensão do conteúdo do mtDNA, podendo facilitar o desenvolvimento de terapêuticas direcionadas à via mitocondrial, como também a adição de fármacos já conhecidos.

Estudos anteriores demonstraram que tanto as células-tronco hematopoéticas quanto as células-tronco leucêmicas parecem compartilhar algumas características, em particular baixos níveis de metabolismo oxidativo mitocondrial e, conseqüentemente, baixos níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS) (sangue. 2018; 132 (9) : 911-923; Cell Stem Cell. 2018; 23 (2): 252-265;

Cell Stem Cell. 2013; 12 (3): 329-341) Embora uma quantidade significativamente maior de mitocondrial tenha sido identificada em blastos de LMA comparação com saudáveis células progenitoras hematopoéticas (Škrtić 2011), a massa mitocondrial não se traduz necessariamente em atividade mitocondrial (Ito 2012).

Para LMA, nossos dados suportam algumas conclusões principais. Em primeiro, o conteúdo do mtDNA pode ser clinicamente relevante para pacientes esses pacientes. Quantidades alteradas de conteúdo de mtDNA são amplamente relatadas em vários tumores humanos. No entanto, não há consenso sobre como essa variação afeta sua fisiopatologia e prognóstico. Dependendo do tecido sob exame, o conteúdo alto ou baixo de mtDNA pode estar associado à progressão do tumor e pior prognóstico (He et al 2016; Qu et al, 2015; Wang et al 2016; Weerts et al 2016; Dang et al 2014). Essas discrepâncias podem resultar de diferentes tipos de câncer, locais de tecido e tratamentos administrados, indicando diferentes funções específicas do tecido e do contexto para conteúdo mtDNA. Em nossa experiência, nos pacientes com LMA não-promielocítica, um conteúdo de mtDNA maior que o normal foi identificado em quase um terço dos pacientes, que também apresentou resultados pós-indução ruins, independentemente da carga tumoral, idade e citogenética no diagnóstico. Já nos pacientes com LPA, os pacientes com alto conteúdo de mtDNA tiveram melhores resultados clínicos. Na verdade, até o momento, pouco se sabe sobre o conteúdo do mtDNA em neoplasias hematológicas. A maioria dos dados envolvendo o genoma mitocondrial na LMA está relacionada a mutações do mtDNA (Yao 2007; Grist 2004), e poucos estudos abordaram esses achados em um ambiente clínico (Kang 2016; Silkjaer 2013). Até onde se sabe, este é o primeiro estudo a associar o conteúdo do mtDNA e os resultados clínicos em uma série relativamente grande

de pacientes adultos que foram tratados com quimioterapias citotóxicas fora de um ensaio clínico prospectivo. Com base na forte correlação entre o conteúdo de mtDNA de diferentes fontes (medula óssea versus sangue periférico), mesmo os pacientes para os quais a aspiração de medula óssea não pôde ser realizada por causa de aspiração seca, poderiam se beneficiar desses dados.

Portanto, diferentes tipos de tumores têm diferentes requisitos bioenergéticos, que podem ser modulados tanto pela variação genética do nDNA ou do mtDNA e pelo número de cópias do mtDNA (Barbato et al, 2020). Em alguns tumores, a mudança no número de cópias do mtDNA pode ser uma resposta adaptativa secundária ao efeito de uma mutação que confere uma vantagem de crescimento para um determinado tipo de tumor. Assim, onde o número de cópias do mtDNA pode ser um fator contribuinte para o crescimento de certos tipos de tumor, a significância das alterações no número de cópias do mtDNA parece ser específica ao contexto (Teral, 2019). Um tipo de tumor pode aumentar o número de cópias do mtDNA para funcionar em um ambiente aeróbio. O número de cópias do mtDNA também pode mudar em resposta às mutações do mtDNA. Pode compensar as reduções na função da cadeia de transporte de elétrons devido à presença de uma variante de mtDNA ou o número de cópias de mtDNA pode ser modulado em resposta ao aumento da produção de ROS (de Beauchamp et al. 2021).

Em segundo lugar, o conteúdo de mtDNA desempenha um papel crítico no contexto da apoptose induzida por drogas. Na verdade, o estudo do metabolismo do câncer tem sido um campo em rápido crescimento, dando origem a novas abordagens terapêuticas (Barbato et al, 2020).

Embora a maioria dos pacientes com LMA responda inicialmente à quimioterapia, muitos deles recaem posteriormente. A recidiva da doença é provavelmente causada por células-tronco de leucemia (LSCs) que não são afetadas pela quimioterapia e, portanto, mantêm suas propriedades de iniciação da doença, sendo que a base mecanística para a persistência de LMA após a quimioterapia não foi determinada (Kang et al, 2020).

Historicamente, acredita-se que o fracasso da terapia seja devido a mutações que produzem resistência aos medicamentos, possivelmente decorrentes das propriedades mutagênicas dos medicamentos quimioterápicos (Marlein et al, 2017). No entanto, outras linhas de evidência apontaram para a pré-existência de células resistentes a drogas (Ding et al, 2012). Por exemplo, o sequenciamento profundo de amostras de LMA de diagnóstico pareado e recidiva forneceu evidências diretas de que a recidiva em alguns casos é gerada a partir de subclones genéticos menores presentes no diagnóstico que sobrevivem à quimioterapia (Garg et al, 2015; Krönke et al, 2013), sugerindo que células resistentes são geradas por processos evolutivos antes do tratamento e são selecionadas pela terapia.

Embora o mecanismo fisiológico de aquisição mitocondrial ainda não esteja claro, está bem estabelecido que células não malignas do estroma da medula óssea transferem para células LMA durante a quimioterapia (Moschoi et al, 2013; Shafat et al; 2017). No entanto, corroborando estudos anteriores, encontramos um efeito protetor de alto conteúdo de mtDNA em blastos leucêmicos primários humanos contra a apoptose (Marlein et al, 2017; Mei et al, 2015).

O mecanismo de recaída de LMA permanece obscuro. Embora a maioria dos pacientes com LMA responda inicialmente à quimioterapia, muitos deles apresentam recidiva subsequente, enquanto os mecanismos biológicos para a persistência da LMA após a quimioterapia não foram totalmente determinados. Embora algum mecanismo ainda necessite de confirmação, é concebível que a transferência mitocondrial do microambiente para as células leucêmicas possa funcionar como um mecanismo de proteção contra a quimioterapia (Moschoi et al, 2013; Shafat et al; 2017).

Com base em sua complexidade, a LMA não pode ser definida apenas por seu cariótipo, mas requer uma visão geral que inclua alterações epigenéticas, Interação com o microambiente, e desregulação metabólica (de Beauchamp 2022). Dados esses vários parâmetros, a eficácia do medicamento pode exigir regimes terapêuticos individuais. Compreender os mecanismos da função mitocondrial durante o tratamento do câncer pode ser fundamental para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas (de Beauchamp 2022). O estudo do metabolismo do câncer tem sido um campo em rápido crescimento, dando origem a novas abordagens terapêuticas. Como parte da maquinaria metabólica, no entanto, em uma doença tão heterogênea como a LMA, mais estudos são necessários para confirmar nossos dados e determinar se o conteúdo de mtDNA também pode ser relevante no contexto de refratariedade e doença residual mínima após o tratamento quimioterápico. Além disso, outras questões precisam ser elucidadas: (1) se e como o conteúdo de mtDNA varia durante o processo de leucemogênese, (2) se essas flutuações podem alterar a resposta clínica aos regimes terapêuticos e (3) se as células depletadas de

mtDNA conservam essa sensibilidade a drogas se co-cultivadas com células estromais da medula óssea não malignas.

Fazendo um contraponto, o comportamento dos blastos promielocíticos foram diferentes. Como dito, no nosso estudo, os pacientes com alto conteúdo de mtDNA tiveram melhores desfechos clínicos que os pacientes com conteúdo normal. Conforme dito, a dinâmica do mtDNA pode ser diferente de acordo com o tecido histológico e o tipo de célula clonal acometida. Como também podem ter um perfil de sensibilidade diferente ao tratamento realizado para a neoplasia. Sabe-se que em tumores sólidos, há diferenças de resposta e mecanismos de adaptação de acordo com as alterações relacionadas ao mtDNA.

É sabido que a base atual para o tratamento da LPA é o ATRA, sendo que a introdução dessa prática modificou a história natural dessa doença. O ATRA é utilizado para induzir a diferenciação dos promielócitos anômalos, associando antracíclicos ou trióxido de arsênico em todas as fases terapêuticas. Porém, o ATRA vem sendo estudado como terapêutica para outras doenças neoplásicas.

Teral et al, em 2019, publicou um estudo avaliou o uso de ATRA para o tratamento de neoplasia de mama. Foi observado que o ATRA apresenta atividade antiproliferativa, e está é causada por uma redução na respiração e balanço energético das células tumorais, o que seria importante para a ação terapêutica do ATRA no câncer de mama.

Na verdade, ATRA perturba a homeostase de numerosos lipídeos, sendo que os efeitos mais relevantes são observados na cardiolipinas, que estão localizadas nas membranas internas mitocondriais e desempenham um papel na fosforilação oxidativa. ATRA reduz as quantidades de cardiolipinas e o efeito está

associado à atividade inibidora do crescimento do retinóide. A regulação negativa das cardiolipinas é devida a uma redução das mitocôndrias, que é causada por uma diminuição na expressão ATRA-dependente de genes nucleares que codificam proteínas mitocondriais. Isso demonstra que a atividade antitumoral do ATRA se deve a uma diminuição na quantidade de mitocôndrias causando déficits na respiração/balanço energético das células de câncer de mama (Teral et al 2019).

Então, é possível que o efeito benéfico do maior conteúdo de mtDNA em pacientes com LPA seja relacionada ao uso de ATRA, o que poderia aumentar a sensibilidade no quesito de ação antitumoral também para os promielócitos clonais da LPA.

Nesse contexto, talvez mais importante do que fornecer um novo marcador prognóstico para LPA, pode ser mais interessante determinar como integrar o perfil metabólico da doença leucêmica na tomada de decisão clínica. Infelizmente, a maioria estudos do genoma mitocondrial na leucemia aguda estão relacionados a mutações no mtDNA (Picolli et al, 2008; Yao et al, 2007) e muito poucos estudos exploraram esses achados em um contexto clínico (Silkjaer et al, 2013; Kang et al, 2016). A maioria do nosso conhecimento sobre o mtDNA no câncer vem estudos realizados em tumores sólidos e, embora alterados quantidades de mtDNA foram amplamente relatadas, há não há consenso sobre como isso afeta o desenvolvimento do tumor. Ambos alto e normal/baixo conteúdo de mtDNA têm sido associados com progressão tumoral e pior prognóstico (Dang et al, 2014; He et al, 2016). Como já relatado, essas inconsistências podem ser resultado de diferentes tipos de tumores, locais de tecido, e tratamentos, em que as leucemias agudas não são exceção. Como visto

no presente trabalho, nas leucemias agudas, tem-se resultados contrastantes em pacientes com LMA não LPA tratados com quimioterapia citotóxica. Em suma, é possível que diferentes tipos de tumores (incluindo LPAL e LMA não-LPA) apresentem diferentes exigências bioenergéticas. Particularmente, nas LMA não LPA, resta saber se sua heterogeneidade genética dita diferentes requisitos metabólicos entre si.

7. CONCLUSÕES GERAIS

Como objetivo principal, o presente trabalho observou que o mtDNA apresenta impacto prognóstico em pacientes portadores de LMA, sendo observado quando a variável do conteúdo de mtDNA é inserido em conjunto a categorização de riscos pelo AGR.

Foi visto que as vias de aquisição de material poderiam ser intercambiáveis, com pouco viés metodológico quando comparados no estudo, e que há diferença prognóstica nos pacientes quantificados com alto e normal conteúdo de mtDNA, dependente com contexto da doença e da heterogeneidade que é característica.

A religação do metabolismo de energia é o exemplo perfeito de um processo, que é fundamental para essas células, embora seja principalmente independente de mutação, sendo que o conteúdo de mtDNA poderia influenciar no comportamento da célula clonal. Quando avaliamos o conteúdo do mtDNA nos pacientes portadores de LPA, por ser uma entidade mais homogênea, associado a ação terapêutica do ATRA, aqueles com alto conteúdo de mtDNA apresentaram melhores respostas, com maior SLD e menor ICR. Já na LMA, por ser mais diversa, aqueles pacientes com alto conteúdo de mtDNA tiveram piores desfechos do que os pacientes com conteúdo normal de mtDNA.

Esses resultados contrastantes nos fazem elocubrar o quão diferentes mecanismos metabólicos precisamos evidenciar e como isso poderia ser de grande importância para o entendimento do metabolismo da célula neoplásica. Enquanto isso precisamos ainda traduzir esses novos conhecimentos em estratégias terapêuticas clinicamente aplicáveis, sendo que é nossa esperança de que descobrir dependências específicas do metabolismo de energia e / ou suas

ligações com o microambiente das células irá abrir novos caminhos de pesquisa e, em última análise, novas opções de tratamento para Pacientes com LMA.

8. REFERÊNCIAS

- American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2022. Atlanta, Ga: American Cancer Society; 2022.
- Barbato, Alessandro, et al. "Mitochondrial bioenergetics at the onset of drug resistance in hematological malignancies: an overview." *Frontiers in oncology* 10 (2020): 604143.
- Bene, M. C., et al. "Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL)." *Leukemia* 9.10 (1995): 1783-1786.
- Bezerra, Matheus F., et al. "Co-occurrence of DNMT3A, NPM1, FLT3 mutations identifies a subset of acute myeloid leukemia with adverse prognosis." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 135.11 (2020): 870-875.
- Cancer Genome Atlas Research Network. "Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia." *New England Journal of Medicine* 368.22 (2013): 2059-2074.
- Craig, Fiona E., and Kenneth A. Foon. "Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 111.8 (2008): 3941-3967.
- Dang, Siwen, et al. "Low copy number of mitochondrial DNA (mtDNA) predicts worse prognosis in early-stage laryngeal cancer patients." *Diagnostic pathology* 9.1 (2014): 1-9.
- de Beauchamp, Lucie, Ekaterini Himonas, and G. Vignir Helgason. "Mitochondrial metabolism as a potential therapeutic target in myeloid leukaemia." *Leukemia* 36.1 (2022): 1-12.
- De Braekeleer, Etienne, Nathalie Douet-Guilbert, and Marc De Braekeleer. "RARA fusion genes in acute promyelocytic leukemia: a review." *Expert review of hematology* 7.3 (2014): 347-357.
- Ding L, Ley TJ, Larson DE, et al. Clonal evolution in relapsed acute myeloid leukaemia revealed by whole-genome sequencing. *Nature*. 2012;481(7382):506–510.
- Döhner, Hartmut, Daniel J. Weisdorf, and Clara D. Bloomfield. "Acute myeloid leukemia." *New England Journal of Medicine* 373.12 (2015): 1136-1152.
- Döhner, Hartmut, et al. "Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 129.4 (2017): 424-447.
- Döhner, Hartmut, et al. "Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 140.12 (2022): 1345-1377.
- Duhoux, Francois P., et al. "PRDM16 (1p36) translocations define a distinct entity of myeloid malignancies with poor prognosis but may also occur in lymphoid malignancies." *British journal of haematology* 156.1 (2012): 76-88.
- Estey, Elihu H. "Acute myeloid leukemia: 2013 update on risk-stratification and management." *American journal of hematology* 88.4 (2013): 317-327.

- Filippi, Marie-Dominique, and Saghi Ghaffari. "Mitochondria in the maintenance of hematopoietic stem cells: new perspectives and opportunities." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 133.18 (2019): 1943-1952.
- Foucar, Kathryn, and John Anastasi. "Acute myeloid leukemia with recurrent cytogenetic abnormalities." *American Journal of Clinical Pathology* 144.1 (2015): 6-18.
- Garg M, Nagata Y, Kanojia D, et al. Profiling of somatic mutations in acute myeloid leukemia with FLT3-ITD at diagnosis and relapse. *Blood*. 2015;126(22):2491–2501.
- Greer, John P., et al. *Wintrobe's clinical hematology*. Lippincott Williams & Wilkins, 2018.
- Grignani, Francesco, et al. "The acute promyelocytic leukemia-specific PML-RAR α fusion protein inhibits differentiation and promotes survival of myeloid precursor cells." *Cell* 74.3 (1993): 423-431.
- Grist SA, Lu X-J, Morley AA. Mitochondrial mutations in acute leukaemia. *Leukemia*. 2004;18(7):1313–6.
- He, Xianli, et al. "High leukocyte mtDNA content contributes to poor prognosis through ROS-mediated immunosuppression in hepatocellular carcinoma patients." *Oncotarget* 7.16 (2016): 22834.
- Hu, Mengjia, et al. "SRC-3 is involved in maintaining hematopoietic stem cell quiescence by regulation of mitochondrial metabolism in mice." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 132.9 (2018): 911-923.
- Ito, Kyoko, et al. "Self-renewal of a purified Tie2⁺ hematopoietic stem cell population relies on mitochondrial clearance." *Science* 354.6316 (2016): 1156-1160.
- Ito, Kyoko, and Keisuke Ito. "Hematopoietic stem cell fate through metabolic control." *Experimental hematology* 64 (2018): 1-11.
- Jaiswal, Siddhartha, and Benjamin L. Ebert. "Clonal hematopoiesis in human aging and disease." *Science* 366.6465 (2019): eaan4673.
- Kang M-G, Kim Y-N, Lee JH, et al. Clinicopathological Implications of Mitochondrial Genome Alterations in Pediatric Acute Myeloid Leukemia. *Ann. Lab. Med*. 2016;36(2):101–10.
- Kayser, Sabine, et al. "Characteristics and outcome of patients with acute myeloid leukaemia and t (8; 16)(p11; p13): results from an International Collaborative Study." *British journal of haematology* 192.5 (2021): 832-842.
- Krönke J, Bullinger L, Teleanu V, et al. Clonal evolution in relapsed NPM1- mutated acute myeloid leukemia. *Blood*. 2013;122(1):100–108.
- Lehmann, Sören, et al. "Continuing high early death rate in acute promyelocytic leukemia: a population-based report from the Swedish Adult Acute Leukemia Registry." *Leukemia* 25.7 (2011): 1128-1134.
- LI, Mitchell A, Heisler L, et al. Tracing the origins of relapse in acute myeloid leukaemia to stem cells. *Nature*. 2017;547(7661):104–108.
- Lo-Coco, Francesco, and Laura Cicconi. "History of acute promyelocytic leukemia: a tale of endless revolution." *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases* 3.1 (2011).
- Lucena-Araujo, Antonio R., et al. "Clinical Significance of Mitochondrial DNA Content in Acute Promyelocytic Leukemia." *Blood* 138 (2021): 3474.

- McCulloch, Derek, Christina Brown, and Harry Iland. "Retinoic acid and arsenic trioxide in the treatment of acute promyelocytic leukemia: current perspectives." *OncoTargets and therapy* 10 (2017): 1585.
- Marlein, Christopher R., et al. "NADPH oxidase-2 derived superoxide drives mitochondrial transfer from bone marrow stromal cells to leukemic blasts." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 130.14 (2017): 1649-1660.
- Mei, H., et al. "Reduced mtDNA copy number increases the sensitivity of tumor cells to chemotherapeutic drugs." *Cell death & disease* 6.4 (2015): e1710- e1710.
- Melnick, Ari, and Jonathan D. Licht. "Deconstructing a Disease: RAR- α , Its Fusion Partners, and Their Roles in the Pathogenesis of Acute Promyelocytic Leukemia." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 93.10 (1999): 3167-3215.
- Melo, Nina. "Tendência da mortalidade por Leucemia no Brasil." Observatório de Oncologia. Abrale, 2020.
- Moschoi R, Imbert V, Nebout M, et al. Protective mitochondrial transfer from bone marrow stromal cells to acute myeloid leukemic cells during chemotherapy. *Blood*. 2016;128(2):253–64.
- Norddahl, Gudmundur L., et al. "Accumulating mitochondrial DNA mutations drive premature hematopoietic aging phenotypes distinct from physiological stem cell aging." *Cell stem cell* 8.5 (2011): 499-510.
- Ottema, Sophie, et al. "Atypical 3q26/MECOM rearrangements genocopy inv (3)/t (3; 3) in acute myeloid leukemia." *Blood* 136.2 (2020): 224-234.
- Papaemmanuil, Elli, et al. "Genomic classification and prognosis in acute myeloid leukemia." *New England Journal of Medicine* 374.23 (2016): 2209-2221.
- Patel, Jay P., et al. "Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia." *New England Journal of Medicine* 366.12 (2012): 1079-1089.
- Piccoli, Claudia, et al. "MtDNA mutation associated with mitochondrial dysfunction in megakaryoblastic leukaemic cells." *Leukemia* 22.10 (2008): 1938-1941.
- Qu, Falin, et al. "Leukocyte mitochondrial DNA content: a novel biomarker associated with prognosis and therapeutic outcome in colorectal cancer." *Carcinogenesis* 36.5 (2015): 543-552.
- Ravandi, Farhad, and Richard Stone. "Acute promyelocytic leukemia: a perspective." *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia* 17.9 (2017): 543-544.
- Rowley, Janet D, Harvey M Golomb, and Charlotte Dougherty. "15/17 translocation, a consistent chromosomal change in acute promyelocytic leukaemia." *The Lancet* 309.8010 (1977): 549-550.
- Rücker, Frank G., et al. "Measurable residual disease monitoring in acute myeloid leukemia with t (8; 21)(q22; q22. 1): results from the AML Study Group." *Blood* 134.19 (2019): 1608-1618.
- Russo, Michele, et al. "Metabolic aspects of anthracycline cardiotoxicity." *Current treatment options in oncology* 22.2 (2021): 1-21.
- Salway JG. "Metabolism at a glance". Fourth edition. ed. Chichester, West Sussex; Hoboken, NJ: Wiley Blackwelly/John Wiley & Sons Inc.; 2017.

- Sanz, Miguel A., et al. "Risk-adapted treatment of acute promyelocytic leukemia based on all-trans retinoic acid and anthracycline with addition of cytarabine in consolidation therapy for high-risk patients: further improvements in treatment outcome." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 115.25 (2010): 5137-5146.
- Sanz, Miguel A., and Pau Montesinos. "How we prevent and treat differentiation syndrome in patients with acute promyelocytic leukemia." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 123.18 (2014): 2777-2782.
- Sanz, Miguel A., et al. "All-trans retinoic acid with daunorubicin or idarubicin for risk-adapted treatment of acute promyelocytic leukaemia: a matched-pair analysis of the PETHEMA LPA-2005 and IC-APL studies." *Annals of hematology* 94.8 (2015): 1347-1356.
- Sanz, Miguel A., et al. "Management of acute promyelocytic leukemia: updated recommendations from an expert panel of the European LeukemiaNet." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 133.15 (2019): 1630-1643.
- Short, Nicholas J., et al. "Prognostic and therapeutic impacts of mutant TP53 variant allelic frequency in newly diagnosed acute myeloid leukemia." *Blood advances* 4.22 (2020): 5681-5689.
- Silkjaer, Trine, et al. "Characterization and prognostic significance of mitochondrial DNA variations in acute myeloid leukemia." *European journal of haematology* 90.5 (2013): 385-396.
- Simsek, Tugba, et al. "The distinct metabolic profile of hematopoietic stem cells reflects their location in a hypoxic niche." *Cell stem cell* 7.3 (2010): 380- 390.
- Silveira, Douglas RA, et al. "Integrating clinical features with genetic factors enhances survival prediction for adults with acute myeloid leukemia." *Blood advances* 4.10 (2020): 2339-2350.
- Škrtić, Marko, et al. "Inhibition of mitochondrial translation as a therapeutic strategy for human acute myeloid leukemia." *Cancer cell* 20.5 (2011): 674-688.
- Shafat MS, Gnaneswaran B, Bowles KM, Rushworth SA. The bone marrow microenvironment - Home of the leukemic blasts. *Blood Rev.* 2017;31(5):277–286.
- Shimoni, A., et al. "Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation in AML and MDS using myeloablative versus reduced-intensity conditioning: the role of dose intensity." *Leukemia* 20.2 (2006): 322-328.
- Spinelli, Orietta, et al. "Simple, rapid and accurate molecular diagnosis of acute promyelocytic leukemia by loop mediated amplification technology." *Oncoscience* 2.1 (2015): 50.
- Takubo, Keiyo, et al. "Regulation of glycolysis by Pdk functions as a metabolic checkpoint for cell cycle quiescence in hematopoietic stem cells." *Cellstem cell* 12.1 (2013): 49-61.
- Tallman, Martin S., et al. "Clinical description of 44 patients with acute promyelocytic leukemia who developed the retinoic acid syndrome: Presented in part at the meeting of the American Society of Hematology, San Diego, CA, December 1997." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 95.1 (2000): 90-95.

- Tallman, Martin S., et al. "Acute promyelocytic leukemia: evolving therapeutic strategies." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 99.3 (2002): 759-767.
- Tallman, Martin S., and Jessica K. Altman. "How I treat acute promyelocytic leukemia." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 114.25 (2009): 5126-5135.
- Tarlock, Katherine, et al. "CEBPA-bZip mutations are associated with favorable prognosis in de novo AML: a report from the Children's Oncology Group." *blood* 138.13 (2021): 1137-1147.
- Taube, Franziska, et al. "CEBPA mutations in 4708 patients with acute myeloid leukemia: differential impact of bZIP and TAD mutations on outcome." *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 139.1 (2022): 87-103.
- Terao, Mineko, et al. "Role of mitochondria and cardiolipins in growth inhibition of breast cancer cells by retinoic acid." *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research* 38.1 (2019): 1-20.
- Thuler, Luiz Claudio Santos, and Maria S. Pombo-de-Oliveira. "Acute promyelocytic leukaemia is highly frequent among acute myeloid leukaemias in Brazil: a hospital-based cancer registry study from 2001 to 2012." *Annals of hematology* 96.3 (2017): 355-362.
- Tourniaire F, Musinovic H, Gouranton E, et al. All-trans retinoic acid induces oxidative phosphorylation and mitochondria biogenesis in adipocytes. *J. Lipid Res.* 2015;56(6):1100–1109
- Tyagi, Anudishi, et al. "Prognostic impact of mitochondrial DNA D-loop variations in pediatric acute myeloid leukemia." *Oncotarget* 10.13 (2019): 1334.
- Vyas, Sejal, Elma Zaganjor, and Marcia C. Haigis. "Mitochondria and cancer." *Cell* 166.3 (2016): 555-566.
- Wang, Ying-Hua, et al. "Cell-state-specific metabolic dependency in hematopoiesis and leukemogenesis." *Cell* 158.6 (2014): 1309-1323.
- Wang, Yun, et al. "High copy number of mitochondrial DNA predicts poor prognosis in patients with advanced stage colon cancer." *The International journal of biological markers* 31.4 (2016): 382-388.
- Watts, Justin M., and Martin S. Tallman. "Acute promyelocytic leukemia: what is the new standard of care?." *Blood reviews* 28.5 (2014): 205-212.
- Weerts, Marjolein JA, et al. "Mitochondrial DNA content in breast cancer: Impact on in vitro and in vivo phenotype and patient prognosis." *Oncotarget* 7.20 (2016): 29166.
- Yao Y-G, Ogasawara Y, Kajigaya S, et al. Mitochondrial DNA sequence variation in single cells from leukemia patients. *Blood.* 2007;109(2):756–62.
- Yates, J. W., et al. "Cytosine arabinoside (NSC-63878) and daunorubicin (NSC-83142) therapy in acute nonlymphocytic leukemia." *Cancer chemotherapy reports* 57.4 (1973): 485-488.
- Zu, Xin Lin, and Michael Guppy. "Cancer metabolism: facts, fantasy, and fiction." *Biochemical and biophysical research communications* 313.3 (2004): 459-465.

9. Anexos

9.1 – Materiais e Métodos

9.2 - Normas para submissão do artigo

9.3- Parecer Consubstanciado do CEP – SPCC

9.4- Parecer Consubstanciado do CEP - IMIP

9.5- Parecer Consubstanciado do CEP – HEMOPE

9.6- Parecer Consubstanciado do CEP – UFPE

9.7- Currículo lattes

9.1 MATERIAL E MÉTODOS

9.1.1 CASUÍSTICA

O estudo é do tipo coorte retrospectivo, realizado pelo Núcleo de Hematologia Clínica e Laboratorial do Laboratório Central do Centro de Biociências as (NHCL LabCEN/CB/UFPE) em parceria com 03 centros brasileiros de referência para o tratamento de LMA. No geral, foram incluídos 482 pacientes consecutivos com diagnóstico recente de LMA, acompanhados de junho de 2003 a dezembro de 2019 seguindo os critérios de classificação, diagnósticos e tratamento preconizados pela OMS (Vardiman et al, 2016).

Como critérios de exclusão para os pacientes com LMA de novo os critérios de exclusão empregados foram: ausência de dados para diagnóstico de LMA, casos de LMA secundária a neoplasia mieloproliferativa, síndrome mielodisplásica ou secundária a tratamentos prévios ou ainda indisponibilidade ao acesso dos prontuários dos pacientes.

As variáveis analisadas ao diagnóstico foram: idade, sexo, subtipos de classificação, dados do hemograma (contagem de leucócitos e plaquetas, e níveis de hemoglobina e hematócrito) e dados moleculares com base nos critérios supracitados da OMS. O material utilizado na pesquisa foi originário da medula óssea ou sangue periférico com pelo menos 80% de blastos na periferia e foi o mesmo encaminhado aos laboratórios de rotina para fins diagnósticos, não sendo feita nenhuma coleta adicional nos pacientes. Para fins de comparação, foram incluídas amostras de sangue periférico de 293 indivíduos saudáveis de ambos os sexos, com idade mediana de 42 anos (variando de 18 a 60 anos). Considerando como critérios de exclusão indivíduos obesos, fumantes, portadores de síndromes

metabólicas (hipertensão e diabetes mellitus) e com histórico prévio de outras neoplasias ou doenças hematológicas de cunho benigno. Sendo recrutados do serviço de doação de sangue e produção de hemocomponentes da Fundação HEMOPE, após entrevista prévia, leitura e assinatura do TCLE.

Projeto submetido de acordo com os critérios de classificação/diagnósticos preconizados pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Foi utilizado somente o material excedente àquele utilizado ao diagnóstico (medula óssea), com autorização prévia das participantes após leitura e consentimento do termo de consentimento livre e esclarecido, seguindo as recomendações da declaração de Helsinki. O presente trabalho será realizado após a submissão e aprovação pelo Sistema Nacional de Informação sobre Ética envolvendo Seres Humanos (SISNEP-Plataforma Brasil) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital do Câncer de Pernambuco, sendo desenvolvido obedecendo integralmente os princípios éticos estabelecidos na resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (CNS).

9.2.2 ANÁLISE MOLECULAR

Extração do DNA genômico

A extração do DNA genômico foi realizada seguindo a técnica de extração com base no fenol-clorofórmio (Davis et al 1986). Resumidamente, 5ml de amostra proveniente de MO dos pacientes ou SP dos indivíduos saudáveis foram submetidas a lise dos eritrócitos com auxílio de uma solução hipotônica (Cloreto de amônio 0,144M e Bicarbonato de amônio 0,01M), seguido de centrifugação a 52 1.200rpm por 10 min. Após o descarte do sobrenadante, uma solução de lavagem (TKM1, Tris-HCl 10mM pH7,6; KCl 10mM; MgCl₂ 10mM;

EDTA 20mM) foi adicionada ao precipitado juntamente com 10µl de Triton X-100. Após homogeneização e centrifugação a 1.200 rpm por 10 minutos, o sobrenadante foi descartado, obtendo-se dessa forma, um precipitado de leucócitos. A este precipitado foi adicionado 400µL da solução de lise de leucócitos (TKM2, Tris-HCl 10mM pH7,6; KCl 10mM; MgCl₂ 10mM; NaCl 0,4 M; EDTA 20mM) e 25µL de SDS 10% e incubado à 55 °C durante 45 minutos. Após esse período, 180µL de NaCl 5M foram adicionados e a solução mantida a temperatura ambiente por 15 minutos. Em seguida, esse material foi centrifugado a 14.000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante recuperado e transferido para um novo microtubo. Em seguida, foi adicionando 400µL de fenol tamponado e 400µL de uma solução SEVAG, composta de 24 partes de clorofórmio e 1 parte de álcool isoamílico, seguido de homogeneização e centrifugação a 14.000rpm por 5 minutos. Mais uma vez o SEVAG foi misturado ao sobrenadante para última separação, e o sobrenadante foi transferido para um novo microtubo. Neste novo microtubo, foram adicionados acetato de sódio 3M pH 5,2 e etanol absoluto gelado para precipitação do DNA, sendo então novamente centrifugado; o sobrenadante foi desprezado e o precipitado lavado com etanol 70% gelado. O DNA foi solubilizado em água deionizada e estéril, quantificado em equipamento NanoDrop® ND-1000 (NanoDrop Technologies, EUA) e a análise de integridade realizada em gel de agarose 1%.

Quantificação relativa do número de cópias do mtDNA das amostras estudadas foram realizadas por PCR quantitativo em tempo real (qPCR), através da química SYBR®Green PowerUp MasterMix (Applied Biosystems®, EUA) como repórter da amplificação e recorrendo ao aparelho Aria MX® Real TimePCR System (Agilent Technologies®,EUA) em placas de 96 poços para as

análises. Com o auxílio de oligonucleotídeos iniciadores para uma região específica do mtDNA, *MT-CYT B*, que codifica o citocromo B mitocondrial, normalizando os dados a partir da amplificação de um gene de cópia única no DNA nuclear, gene da piruvato quinase 1 (PK1).

Todas as reações foram realizadas em duplicata com um mix contendo um volume final de 20µL, contendo 1uL de amostra (20µg), 10uL Sybrgreen (2x), 1uL(0.25µM) de cada par de primer forward e reverse, e 7µL de H₂O. Além disso, foram incluídas amostras controles sem adição de DNA (no template control) e amostras referências, para garantir a reprodutibilidade e confiabilidade dos resultados. Assim como, ao final de cada reação foi realizada a curva de melting para exclusão de amplificação inespecífica.

Após a amplificação do gene mitocondrial CYTB e do gene de cópia única do DNA nuclear (referência) PK1, foi feita uma triagem dos valores aberrantes ou atípicos, inconsistentes com as reações. Para tanto, amostras com resultados de cycle threshold (Ct) do gene de referência PK1 que estavam acima ou abaixo de ± 2 desvios-padrão, foram excluídos do estudo. A quantificação relativa de mtDNA foi realizada pelo método comparativo do Δ Ct, calculando-se a razão dos Cts (Δ Ct mtDNA/ Δ Ct nDNA) para cada amostra incluída no estudo. Os resultados foram expressos por meio da fórmula $2^{-\Delta\Delta Ct}$, onde o $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct$ dos pacientes – ΔCt do DNA de referência. Em que, foi utilizado um indivíduo de idade mediana representativo da coorte indivíduos saudáveis.

9.3.3 ANÁLISES CITOGENÉTICAS

Todos os materiais utilizados nas análises genéticas foram obtidos no momento do diagnóstico e processados nos laboratórios de referência de cada centro participante. A análise citogenética foi realizada a partir de aspirados de medula óssea de acordo com técnicas padrão para bandas cromossômicas. Os grupos de risco citogenético foram inicialmente definidos de acordo com a classificação do Medical Research Council (MRC). Como alternativa, usamos a avaliação do risco genético (AGR) adaptado (Silveira, 2020) para categorizar os pacientes de acordo com a citogenética e o risco molecular. Essa estratégia permite incluir mais pacientes porque permite algum grau de perda de dados sem comprometer seu poder prognóstico.

9.4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA E DESFECHOS CLÍNICOS

Para avaliar o impacto do conteúdo do mtDNA nos resultados clínicos sem buscar um ponto de corte ideal, os pacientes e voluntários saudáveis foram divididos em percentis de acordo com o conteúdo do mtDNA e posteriormente alinhados. Usando este critério, dicotomizamos os pacientes em dois grupos de acordo com o valor mais baixo de conteúdo de mtDNA das amostras de pacientes com LMA, capaz de excluir 95% das amostras de controle normais do alinhamento. Portanto, os pacientes foram considerados com conteúdo de mtDNA normal se tivessem valores relativos de mtDNA inferiores a 1,63 (319 pacientes; 60%). Os demais pacientes foram classificados como com alto teor de mtDNA (163 pacientes; 30%), ou seja, aqueles com mtDNA maior do que o grupo saudável normal. Também consideramos usar uma análise de curva de ROC para definir o ponto de corte ideal para o conteúdo de mtDNA. No entanto, o

desempenho foi insatisfatório (área sob a curva: 0,571, IC 95%: 0,47 a 0,671). A linha de base e as características clínicas foram então comparadas. Análises descritivas foram realizadas para características de linha de base do paciente. O teste exato de Fisher ou teste Qui-quadrado, conforme apropriado, foi usado para comparar variáveis categóricas. O teste de Kruskal-Wallis foi usado para comparar as variáveis contínuas. Detalhes da análise estatística e desfechos clínicos foram descritos em detalhes em outro lugar. Todos os valores P foram bilaterais com um nível de significância de 0,05. Todos os cálculos foram realizados usando o software Stata Statistic / Data Analysis versão 12 (Stata Corporation, EUA) e R 3.3.2 (The CRAN project, www.r-project.org).

9.2 anexo 02



Author Guidelines

Sections

1. [Instructions to Authors](#)
2. [Submission of Papers](#)
3. [Authorship and copyright](#)
4. [Manuscript categories](#)
5. [Manuscript style and submission format](#)
6. [The review process](#)
7. [Publication process after acceptance](#)

1. Instructions to Authors

All manuscripts should be submitted entirely in electronic format online at <http://mc.manuscriptcentral.com/bjh>. Full instructions, a user ID and password are available at the site. Please do **not** submit items in PDF or any other non-editable formats as this will delay publication of your paper. Please pay particular attention to ensure tables within documents are not pasted as images. Where possible, files should be combined and artwork embedded in the main manuscript file to aid users in downloading and viewing papers.

The *British Journal of Haematology* will not consider manuscripts if they are currently under consideration at another journal and does not accept manuscripts which have been posted on preprint servers.

We strongly encourage all authors contributing to provide an ORCID iD during submission, but we require an ORCID iD for the corresponding author as a minimum and for multiple region submissions for at least one author in each region/institution. This is to enable the manuscript progressing through the handling and review process. You can learn more about ORCID and find out how to obtain one if you do not have one already here - [Distinguish Yourself with ORCID | Wiley](#)

Editorial correspondence should be sent to *BJHaem Office*, Telephone +44 (0) 1259 220869, e-mail lorna@bjhaem.co.uk. Authors unable to submit their manuscript online should contact the *BJHaem Office*.

2. Submission of Papers

The *British Journal of Haematology* invites manuscripts in the field of haematology including clinical, laboratory and experimental haematology.

BJHaem does not pre-screen manuscripts for consideration for publication. Please refer to the journal scope [here](#) to assess suitability of the manuscript for this journal. Note that all submissions to *BJHaem* receive immediate attention. Authors whose papers are not deemed suitable for *BJHaem* are usually offered the opportunity to resubmit the paper directly to our online journal *eJHaem*.

Pre-submission English-language editing

Authors for whom English is a second language may choose to have their manuscript professionally edited before submission to improve the English. A list of independent suppliers of editing services can be found at: http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp. Services are arranged and paid for by the author. Use of one of these services does not guarantee preference or acceptance for publication.

Ethical policy and guidelines

BJHaem encourages its contributors and reviewers to adopt the standards of the [International Committee of Medical Journal Editors](#). *BJHaem* will not consider papers that have been submitted to, accepted for publication or published elsewhere. Copies of existing manuscripts with potentially overlapping or duplicative material should be submitted together with the manuscript, so that the Editors can judge suitability for publication. The Editors reserve the right to reject a paper on ethical grounds.

Disclosure and competing interests statement

All authors must disclose competing interests, or state “none” via the Journal's ScholarOne Manuscripts website.

Competing interests

Authors are required to disclose financial interests in any company or institution that might benefit from their publication. A competing interest exists when a primary interest (such as patients' welfare or the validity of research) might be influenced by a secondary interest (such as financial gain or personal rivalry).

Financial interests have the greatest potential to influence the objectivity, integrity or perceived value of a publication. They may include, but are not limited to, the following:

- **Personal financial interests:** Stocks or shares in companies that may gain or lose financially through publication; consultant fees or fees from speakers bureaus other forms of remuneration from organisations that may gain or lose financially; patents or patent applications whose value may be affected by publication.
- **Funding:** Research support from organisations that might gain or lose financially through publication of the paper.
- **Employment:** Recent, present or anticipated employment of you or a family member by any organization that may gain or lose financially through publication of the paper. Any such competing interest that authors may have should be declared. The aim of the statement is not to eradicate competing interests, as they are almost inevitable. Papers will not be rejected because there is a competing interest, but a declaration on whether or not there are competing interests will be added to the paper.
- **Patent rights**
- **Consultancy work.**

Sources of funding must be disclosed in the Acknowledgments section of the paper. List governmental, industrial, charitable, philanthropic and/or personal sources of funding used for the studies described in the manuscript.

Examples:

This work was supported by a grant from the National Institutes of Health, USA (DKxxxx to AB).
This work was supported by the Crohn's and Colitis Foundation of Canada (grant to AB and CD).
This work was supported by a grant from Big Pharma Inc. (to AB) and equipment was donated by Small Pharma Inc. EF received a graduate studentship award from the University of xxxxx.

For papers where there are no competing interests, authors must include the statement ‘Competing interests: the authors have no competing interests.’

Conflict of Interest statement

For all article types authors should provide a conflict of interest statement detailing any relevant conflicts. If there are none authors should simply state ‘no conflicts of interest declared’.

Data availability statement

This journal encourages data sharing. Please review [Wiley's Data Sharing policy](#) for more information. Please review [Wiley's Data Citation policy](#) for more information on how to cite your data.

3. Authorship

All authors must fulfil the following criteria:

- Substantial contributions to research design, or the acquisition, analysis or interpretation of data,
- Drafting the paper or revising it critically,

- Approval of the submitted and final versions.

In the Acknowledgments section of the paper all authors, must indicate their specific contributions to the work described in the manuscript. Some examples include

- X performed the research
- Y designed the research study
- Z contributed essential reagents or tools
- A analysed the data
- B wrote the paper.

An author may list more than one contribution, and more than one author may have contributed to the same element of the work. e.g. 'A performed the research, A and X analysed the data and wrote the paper, Z contributed the knockout mice for the study and Y designed the research study and wrote the paper'.

Copyright

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login into Author Services, where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper.

You may choose to publish under the terms of the journal's standard copyright agreement, or Open Access under the terms of a Creative Commons License.

Standard [re-use and licensing rights](#) vary by journal. Note that [certain funders](#) mandate a particular type of CC license be used. This journal uses the CC-BY [Creative Commons License](#).

Self-Archiving Definitions and Policies: note that the journal's standard copyright agreement allows for [self-archiving](#) of different versions of the article under specific conditions

Open access

You will have the option to make your article open access after acceptance, which will be subject to an Article Publication Charge (APC) unless a waiver applies. Read more about APCs [here](#).

4. General manuscript style and format

Reference Style

This journal uses Vancouver reference style. Review our [reference style guidelines](#) prior to submission.

Scientific notation

SI units should be used throughout. Human DNA, gene, protein, and DNA restriction and modification enzyme nomenclature should be standardized as follows:

1. Human genes and alleles should be italicized capitals;
2. Gene names should be those recommended by the Nomenclature Committee of the Human Genome Project. Fusion genes should be shown as BCR::ABL1 not BCR-ABL1. This advice also applies to juxtapositions such as IGH::IL3 where there is no fusion protein. The double colon can also be italicised.
3. Human protein designations are the same as the gene symbol (i.e., written in upper case), but not italicised;
4. When distinguishing between mRNA, genomic DNA and cDNA, the relevant term should be given after the gene symbol, e.g. BCL2 cDNA;
5. Please follow guidance in www.genenames.org and the [HUGO Gene Nomenclature Committee \(HGNC\) recommendations for the designation of gene fusions | Leukemia \(nature.com\)](#) Bruford, E.A., Antonescu, C.R., Carroll, A.J. et al. HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC) recommendations for the designation of gene fusions. *Leukemia* 35, 3040–3043 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41375-021-01436-6>

Illustrations – numbering

Illustrations should be referred to in text as, e.g., Figure 2, Figures 2, 4–7, using Arabic numbers. Each illustration should be accompanied by a legend up to 100 characters. Tables should be referred to in the text as Table 1; Table 2 etc..

Colour figures

Colour figures may be published online free of charge; however, the journal charges for publishing figures in

colour in print. Upon submission of color figures, you will be sent a Colour Work Agreement once the accepted paper moves to the production process. If the Colour Work Agreement is not returned by the specified date, figures will be converted to black and white for print publication.

Wiley will dispose of all hardcopy or electronic material submitted two issues after publication.

5. Manuscript categories

Article type description	Format
Original papers This category includes original research in scientific, laboratory and clinical haematology. All papers are subject to peer review. Papers must include new data which have not been published elsewhere.	A running short title of not more than 60 characters and spaces should be included; up to 5 keywords; abstract 200 words; main body of text up to 3000 words; authors up to 25; references up to 60. Supplementary data encouraged. Papers should be divided into abstract, introduction, methods or materials and methods, including statistical approach, results, discussion, acknowledgements, authorship statement and references.
Short reports Short reports should cover important observations of great novelty value demonstrated by a limited amount of data covering novel methodologies, therapeutic advances, as well any significant clinical observations, which can be reported in condensed form. Some short reports may be returned to be reformatted as a Letter to the Editor. Case reports must have significant novelty to warrant publication.	Abstract 100 words; main body of text up to 1500 words (continuous or subdivided if appropriate) may include two figures or tables or one of each; authors up to 20; references up to 15. Supplementary data encouraged.
Commentaries Invitation only. Commentaries will be invited on papers published in a current issue of <i>BJHaem</i>. The commentary should summarise the relevant background to the topic of the paper, briefly describe the paper putting it in the perspective of current knowledge. The quality, novelty and limitation of the current paper can be discussed together with opinion of the author who will be an expert in the field.	Title should be brief and likely to attract the readers' attention; it should not include the words '<i>commentary on</i>' nor reiterate the title of the paper under discussion. After author's affiliations insert 'Commentary on first author, title and pending references'. Final references will be updated by the production team. Main body of text up to 1000 words; The paper which is the subject of the commentary should be introduced following the format "In this issue xxx et al...." and the paper included in the references. Descriptive figures or tables are encouraged; authors 1-3; references less than 10. Supplementary data not permitted. The paper which is the subject of the commentary must be referenced in the text and reference list.
Images in Haematology Authors can submit for consideration an illustration (or, where appropriate, two or more related images) which is/are interesting, instructive and visually attractive, with a short explanatory text. Images in Haematology is published in colour without charge.	Format is strictly one page. Typically the word count is less than 500 words but actual word count will depend on the size and number of images. Maximum of six contributors. If there are more than three authors then the corresponding author should outline the contribution of each author that justifies their inclusion. The images (e.g. a clinical photograph, radiology, cytology, histology, a laboratory test) should be submitted in a digital format online. There are no figure numbers or legends, images

	being referred to by their position on the page if there is more than one. Please refer to recently published Images in Haematology for further guidance.
Reviews This category includes manuscripts written by experts in the field on a topic of current interest to haematologists. The review should focus on the contemporary status and key points of the topic. Focused Reviews on a specific subtopic rather than comprehensive, extensive reviews, are acceptable, as long as the subject is covered in depth. The majority of the reviews are invited. There is strong competition for uninvited reviews and only a minority can be accepted. For this reason please contact the Editorial Office to inquire about journal interest in the topic prior to submission.	Abstract 200 words; main body of text up to 5000 words (shorter depending on scope, and subdivided into sections as appropriate). May include up to 10 figures and/or tables, authors up to 5; references up to 120. The review is introduced by a short summary of less than 100 words. Supplementary data is not permitted. Colour figures are encouraged to illustrate key concepts. For invited reviews the colour charge fee will be waived.
British Society for Haematology (BSH) Guidelines and BSH Good Practice Papers These manuscripts are prepared by the BSH Guideline Committee and are subject to peer review like other submissions. Title must include the wording "British Society for Haematology Guideline....."	Title should include the name of the body compiling the guidelines. Up to 25 authors, and 100 references are allowed. Style should follow that of BSH guidelines (see recent publications).
Guidelines from other authoritative groups and practice guidelines Guidelines prepared by authoritative bodies other than the BSH are welcomed. They are subject to peer review.	Title should include the name of the body compiling the guidelines. Up to 25 authors, and 100 references are allowed. Style should follow that of BSH guidelines (see recent publications).
How I treat Manuscripts describing treatment, diagnosis and management of haematological conditions including emergencies are included in this category. Emergencies are defined as rapid onset, life threatening events demanding swift diagnosis and intervention. These reviews are intended to provide a succinct clinical, laboratory and pathological description of the condition followed by a workable formula for its management. Best current approaches and future prospects for improvement should be emphasized.	Abstract 100 words; main body of text up to 3000 words; may include up to 10 figures or tables, authors up to 4; references up to 60. Please submit under the Wider Perspective category.
Wider Perspectives Topics in this category will cover haematology or any area of interest to haematologists in its broadest sense. They may cover issues in haematology as it is practiced worldwide or in specialist areas, local approaches to management, economic considerations, historical developments in the field, historical biographies, current challenges, future prospects. Included in this category is the Global View category, which is intended to illustrate the similarities and diversities in the management of haematological conditions worldwide. Up to six invited authors from different countries are given a case presentation and tasked to describe their approach to management. A conclusion and opinion on the diversity in management approaches is added by an expert in the field.	

Instructions for the contributions are provided by the Editorial Office.	
Letters to the Editor Letters addressing all aspects of haematology can be submitted, though case reports will only be considered, if they are of major significance to a field. In addition, correspondence which relates to papers which have recently appeared in the Journal may be published, if it is deemed to bring important additional information to the readers on the subject covered by the original letter. The Editor will invite response from the original authors for publication alongside. Letters may be published in print and online, or online only at the Editor's discretion.	There should be no abstract or sub-headings; main body of text up to 1000 words. Submission can include two figures or tables or one of each; authors up to 20; references up to 15. Inclusion of supplementary data is encouraged.
Book reviews Reviews on recently published books of interest to haematologists are welcome.	There should be no abstract or sub-headings; main body of text up to 1000 words. Submission can include two figures or tables or one of each; authors up to 20; references up to 15. Inclusion of supplementary data is encouraged.

Point/counterpoint articles

These are now published in the journal but are by invitation of the editor only.

Plain Language Summaries

The Journal does not accept Plain Language Summaries

Writing your article title

For more guidance on how to decide on an interesting and eye-catching title for your piece we encourage you to review this guidance from our publishers - [What Makes a Good Research Article Title? \(wiley.com\)](https://www.wiley.com/what-makes-a-good-research-article-title)

Graphical abstracts and video content

Authors are welcome to submit graphical abstracts and/or video abstracts or summaries to support their paper. All items will be subject to editorial review and will appear alongside your published article. Please note you will not receive a copy of your supporting information to review so you must ensure you submit the final version. Please remember you are responsible for scientific accuracy and ensuring you have obtained all necessary permissions.

Please see this webpage for useful information on how to prepare your supporting information and for details of file formats and sizes required -

[How to Prepare Supporting Information for Your Article | Wiley](#)

Supporting information must be submitted alongside your revised manuscript (after the first round of revision). This will enable you to base your material on the likely final version of your manuscript and will save unnecessary editing work, but will ensure we can publish this alongside your article on the day it is published.

Please submit your content via email to lorna@bjhaem.co.uk Please ensure all items are clearly labelled with the name of your manuscript and the name of the corresponding author.

9.3 Anexo 03

**SOCIEDADE PERNAMBUCANA
DE COMBATE AO CÂNCER-
SPCC**



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: IMPACTO PROGNÓSTICO DE ALTERAÇÕES MOLECULARES EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA DO ADULTO

Pesquisador: Antonio Roberto Lucena de Araujo

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 77527717.4.3003.5205

Instituição Proponente: SOCIEDADE PERNAMBUCANA DE COMBATE AO CÂNCER -SPCC

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.656.851

Apresentação do Projeto:

O projeto intitulado: IMPACTO PROGNÓSTICO DE ALTERAÇÕES MOLECULARES EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA DO ADULTO, esta sendo apresentado na sua terceira versão 3

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Avaliar o panorama genético de pacientes adultos com leucemia mieloide aguda (LMA), bem como seu impacto prognóstico nos principais desfechos clínicos da doença (remissão, recaída e morte).

Objetivo Secundário: • Determinar a frequência de mutações/polimorfismos nos genes NPM1, FLT3, CEBPA, WT1, MLL, IDH1, IDH2, DNMT3A, ASXL1 e TP53 e determinar o significado prognóstico desses achados, utilizando a sobrevida global como desfecho; • Determinar a expressão gênica relativa dos genes BAALC, ERG, EVI1, KMT2E, ID1 e MN1, escolher um ponto de corte ideal (cutt off) para esses genes e determinar o significado prognóstico desses achados, utilizando a sobrevida global como desfecho; • Determinar o número de cópias de mtDNA e o significado prognóstico desse achado, utilizando a sobrevida global como desfecho; • Determinar o valor aditivo desses achados com base na proporção de risco de cada marcador molecular (índice prognóstico integrado, IPI) na predição dos principais desfechos clínicos da doença (remissão, recaída e morte);

Endereço: Av. Cruz Cabugá, 1597

Bairro: Santo Amaro

CEP: 50.040-000

UF: PE

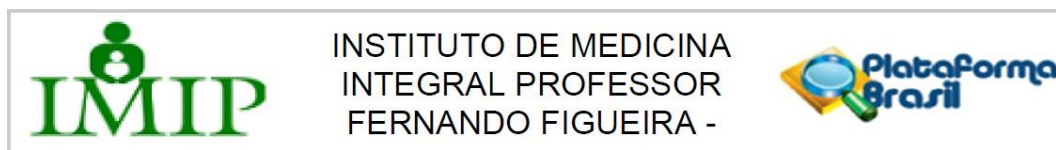
Município: RECIFE

Telefone: (81)3217-8005

Fax: (81)3217-8005

E-mail: cep@hcp.org.br

9.4 Anexo 4



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: IMPACTO PROGNÓSTICO DE ALTERAÇÕES MOLECULARES EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA DO ADULTO

Pesquisador: Antonio Roberto Lucena de Araujo

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 77527717.4.3002.5201

Instituição Proponente: Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira - IMIP/PE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.195.996

Apresentação do Projeto:

O estudo será do tipo coorte retrospectivo e prospectivo. Serão incluídos, neste estudo, pacientes adultos com LMA, diagnosticados de março de 2010 a dezembro de 2020, pretendendo incluir um total de 300 pacientes. Esses pacientes serão diagnosticados e acompanhados no Hospital de Hematologia e Hemoterapia da Fundação Hemope, no Hospital do Câncer de Pernambuco (HCP) e no Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP), seguindo os critérios preconizados pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Os pacientes serão maiores de 18 anos e submetidos ao esquema de tratamento 3+7 (LIMA et al., 2015). O seguimento dos pacientes será censurado/atualizado em março de 2021 e para aqueles em que o seguimento foi perdido serão censurados na última data em que sabidamente estavam vivos. Para as análises moleculares dos pacientes com LMA, serão utilizadas amostras de medula óssea (MO) e/ou sangue periférico (SP), desde que este último apresente mais de 80% de blastos leucêmicos circulantes. Essas amostras são coletadas no momento do diagnóstico e somente o material excedente será utilizado na pesquisa. Para as análises de expressão gênica e do número de cópias de mtDNA, serão utilizadas, como controle saudável, amostras de 4mL de SP e 5mL de MO de 20 indivíduos saudáveis. Entende-se por indivíduo saudável aquele que não apresentar nenhuma doença hematológica ou oncológica. O processamento das amostras será realizado no Laboratório Central da UFPE e no Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães. Para obtenção dos dados clínicos, serão utilizados os

Endereço: Rua dos Coelhos, 300

Bairro: Boa Vista

CEP: 50.070-902

UF: PE

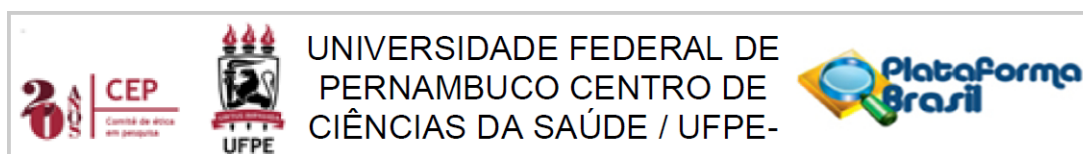
Município: RECIFE

Telefone: (81)2122-4756

Fax: (81)2122-4782

E-mail: comitedeetica@imip.org.br

8.5 Anexo 5



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: IMPACTO PROGNÓSTICO DE ALTERAÇÕES MOLECULARES EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA DO ADULTO

Pesquisador: Antonio Roberto Lucena de Araujo

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 77527717.4.0000.5208

Instituição Proponente: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.412.470

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de pesquisa do Professor ANTONIO ROBERTO LUCENA DE ARAUJO, vinculado ao Departamento de Biofísica e Radiobiologia da Universidade Federal de Pernambuco. O projeto será desenvolvido no Laboratório Central do Centro de Biociências da UFPE, Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, Hospital de Cancer de Pernambuco, Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira, Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE), Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (HEMOPE). A proposta consiste basicamente na análise da hipótese: A caracterização molecular dos pacientes com LMA poderá ser de valor clínico significativo, no que diz respeito ao prognóstico. Alterações moleculares específicas poderão ainda, estar associadas a subtipos ou características clinico-laboratoriais da LMA. Para este fim realizar-se-á um estudo do tipo coorte retrospectivo e prospectivo.

O estudo será do tipo coorte retrospectivo e prospectivo. Serão incluídos 300 pacientes adultos com LMA, diagnosticados de março de 2010 a dezembro de 2020. Esses pacientes serão diagnosticados e acompanhados no Hospital de Hematologia e Hemoterapia da Fundação Hemope, no Hospital do Câncer de Pernambuco (HCP) e no Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP), seguindo os critérios preconizados pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Os pacientes serão maiores de 18 anos. Em todos os pacientes serão coletadas amostras de medula óssea e/ou sangue periférico no

Endereço: Av. da Engenharia s/nº - 1º andar, sala 4, Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **E-mail:** cepccs@ufpe.br

9.6 Anexo 6

FUNDAÇÃO DE
HEMATOLOGIA E
HEMOTERAPIA DO ESTADO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: IMPACTO PROGNÓSTICO DE ALTERAÇÕES MOLECULARES EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA DO ADULTO

Pesquisador: Antonio Roberto Lucena de Araujo

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 77527717.4.3001.5195

Instituição Proponente: Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Estado de Pernambuco -

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.644.746

Apresentação do Projeto:

Esse projeto tem como objetivo avaliar o perfil genético de pacientes adultos com leucemia mieloide aguda, incluindo mutações/polimorfismos de genes (NPM1, FLT3, CEBPA, WT1, MLL, IDH1, IDH2, DNMT3A, ASXL1, TP53), expressões aberrantes de genes (BAALC, ERG, EVI1, KMT2E, ID1 e MN1) e alterações no número de cópias de DNA mitocondrial (mtDNA), bem como o impacto prognóstico dessas alterações nos principais

desfechos clínicos da doença (remissão, recaída e morte). Para isso, pretende-se incluir um total de 300 pacientes diagnosticados e acompanhados no Hospital de Hematologia e Hemoterapia da Fundação Hemope, no Hospital do Câncer de Pernambuco e no Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira. Para as análises de expressão gênica e do número de cópias de mtDNA, serão utilizadas, como controle

saudável, amostras de sangue periférico e medula óssea de 20 indivíduos saudáveis. Entende-se por indivíduo saudável aquele que não apresentar nenhuma doença hematológica ou oncológica e, para essa análise, será necessário avaliar os prontuários dos pacientes selecionados. Esses indivíduos serão pacientes acompanhados no ambulatório do Serviço de Ortopedia e Traumatologia do Hospital das Clínicas de Pernambuco (HCPE) e que serão submetidos à cirurgia ortopédica em que a crista ilíaca esteja sendo abordada.

Endereço: Rua Joaquim Nabuco, 171

Bairro: Graças

CEP: 52.011-000

UF: PE **Município:** RECIFE

Telefone: (81)3182-4771

Fax: (81)3182-4660

E-mail: cep.hemope@gmail.com

9.7 Anexo 7

06/02/2023 23:54

Currículo Lattes

**Marinus de Moraes Lima**Endereço para contato pelo CV: <https://lattes.cnpq.br/07930630341000779>

Última atualização do currículo em: 06/02/2023

Resumo informado pelo autor

Foizui graduação em Medicina pela Universidade Federal do Ceará (2006), Residência em Clínica Médica pelo Hospital Geral de Fortaleza (2009-2011), Residência em Hematologia e Hemoterapia pelo Hospital Israelita Albert Einstein, Mestrado em Farmacologia pela Universidade Federal do Ceará, Doutorado em andamento em Genética pela Universidade Federal do Pernambuco. Atualmente é Hematologista do serviço de Hematologia do Hospital do Câncer de Pernambuco, Hospital Memorial São José e Unimed III. Hemoterapeuta responsável pela Agência Transfusional do Hospital Unimed III vinculado ao grupo Banco de Sangue Hemató/ Grupo GSH (Gestor de Serviço em Hemoterapia). Professor da disciplina de Hematologia do Curso de Medicina da Unimed III.

(Texto informado pelo autor)

Link para Outras Bases:[Lattes - Acesso em: 06/02/2023](#)**Nome civil**

Nome: Marinus de Moraes Lima

Dados pessoais

Nome em citações bibliográficas: LIMA, M. de M. Lima, Marinus de Moraes Lima, MARINUS M DE MORAES LIMA, MARINUS M.

Sexo: Masculino

Cor ou Raça: Branca

Filiação: Antônio Nasser de Lima e Maria de Moraes Fernandes Lima

Nascimento: 17/11/1982 - Ceará - Brasil

Carteira de Identidade: 380902 SSP - PE - 01/10/2007

CPF: 884.316.453-40

Endereço residencial: Rua Demétrio de Souza Filho, 372, apto.1304
Mediana - Recife
50070120, PE - Brasil
Telefone: (81) 32041830
Celular: (81) 98810431Endereço profissional: Hospital de Câncer de Pernambuco
Avenida Cruz Cabugá
Santo Amaro - Recife
50040000, PE - Brasil
Telefone: (81) 32178000

Endereço eletrônico: E-mail para contato: marinuslima@yahoo.com.br

Formação acadêmica/titulação2018 Doutorado em Genética
Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
Título: Avaliação clínica de alto nível de DNA mitocondrial em pacientes portadores de Leuemia Mielóide Aguda

Orientador: Antônio Roberto Lucena de Araújo

2011 - 2013 Mestrado em Farmacologia
Universidade Federal do Ceará, UFC, Fortaleza, Brasil
Título: Importância clínica de um estudo de bioequivalência entre duas formulações de diclofenaco sódico de liberação prolongada, Ano de obtenção: 2013Orientador: Maria Elisabete Araújo de Moraes
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior2009 - 2014 Especialização - Residência médica
Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein, SEPR, São Paulo, Brasil
Título: Hematologia e Hemoterapia
Bolsista do(a): Hospital Israelita Albert Einstein2009 - 2011 Especialização - Residência médica
Hospital Geral de Fortaleza, HGF, Fortaleza, Brasil
Título: Clínica Médica
Bolsista do(a): Secretaria de Saúde do Estado do Ceará2001 - 2006 Graduação em Medicina
Universidade Federal do Ceará, UFC, Fortaleza, Brasil**Formação complementar**

05/02/2023 23:54

Currículo Lattes

- 2017 - 2017 Curso de curta duração em Proctoria em Aspectos clínicos de Leucemia Linfocítica Crônica. (Carga horária: 12h)
Pati e Perinente Associação Portuguesa de Residência SP, APOR, São Paulo, Brasil
- 2017 - 2017 Curso de curta duração em Medical Education Program CLL management. (Carga horária: 18h)
University Cologne, UC, Alemanha
- 2016 - 2016 Curso de curta duração em Curso Inaugural de Residência Médica. (Carga horária: 18h)
Faculdade de Saúde Pública do Ceará, FSPHCS, Fortaleza, Brasil
- 2016 - 2016 Curso de curta duração em IV Curso Anual de prevenção e controle de Infecção. (Carga horária: 40h)
Hospital Geral de Fortaleza, HGF, Fortaleza, Brasil
- 2008 - 2008 Curso de curta duração em Curso Nacional de Terapia Intensiva à Distância. (Carga horária: 50h)
Universidade de São Paulo, USP São Paulo, Brasil
- 2008 - 2008 Curso de curta duração em ACLS- Suporte Avançado de Vida. (Carga horária: 20h)
Instituto Dr. José Frota, UF, Fortaleza, Brasil
- 2008 - 2008 Curso de curta duração em Capacitação em Saúde do Trabalhador para Atenção II. (Carga horária: 18h)
Secretaria de Saúde de Paraíba, SSP, Brasil
- 2007 - 2007 Curso de curta duração em Curso Inaugural de Residência Médica. (Carga horária: 18h)
Faculdade de Saúde Pública do Ceará, FSPHCS, Fortaleza, Brasil
- 2007 - 2007 Curso de curta duração em Medicina da Família e de Comunidade. (Carga horária: 90h)
Faculdade de Saúde Pública do Ceará, FSPHCS, Fortaleza, Brasil
- 2008 - 2008 Curso de curta duração em I Curso Materno-Infantil do Ceará. (Carga horária: 40h)
Universidade Federal do Ceará, UFC, Fortaleza, Brasil
- 2008 - 2008 Curso de curta duração em Neonatologia e Desmama Parental. (Carga horária: 10h)
Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba, Brasil
- 2008 - 2008 Curso de curta duração em Atualização Clínica no uso de Ventilação Mecânica. (Carga horária: 40h)
Instituto de Terapia Intensiva do Paraná, ITIR, Brasil
- 2008 - 2008 Curso de curta duração em Hipertensão Arterial Resistente. (Carga horária: 40h)
Instituto Paranaense de Cardiologia, IPC, Brasil
- 2002 - 2002 Curso de curta duração em Farmacologia Integrada à Fisiologia. (Carga horária: 20h)
Universidade Federal do Ceará, UFC, Fortaleza, Brasil

Atuação profissional

1. Hospital de Clínicas de Pernambuco - HC/PE

Vínculo
Institucional

2014 - Atual Vínculo: Celetista, Enquadramento funcional: Médico Hematologista, Carga horária: 20, Regime: Parcial

2. Gestor de Serviços de Hemoterapia - GSH

Vínculo
Institucional

2014 - Atual Vínculo: Celetista, Enquadramento funcional: Médico Hemoterapeuta, Carga horária: 20, Regime: Parcial

3. Hospital Memorial São José - MSJ

Vínculo
Institucional

2014 - Atual Vínculo: Prestador de serviço, Enquadramento funcional: Transplante de medula óssea, Carga horária: 12, Regime: Parcial

2014 - Atual Vínculo: Servidor Temporário, Enquadramento funcional: Hematologista, Regime: Parcial

4. Hospital Dom Roldão - HDRI

Vínculo
Institucional

2014 - 2017 Vínculo: Prestador de Serviço, Enquadramento funcional: Médico Clínico, Carga horária: 20, Regime: Parcial

Atividades

08/2014 - 08/2017 Serviço Técnico Especializado, Agência Transfusional

Especialização:
Responsabilidade técnica

5. Instituto Amélia de Ensino e Pesquisas Albert Einstein - IAPAE

Vínculo
Institucional

2012 - 2014 Vínculo: Residente, Enquadramento funcional: Residente em Hematologia e Hemoterapia, Carga horária: 60, Regime: Integral

6. Hospital Municipal Dr. Weyl de Saúde Pública - HMOESP

Vínculo
Institucional

2012 - 2014 Enquadramento funcional: Médico Plantonista de UTI Adultos, Carga horária: 12, Regime: Parcial

T. HOSPITAL MUNICIPAL ANTONIO GIGLIO - HREG

**Vínculo
Institucional****2012 - 2014** Enquadramento funcional: Médico-Pediatra de UTI Adulta, Carga horária: 12, Regime: P parcial

S. Hospital Geral de Fortaleza - HGF

**Vínculo
Institucional****2011 - 2012** Vínculo: Celetista, Enquadramento funcional: Médico Emergentista (Jefe de Período), Carga horária: 40, Regime: Integral**2009 - 2011** Vínculo: Médico Residente, Enquadramento funcional: Médico Residente em Clínica Médica, Regime: P parcial

B. Prefeitura Municipal de Nova Palmeira - PMNP

**Vínculo
Institucional****2008 - 2009** Vínculo: Servidor público, Enquadramento funcional: Médico de Estratégia Saúde da Família, Carga horária: 40, Regime: Integral

18. Prefeitura Municipal de Catarina-CE - PMC

**Vínculo
Institucional****2007 - 2008** Vínculo: Servidor Temporário, Enquadramento funcional: Médico, Carga horária: 40, Regime: Integral

11. Universidade Federal do Ceará - UFC

**Vínculo
Institucional****2005 - 2006** Vínculo: Bolsista, Enquadramento funcional: Monitora, Carga horária: 12, Regime: P parcialOutras informações:
Monitora voluntária na disciplina de Psicopatologia da Faculdade de Medicina do Ceará - Universidade Federal do Ceará, 01/03/2005 a 30/03/2005**2004 - 2004** Vínculo: Bolsista, Enquadramento funcional: Monitora, Carga horária: 12, Regime: P parcialOutras informações:
Monitora na disciplina de Saúde Comunitária da Faculdade de Medicina do Ceará - Universidade Federal do Ceará, sob o sub-projeto: Abordagem Médico-Antropológica em Saúde Comunitária no período de 01/04/04 a 31/12/04**2003 - 2006** Vínculo: Bolsista, Enquadramento funcional: Externato, Regime: P parcialOutras informações:
Primeira Socorrista de Urgência: Pró-reitora de Externato da Universidade Federal do Ceará sob o código Q430.2003.N.0737**2003 - 2006** Vínculo: Bolsista, Enquadramento funcional: Externato, Regime: P parcialOutras informações:
Projeto "Jornal o Diagnóstico" Pró-reitora de Externato da Universidade Federal do Ceará**2003 - 2006** Vínculo: Bolsista, Enquadramento funcional: Externato, Regime: P parcialOutras informações:
Projeto "Espaço para a Alegria" Pró-reitora de Externato da Universidade Federal do Ceará sob o código Q430.2003.N.0738**2003 - 2006** Vínculo: Bolsista, Enquadramento funcional: Externato, Regime: P parcialOutras informações:
Projeto "Crescendo com Saúde" Pró-reitora de Externato da Universidade Federal do Ceará sob o código Q430.2003.N.0739**2003 - 2003** Vínculo: Bolsista, Enquadramento funcional: Monitora, Carga horária: 12, Regime: P parcialOutras informações:
Monitora na disciplina de Saúde Comunitária da Faculdade de Medicina do Ceará - Universidade Federal do Ceará, sob o sub-projeto: Abordagem Médico-Antropológica em Saúde Comunitária no período de 01/04/03 a 31/12/03**2002 - 2002** Vínculo: Monitora, Enquadramento funcional: Projeto de Pesquisa, Carga horária: 4, Regime: P parcialOutras informações:
Monitora voluntária na disciplina de Psicologia do Desenvolvimento Humano da Faculdade de Medicina do Ceará - Universidade Federal do Ceará, 01/03/2002 a 31/12/2002**Atividades****03/2003 - 03/2003** Externato Universitário, Pró-Reitora de ExternatoEspecificação:
Projeto "Crescendo com Saúde"**03/2003 - 03/2003** Externato Universitário, Pró-Reitora de ExternatoEspecificação:
Projeto "Jornal o diagnóstico"**03/2003 - 03/2003** Externato Universitário, Pró-Reitora de ExternatoEspecificação:
Projeto "Primeira Socorrista de Urgência"**03/2003 - 03/2003** Externato Universitário, Pró-Reitora de ExternatoEspecificação:
Projeto "Espaço para a Alegria"

12. Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná - HC

06/02/2023 23:54

Currículo Lattes

Vínculo
Institucional

- 2005 - 2006** Vínculo: Estágio, Enquadramento funcional: Estágio, Carga horária: 800, Regime: Integral
Outras informações:
Estágio no Departamento de Clínica Médica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, sob orientação da Profa. Hedi Maria dos Santos Amarante, no período de 28/04/2005 a 10/12/2005, totalizando 800 horas.
- 2005 - 2006** Vínculo: Estágio, Enquadramento funcional: UTI Adultos, Carga horária: 270, Regime: Integral
Outras informações:
Residência estágio na UTI Adultos do Hospital de Clínicas da UFPR, sob a orientação do Professor Álvaro de Melo, no período de 15/05/2005 a 12/08/2005, totalizando 270 horas.

Atividades

09/2005 - 12/2005 Estágio, Departamento de Clínica Médica

Estágio
Realizou estágio no Departamento de Clínica Médica, sob a orientação da Professora Hedi Maria dos Santos Amarante, no período de 28/04/2005 a 10/12/2005, totalizando 800 horas.

13. Curso Pré-Vestibular Leão Sampaio - CPVLS

Vínculo
Institucional**2002 - 2003** Vínculo: Professor, Enquadramento funcional: Professor, Regime: Parcial

14. Colégio e Curso Delta - CCE

Vínculo
Institucional

2002 - 2003 Vínculo: Professor, Enquadramento funcional: Professor, Regime: Parcial
Outras informações:
Ministério aulas das disciplinas: ciências do Ensino Fundamental e Biologia e Química do Ensino Médio.

15. Hospital Unimed III - HUIII

Vínculo
Institucional**2016 - Atual** Vínculo: Prestador de serviços, Enquadramento funcional: Hematologista, Carga horária: 12, Regime: Parcial

16. Centro universitário Barão de Reisau - Recife - URBASSAU

Vínculo
Institucional**2016 - Atual** Vínculo: Docente, Enquadramento funcional: Professor, Carga horária: 10, Regime: Parcial

Projetos

Projetos de
pesquisa

- Programa de Monitoria
integrantes: Maritza de Moraes Lima (Responsável);
- monitor no (sub-Projeto(02)- Abordagem Médica- antropologia em Saúde Comunitária.
integrantes: Maritza de Moraes Lima (Responsável);
- Programa de monitoria
integrantes: Maritza de Moraes Lima (Responsável);

Idiomas

Inglês Compreende bem, Fala bem, Escrive bem, Lê bem

Português Compreende bem, Fala bem, Escrive bem, Lê bem

Prêmios e títulos

- 2014** Título de Especialista em Hematologia e Hematoterapia, Associação Brasileira de Hematologia e Hemoterapia/Associação Médica Brasileira
- 2008** Aprovado em concurso público para Residência médica, área de Clínica Médica do Hospital Geral de Fortaleza, Secretaria de Saúde Pública do Ceará
- 2007** Aprovado no concurso para médico – (planidade do município de Pacajus-CE, Prefeitura de Pacajus-CE)
- 2004** 1º LUGAR EM CONCURSO PÚBLICO PARA PROGRAMA DE INICIAÇÃO À DOCÊNCIA PRECATORIAL, UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
- 2003** MULHERES TRABALHOS DO XVI OUTUBRO MÉDICO, Associação Médica Brasileira, Associação Médica Cearense
- 2003** Primeiro Lugar no concurso para o Programa de Iniciação à Docência para o sub-projeto: Inventário do Desenvolvimento Humano com mídia 8,5, Universidade Federal do Ceará
- 2003** 1º lugar no Programa de Iniciação à Docência no sub-projeto: Abordagem médica-Antropologia em Saúde Comunitária, Universidade Federal do Ceará

Resumo Coletivo (Impresso): [DOI](#) e15, p.3467 - 3484, 2010.
Referências adicionais: Inglês. Meio de divulgação: Meio digital. Acesso pago. (DOI: 10.1590/s1678-82202010000000019)

Artigos aceitos para publicação

1. CORIOLO, M. W. L.; LIMA, M. M.; CUSTODIA, R. A. M.; RUIZ-BERRIO, L.; LIMA, L. B. EDUCAÇÃO PERMANENTE COM AGENTES COMUNITÁRIOS DE SAÚDE: UMA PROPOSTA DE CUIDADO AO CRIANÇA. Trabalho, educação e saúde (Online) ; 2012.
Referências adicionais: Português
2. LIMA, M. M.; Costa, F.F.; Albuquerque, L.M.; CORIOLO, M. W. L.; Canvão, M.C. HISTÓRIAS DE DETERMINADA COM CAVITAÇÃO PULMONAR, PADRÃO MILAR E ACREDITAMENTO LARINOTRACOSCOPIQUE EM PACIENTE IMUNOCOMPETENTE: RELATO DE CASO. Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica ; 2012.
Referências adicionais: Português

Trabalhos publicados em anais de eventos (completo)

1. CRIVELANTE, L. V. T. F.; CORIOLO, M. W. L.; VIDAL, F. F.; LIMA, M. M. SEXUALIDADE DE MULHERES COM BOROGLIA POSITIVA PARA HIV APÓS O DIAGNÓSTICO IN: VII Encontro de Pós Graduação e Pesquisa, 2008, Fortaleza.
VII Encontro de Pós Graduação e Pesquisa ; 2008. p.1 - 6
Referências adicionais: Inglês/Português
2. LIMA, M. M. DOENÇA POLICÍSTICA-HEPATO-RENAL AVANÇADA- RELATO DE CASO IN: XVII Outubro Médico, 2003, Janeiro de Norte-CE.
Anais do XVII Outubro Médico ; 2003.
Referências adicionais: Inglês/Português
3. LIMA, M. M. INFLUÊNCIA DO CONHECIMENTO SOBRE SEXUALIDADE PARA A OCORRÊNCIA DE GRAVIDEZ NA ADOLESCÊNCIA NO MUNICÍPIO DE BARRALHA-CE IN: XVII Outubro Médico, 2003, Janeiro de Norte-CE.
Anais do XVII Outubro Médico ; 2003.
Referências adicionais: Inglês/Português. Meio de divulgação: Vídeos
4. LIMA, M. M. INVENTÁRIO ANTROPOLÓGICO EM SAÚDE COMUNITÁRIA IN: XI Encontro de Integração à Docência, 2003, Fortaleza-CE.
Anais do XI Encontro de Integração à Docência ; 2003.
Referências adicionais: Inglês/Português
5. LIMA, M. M. PROJETO CRESCENDO COM SAÚDE IN: XVII Outubro Médico, 2003, Janeiro de Norte-CE.
Anais do XVII Outubro Médico ; 2003.
Referências adicionais: Inglês/Português. Meio de divulgação: Vídeos

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. LIMA, M. M.; ALVES, G. D.; CORTEZ, G. S. D. Síndrome de Evans com presença de autoanticorpos classe GIM como apresentação inicial do vírus da imunodeficiência humana: relato de caso. In: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular, 2010, São Paulo.
Anais do Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular ; 2010. v.1. p.2 - 2
Referências adicionais: Inglês/Português. Meio de divulgação: Vídeos
2. LIMA, M. M.; Oliveira, S.P.M.; CORIOLO, M. W. L.; Moraes, M.F.A.; Lima, P.A.B.; Moraes Filho, M.O. ENDÓCRINO MULTIPLA RESISTÊNCIA: DO CONCENTRADO DE SAÚDE ALPROPRATO DE UM CASO IN: 11º Congresso Nacional das Ligas Acadêmicas de Clínica Médica, Annual Meeting Brazilian Chapter of American College of Physicians, 1ª Jornada Nacional de Medicina Diagnóstica e Exames Complementares e 1ª Simpósio Nacional de Medicina de Urgência, 2011, Curitiba.
11º Congresso Nacional das Ligas Acadêmicas de Clínica Médica, Annual Meeting Brazilian Chapter of American College of Physicians, 1ª Jornada Nacional de Medicina Diagnóstica e Exames Complementares e 1ª Simpósio Nacional de Medicina de Urgência, Curitiba ; 2011.
Referências adicionais: Inglês/Português. Meio de divulgação: Vídeos
3. Oliveira, F.G.M.; LIMA, M. M.; CORIOLO, M. W. L.; Moraes, M.F.A.; Moraes Filho, M.O. LUPUS ERMATOMATOSO SISTÊMICO MANIFESTANDO-SE COM MISTLE TRANSVERSAL: A PROPOSTA DE UM CASO IN: 11º Congresso Nacional das Ligas Acadêmicas de Clínica Médica, Annual Meeting Brazilian Chapter of American College of Physicians, 1ª Jornada Nacional de Medicina Diagnóstica e Exames Complementares e 1ª Simpósio, 2011, Curitiba.
11º Congresso Nacional das Ligas Acadêmicas de Clínica Médica, Annual Meeting Brazilian Chapter of American College of Physicians, 1ª Jornada Nacional de Medicina Diagnóstica e Exames Complementares e 1ª Simpósio, Curitiba ; 2011.
Referências adicionais: Inglês/Português. Meio de divulgação: Vídeos
4. LIMA, M. M.; Oliveira, F.G.M.; CORIOLO, M. W. L.; Moraes, M.F.A.; Moraes Filho, M.O. PACIENTE IMUNOCOMPETENTE COM QUADRO DE HISTÓRIAS DE DETERMINADA COM CAVITAÇÃO PULMONAR E PADRÃO MILAR: RELATO DE CASO IN: 11º Congresso Nacional das Ligas Acadêmicas de Clínica Médica, Annual Meeting Brazilian Chapter of American College of Physicians, 1ª Jornada Nacional de Medicina Diagnóstica e Exames Complementares e 1ª Simpósio, 2011, Curitiba.
11º Congresso Nacional das Ligas Acadêmicas de Clínica Médica, Annual Meeting Brazilian Chapter of American College of Physicians, 1ª Jornada Nacional de Medicina Diagnóstica e Exames Complementares e 1ª Simpósio, Curitiba ; 2011.
Referências adicionais: Inglês/Português. Meio de divulgação: Vídeos
5. LIMA, M. M.; Farias, J.A.G.M.; CORIOLO, M. W. L.; Canvão, M.C. PRFPI-EPIDEMIOLOGIA DE PACIENTES COM SÍNDROME DE GIBBERNA DE CLÍNICA MÉDICA IN: 11º Congresso Nacional das Ligas Acadêmicas de Clínica Médica, Annual Meeting Brazilian Chapter of American College of Physicians, 1ª Jornada Nacional de Medicina Diagnóstica e Exames Complementares e 1ª Simpósio, 2011, Curitiba.
11º Congresso Nacional das Ligas Acadêmicas de Clínica Médica, Annual Meeting Brazilian Chapter of American College of Physicians, 1ª Jornada Nacional de Medicina Diagnóstica e Exames Complementares e 1ª Simpósio, Curitiba ; 2011.
Referências adicionais: Inglês/Português. Meio de divulgação: Vídeos
6. Gonçalves, H.S.; Oliveira, S.P.M.; LIMA, M. M.; CORIOLO, M. W. L.; Moraes, M.F.A.; Lima, P.A.B.; Moraes Filho, M.O. POLIARTERITE NODOSA EXPRESSA COMO LESÕES CUTÂNEAS MRCROTIZANTES A PROPOSTA DE UM CASO IN: 89º Congresso da Sociedade Brasileira de Dermatologia, 2011, Fortaleza.
89º Congresso da Sociedade Brasileira de Dermatologia, Fortaleza ; 2011.
Referências adicionais: Inglês/Português. Meio de divulgação: Vídeos
7. LIMA, M. M.; Costa, F.F.; Inocencio, A.C.D.P.; Canvão, M.C.; Oliveira, F.G.M. COLISTINA E INSUFICIÊNCIA RENAL AGUDA DESENVOLVIDOS POR PNEUMONITE CRÔNICA- RELATO DE CASO IN: XI Reunião do HGF, 2010, Fortaleza.
XI Reunião do HGF, Fortaleza ; 2010.
Referências adicionais: Inglês/Português. Meio de divulgação: Impresso
8. LIMA, M. M.; Costa, F.F.; Fontaine, L.M.A.R.; Canvão, M.C.; Oliveira, F.G.M. HISTÓRIAS DE DETERMINADA COM CAVITAÇÃO PULMONAR E PADRÃO MILAR E ACREDITAMENTO LARINOTRACOSCOPIQUE EM PACIENTE IMUNOCOMPETENTE - RELATO DE CASO IN: XI Reunião do HGF, 2010, Fortaleza.
XI Reunião do HGF, Fortaleza ; 2010.
Referências adicionais: Inglês/Português. Meio de divulgação: Impresso
9. LIMA, M. M.; Costa, F.F.; Cunha, C.G.; Pinheiro, A.S.; Canvão, A.C. MISTLE TRANSVERSAL COMO MANIFESTAÇÃO INICIAL DE LEE - RELATO DE CASO IN: XI Reunião

- do HGF, 2010, Fortaleza.
XII Reunião do HGF, Fortaleza, 2010.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: impresso
16. MONTE, L.C.; LIMA, M.M.; DAMASCENO, P.G.; LUCENA, A.F. PRELUDIO LÚBRICO: ORBITÁRIO E ORBITÓRIA DE BRASILEIROS: APROPRIADO DE UM CASO IV: XXIV Congresso Brasileiro de Neurologia, 2010, Rio de Janeiro.
XXIV Congresso Brasileiro de Neurologia, Rio de Janeiro, 2010.
Referências adicionais: Brasil/Português.
 17. LIMA, M.M.; COSTA, F.F.; FÉLIX, R.L.; CARVALHO, M.C. RANCHO DESEJO DE REPERIÇÃO AOS MÉDIO ESPORTE DOSS INSUFICIÊNCIA RENAL AGUDA ASSOCIADO - RELATO DE CASO IV: XII Reunião do HGF, 2010, Fortaleza.
XII Reunião do HGF, Fortaleza, 2010.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: impresso
 18. LIMA, M.M.; NEPOMUCENO, F.M.; DAMASCENO, P.G.; MARIN, L.C. RELATO DE CASO DE SÍNDROME DE GUILLAIN-BARRÉ PÓS VACINAÇÃO IV: XXIV Congresso Brasileiro de Neurologia, 2010, Rio de Janeiro.
XXIV Congresso Brasileiro de Neurologia, Rio de Janeiro, 2010.
Referências adicionais: Brasil/Português.
 19. LIMA, M.M.; COSTA, F.F.; ROSTA, C.F.; FÉLIX, R.L.; CARVALHO, M.C. SÍNDROME DE FOLIOLE - RELATO DE CASO IV: XII Reunião do HGF, 2010, Fortaleza.
XII Reunião do HGF, Fortaleza, 2010.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: impresso
 20. POMBINI, M.B.; LIMA, M.M.; COSTA, F.F.; CARVALHO, M.C. SÍNDROME DE FOLIOLE - RELATO DE CASO IV: XII Reunião do HGF, 2010, Fortaleza.
XII Reunião do HGF, Fortaleza, 2010.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: impresso
 21. LIMA, M.M.; COSTA, F.F.; CARVALHO, P.R.; CARVALHO, M.C.; OLIVEIRA, F.G.M. LESÕES CUTÂNEAS COMO MANIFESTAÇÃO DE POLIARTRITE NODOSA - RELATO DE CASO IV: XII Reunião do HGF, 2010, Fortaleza.
XII Reunião do HGF, Fortaleza, 2010.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: impresso
 22. CORDEIRO, W.W.L.; CARVALHANTO, L.V.T.F.; LIMA, M.M.; LIMA, M.M.F. ANÁLISE DOS INDICADORES DE SAÚDE DA CRIANÇA NO MUNICÍPIO DE GUATUBARA ENTRE OS ANOS DE 2001 A 2007. In: II Mostra Nacional de Produção em Saúde da Família, 2008, Brasília.
II Mostra Nacional de Produção em Saúde da Família, Brasília, 2008.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: vídeo
 23. CORDEIRO, W.W.L.; CARVALHANTO, L.V.T.F.; LIMA, M.M.; LIMA, M.M.F. ATUAÇÃO NA PREVENÇÃO AS DISTÂNCIAS DENTRO DA ESTRATÉGIA SAÚDE DA FAMÍLIA IV: II Mostra Nacional de Produção em Saúde da Família, 2008, Brasília.
II Mostra Nacional de Produção em Saúde da Família, Brasília, 2008.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: vídeo
 24. CORDEIRO, W.W.L.; LIMA, M.M.; LIMA, M.M.F.; CARVALHANTO, L.V.T.F.; SILVA, S.L. CARACTERIZAÇÃO DE ADOLESCENTES PARA A PREVENÇÃO DE DST/HIV/AIDS DENTRO DA ESTRATÉGIA SAÚDE DA FAMÍLIA IV: Congresso Brasileiro de Ensino e Pesquisa em Saúde da Criança e do Adolescente, 2008, Rio de Janeiro.
Congresso Brasileiro de Ensino e Pesquisa em Saúde da Criança e do Adolescente, Rio de Janeiro, 2008.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: vídeo
 25. LIMA, M.M.; CORDEIRO, W.W.L.; GIFFONI, F.A.O. A DOUTRINA ESPÍRITA KARDECISTA COMO INSTRUMENTO TERAPÊUTICO NA CIDADE DO CRATO-CE E SUA POSSÍVEL APLICAÇÃO NA TERAPIA COMUNITÁRIA IV: XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde, X Congresso Latino-Americano de Medicina Social, 2007, Salvador-BA.
Anais do XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde, X Congresso Latino-Americano de Medicina Social, 2007.
Referências adicionais: Brasil/Português.
 26. LIMA, M.M.; CORDEIRO, W.W.L.; LIMA, M.M.F.; VIDAL, E.F. A INFLUÊNCIA DO HIV SOBRE AS EXPOSIÇÕES SEXUAIS DE MULHERES HIV-POSITIVAS IV: XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde, X Congresso Latino-Americano de Medicina Social, 2007, Salvador-BA.
Anais do XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde, X Congresso Latino-Americano de Medicina Social, 2007.
Referências adicionais: Brasil/Português.
 27. LIMA, M.M.; CORDEIRO, W.W.L.; LIMA, M.M.F.; VIDAL, E.F. DESCRIBINDO O DIAGNÓSTICO POR HIV: RESULTOS DE MULHERES HIV-POSITIVAS IV: XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde, X Congresso Latino-Americano de Medicina Social, 2007, Salvador-BA.
Anais do XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde, X Congresso Latino-Americano de Medicina Social, 2007.
Referências adicionais: Brasil/Português. Home page: <http://www.congressosalvador2007.com.br/>
 28. LIMA, M.M.; CORDEIRO, W.W.L.; LIMA, M.M.F. HUMANIZAÇÃO NA PRÁTICA PSIQUIÁTRICA DO CAPS E SUA RELAÇÃO COM A SÍNDROME DE BURNOUT IV: XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde, X Congresso Latino-Americano de Medicina Social, 2007, Salvador-BA.
Anais do XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde, X Congresso Latino-Americano de Medicina Social, 2007.
Referências adicionais: Brasil/Português.
 29. LIMA, M.M.; CORDEIRO, W.W.L.; LIMA, M.M.F. INFLUÊNCIA DO CONHECIMENTO SOBRE SEXUALIDADE PARA OCORRÊNCIA DE GRAVIDEZ NA ADOLESCÊNCIA NO MUNICÍPIO DE GUATUBARA IV: XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde, X Congresso Latino-Americano de Medicina Social, 2007, Salvador-BA.
Anais do XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde, X Congresso Latino-Americano de Medicina Social, 2007.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: vídeo
 30. LIMA, M.M.; CORDEIRO, W.W.L.; LIMA, M.M.F.; VIDAL, E.F. SENTIMENTOS E PROPOSIÇÕES DE MULHERES COM SORTELHO POSITIVO PARA HIV SOBRE A MATERNIDADE APÓS A DESCOBERTA DO DIAGNÓSTICO IV: IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde, XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, X Congresso Latino-Americano de Medicina Social, 2007, Salvador-BA.
Anais do IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde, XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, X Congresso Latino-Americano de Medicina Social, 2007.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: vídeo. Home page: <http://www.congressosalvador2007.com.br/>
 31. LIMA, M.M.; CORDEIRO, W.W.L.; LIMA, M.M.F. VIVENDO O PROCESSO DE MUNICIPALIZAÇÃO DO SUS: ESTUDO DE CASO DO MUNICÍPIO DE JUAZEIRO DO NORTE-CE IV: XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde, X Congresso Latino-Americano de Medicina Social, 2007, Salvador-BA.
Anais do XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde, IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde, X Congresso Latino-Americano de Medicina Social, 2007.
Referências adicionais: Brasil/Português.

Humanas em Saúde; II Congresso Latino-Americano de Medicina Social, 2007.
Referências adicionais: Brasil/Português.

26. LIMA, M. M.; ALBUQUERQUE, S. K. R.; ALCANTARA, M. C.; GIFFONI, F. A. O.; OLIVEIRA, E. F. A. MICROPLASMA ETIOLOGIA EM EPIDERMIOLOGIA SOCIAL. In: VI Congresso Brasileiro de Epidemiologia e 17º Reunião Científica da América Latina e Caribe, 2004, Recife-PE. *Anais do VI Congresso Brasileiro de Epidemiologia e 17º Reunião Científica da América Latina e Caribe*, 2004.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: vídeo.
27. LIMA, M. M.; OLIVEIRA, E. F.; DUARTE, C. P. R.; LIMA, E. P.; MACEDO, E. M. C. CONSEQUÊNCIAS DA GRAVIDEZ NA ADOLESCÊNCIA EM BARRAHACES. In: VI Congresso Brasileiro de Epidemiologia e 17º Reunião Científica da América Latina e Caribe, 2004, Recife-PE. *Anais do VI Congresso Brasileiro de Epidemiologia e 17º Reunião Científica da América Latina e Caribe*, 2004.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: vídeo.
28. LIMA, M. M.; OLIVEIRA, E. F.; DUARTE, C. P. R.; LIMA, E. P.; MACEDO, E. M. C. DETERMINANTES DA GRAVIDEZ NA ADOLESCÊNCIA EM BARRAHACES. In: VI Congresso Brasileiro de Epidemiologia e 17º Reunião Científica da América Latina e Caribe, 2004, Recife-PE. *Anais do VI Congresso Brasileiro de Epidemiologia e 17º Reunião Científica da América Latina e Caribe*, 2004.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: vídeo.
29. LIMA, M. M.; ALBUQUERQUE, S. K. R.; ALCANTARA, M. C.; GIFFONI, F. A. O.; OLIVEIRA, E. F. INVENTÁRIO ANTROPOLÓGICO EM SAÚDE COMUNITÁRIA. In: XVII Encontro Médico, 2003, Jussara do Norte-CE. *Anais do XVII Encontro Médico*, 2003.
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: vídeo.

Apresentação de trabalho e palestra

1. MACEDO, E. M.; SANTOS, F. P. S.; BAUTZER, V. R. V.; VARGAS, J. C.; OLIVEIRA, E. A. F.; ASSIS, R. A.; LIMA, M. M.; RODRIGUES, M.; HAMERSCHLAG, N. Leucemia mieloide aguda não promielocítica apresentando-se com apêndices tonsilares graves, 2012. (Congresso, Apresentação de Trabalho).
Referências adicionais: Brasil/Português. Local: Brasil: Cidade: Brasília. Evento: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hematologia e Terapia Celular: Inst.promotora/financiadora: Associação Brasileira de Hematologia, Hematologia e Terapia Celular.
2. BAUTZER, V. R. V.; VARGAS, J. C.; NASCIMENTO, C. M. D. S.; OLIVEIRA, E. A. F.; ASSIS, R. A.; RODRIGUES, M.; LIMA, M. M.; RODRIGUES, M.; HAMERSCHLAG, N. Reação adversa cutânea secundária ao sorafenib em paciente com LMA FLT3-ITD positivo, 2012. (Congresso, Apresentação de Trabalho).
Referências adicionais: Brasil/Português. Local: Brasil: Cidade: Brasília. Evento: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hematologia e Terapia Celular: Inst.promotora/financiadora: Associação Brasileira de Hematologia, Hematologia e Terapia Celular.
3. LIMA, M. M.; SANTOS, F. N. C.; BAUTZER, V. R. V.; MACEDO, E. M.; SOUZA, C. L. E. M.; VILLOSO, E. D.; SILVEIRA, R. A.; COLOMBINI, M. P.; RODRIGUES, M.; HAMERSCHLAG, N. C. ASPIRATO DO BÓMPA DE MÍDULA ÓSSEA AO DIAGNÓSTICO DE MIELOMA MÚLTIPLO: ESTUDO COMPARATIVO DE 40 CASOS, 2012. (Congresso, Apresentação de Trabalho).
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: vídeo. Home page: <http://www.hemo2012.org/br/abstracts/programa/abstracts.pdf>. Local: Rio de Janeiro: Cidade: Rio de Janeiro. Evento: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hematologia e Terapia Celular: Inst.promotora/financiadora: Associação Brasileira de Hematologia, Hematologia e Terapia Celular.
4. MACEDO, E. M.; NASCIMENTO, C. M. D. S.; SERRAVAL, F. R.; CAMPOS, R. V.; ODONE, V.; LIMA, M. M.; HAMERSCHLAG, N.; SANTOS, F. P. S. Cytomegalovirus Infection and Lymphopenia Are Associated with Increased Mortality Post Autologous Stem Cell Transplantation, 2012. (Congresso, Apresentação de Trabalho).
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: vídeo. Local: Atlanta: Cidade: Atlanta. Evento: 54th ASH Annual Meeting and Exposition: Inst.promotora/financiadora: American Society of Hematology.
5. OLIVEIRA, E. A. F.; BAUTZER, V. R. V.; SANTOS, F. P. S.; SANTOS, F. N. C.; MACEDO, E. M.; LIMA, M. M.; ALMEIDA, A. M.; SOUZA, C. L. E. M.; RODRIGUES, M.; HAMERSCHLAG, N. FUNGEMIA POR RHODOSPIRILUM MUCILAGINOSA ASSOCIADA À INFECÇÃO DE CATETER VENOSO CENTRAL EM PACIENTE NO PÓS-TRANSPLANTE ALODINÉTICO DE MÍDULA ÓSSEA: RELATO DE CASO, 2012. (Congresso, Apresentação de Trabalho).
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: vídeo. Home page: <http://www.hemo2012.org/br/abstracts/programa/abstracts.pdf>. Local: Rio de Janeiro: Cidade: Rio de Janeiro. Evento: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hematologia e Terapia Celular: Inst.promotora/financiadora: Associação Brasileira de Hematologia, Hematologia e Terapia Celular.
6. LIMA, M. M.; SANTOS, F. N. C.; BAUTZER, V. R. V.; MACEDO, E. M.; OLIVEIRA, E. A. F.; HELMAN, R.; SOUZA, C. L. E. M.; RODRIGUES, M.; HAMERSCHLAG, N. HEPATITIS PORTAL E VARIZELAS DE BÓMPA SECUNDÁRIA A MIELOFIBROSE PRIMÁRIA: RELATO DE UM CASO, 2012. (Congresso, Apresentação de Trabalho).
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: vídeo. Home page: <http://www.hemo2012.org/br/abstracts/programa/abstracts.pdf>. Local: Rio de Janeiro: Cidade: Rio de Janeiro. Evento: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hematologia e Terapia Celular: Inst.promotora/financiadora: Associação Brasileira de Hematologia, Hematologia e Terapia Celular.
7. SANTOS, F. N. C.; LIMA, M. M.; SANTOS, F. P. S.; MACEDO, E. M.; OLIVEIRA, E. A. F.; BAUTZER, V. R. V.; HAMERSCHLAG, N.; RODRIGUES, M.; HELMAN, R. IMPACTO DO CLARINAMENTO DE BLASTOS NO SANGUE PERIFÉRICO DURANTE QUIMIOTERAPIA DE INDUÇÃO NA SOBREVIVÊNCIA DE PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA, 2012. (Congresso, Apresentação de Trabalho).
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: vídeo. Local: Rio de Janeiro: Cidade: Rio de Janeiro. Evento: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hematologia e Terapia Celular: Inst.promotora/financiadora: Associação Brasileira de Hematologia, Hematologia e Terapia Celular.
8. SOUZA, C. L. E. M.; MACEDO, E. M.; LIMA, M. M.; SANTOS, F. N. C.; BAUTZER, V. R. V.; OLIVEIRA, E. A. F. MICROSSE MÚLTIPLA DE MÍDULA ÓSSEA EM LMA SECUNDÁRIA A SINDROME: RELATO DE CASO, 2012. (Congresso, Apresentação de Trabalho).
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: vídeo. Home page: <http://www.hemo2012.org/br/abstracts/programa/abstracts.pdf>. Local: Rio de Janeiro: Cidade: Rio de Janeiro. Evento: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hematologia e Terapia Celular: Inst.promotora/financiadora: Associação Brasileira de Hematologia, Hematologia e Terapia Celular.
9. SANTOS, F. N. C.; PERIN, G. F.; BAUTZER, V. R. V.; MACEDO, E. M.; OLIVEIRA, E. A. F.; SANTOS, F. P. S.; LIMA, M. M.; RODRIGUES, M.; NASCIMENTO, C. M. D. S.; HAMERSCHLAG, N. SARCOMA SARCOLIDOTÓICO EM PACIENTE COM NEOPLASIA MIELOIDE ASSOCIADA A TERAPIA, 2012. (Congresso, Apresentação de Trabalho).
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: vídeo. Home page: <http://www.hemo2012.org/br/abstracts/programa/abstracts.pdf>. Local: Rio de Janeiro: Cidade: Rio de Janeiro. Evento: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hematologia e Terapia Celular: Inst.promotora/financiadora: Associação Brasileira de Hematologia, Hematologia e Terapia Celular.
10. LIMA, M. M.; SANTOS, F. N. C.; BAUTZER, V. R. V.; OLIVEIRA, E. A. F.; MACEDO, E. M.; CORDEIRO, M. W. L.; SOUZA, C. L. E. M.; COSTA, F. R.; ALMEIDA, A. M.; NASCIMENTO, C. M. D. S. SÍNDROME HEMOLÍTICO-URÊMICA, UM DIAGNÓSTICO EM BÓMPA, 2012. (Congresso, Apresentação de Trabalho).
Referências adicionais: Brasil/Português. Meio de divulgação: vídeo. Home page: <http://www.hemo2012.org/br/abstracts/programa/abstracts.pdf>. Local: Rio de Janeiro: Cidade: Rio de Janeiro. Evento: Congresso Brasileiro de Hematologia, Hematologia e Terapia Celular: Inst.promotora/financiadora: Associação Brasileira de Hematologia, Hematologia e Terapia Celular.
11. MACEDO, E. M.; SANTOS, F. N. C.; OLIVEIRA, E. A. F.; SANTOS, F. P. S.; BAUTZER, V. R. V.; LIMA, M. M.; SOUZA, C. L. E. M.; HAMERSCHLAG, N.; HELMAN, R. TROMBOCITOSE DE GLANDULAS E TELANGIECTASIAS HEMORRÁGICAS DE REPETIÇÃO, 2012. (Congresso, Apresentação de Trabalho).

05/02/2023 23:54

Currículo Lattes

- Referências adicionais: Brasil/Português; Local: Fortaleza-CE; Cidade: Fortaleza-CE; Evento: III Encontro de Pós-Graduação e Pesquisa; Inst.promotora/financiadora: Universidade de Fortaleza
30. LIMA, M. M.; CORDEIRO, W. W. L.; GIFFONI, F. A. O. A DOUTRINA ESPÍRITA KARDECISTA COMO INSTRUMENTO TERAPÊUTICO NA CIDADE DO CRATO-CE E SUA POSSÍVEL APLICAÇÃO NA TERAPIA COMUNITÁRIA, 2007. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português; Meio de divulgação: Outro; Home page: www.congressoafv2007.com.br; Local: Salvador-BA; Cidade: Salvador-BA; Evento: XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde; IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde; X Congresso Latino-Americano de Medicina Social; Inst.promotora/financiadora: Anísio
31. LIMA, M. M.; CORDEIRO, W. W. L.; LIMA, M. M. F.; VIDALE, F. A INFLUÊNCIA DO HIV SOBRE AS EXPERIÊNCIAS SEXUAIS DE MULHERES HIV-POSITIVAS, 2007. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português; Home page: www.congressoafv2007.com.br; Local: Salvador-BA; Cidade: Salvador-BA; Evento: XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde; IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde; X Congresso Latino-Americano de Medicina Social; Inst.promotora/financiadora: Anísio
32. LIMA, M. M.; CORDEIRO, W. W. L.; LIMA, M. M. F.; VIDALE, F. DISCERNENDO O DIAGNÓSTICO POR HIV: RELATOS DE MULHERES HIV-POSITIVAS, 2007. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português; Home page: www.congressoafv2007.com.br; Local: Salvador-BA; Cidade: Salvador-BA; Evento: XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde; IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde; X Congresso Latino-Americano de Medicina Social; Inst.promotora/financiadora: Anísio
33. LIMA, M. M.; OLIVEIRA, C.; DUSTE, C. P. R.; LIMA, E. P.; MACEDO, M. M. C. DETERMINANTES DA GRAVIDEZ NA ADOLESCÊNCIA EM BARBALHA-CE, 2007. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português; Local: Recife-PE; Cidade: Recife-PE; Evento: VI CONGRESSO BRASILEIRO DE EPIDEMIOLOGIA E 1ª REUNIÃO CIENTÍFICA DA AMÉRICA LATINA E DO CARIBE; Inst.promotora/financiadora: Anísio e Associação Internacional de Epidemiologia
34. LIMA, M. M.; CORDEIRO, W. W. L.; LIMA, M. M. F. HUMERIZAÇÃO NA PRÁTICA PSIQUIÁTRICA DO CAPS E SUA RELAÇÃO COM A SÍNDROME DE BURNOUT, 2007. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português; Home page: www.congressoafv2007.com.br; Local: Salvador-BA; Cidade: Salvador-BA; Evento: XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde; IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde; X Congresso Latino-Americano de Medicina Social; Inst.promotora/financiadora: Anísio
35. LIMA, M. M.; CORDEIRO, W. W. L.; LIMA, M. M. F. INFLUÊNCIA DO CONHECIMENTO SOBRE SENSUALIDADE PARA A OCORRÊNCIA DE GRAVIDEZ NA ADOLESCÊNCIA NO MUNICÍPIO DE MURICI-CE, 2007. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português; Home page: www.congressoafv2007.com.br; Local: Salvador-BA; Cidade: Salvador-BA; Evento: XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde; IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde; X Congresso Latino-Americano de Medicina Social; Inst.promotora/financiadora: Anísio
36. LIMA, M. M.; CORDEIRO, W. W. L.; LIMA, M. M. F.; VIDALE, F. SENTIMENTOS E PERCEPÇÕES DE MULHERES COM SOROLOGIA POSITIVA PARA HIV SOBRE A MATERNIDADE APÓS A DESCOBERTA DO DIAGNÓSTICO, 2007. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português; Home page: www.congressoafv2007.com.br; Local: Salvador-BA; Cidade: Salvador-BA; Evento: XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde; IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde; X Congresso Latino-Americano de Medicina Social; Inst.promotora/financiadora: Anísio
37. LIMA, M. M.; CORDEIRO, W. W. L.; LIMA, M. M. F. VIVENDO O PROCESSO DE MUNICIPALIZAÇÃO DO SUS: ESTUDO DE CASO DO MUNICÍPIO DE JUAZEIRO DO NORTE-CE, 2007. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português; Home page: www.congressoafv2007.com.br; Local: Salvador-BA; Cidade: Salvador-BA; Evento: XIV Congresso de Associação Internacional de Políticas de Saúde; IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde; X Congresso Latino-Americano de Medicina Social; Inst.promotora/financiadora: Anísio
38. LIMA, M. M.; ALCANTARA, M. C.; ALBUQUERQUE, S. K. R.; GIFFONI, F. A. O.; OLIVEIRA, G. F. A ABORDAGEM ETNOGRÁFICA EM EPIDEMIOLOGIA SOCIAL, 2004. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português; Local: Recife-PE; Cidade: Recife-PE; Evento: VI CONGRESSO BRASILEIRO DE EPIDEMIOLOGIA E 1ª REUNIÃO CIENTÍFICA DA AMÉRICA LATINA E DO CARIBE; Inst.promotora/financiadora: Anísio e Associação Internacional de Epidemiologia
39. LIMA, M. M.; OLIVEIRA, C.; DUSTE, C. P. R.; LIMA, E. P.; MACEDO, M. M. C. CONSEQUÊNCIAS DA GRAVIDEZ NA ADOLESCÊNCIA, 2004. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português; Local: Recife-PE; Cidade: Recife-PE; Evento: VI CONGRESSO BRASILEIRO DE EPIDEMIOLOGIA E 1ª REUNIÃO CIENTÍFICA DA AMÉRICA LATINA E DO CARIBE; Inst.promotora/financiadora: Anísio e Associação Internacional de Epidemiologia
40. LIMA, M. M.; OLIVEIRA, C.; DUSTE, C. P. R.; LIMA, E. P.; MACEDO, M. M. C. DETERMINANTES DA GRAVIDEZ NA ADOLESCÊNCIA EM BARBALHA-CE, 2004. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português; Local: Recife-PE; Cidade: Recife-PE; Evento: VI CONGRESSO BRASILEIRO DE EPIDEMIOLOGIA E 1ª REUNIÃO CIENTÍFICA DA AMÉRICA LATINA E DO CARIBE; Inst.promotora/financiadora: Anísio e Associação Internacional de Epidemiologia
41. LIMA, M. M. ABORDAGEM ESPÍRITUALISTA DA SAÚDE E DOENÇA, 2003. (Outra, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português; Meio de divulgação: Impresso; Local: Barbalha-CE; Cidade: Barbalha-CE; Evento: Semestre de Educação e Medicina; Inst.promotora/financiadora: Faculdade de Medicina do Ceará
42. LIMA, M. M. DOENÇA POLICÍSTICA HEPATO-RENAL AVANÇADA- RELATO DE CASO, 2003. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português; Local: Juazeiro do Norte-CE; Cidade: JUAZEIRO DO NORTE-CE; Evento: XIII OUTUBRO MÉDICO; Inst.promotora/financiadora: Associação Médica Cearense; Associação Médica Brasileira
43. LIMA, M. M.; DUSTE, C. P. R.; MACEDO, M. M. C. INFLUÊNCIA DO CONHECIMENTO SOBRE SENSUALIDADE PARA A OCORRÊNCIA DE GRAVIDEZ NA ADOLESCÊNCIA NO MUNICÍPIO DE BARBALHA-CE, 2003. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português; Local: Juazeiro do Norte-CE; Cidade: JUAZEIRO DO NORTE-CE; Evento: XIII OUTUBRO MÉDICO; Inst.promotora/financiadora: Associação Médica Cearense; Associação Médica Brasileira
44. LIMA, M. M.; ALBUQUERQUE, S. K. R.; ALCANTARA, M. C.; OLIVEIRA, C.; GIFFONI, F. A. O. INVENTÁRIO ANTROPOLÓGICO EM SAÚDE COMUNITÁRIA, 2003. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português; Meio de divulgação: Vídeo; Local: Juazeiro do Norte-CE; Cidade: JUAZEIRO DO NORTE-CE; Evento: XIII OUTUBRO MÉDICO; Inst.promotora/financiadora: Associação Médica Cearense; Associação Médica Brasileira
45. LIMA, M. M.; MACEDO, M. M. C. PROJETO "CUIDANDO" COM SAÚDE, 2003. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
Referências adicionais: Brasil/Português; Meio de divulgação: Vídeo; Local: Juazeiro do Norte-CE; Cidade: JUAZEIRO DO NORTE-CE; Evento: XIII OUTUBRO MÉDICO; Inst.promotora/financiadora: Associação Médica Cearense; Associação Médica Brasileira

Produção Ilustrada

05/02/2023 23:54

Currículo Lattes

Assessoria e consultoria

1. LIMA, M. B.
Avaliação do Curso de medicina de Geriatria da Universidade Estadual de Pernambuco, 2017.
Referências adicionais: Brasil/Português.

Educação e Populização de O&T

Artigos completos publicados em periódicos

1.   CORDEIRO-SILVA, JUAN L.; CARVALHO, LARRY E.; OLIVEIRA, BRUNO M.; FRANCA-NEITO, REINALDO ANDRADE; AZEVEDO, T. J. A.; ALMEIDA, R. R.; MATIAS, P. L. M.; BASTOS, R. N.; NEVES, MARIA A.; RODRIGUES, JULIA M.; BARROS-CORREA, MARIA C.; MACHADO, CINTIA G.; SOUZA, MARCOS A.; MATOS, DANIEL M.; LUORNA-ARAUJO, ANTONIO R.
Prognostic importance of CD56 expression in intermediate risk acute myeloid leukaemia. *BRITISH JOURNAL OF HAEMATOLOGY*  v.176, p.68 - 80, 2017.
Referências adicionais: inglês; Med. de Oncologia; Med. digital; Home page: doi:10.1111/bjh.13611

Orientações e Supervisões

Orientações e supervisões

Orientações e supervisões concluídas

Monografias de conclusão de curso de aperfeiçoamento/especialização

1. Gabriela Teves Doca Couto. Estudo de série de casos no Hospital do Câncer de Pernambuco em Leucemia de células T periféricas do adulto: aspectos epidemiológicos, clínico-laboratoriais e terapêuticos. 2019. Monografia (Residência em Hematologia e Hematologia) - Fundação de Hematologia e Hematologia de Pernambuco.
Referências adicionais: Brasil/Português.
2. Emmanuel Nunes Sampaio de Lacerda. Reavaliação diagnóstica dos pacientes acometidos no HEMOPÉ nos últimos 10 anos classificados como portadores de translocação. 2017. Monografia (Residência em Hematologia e Hematologia) - Fundação de Hematologia e Hematologia de Pernambuco.
Referências adicionais: Brasil/Português.
3. Maria Carolina Mendonça Gomes Lima. Avaliação da indicação de agentes imunotóxicos em Hematologia e Hematologia - Fundação de Hematologia e Hematologia de Pernambuco.
Referências adicionais: Brasil/Português.

Trabalhos de conclusão de curso de graduação

1.   Gabriela Porcinosa, Luis Roberto, Maria Eduarda (Rio). Mieloma múltiplo secundário à infiltração de células: o relato de um caso. 2022. Curso (Medicina) - Centro universitário Maurício de Nassau - Recife.
Referências adicionais: Brasil/Português.
2.   Julia Teves e Juliana Garcia. Plasmocitoma gigante em esterno: um relato de caso. 2022. Curso (Medicina) - Centro universitário Maurício de Nassau - Recife.
Referências adicionais: Brasil/Português.
3.   Vitor Machado de Carvalho, Pedro Jorge Falcão e Maurício C. A. Silva. Leishmaniose: revisão integrativa de literatura. 2016. Curso (Medicina) - Centro universitário Maurício de Nassau - Recife.
Referências adicionais: Brasil/Português.
4.   Livia Maria, Caio Porcinosa, Patricia Virginia. Doença de Castleman: revisão de literatura. 2018. Curso (Medicina) - Centro universitário Maurício de Nassau - Recife.
Referências adicionais: Brasil/Português.
5.   Karine Pinheiro, Luis Cavalcanti, Priscila Paqueta. Síndrome hemofagocítica: uma revisão bibliográfica. 2017. Curso (Medicina) - Centro universitário Maurício de Nassau - Recife.
Referências adicionais: Brasil/Português.
6.   Karine de Almeida, Luis Maria Castro e Priscila Paqueta. Síndrome hemofagocítica: uma revisão bibliográfica. 2017. Curso (Medicina) - Centro universitário Maurício de Nassau - Recife.
Referências adicionais: Brasil/Português.
7.   Evelyn Alves Simões. Auditoria dos formulários de hemocomponentes em um Hospital Privado. 2016. Curso (Farmácia) - Centro universitário Maurício de Nassau - Recife.
Referências adicionais: Brasil/Português.
8.   José Wanderley Pereira Junior. Índice de qualidade analítica de hemocomponentes em um hemocentro privado de Recife-PE. 2016. Curso (Farmácia) - Centro universitário Maurício de Nassau - Recife.
Referências adicionais: Brasil/Português.

Eventos

Eventos

Participação em eventos

1. Conferência nacional II Simpósio Nacional de Hematologia Oncologia QD, 2017. (Simpósio)
Simpósio monográfico: PNI Mieloma.
2. São Paulo, 2016. (Congresso)
3. USP-Paulo. Didact Symposium on Hematology and Immunology. 2013. (Simpósio)
4. Como eu trato as doenças hematológicas em 2013, 2012. (Outra)

06/02/2023 23:54

Currículo Lattes

5. IV Simpósio Internacional da Clínica de Fisiologia Molecular, 2012. (Simpósio)
6. XII Simpósio Internacional de Hematologia, Hemostase e Terapia, 2012. (Simpósio)
7. ENCONTRO REGIONAL DA ARTO COM ITENS DE MEDICINA DO CEARÁ, 2011. (Simpósio)
8. Apresentação de Poster (Painel no(s)) XLII REUNIÃO ANUAL DO NRP, 2010. (Congresso) COLÚMBIA E INSUFICIÊNCIA RENAL AGUDA DESENCADADAS POR PNEUMONITE CRÔNICA - RELATO DE CASO.
9. Apresentação de Poster (Painel no(s)) II SÍMPOSIUM NACIONAL DE PRODUÇÃO EM SAÚDE DA FAMÍLIA, 2008. (Outro) SITUAÇÃO NA PREVENÇÃO AS DISTÂNCIAS DENTRO DA ESTRATÉGIA SAÚDE DA FAMÍLIA.
10. Apresentação de Poster (Painel no(s)) XIV Congresso da Associação Internacional de Políticas de Saúde; IV Congresso Brasileiro de Ciências Sociais e Humanas em Saúde; X Congresso Latino-Americano de Medicina Social, 2007. (Congresso) A DOUTRINA SÓCRATA-KARDECISTA COMO REFERENCIAL TERAPÊUTICO NA CIDADE DO CRATO: OS E SUA POSSÍVEL APLICAÇÃO NA TERAPIA COMUNITÁRIA - INFLUÊNCIA DO CONHECIMENTO SOBRE REALIDADE PARA A OCORRÊNCIA DE GRAVÍDEZ NA ADOLESCÊNCIA NO MUNICÍPIO DE CRATO/CE.
11. Apresentação (Outra Forma) no(s) HIPERTENSÃO NO PACIENTE CIRÚRGICO, 2005. (Outro) HIPERTENSÃO NO PACIENTE CIRÚRGICO.
12. Apresentação (Outra Forma) no(s) MESA REDONDA SOBRE MORTE ENCEFÁLICA, 2005. (Outro) MORTE ENCEFÁLICA.
13. Apresentação (Outra Forma) no(s) SÍMPOSIUM DE IMAGEM EM CARDIOLOGIA: ECOCARDIOGRAFIA, MEDICINA NUCLEAR, TOMOGRAFIA E RESSONÂNCIA, 2005. (Simpósio) SÍMPOSIUM DE IMAGEM EM CARDIOLOGIA: ECOCARDIOGRAFIA, MEDICINA NUCLEAR, TOMOGRAFIA E RESSONÂNCIA.
14. Apresentação (Outra Forma) no(s) SÍMPOSIUM PARAENSE DE ERGOMETRIA E REABILITAÇÃO CARDÍACA, 2005. (Simpósio) SÍMPOSIUM PARAENSE DE ERGOMETRIA E REABILITAÇÃO CARDÍACA.
15. Apresentação (Outra Forma) no(s) SÍMPOSIUM PR DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA, 2005. (Simpósio) SÍMPOSIUM PR DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA.
16. Apresentação (Outra Forma) no(s) SÍMPOSIUM PR DE INSUFICIÊNCIA CORONÁRIA, 2005. (Simpósio) SÍMPOSIUM PR DE INSUFICIÊNCIA CORONÁRIA.
17. Apresentação de Poster (Painel no(s)) VI CONGRESSO BRASILEIRO DE EPIDEMIOLOGIA E IV REUNIÃO CIENTÍFICA DA AMÉRICA LATINA E DO CARIBE, 2005. (Congresso) DETERMINANTES DA GRAVIDEZ NA ADOLESCÊNCIA EM MARANHÃO: CONSEQUÊNCIAS DA GRAVIDEZ NA ADOLESCÊNCIA, A ADOLESCÊNCIA E A ADOLESCÊNCIA E A ADOLESCÊNCIA E A ADOLESCÊNCIA.
18. Apresentação (Outra Forma) no(s) SÍMPOSIUM PR DE ARRITMIAS CARDÍACAS, 2005. (Simpósio) SÍMPOSIUM PR DE ARRITMIAS CARDÍACAS.
19. Apresentação (Outra Forma) no(s) JORNADA DE EDUCAÇÃO E ÉTICA MÉDICA, 2003. (Outro) JORNADA DE EDUCAÇÃO E ÉTICA MÉDICA.
20. Apresentação (Outra Forma) no(s) IV HABILIDADES E ART, 2003. (Outro) IV HABILIDADES E ART.
21. Apresentação (Outra Forma) no(s) ENCONTRO REGIONAL DOS ESTUDANTES DE MEDICINA, 2003. (Simpósio) IX ENCONTRO REGIONAL DOS ESTUDANTES DE MEDICINA.
22. Apresentação de Poster (Painel no(s)) IVS OUTUBRO MÉDICO, 2003. (Congresso) INVENTÁRIO ANTROPOLÓGICO EM SAÚDE COMUNITÁRIA.
23. Apresentação (Outra Forma) no(s) ENCONTRO REGIONAL DOS ESTUDANTES DE MEDICINA: "HUMANIZANDO A PRÁTICA MÉDICA", 2002. (Simpósio) ENCONTRO REGIONAL DOS ESTUDANTES DE MEDICINA.
24. Apresentação (Outra Forma) no(s) CONGRESSO CIENTÍFICO E ÉTICO DA SECCIONAL DO CARIRI DO CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA DO ESTADO DO CEARÁ, XXXIV FÓRUM DE ÉTICA MÉDICA, 2002. (Congresso) CONGRESSO CIENTÍFICO E ÉTICO DA SECCIONAL DO CARIRI DO CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA DO ESTADO DO CEARÁ, XXXIV FÓRUM DE ÉTICA MÉDICA.
25. Apresentação (Outra Forma) no(s) ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E DE INÍCIO DE GRADUAÇÃO E DE INÍCIO DE GRADUAÇÃO DA UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI, 2002. (Outro) ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E DE INÍCIO DE GRADUAÇÃO E DE INÍCIO DE GRADUAÇÃO DA UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI.
26. Apresentação (Outra Forma) no(s) JORNADA DE UROLOGIA E UROGINECOLOGIA DO CARIRI, 2001. (Outro) JORNADA DE UROLOGIA E UROGINECOLOGIA DO CARIRI.
27. Apresentação (Outra Forma) no(s) SÍMPOSIUM DE ATUALIZAÇÃO EM DIABETES MELLITUS, 2001. (Simpósio) SÍMPOSIUM DE ATUALIZAÇÃO EM DIABETES MELLITUS.
28. Apresentação (Outra Forma) no(s) SÍMPOSIUM EM CARDIOLOGIA DO CARIRI, 2001. (Simpósio) SÍMPOSIUM EM CARDIOLOGIA DO CARIRI.

Bancas

Bancas

Participação em banca de trabalhos de conclusão

Cursos de aperfeiçoamento/especialização

1. LIMA, M. M. Participação em banca de Gabriela Reis dos Santos. Estudo de série de casos no Hospital do Câncer de Pernambuco em Leucemia de células T periféricas do adulto: aspectos epidemiológicos, clínicos, 2019. (Residência em Hematologia e Hematologia) Fundação de Hematologia e Hematologia de Pernambuco. Referências adicionais: RNE/Portugal.
2. LIMA, M. M. Participação em banca de Sylvia Kate Xavier de Farias. Experiência de um serviço de hematologia em Leucemia Mielóide Crônica no nordeste do Brasil: aspectos terapêuticos, 2019. (Residência em Hematologia e Hematologia) Fundação de Hematologia e Hematologia de Pernambuco. Referências adicionais: RNE/Portugal.
3. LIMA, M. M. BEZERRA, MARCOS A. WANDERLEY, C. Participação em banca de Sylvia Kate Xavier de Farias. Experiência de um serviço de hematologia em Leucemia Mielóide Crônica no nordeste do Brasil: aspectos terapêuticos, 2019.

06/02/2023 23:54

Currículo Lattes

(Residência em Hematologia e Hemoterapia) Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco
Referências adicionais: AnaisPortugals

4. LIMA, M. M.; WANDERLEY, C.; CORREA, M. C. B.
Participação em banca de Juria Pontes Duarte. Perfil clínico e laboratorial dos pacientes com
Mieloma Múltiplo: experiência de 5 anos do HBHOPE, 2019
(Residência em Hematologia e Hemoterapia) Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco
Referências adicionais: AnaisPortugals
5. LIMA, M. M.
Participação em banca de Juria Pontes Duarte. Perfil clínico e laboratorial dos pacientes com
Mieloma Múltiplo: experiência de 5 anos do Hemope, 2019
(Residência em Hematologia e Hemoterapia) Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco
Referências adicionais: AnaisPortugals

Totais de produção

Produção bibliográfica	
Artigos completos publicados em periódico	13
Artigos escritos para publicação	3
Resumos publicados em anais de eventos	34
Apresentações de trabalhos (Congressos)	41
Apresentações de trabalhos (Outros)	4
Produção técnica	
Trabalhos técnicos (consultoria)	1
Orientações	
Orientação concluída (monografia de conclusão de curso de aperfeiçoamento/especialização)	3
Orientação concluída (trabalho de conclusão de curso de graduação)	8
Eventos	
Participações em eventos (congressos)	5
Participações em eventos (simpos)	11
Participações em eventos (encontros)	4
Participações em eventos (outros)	8
Participação em banca de trabalhos de conclusão (curso de aperfeiçoamento/especialização)	8

Página gerada pelo sistema Currículo Lattes em 06/02/2023 às 23:53:57.

APENDICE

ARTIGO REFERENTE AO CAPÍTULO I NA VERSÃO 1 EM INGLÊS PARA SUBMISSÃO

CLINICAL AND PROGNOSTIC IMPORTANCE OF MITOCHONDRIAL DNA
CONTENT IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA

ABSTRACT

Acute Myeloid Leukemia (AML) is a heterogeneous group of clonal alterations that lead to a maturation block or a proliferation of myeloid precursors. Metabolic reprogramming is one of the emerging hallmarks of AML. However, due to the high molecular heterogeneity observed among different patients, studying the metabolic state in leukemic cells can be challenging since some patients with AML also have increased mitochondrial activity linked to adverse outcomes. This work aims to evaluate the importance of mitochondrial DNA quantification in patients with a recent diagnosis of AML, associating the number of copies of mitochondrial DNA with other associated molecular alterations and establishing correlations with the adapted genetic risk (AGR) scoring system, demonstrating its role in prognosis. Patients with high mtDNA content have been shown to have worse outcomes when compared to patients with normal mtDNA content. High levels of mtDNA were independently associated with lower disease-specific survival (DSS) and increased cumulative incidence of relapse (CIR), denoting a possible prognostic marker. The possibility of studying and discovering specific dependencies of energy metabolism or its links with the cell microenvironment could open new avenues of research and, ultimately, new treatment options for patients with AML.

Keywords: Acute Myeloid Leukemia; Acute Promyelocytic Leukemia; mitochondria; mitochondrial DNA

INTRODUCTION

Metabolic reprogramming is one of the emerging hallmarks of cancer, including acute myeloid leukemia (AML). However, the high molecular heterogeneity observed among patients with AML translates into clinical heterogeneity, so studying the metabolic state becomes challenging¹.

AML is a heterogeneous disease regarding clinical features, outcomes, and genetics. Leukemia develops from the serial acquisition of somatic mutations in hematopoietic stem cells and progenitors with self-renewal capacity and neoplastic clone propagation^{1,2}. Considering multiple aspects involving the role of mitochondria in cancer², their ability to rescue tumor cells from chemotherapy may be of particular interest in AML chemoresistance. As part of this metabolic machinery, mitochondrial DNA content (mtDNAc) has been reported to be altered in different types of tumors with clinical implications for treating patients with AML³⁻

7.

As an important part of the metabolic machinery, mitochondrial DNA (mtDNA) biosynthesis has been associated with increased mitochondrial biogenesis dependent on oxidative phosphorylation⁸. Furthermore, studies in solid tumors have suggested that changes in mtDNAc may have clinical implications^{3,7}. However, the impact of altered mtDNAc changes on the clinical outcomes of patients with hematological malignancies (especially AML) remains largely unknown. Here, we hypothesized that AML patients with high mtDNAc and, consequently, a high metabolism driven by oxidative phosphorylation would have a worse response to standard cytotoxic therapies⁹. To test this hypothesis, we determined mtDNAc in samples from 482 patients treated with cytotoxic

chemotherapy (cytarabine associated with anthracycline) in three reference centers for treating AML.

METHOD

A retrospective multicentric cohort was conducted with 482 patients recruited by consecutive sampling with a recent diagnosis of AML, followed from June 2003 to December 2019, using the World Health Organization's (WHO) classification, diagnosis, and treatment criteria, excluding patients with acute promyelocytic leukemia (APL), secondary AML, and those whose health records were unavailable.

The following variables were analyzed: age, gender, leukemia subtype, blood count (leukocyte, platelet, hemoglobin, and hematocrit), and molecular data based on the WHO's abovementioned criteria. The material used in the research originated from bone marrow or peripheral blood, with at least 80% of blasts in the periphery sent to routine laboratories for diagnostic purposes with no additional blood collection. For comparison purposes, peripheral blood samples from 293 healthy individuals of both sexes, with a median age of 42 years (ranging from 18 to 60 years), were included. The study complied with the principles of the Declaration of Helsinki, and informed consent was obtained from all patients or their families. The local Research Ethics Committees of each participating center approved the study.

Cytogenetic risk groups were initially defined according to the Medical Research Council (MRC) classification. Alternatively, we used the adapted genetic risk (AGR) assessment to categorize patients according to cytogenetics and

molecular risk (Silveira, 2020). This stratification model aims to provide important information for healthcare settings with limited financial and infrastructure resources, allowing MLA patients to have their risk stratified using minimal molecular cytogenetic information, a helpful strategy to include more patients because it allows some degree of data loss without compromising the prognostic power. mtDNA_c was quantified using real-time quantitative polymerase chain reaction. The results were normalized and expressed as a folding shift relative to aDNA reference. Descriptive analyzes were performed for patient characteristics at baseline. Details of the statistical analysis and clinical endpoints are described in the supplement.

RESULTS

Initially, we sought to determine whether mtDNA_c could be compared between different hematologic sources (peripheral blood mononuclear cells and bone marrow). By measuring the mtDNA_c of 22 patients with AML, for whom paired samples were available at the time of diagnosis, we detected a strong correlation between peripheral blood and bone marrow samples (Pearson's correlation coefficient, $r = 0.78$, 95% confidence interval [95% CI]: 0.54 to 0.9; Figure 1A). Furthermore, we demonstrate that mtDNA_c was significantly higher in 482 AML patients compared to 293 age- and sex-adjusted healthy volunteers, while no difference was observed between cytogenetically defined AML subgroups ($P < 0.05$; Figure 1B). To categorize AML patients with high mtDNA and normal content, we used the upper limit of mtDNA values within the 95% CI of healthy subjects (≥ 1.63) as a cut-off point to define patients with AML with high mtDNA_c. Patients with mtDNA_c within the range of normal control samples (< 1.63) were

classified as normal (Figure 2). 34% of patients had mtDNA content above normal (Figure 3). Key baseline characteristics are summarized in Supplemental Table 1. Patient follow-up was last updated in July 2020. The median follow-up among survivors was 29 months (95% CI: 25-35 months). Only patients treated intensively with cytotoxic chemotherapy were included in the survival analyses (411 patients). In general, 281/411 (68%) patients achieved complete hematologic remission (CHR), where mtDNA_c had no impact on CHR ($P=0.478$). Patients with high mtDNA_c had lower 3-year disease free survival ($P<0.0001$) (Figure 4). This result was consistent with multivariate proportional hazards analysis using mtDNA as a categorical (Figure 7A) or continuous variable (Figure 7B). Considering death without relapse as a concurrent cause of failure, the 3-year cumulative incidence of relapse rate was higher in patients with high mtDNA_c ($P<0.0001$) (Figure 5). mtDNA_c had no impact on overall survival ($P=0.27$). Furthermore, applying the mtDNA stratification to the adapted genetic risk stratification (AGR), we noticed that mtDNA was able to improve the genetic risk stratification (Figure 6).

DISCUSSION

Our findings support three main conclusions. First, mtDNA_c may be clinically relevant for patients with AML. Altered amounts of mtDNA_c are widely reported in various human tumors. However, there is no consensus on how this variation affects pathophysiology and prognosis. Depending on the tissue under examination, high or low mtDNA_c may be associated with tumor progression and worse prognosis^{3,5,7,10}. These discrepancies may result from different cancer types, tissue sites, and treatments, indicating different tissue- and context-specific

roles for mtDNA. In our experience, a higher than normal mtDNA was identified in almost one-third of patients, who also had poor post-induction results, regardless of tumor burden, age, and cytogenetics at diagnosis. To date, little is known about mtDNA in hematologic malignancies. Most data involving the mitochondrial genome in AML is related to mtDNA mutations^{11,12}, and few studies have addressed these findings in a clinical setting^{13,14}.

This is the first study to link mtDNA and clinical outcomes in a relatively large series of adult patients treated with cytotoxic chemotherapy outside a prospective clinical trial. Based on the strong correlation between mtDNA from different sources (bone marrow versus peripheral blood), even patients for whom bone marrow aspiration could not be used due to dry tap could benefit from these data.

Therefore, different tumors have different bioenergetic requirements, which can be modulated by nDNA or mtDNA genetic variation and mtDNA copy number^{6,7}. In some tumors, the change in mtDNA copy number may be an adaptive response secondary to the effect of a mutation that confers a growth advantage for a given tumor type^{7,8}. Thus, while on the one hand, mtDNA copy number may be a contributing factor to certain tumors' growth, the significance of changes in mtDNA copy number appears to be context-specific⁹. One type of tumor can increase the mtDNA copy number to function in an aerobic environment. The mtDNA copy number can also change in response to mtDNA mutations. Second, mtDNA content plays a critical role in drug-induced apoptosis. Indeed, the study of cancer metabolism has been a rapidly growing field, giving rise to new therapeutic approaches.

Although most patients with AML initially respond to chemotherapy, many relapses. Disease relapse is likely caused by leukemic stem cells (LSCs) that are unaffected by chemotherapy and retain their disease-initiating properties. Besides, the mechanistic basis for the persistence of AML after chemotherapy has not been determined¹⁶.

Historically, therapy failure has been believed to be due to mutations that produce drug resistance, possibly stemming from the mutagenic properties of chemotherapy drugs¹⁷. However, other lines of evidence have pointed to the pre-existence of drug-resistant cells¹⁸. For example, deep sequencing of paired diagnosis and relapse AML samples provided direct evidence that relapse in some cases is generated from smaller genetic subclones present at diagnosis that survive chemotherapy^{19,20}, suggesting that resistant cells are generated by evolutionary processes before treatment and selected by therapy.

Although the physiological mechanism of mitochondrial acquisition is still unclear, it is well established that non-malignant bone marrow stromal cells switch to AML cells during chemotherapy^{21,22}. However, in previous corroborating studies, we found a protective effect of high mtDNA in human primary leukemic blasts against apoptosis^{23,24}.

The AML relapse mechanisms remain unclear. Although most patients with AML initially respond to chemotherapy, many subsequently relapse, while the biological mechanisms for the persistence of AML after chemotherapy have not been fully determined. Although some mechanism still needs to be confirmed, it is conceivable that mitochondrial transfer from the microenvironment to leukemic cells may function as a protective mechanism against chemotherapy^{21,22}.

Based on its complexity, AML cannot be defined only by its karyotype but requires an overview that includes epigenetic alterations, interaction with the microenvironment, and metabolic dysregulation¹⁵. Given these various parameters, drug efficacy may require individual therapeutic regimens. Understanding the mechanisms of mitochondrial function during cancer treatment may be fundamental for developing new therapeutic strategies¹⁵. The study of cancer metabolism has been a rapidly growing field, giving rise to new therapeutic approaches. Given the heterogeneity of AML, further studies are needed to confirm our findings and determine whether mtDNA_c may also be relevant in refractoriness and minimal residual disease after chemotherapy. In addition, other questions need to be elucidated: (1) whether and how mtDNA_c varies during the process of leukemogenesis, (2) whether these fluctuations can alter the clinical response to therapeutic regimens, and (3) whether mtDNA-depleted cells retain drug sensitivity if co-cultured with non-malignant bone marrow stromal cells.

Although we now have a complete understanding of the genome and the abnormalities underlying acute myelogenous leukemia²⁵, it has become apparent that our knowledge of the biology of leukemic cells nevertheless remains incomplete. The rewiring of energy metabolism is the perfect example of a process fundamental to these cells, although it is mostly independent of mutation. When we evaluated the mtDNA_c of patients with AML, it was seen that they exhibited higher mtDNA_c than healthy CD34⁺ cells and that high mtDNA levels were independently associated with reduced SLD and increased ICR, denoting it as a possible prognostic marker.

CONCLUSION

While there is still a need for clinically appropriate therapeutic strategies, we are hopeful of uncovering specific dependencies of energy metabolism or its links to the cell microenvironment, opening new avenues of research and, ultimately, new treatment options for patients with AML. Thus, further studies are needed to better understand the role of metabolism, given the heterogeneity of AML.

FIGURE CAPTIONS

Figures 1A and 2B demonstrate the relative quantification of mtDNA copy number in patients with de novo AML compared to healthy individuals. Patients with AML were subclassified according to genetic alterations presented at diagnosis. This classification included patients with core-binding factor leukemia (CBF-leukemia), normal karyotype (AML-CN), complex karyotype, and patients whose genetic alterations are less recurrent or rather AML-unspecified.

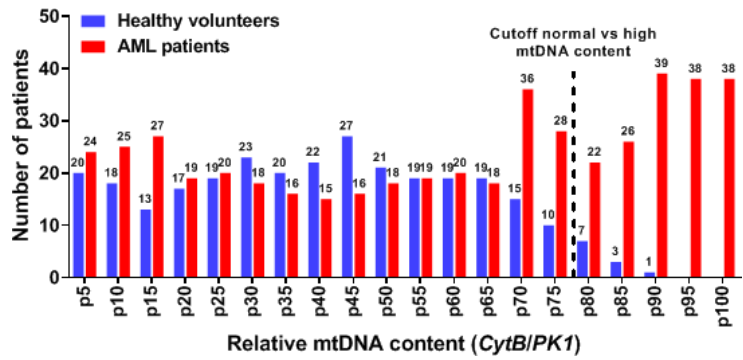


Figure 2: Evaluation of mtDNA quantification – evaluation cutoff between normal and high mtDNA content

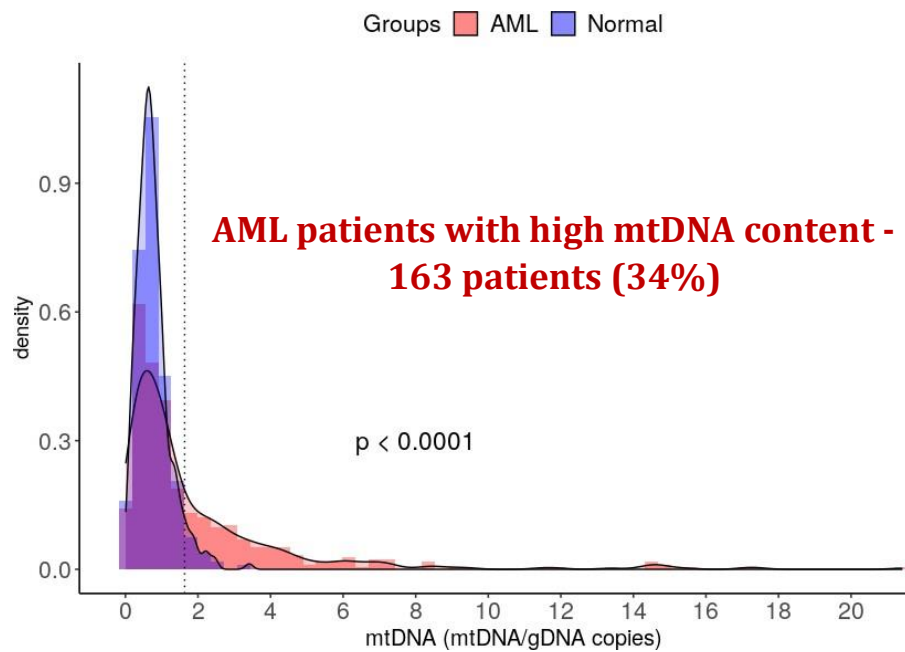
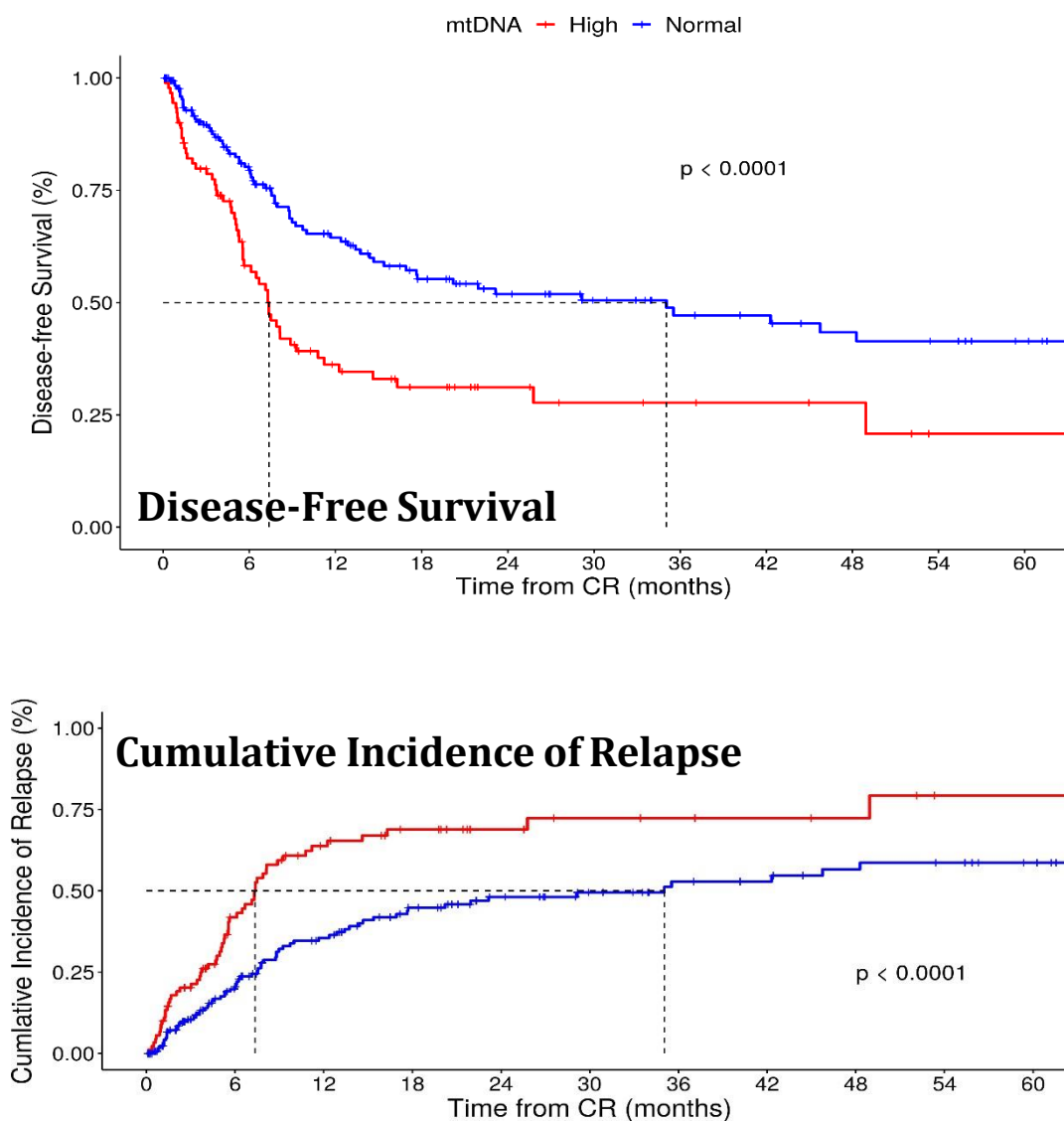


Figure 3: Graphical representation of the dichotomization between groups: normal and above normal mtDNA content. 34% of AML patients had above-normal mtDNA content. This result dichotomized the AML samples into two groups - patients with mtDNA content equal to normal and patients with above-normal mtDNA content.



Figures 4 and 5: Graphic representation: Disease-free survival. Patients with above-normal mtDNA content exhibited decreased disease-free survival and increased cumulative incidence of relapse (CIR)

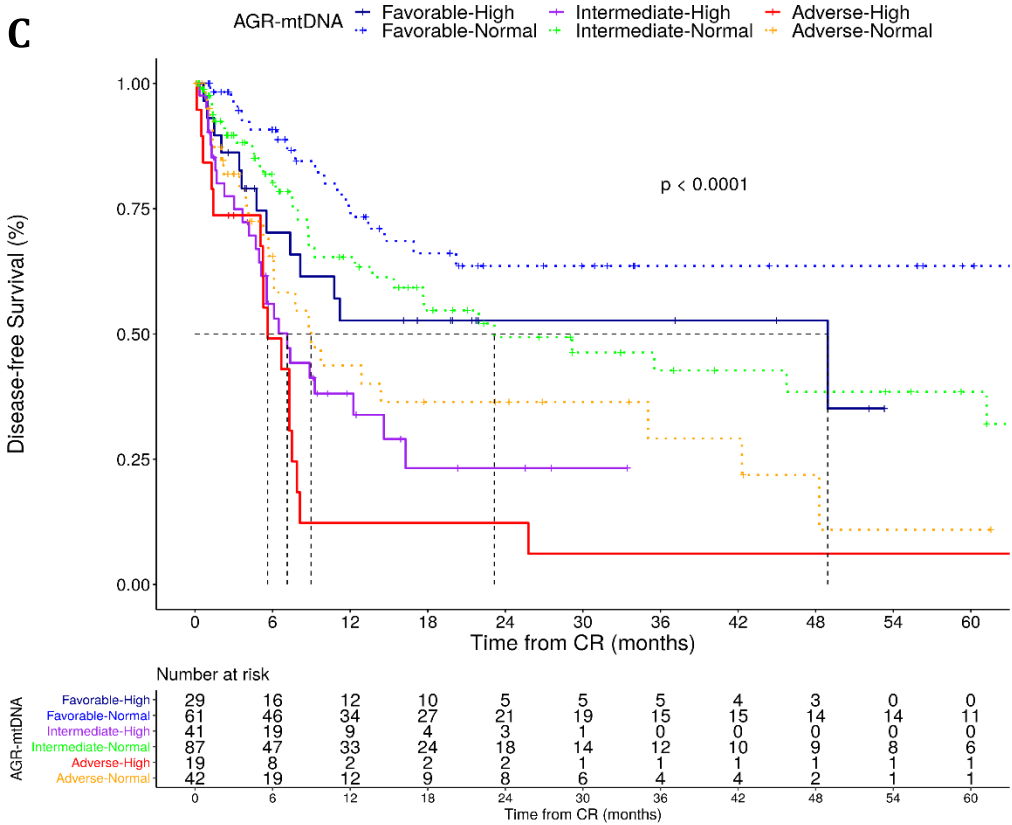


Figure 6: Graphic representation: Risk stratification – mtDNA x AGR. Applying the mtDNA stratification to the adapted genetic risk (AGR) stratification, we noticed that mtDNA improved the genetic risk stratification.

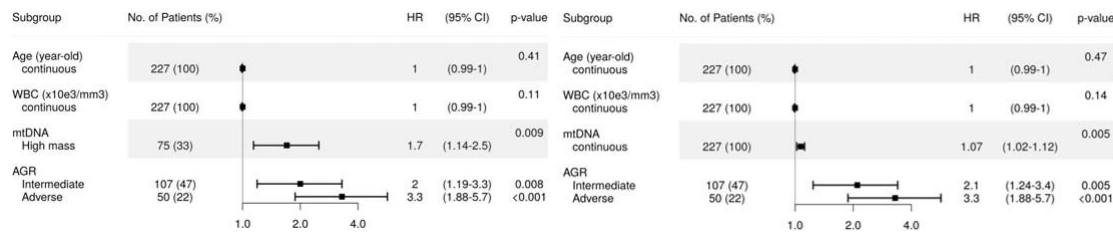


Figure 7A and 7B: Multivariate analysis of the cohort. Denotes mtDNA as a possible target for prognostic evaluation according to the AGR stratification model, being statistically significant when we evaluated variables with high mtDNA content and intermediate and adverse risks by AGR.

SUPPLEMENT

Methods

Patients and study design

We performed a retrospective cohort study investigating the clinical relevance of relative mtDNA content in patients with AML. Four hundred eighty-two consecutive patients with newly diagnosed AML who were followed from June 2003 to December 2019 at three Brazilian referral centers specialized in AML were included. The diagnosis of AML was based on the World Health Organization's criteria. Patients with a recent diagnosis of de novo AML in bone marrow (BM, preferably) or peripheral blood (PB) samples, if available, were included in this study. All PB samples contained at least 80% or more blast cells. For comparison purposes, the analysis included PB samples from 293 age- and sex-adjusted healthy volunteers with no history of hematological disorders.

The Research Ethics Committees of each participating center approved the study (protocol #7147/2005), and informed consent was obtained from all patients or their family members. All AML subtypes were considered eligible for the study, except patients with acute promyelocytic leukemia or a previous history of myelodysplastic syndrome or therapy-related AML. All study protocols were conducted under the Declaration of Helsinki and approved by the institutional review boards of the participating centers. All patients provided written informed consent for inclusion in the clinical trial and genetic analyses. Treatment protocols were previously described¹.

Cytogenetic and molecular analyzes

All materials used for the genetic analyzes were obtained at the time of diagnosis and processed in the reference laboratories of each participating center. Cytogenetic analysis was performed from bone marrow aspirates according to standard techniques for chromosome banding. Cytogenetic risk groups were initially defined according to the Medical Research Council (MRC)² classification. Alternatively, we used adapted genetic risk (AGR) assessment to categorize patients according to cytogenetic and molecular risk, a helpful strategy to include more patients because it allows some degree of data loss without compromising the prognostic power³.

Genomic DNA was extracted using the Puregene kit (Gentra Systems) according to the manufacturer's protocol for molecular analyses. Standard polymerase chain reaction and sequencing techniques were performed to detect NPM1 and FLT3-ITD4-7 mutations.

Relative quantification of mtDNA content

After total genomic DNA extraction, mtDNA content was determined by quantitative real-time PCR (qPCR) using specific primers for the mitochondrial cytochrome B (CYTB) gene (representing the mtDNA) and for the nuclear copying pyruvate kinase (PK) gene, used to represent nuclear DNA (nDNA). The primer sequences for the PK gene were forward 5'-AGCCCAAATGGCCTTGAA-3'; reverse 5'-AGAGACAGAATGCCAGTGAGC-3'; the primers for the CYTB gene were: forward 5'-CACGATTCTTTACCTTTCACTTCATC-3'; reverse 5'-TGATCCCGTTTCGTGCAAG-3'. All qPCR assays were performed in triplicate

using sample-derived DNA in MicroAmp 96-well optical plates using a 7500 Real-Time PCR System (Applied BioSystems, Foster City, CA, USA). The reaction solution was prepared by combining Power SYBR™ Green PCR Master Mix (Applied BioSystems) and 320 nM of each primer. The DNA concentration in each sample was diluted to 20 ng/μL, and 1 ul of DNA was added to each well as a template. Template-free negative controls were run for each gene. The amplification program consisted of 10 minutes at 95°C, followed by 40 cycles of 15seconds at 95°C and 1 minute at 60°C. At the end of the amplification process, a melting curve from 55°C to 95°C was read to determine the amplification specificity of the gene. Corresponding qPCR efficiencies for each mitochondrial and nuclear gene amplification were calculated using the following equation: $E = 10^{(-1/\text{slope})} - 1$. The efficiency of CYTB and PK genes was 106% and 94%, respectively.

Relative mtDNA content was defined as the total amount of mtDNA (CYTB gene) subtracted by the total amount of nDNA (PK gene). As such, the difference in cycle threshold number (Ct) ($\Delta\text{Ct} = \text{Ct}_{\text{CYTB}} - \text{Ct}_{\text{PK}}$) was calculated for each replicate. With no detectable amplification of CYTB at 40 cycles (using standard amplification conditions for qPCR), expression values were set to 0. Samples with Ct amplification in the PK gene greater than 25 were excluded from the analysis. Each sample was normalized to a reference DNA and set to 1. The same reference DNA was used as an internal control in all experiments to ensure that results from different experiments could be compared. Relative mtDNA content was obtained by the comparative Ct method, and the results were expressed using $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$, where $\Delta\Delta\text{Ct} = \Delta\text{Ct}_{\text{patients}} - \Delta\text{Ct}_{\text{reference group}}$.

Statistical analysis and clinical outcomes

Patients and healthy volunteers were divided into percentiles according to mtDNA content and subsequently aligned, allowing the assessment of the impact of mtDNA content on clinical outcomes without seeking an optimal cut-off point. Using this criterion, we dichotomized patients into two groups according to the lowest mtDNA content value of AML patient samples capable of excluding 95% of normal control samples from the alignment. Therefore, patients were considered as having a normal mtDNA content if they had relative mtDNA values less than 1.63 (319 patients; 60%). The remaining patients were classified as having high mtDNA content (163 patients; 30%), that is, those with above-normal mtDNA. We also considered using a receiver operating characteristic (ROC)⁸ curve analysis to define the optimal cut-off for mtDNA content. However, the performance was unsatisfactory (area under the ROC curve: 0.571, 95% CI: 0.47 to 0.671). Baseline and clinical characteristics were then compared. Descriptive analyzes were performed for baseline patient characteristics. Fisher's exact test or Chi-square test was used as appropriate to compare categorical variables. The Kruskal-Wallis test was used to compare continuous variables⁹. All P-values were two-sided with a significance level of 0.05. All calculations were performed using Stata 12.0 software (Stata Corporation, USA) and R 3.3.2 (The CRAN project, www.r-project.org).