

Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos - UNICEPLAC
Curso de Medicina
Trabalho de Conclusão de Curso

**Marcadores biomoleculares no manejo clínico de pacientes com
leucemia mieloide aguda**

Gama-DF
2021



(61) 3035-3900



www.uniceplac.edu.br



Área Especial para Indústria
Lote nº 02, Bloco A, Sala 304,
Setor Leste, Gama, Brasília, DF
CEP 72.445-020

CARLOS EDUARDO LIMA DE SOUZA CRUZ

Marcadores biomoleculares no manejo clínico de pacientes com leucemia mieloide aguda

Monografia apresentada como requisito para conclusão do curso de Medicina do Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos – Uniceplac.

Orientadora: Profa. Dra. Luiza Cesca Piva
Coorientadora: Profa. Dra. Myrna Barbosa Gomes

Gama-DF
2021



(61) 3035-3900



www.uniceplac.edu.br



Área Especial para Indústria
Lote nº 02, Bloco A, Sala 304,
Setor Leste, Gama, Brasília, DF
CEP 72.445-020

C957m

Cruz, Carlos Eduardo Lima de Souza.
Marcadores biomoleculares no manejo clínico de pacientes com leucemia mieloide aguda / Carlos Eduardo Lima de Souza Cruz – 2021.

25 p. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos - UNICEPLAC, Curso de Medicina, Gama-DF, 2021.

Orientação: Profa. Dra. Luiza Cesca Piva.

1. Leucemia mieloide aguda. 2. Biomarcadores.
3. Mecanismos de resistência. I. Título.

CDU: 6



CARLOS EDUARDO LIMA DE SOUZA CRUZ

Marcadores biomoleculares no manejo clínico de pacientes com leucemia mieloide aguda

Monografia apresentada como requisito para conclusão do curso de Medicina do Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos – Uniceplac.

Orientadora: Profa. Dra. Luiza Cesca Piva
Coorientadora: Profa. Dra. Myrna Barbosa Gomes

Gama, 10 de junho de 2021.


Banca Examinadora

Profa. Dra. Luiza Cesca Piva
Orientadora

Prof. Me. Alessandro Ricardo Caruso da Cunha
Examinador

Prof. Me. Flavio Jose Dutra de Moura
Examinador





Dedico esse trabalho a todos meus familiares, em especial aos meus pais, por todo apoio e por sonharem comigo. Aos meus professores, por todo conhecimento e paciência e aos meus amigos de faculdade, que me acompanharam por toda jornada até aqui.



AGRADECIMENTOS

A Deus que me permite entender parte da sua criação e conseguir enxergar a beleza dela em minha profissão.

À minha família, por todo amor e cuidado durante toda minha vida, que compreenderam e ainda compreendem as minhas ausências nos períodos de estudo.

Às minhas orientadoras, Dra. Luiza e Dra. Myrna, pela paciência, vontade de ensinar, amor pela profissão e por principalmente me inspirarem profissionalmente e pessoalmente a ser alguém melhor e que promove mudanças.



RESUMO

Introdução: A leucemia mieloide aguda (LMA) é responsável por mais de 80% dos casos de leucemia em adultos. Trata-se de uma doença multifatorial, heterogênea e diversa, com rápida evolução e de caráter maligno. Os avanços nas descobertas da sua biologia e patogênese tem possibilitado uma melhora significativa no entendimento da doença como um todo. Apesar disso, muitos mecanismos de resistência celular ao tratamento da doença surgiram e foram descobertos com o avanço do conhecimento na área. A biologia molecular e os biomarcadores têm sido estudados e analisados objetivando um emprego na análise do prognóstico de cada paciente com LMA. Essas moléculas participam de forma efetiva na evolução e desenvolvimento do câncer e são úteis na avaliação de pacientes para a escolha do melhor tratamento. **Objetivos:** O presente trabalho tem como objetivo correlacionar os principais biomarcadores na LMA com prognósticos e mecanismos de resistência a quimioterapia. **Métodos:** Foi realizada uma revisão de literatura nas bases de dados PubMed/MEDLINE, LILACS e The Cochrane Library, com artigos do período entre 2015 e 2021. **Discussão:** A pesquisa demonstrou que os diversos perfis genéticos e moleculares desta doença podem influenciar de maneiras distintas os mecanismos de resistência e alterar o prognóstico do paciente, diminuindo a sobrevida global e a resposta ao tratamento. **Conclusão:** Os exames para a avaliação de biomarcadores podem ser de grande utilidade nas escolhas terapêuticas de pacientes com LMA. Dessa forma, a análise biomolecular reduz o risco de adesão a terapias sem resposta, aumenta a sobrevida e conduz de forma direta e objetiva a escolha do melhor quimioterápico para os pacientes com LMA.

Palavras-chave: Leucemia mieloide aguda. Biomarcadores. Mecanismos de resistência.



ABSTRACT

Introduction: Acute myeloid leukemia (AML) is responsible for more than 80% of leukemia cases in adults. It is a multifactorial, heterogeneous and diverse disease, with rapid evolution and a malignant character. Advances in the discovery of its biology and pathogenesis have enabled an explicit improvement in the understanding of the disease as a whole. However, many mechanisms of cellular resistance to treatment have emerged and were discovered with the advance of knowledge in the area. Molecular biology aspects and biomarkers have been studied and promoted aiming at a role in the analysis of the prognosis of each patient with AML. These molecules effectively participate in the evolution and development of cancer and are useful in evaluating patients for choosing the best treatment option. **Objectives:** This study aims to correlate the main biomarkers in AML with chemotherapy prognoses and resistance mechanisms. **Methods:** A review of the literature was carried out in the PubMed / MEDLINE, LILACS, and The Cochrane Library databases, with articles published from the period between 2015 and 2021. **Discussion:** The research showed that different genetic and molecular profiles can conduct in different ways in resistance mechanisms and alter the patient's prognosis, decreasing overall survival and response to treatment. **Conclusion:** Biomolecular analysis reduces the risk of adherence to therapies with no response, increases survival and leads to the choice of the best chemotherapy for AML patients.

Keywords: Acute myeloid leukemia. Biomarkers. Resistance mechanisms.



LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação das Leucemias Mieloides Aguda segundo a Atualização da OMS 2016.....	19
Tabela 2 - Classificação do grupo Franco-Americano-Britânico (FAB) para a leucemia mieloide aguda.....	20
Tabela 3 - Classificação de Risco estratificada por meio de anormalidade citogenéticas.....	22



LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-FU	Fluorouracil
Ara-C	Citarabina
ASXL1	Proteína Putativa do Grupo Polycomb ASXL1
AZA	5-azacitidina
BiCEBPAMUT	Mutação Bialélica do Gene CEBPA
CBPA	Proteína Alfa de Ligação ao CCAAT
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DNMT3A	DNA (citosina-5) -metiltransferase 3A
DPD	Dihidropirimidina Desidrogenase
FAB	Classificação Franco-Americana-Britânica
FISH	Hibridização Fluorescente in Situ
FLT3	Fator Estimulador de Colônia de Macrófagos
FLT3-ITD	Duplicações Internas no Mesmo Sentido do gene FLT3
GADD45A	Proteína de Parada do Crescimento e Induzível a Danos no DNA GADD45
HIF-1 α	Regulador Transcricional Induzível Por Hipóxia Fator 1 Alfa
IDH1	Isocitrato Desidrogenase 1
IDH2	Isocitrato Desidrogenase 2
KIT	Homólogo de Oncogene Viral de Sarcoma Felino Vkit HardyZuckerman
KRAS	Gene Homólogo do Oncogene Viral do Sarcoma de Rato Kirsten
LMA	Leucemia Mieloide Aguda
LSCs	Células-tronco Leucêmicas
M0	Leucemia mieloblástica aguda indiferenciada
M1	Leucemia mieloblástica aguda sem maturação
M2	Leucemia mieloblástica aguda com maturação
M3	Leucemia promielocítica aguda ou promielocítica



M4	Leucemia mielomonocítica aguda
M5	Leucemia monoblástica aguda ou Leucemia monocítica aguda
M6	Leucemia eritróide aguda ou eritroleucemia
M7	Leucemia megacarioblástica aguda
MoCEBAMUT	Mutação Única do Gene CEBPA
NPM1	Nucleofosfomina 1
RAS	Rat sarcoma
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
RUNX	Fator de Transcrição 1 Relacionado à Runt
SNC	Sistema Nervoso Central
TET2	Metilcitosina Dioxigenase
TKD1	Domínio Tirosina Quinase 1
TP53	Proteína 53
TP53MUT	Mutações no TP53
TP53WT	Forma Normal do Gene TP53
WT1	Proteína Tumoral De Wilms
WT1MUT	Mutação Única no Gene WT1
α -KG α -	hidroxiglutarato



SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. DESENVOLVIMENTO	14
2.1. Métodos	14
2.2. LMA	15
2.2.1. Etiologia	16
2.2.2. Quadro Clínico	16
2.2.3. Diagnóstico	17
2.2.4. Classificação	19
2.2.5. Prognóstico	21
2.2.6. Fisiopatologia	22
2.3. Biomarcadores	25
2.3.1. FLT3	25
2.3.2. Nucleofosmina 1 (NPM1)	26
2.3.3. CEBPA	27
2.3.4. KIT	28
2.3.5. RUNX	28
2.3.6. TP53	29
2.3.7. RAS	29
2.3.8. WT1	30
2.3.9. DNMT3A	30
2.3.10. IDH1 E IDH2	31
2.3.11. ASXL1	32
2.3.12. TET2	32
2.4. Mecanismos de resistência a quimioterápicos	33
2.5. Mecanismos de resistência à quimioterapia na leucemia mieloide aguda	36
3. CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS	42



1. INTRODUÇÃO

A leucemia mieloide aguda (LMA) é a forma mais comum de leucemia em adultos, abrangendo em média 80% dos casos de leucemia nessa faixa etária. A incidência da doença tende a aumentar com a idade, de aproximadamente 1,3 a cada 100 mil habitantes em pacientes com menos de 65 anos para 12,2 casos a cada 100 mil habitantes em pacientes com mais de 65 anos de idade (CASTELLI, 2019).

Grande parte dos pacientes com LMA têm uma evolução rápida e uma sobrevida pequena: a sobrevida de cinco anos em 20% em paciente com idade acima dos 60 anos e de 50% em pacientes com idade entre 15-59 anos (BURNETT, 2014).

O desenvolvimento da doença é produto de mutações genéticas que possibilitam e encaminham vias de hiperproliferação celular, vantagens de sobrevivência celular, bloqueio na diferenciação mieloide e inibição das vias de apoptose (POZZO, 2017).

O prognóstico do paciente portador de LMA depende em grande parte das suas características genéticas e moleculares (KAYSER; LECIS, 2019). Os últimos anos de pesquisa melhoram de forma significativa o entendimento da patobiologia da LMA e a forma de desenvolvimento da doença. As análises genômicas trouxeram importantes informações para a interpretação da biologia molecular da LMA, incluindo múltiplas mutações e grupos de mutações, que afetam o prognóstico e conseqüentemente o tratamento dos pacientes (SHORT *et al*, 2020).

Apesar de novas técnicas, como sequenciamento de nova geração, terem surgido e ajudado a identificar as diversas anormalidades e alterações recorrentes na LMA, um pequeno número dessas alterações foram incorporadas aos esquemas de classificação e estratificação de risco. Além disso, casos de LMA resistentes à quimioterapia e com uma maior taxa de doença residual mínima vêm sendo relatados, e esses fatores aumentaram de forma considerável o número de pacientes recidivantes ao tratamento (KAYSER; LECIS, 2019).

A doença residual mínima pode ser medida molecularmente ou por meio de citometria de fluxo multiparâmetros; ela identifica riscos de recidiva e fornece informações prognósticas valiosas



além de outras características pré-tratamento que auxiliam no manejo desse paciente (KAYSER; LECIS, 2019).

De forma paralela aos avanços no entendimento da LMA, diversos mecanismos de resistência a quimioterapia foram descobertos em pacientes portadores da doença. Responsáveis por diminuir a sobrevida global e a qualidade de vida dos pacientes, esses mecanismos influenciam de forma direta no prognóstico dos casos de LMA e se tornaram um novo desafio para médicos que trabalham com oncologia hematológica (LONG *et al*, 2020).

Esse trabalho objetiva correlacionar biomarcadores moleculares e mecanismos de resistência a quimioterapia com os diferentes prognósticos na LMA. Foi realizada uma revisão bibliográfica com objetivo de estabelecer relações entre os principais biomarcadores, como o Fator Estimulador de Colônia de Macrófagos (FLT3), Nucleofosfomina 1 (NPM1), Proteína Alfa de Ligação ao CCAAT (CBPA), Fator de Transcrição 1 Relacionado à Runt (RUNX) e Proteína 53 (TP53) e os mecanismos de resistência envolvendo esses e os mecanismos de resistência e prognóstico dos portadores das alterações relacionadas a cada um deles.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. Métodos

O estudo foi composto por uma revisão narrativa de literatura que analisou a importância do uso de biomarcadores nos mecanismos de resistência à e a influência desses na prática clínica do paciente com leucemia mieloide aguda. A busca pelos artigos foi realizada nas bases de dados PubMed/MEDLINE, LILACS, The Cochrane Library e NCBI, com os seguintes descritores: “leucemia mieloide aguda”, “biomarcadores”, mecanismos de resistência”. A pesquisa foi realizada no período entre janeiro e março do ano de 2021, sendo encontrados 2351 artigos no PUBMED/MEDLINE, delimitando-se 33 artigos entre os anos de 2015 a 2021, que estejam em



português e em inglês, continham informações pertinentes para o trabalho e abordavam a temática em questão.

Critérios de elegibilidade para o estudo: artigos relevantes para embasamento do tema relacionado. Como critério de inclusão foram analisados ensaios clínicos randomizados, metanálises, revisão sistemática e revisão de literatura.

Critérios de exclusão: artigos que não correlacionaram o diagnóstico biomolecular e a leucemia mieloide aguda. Outrossim, não foram utilizados relatos de caso, estudos cujo texto completo não estava disponível, e artigos em que seu ano de publicação não estejam entre 2015 e 2021.

A pesquisa foi feita nas bases de dados supracitadas e os artigos foram escolhidos a partir do título, resumo e método. Foram selecionados aqueles que explanavam acerca de biomarcadores na patogênese, prognóstico, diagnóstico da LMA ou mecanismos de resistência a quimioterápicos em pacientes com LMA, com métodos estabelecidos de forma clara e sistemática e resumo condizente com a temática proposta.

Também foram incluídos artigos entre os anos de 2010 e de 2014, além de um tratado de oncologia muito utilizado na prática clínica, todos esses foram escolhidos e inseridos no trabalho por estabelecerem conceitos e informações sólidas, cruciais e ainda atuais sobre o tema, além de permitirem a construção de ideias firmes e bem embasadas. Além disso, tabelas de classificações de estratificação de risco e classificação da doença dos anos de 1985, 2010 e 2016, que foram e ainda são utilizadas no manejo da doença.

Alguns estudos primários de coorte e ensaio randomizados, utilizados nas revisões estudadas, também foram incluídos nas referências por se tratarem da origem dos dados e da base de interpretação das informações colhidas nos estudos finais.

2.2. LMA



2.2.1. Etiologia

A causa da LMA é diversa, heterogênea e multifatorial; ela pode ser mediada por agentes tóxicos; aspectos genéticos, como mutações ou alterações cromossômicas; e por características epigenéticas, como mecanismos de metilação do DNA e acetilação das histonas (POZZO, 2017). Uma pequena parcela dos pacientes tem síndromes genéticas associadas à causa da doença, as principais são: síndrome de Down, síndrome de Bloom, síndrome da monossomia 7, síndrome Klinefelter, síndrome de Turner, neurofibromatose e síndromes dismórficas congênitas (HOFF, 2013).

Algumas síndromes de falência medular podem estar associadas a LMA, entre elas podemos citar a anemia de Fanconi, disqueratose congênita, síndrome de Schwachman-Diamond, púrpura amegacariocítica, agranulocitose congênita de Kostman e anemia aplástica familiar (HOFF, 2013).

Alguns fatores ambientais também estão relacionados à leucemogênese: tabagismo, benzenos, derivados do petróleo, radiação ionizantes (vítimas de bomba atômica, radiologistas, técnicos em radiologia, pacientes submetidos a radioterapia portadores de linfoma de Hodgkin, câncer de mama, carcinoma de útero e pulmão) e pacientes submetidos a quimioterapia, como agentes alquilantes e inibidores da topoisomerase II (HOFF, 2013).

2.2.2. Quadro Clínico

As manifestações clínicas em pacientes com LMA são geralmente causadas pela concentração de células mieloides malignas e de diferenciação diminuída na medula óssea, na periferia do sistema hematológico e em alguns órgãos. (CASTELLI, 2019). Os sintomas podem preceder a LMA e geralmente são de curta duração, em maioria são inespecíficos, o paciente pode apresentar fraqueza, astenia e perda ponderal. Além disso, outros sintomas podem ser mais



significativos quando o tumor já estiver instalado, para esses cabe uma divisão entre síndrome de falência medular e síndrome tumoral.

Nos pacientes com síndrome de falência medular o tecido hematopoiético saudável sofre uma substituição por células pouco diferenciadas leucêmicas, isso permite uma redução dos componentes sanguíneos (hemácias, leucócitos e plaquetas), manifestando-se com uma anemia, leucocitose e plaquetopenia. A anemia é produto da diminuição do processo de fabricação das hemácias, e as repercussões clínicas desse achado são: palidez, astenia, escotomas, vertigem, dispneia aos esforços e palpitações. A diminuição dos leucócitos se manifesta por meio de infecções. Já as consequências da plaquetopenia são sangramentos diversos, como muco-cutâneos, petéquias, púrpuras, equimoses, epistaxe, gengivorragia, sangramentos oculares e do sistema nervoso central (SNC) (HOFF, 2013).

Em pacientes portadores da síndrome tumoral, as manifestações são produto da infiltração de órgãos, nesses casos os pacientes apresentam hipertrofia gengival, adenomegalias, hepatomegalia, esplenomegalia e sangramentos pulmonar e de SNC (HOFF, 2013).

2.2.3. Diagnóstico

O diagnóstico de pacientes com suspeita de LMA deve ser considerado como de urgência, tendo em vista a rápida evolução do quadro e as possíveis complicações de caráter fatal como sangramentos do SNC (HOFF, 2013).

Na avaliação clínica devem ser investigadas doenças prévias no paciente, e a história familiar, além disso, o exame físico deve ser voltado para achados e complicações da LMA, como sangramentos em fundo de olho, abscessos, infiltração na pele, exame neurológico, coloração da pele e avaliação do estado geral do paciente como um todo (HOFF, 2013).

O diagnóstico laboratorial é feito pela contagem das células no sangue periférico que evidencia uma leucocitose. A presença de blastos no exame medular também é um achado que indica o diagnóstico de LMA, a Organização Mundial da Saúde (OMS) preconiza uma



porcentagem de 20% enquanto o grupo Franco-Americano-Britânico (FAB) indica uma porcentagem de 30%. A classificação do subtipo de LMA é feita a partir de análise citoquímica, citogenética, na imunofenotipagem por citometria em fluxo e com testes moleculares. (POZZO, 2017)

A citomorfologia é o exame de escolha para o diagnóstico diferencial na maioria das doenças hematológicas. Nela conseguimos rápidas avaliações de amostras, permitindo um diagnóstico econômico e gradual, evidenciando anormalidades na morfologia celular permitindo a diferenciação das células normais das alteradas. Além disso, é possível a avaliação da porcentagem e distribuição da eritopoiese, granulopoiese e monocitopoiese. Ainda na citologia, podemos realizar a coloração citoquímica que permite a determinação da linhagem celular e análise de possíveis displasias. Todas essas informações podem ser agregadas e interpretadas nas classificações das doenças e nos métodos de estratificação (HAFERLACH, 2020).

A biópsia da medula óssea é outra técnica utilizada para o diagnóstico e fornece dados sobre as células na região do tecido, como a proporção e maturação das células hematopoiéticas. (HAFERLACH, 2020).

A citometria de fluxo é outra ferramenta de suma importância no diagnóstico da LMA, ela auxilia na detecção, caracterização e quantificação das células, sejam malignas ou saudáveis. Assim como a citometria, outro método que se enquadra na classificação de imunofenotipagem é a imuno-histoquímica, que é feita em biópsia da medula óssea (HAFERLACH, 2020).

Outra técnica utilizada para investigação da LMA, é a citogenética, nela podemos utilizar métodos de análise cromossômica e a hibridização in situ (FISH). A citogenética clássica, é feita a partir de bandas cromossômicas de metáfase, já a FISH utiliza de sondas fluorescentes que são direcionadas aos locais específicos do cromossomo, que permite a caracterização de alterações genéticas conhecidas ou suspeitas (HAFERLACH, 2020).



A reação de cadeia em polimerase (PCR) possibilita a amplificação de sequências alvos, por meio dela é possível além da detecções de alterações genéticas, o monitoramento destas com alta sensibilidade (HAFERLACH, 2020).

2.2.4. Classificação

O grupo Franco-Americano-Britânico (FAB) estabeleceu a primeira classificação das LMA, que levou em consideração critérios citomorfológicos, imunofenotípicos e citoquímicos, subdividindo a LMA em oito subtipos: M0 a M7 (POZZO *et al*, 2017).

Tabela 1. Classificação do grupo Franco-Americano-Britânico (FAB) para a leucemia mieloide aguda

Classificação FAB para Leucemia Mieloide Aguda (LMA)
M0: Leucemia mieloblástica aguda indiferenciada
M1: Leucemia mieloblástica aguda sem maturação
M2: Leucemia mieloblástica aguda com maturação
M3: Leucemia promielocítica aguda ou promielocítica
M4: Leucemia mielomonocítica aguda
M5: Leucemia monoblástica aguda ou Leucemia monocítica aguda
M6: Leucemia eritróide aguda ou eritroleucemia
M7: Leucemia megacarioblástica aguda

Fonte: Adaptado de ARBER *et al.*, 2016.

A classificação da FAB foi a primeira a ser elaborada, entretanto, com o passar do tempo novos parâmetros, características genéticas e biológicas surgiram e a classificação FAB apesar de abranger a heterogenicidade morfológica, não apresentava a diversidade genética e clínicas da LMA. Dessa forma, a OMS em 2016 lançou uma nova classificação que abrangia grande parte das características citogenéticas e moleculares da LMA (POZZO *et al*, 2017).



A diversidade clínica, genética e molecular da LMA possibilitou a criação de um sistema de classificação da doença para o manejo do paciente de forma mais adequada e um prognóstico mais correto e objetivo. Para isso, a OMS confeccionou uma tabela com os principais tipos de LMA em 2008 e atualizou a lista em 2016 (POZZO *et al*, 2017).

Tabela 2. Classificação das Leucemias Mieloides Agudas segundo atualização OMS, 2016

Leucemia mieloide aguda e neoplasias de células precursoras relacionadas
LMA com t(8;21)(q22;q22.1); RUNX1-RUNX1T1
LMA com inv(16)(p13.1q22) ou t(16;16)(p13.1;q22); CBFβ-MYH11
LPA com PML-RARA
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
LMA com mutação NPM1
LMA com mutação bialélica de CEBPA
Entidade provisória: LMA com mutação RUNX1
LMA com alterações mielodisplásicas relacionadas
Neoplasia mieloides relacionadas com terapia
LMA não classificáveis
LMA com mínima diferenciação
LMA sem maturação
LMA com maturação
Leucemia Mielomonocítica Aguda
Leucemia Monoblástica e Leucemia Monocítica Aguda
Leucemia Eritroide Pura



Leucemia Megacarioblástica Aguda

Leucemia Basofílica Aguda

Panmielose aguda com mielofibrose

Sarcoma mieloide

Proliferações mieloides relacionadas com síndrome de Down

Mielopose anormal transitória (MAT)

Leucemia mieloide associada à síndrome de Down

Neoplasias de células dendríticas plasmocitoides blásticas

Fonte: Adaptado de POZZO *et al*, 2017.

2.2.5. Prognóstico

Existem diversos fatores para a estratificação de risco dos pacientes com LMA. Diante disso, podemos classificar os fatores ligados a leucemia como intrínsecos ao paciente ou intrínsecos à doença (BLACKBURN, BENDER; BROWN, 2019). Os fatores intrínsecos ao paciente são: idade acima de 59 anos e outras comorbidades, como a síndrome de Down, leucemia eritroide pura, leucemias de linhagem ambígua, leucemia monoblástica (DÖHNER et al, 2017). Os fatores específicos da doença são: leucócitos elevados no momento do diagnóstico, história prévia de condição hematológica, citogenética, marcadores moleculares e doença relacionadas à quimioterapia, radiação ou imunoterapia (BLACKBURN, BENDER; BROWN, 2019).

A citogenética é uma técnica muito importante para a avaliação prognóstica, dessa forma, algumas alterações cromossômicas foram estabelecidas e classificadas de acordo com o risco para resposta a quimioterapia em três categorias, aquelas com risco favorável (ou baixo risco), intermediário e desfavorável (alto risco) (BLACKBURN, BENDER; BROWN, 2019).



Tabela 3. Classificação de risco estratificada por anormalidade citogenéticas

	Risco Favorável ou baixo	Risco intermediário	Risco desfavorável
Citogenética	t(8;21)(q22;q22.1) inv(16)(p13.1q22) ou t (16;16)(p13.1;q22)	t(9;11)(p21.3;q23.3) Anormalidades que não se encaixam em outra categoria.	t(6;9)(p23;q34.1) t(v;11q23.3) t(9;22)(q34.1;q11.2),inv(3)(q21.3q2 6.2) or t(3;) (q21.3;q26.2) -5 ou del(5q); -7; -17/abn (17p)

Fonte: Adaptado de BLACKBURN; BENDER; BROWN, 2019.

2.2.6. Fisiopatologia

A LMA tem a sua fisiopatologia diretamente associada a proliferação e diferenciação anormal das células clonais hematopoiéticas (DE KOUCHKOVSKY; ABDUL-HAY, 2016). O processo hematopoiético alterado possibilita o aparecimento de proteínas quiméricas, que são produtos das translocações cromossômicas, resultando em uma cascata ineficiente de maturação dos precursores mieloides e modificações por todo tecido hematopoiético. (ROUSSEL *et al*, 2020).

A medula óssea normal produz progenitores mieloides e linfoides a partir de células-tronco hematopoiéticas, assim o processo de renovação celular é mantido por meio da autorrenovação das células-tronco hematopoiéticas que estabelece o número necessário de progenitores e consequentemente de células maduras (CHOPRA; BOHLANDER, 2019).

De forma semelhante a célula-tronco hematogênica, existem células denominadas clones leucêmicos, que possuem características e funcionamento semelhante as células-tronco normais. Se essas células são capazes de iniciar eventos leucemogênicos após um transplante, denomina-se esse tipo celular como célula iniciadora de leucemia ou célula propagadora de leucemia, que podem surgir a partir de modificações e mutações genéticas de diversas categorias e tipos (CHOPRA; BOHLANDER, 2019).



Estudos em roedores demonstraram que a LMA pode se desenvolver através desses progenitores mieloides comprometidos por meio de oncogenes com grande influência no ciclo celular, em contrapartida a LMA que não possui grandes modificações citogenéticas pode progredir por meio de eventos de leucemogênese que surgem em células tronco hematopoiéticas como citado anteriormente. Essas múltiplas mutações em células tronco podem encaminhar as células para um estado de pré-leucemia, que quando adquirem uma mutação direcionam-se ao fenótipo de LMA sintomático (ROUSSEL *et al*, 2020). Oito categorias de genes mutados na LMA foram descritas pela The Cancer Genome Atlas Research Network: os genes de sinalização, os genes associados à homeostase epigenética, genes modificadores de cromatina, genes da metilação, genes do complexo spliceossomo, genes do complexo coesina, fatores de transcrição mieloide e genes supressores de oncogênese. Essas mutações, são encontradas em grande parte dos pacientes, porém um pequeno número de mutações faz parte da patogênese da LMA, cerca de duas mutações associadas já podem gerar um clone maligno (ROUSSEL *et al*, 2020).

Uma das hipóteses que sustentam a patogênese da LMA é a de uma célula-tronco progenitora alterada com capacidade de transformação em célula-tronco leucêmica com autorrenovação elevada. As alterações de proliferação, do ciclo celular e de genes envolvidos em cascatas de diferenciação hematopoiética, quando associadas promove a diferenciação de uma célula-tronco em uma célula-tronco leucêmica (RENNEVILLE *et al*, 2008). Essa hipótese é conhecida como *two-hit hypothesis*, onde a doença surge a partir de dois eventos mutagênicos sendo que o primeiro aumenta a proliferação e o segundo altera a diferenciação hematológica (HOFF, 2013).

As mutações promovem uma série de alterações no ciclo celular inclusive em proteínas que estão diretamente associadas com o DNA, RNA e as funções celulares. A expressão das proteínas por genes mutados de LMA pode ser muito útil no manejo da doença associando esses biomarcadores a características clínicas, que possibilitam o planejamento de possíveis medidas



terapêuticas de acordo com os achados biomoleculares e, permitindo cálculos prognósticos mais precisos (PRADAARISMENDY *et al*, 2017).

Os eventos oncogênicos são divididos de acordo com o modelo hipotético de dois eventos da leucemogênese em duas classes: Classe I e Classe II. Os que são enquadrados na classe I possibilitam uma maior proliferação em relação às demais células enquanto os de classe II bloqueiam a diferenciação mieloide e imprimem a capacidade de autorrenovação (DE KOUCHKOVSKY; ABDUL-HAY, 2016). Dessa forma, as mutações de classe I promovem um privilégio proliferativo enquanto as de classe II alteram os fatores de transcrição necessários para os progenitores hematológicos (HOFF, 2013). Além disso, uma terceira classe de mutações tem sido bastante discutida nos últimos anos, com efeitos na diferenciação celular e também na proliferação; os genes associados a regulação epigenética também podem estar associados à fisiopatologia da LMA (LEYTO-CRUZ, 2018).

Outro fator importante na fisiopatologia da LMA é o envolvimento da medula óssea no mecanismo de proliferação das células. As células hematológicas leucêmicas se relacionam com células-tronco mesenquimais estromais, células endoteliais sinusoidais, osteoblastos, osteoclastos, macrófagos e citocinas e fatores de crescimento. Essa relação, mantém a proliferação de blastos e pode promover características de quimioresistência além de inflamação crônica e produção de imunossupressores, através de modificações em componentes celulares específicos de cada uma dessas células (ROUSSEL *et at* 2020).

O progresso na decifração da patogênese molecular da LMA e a identificação de agentes genéticos, junto com a tradução desses achados para informações que podem ser utilizadas na prática clínica têm aumentando nos últimos anos (Kayser, 2019). Os padrões de mutações frequentemente são encontrados mutados em diversos pacientes portadores de LMA. As mutações nos genes, como DNMT3A, ASXL1, TET2, IDH1 e IDH2, são comentadas associadas a padrões prognósticos e são encontradas associadas a expansão clonal da hematopoiese. Além disso, mutações em genes de sinalização como o FLT3 e RAS associadas ao gene NPM1, podem ocorrer



mais tarde durante o processo de leucemogênese. Como dito, esses dados são bem significativos para classificação da doença, estratificação de risco e manejo clínico do paciente. Sendo assim, a análise molecular de biomarcadores como proteínas de sinalização e outros modificadores, são importantes para para identificação de doença residual mínima e na seleção da terapia (BULLINGER; KONSTANZE; DOHNER, 2017).

2.3. Biomarcadores

2.3.1. FLT3

FLT3 é um receptor pertencente à família responsável pela regulação da diferenciação e proliferação dos progenitores hematopoiéticos. O gene FLT3 pertence à classe III da família dos receptores de tirosina quinase e é composto por domínios extracelular, transmembrana, justamembrana e intracelular (YOHE *et al*, 2015). A FLT3-ITD localizado no domínio justamembrana é a mutação mais comum e o produto dela é a ativação de domínios STATs que são fosforilados e desencadeiam a proliferação exagerada. Cerca de 23% dos casos de LMA são acometidos com a mutação do FLT3ITD e um terço daqueles com citogenética não alterada também apresentam essa mutação, que está associada a um quadro laboratorial com leucocitose e aumento do número de blastos (MCCURDY; LEVIS, 2018).

Existe também uma porção de locais e diversas mutações FLT3-ITD, cerca de 66% dessas mutações são do tipo duplicação e aproximadamente 33% são duplicações complexas e mutações do tipo inserção, isso viabiliza um local de inserção bem variado. Aproximadamente 30% das mutações FLT3-ID não são no domínio transmembrana, essas acontecem em uma região denominada TKD1, o primeiro domínio tirosina quinase (TKD1), que possui pior prognóstico que aquelas localizadas nas regiões justamembranas (YOHE *et al*, 2015).

O teste de PCR associado a uma análise de tamanho, propôs a existência de diferentes tamanhos do FLT3-ITD, números de mutações do FLT3-ITD e a quantidade de mutação FLT3-ITD em comparação ao genótipo comum. O estudo feito por Schlenk *et al* com 2278 pacientes,



demonstrou que pacientes com FLT3-ITD e o alelo selvagem possuem um prognóstico pior do que pacientes com uma menor concentração deste (YOHE *et al*, 2015).

A mutação FLT3 TKD só acontece em 10% da população de pacientes com LMA e leva a ativação do FLT3. Kayser *et al*. em 2009 e Schelenk mostraram um prognóstico pior para o domínio TKD1 em comparação aos demais domínios (YOHE *et al*, 2015).

O estudo de 2012 por Schnittger, mostrou uma tendência a um prognóstico ruim para domínios mais próximos de 3', e o domínio TKD1 quando comparado aos domínios justamembranares é mais próximo de 3' (YOHE *et al*, 2015). Por fim, além do que já foi supracitado, a FLT3-ITD é estudada para investigação e diagnóstico de doença residual mínima visto que os clones FLT3-ITS se fazem presentes em pacientes recidivantes, porém não na totalidade dos casos (MCCURDY; LEVIS, 2018).

2.3.2. Nucleofosmina 1 (NPM1)

A mutação no NPM1 é a mais comum na LMA e pode coexistir com outras mutações como FLT3, DNMT3A e IDH (YOHE *et al*, 2015). A NPM1 é uma proteína, multifuncional que trabalha nos ambientes do citoplasma e núcleo. Colombo *et al*, Grinsendi *et al* e Mukhopadhyay *et al*, em seus estudos, apontam essa molécula como responsável pela regulação da estabilidade do genoma, pelo funcionamento de moléculas supressoras de tumorigênese e pela resposta a danos na molécula de DNA. Essa molécula viabiliza o funcionamento de diversos supressores de tumor, como na estabilização da p53. Na carcinogênese, ela pode proporcionar uma variedade de mecanismos como o aumento da expressão de proteínas em alguns tumores sólidos, deleções de genes, processos translocacionais e mutações somáticas (PATEL; KLUK, 2020).

A mutação do NPM1 é encontrada em diversas neoplasias de origem mielóide, sendo a LMA uma das principais desse escopo, transformando-a em um objeto de estudo interessante para fins de acompanhamento do desenvolvimento da doença e de opções terapêuticas. O estudo de 2019 Herudkova *et al* identificaram mutações do NPM1 como transformadora de leucemias e que



a mutação somática no gene tradutor dessa proteína é um agente de grande influência na progressão da leucemogênese, mas não dirige o processo leucêmico de forma independente, já o estudo de Chen *et al* comprova que as mutações em NPM1 conferem vantagem proliferativa linhagem mieloide em modelos *in vivo* (PATEL; KLUK, 2020). Sobre o prognóstico, pacientes portadores de LMA com mutação NPM1 e cariótipo inalterado sem FLT3-ITD, apresentam um prognóstico favorável, já quando associados, as coortes realizadas por Gale *et al* apontam que a FLT3 e NPM1 exibem prognóstico intermediário, quando comparadas a mutações desses genes isoladas; em contrapartida Schnittger *et al* só confirmaram esse dado em caso baixa taxa de FLT3-ITD (YOHE, 2015). Ainda dentro da aplicabilidade clínica, a NPM1 pode ser utilizada como marcador de doença residual, dada a frequência desta dentro da LMA (PATEL; KLUK, 2020).

2.3.3. CEBPA

O gene CEBPA é responsável pela codificação da proteína CEBPA que é um fator de transcrição para o processo de diferenciação e maturação dos granulócitos. A pesquisa de CEBPA em pacientes com LMA evidenciou a presença dessa mutação em 10% dos casos, sendo 50% dessas mutações duplas (biCEBPAMUT) e 50% mutações únicas (moCEBPAMUT). As mutações foram encontradas somente naqueles pacientes com risco intermediário e possivelmente na fase inicial do processo de leucemogênese. As mutações biCEBPMUT estão associadas a taxas de sobrevida e sobrevida livre de progressão maiores, e uma maior resposta completa ao tratamento. As mutações de CEBPA não estão associadas a outras mutações como FLT3 ou NPM1, mas ocorrem em diversos casos com FLT3-ITD e nesses casos os benefícios da biCEBPA são excluídos e o prognóstico para a LMA pode ser desfavorável (YOHE, 2015). Sendo assim, quando isoladas, pacientes com mutações monoalélicas tendem a apresentar menores taxas de sobrevida e sobrevida livre de progressão quando comparadas a mutações duplas (PATEL; KLUK, 2020).



2.3.4. KIT

Outro receptor mutado do tipo tirosina quinase com incidência significativa em pacientes com LMA é o KIT. O receptor KIT participa do mecanismo de proliferação e diferenciação das células hematopoiéticas. As mutações nesse gene são em sua grande maioria encontradas nos exons 8 ou 11, e geralmente são tidas como um prognóstico ruim, além de uma maior quantidade de leucócitos associada e aumento na chance de doença extramedular em LMA tipo t-(8;21), e não em inv-(16). Os domínios justamembranares são afetados pelas mutações KIT, bem como os domínios extracelular e tirosina quinase. A presença ou aparecimento de mutações KIT aumenta o risco de recidiva e diminui a taxa de sobrevida em paciente com LMA inv (16), como mostra o estudo prospectivo de Paschka *et al* composto por 49 adultos com citogenética inv (16), que avaliou a recidiva e taxa de remissão completa de paciente com a mutação KIT em uso do quimioterápico citarabina. Entretanto, nem todos os estudos demonstraram uma associação entre mutações KIT e um prognóstico de recidiva, Allen *et al*, estabeleceram que as mutações do tipo KIT só aumentam o risco de recidiva em níveis maiores que 25% (MCCURDY; LEVIS, 2018).

2.3.5. RUNX

Conhecido anteriormente como AML1, esse receptor é responsável pela codificação da subunidade alfa do fator de ligação ao núcleo, que é composto por duas subunidades e está associado à transcrição (MCCURDY; LEVIS, 2018). Geralmente as mutações no gene RUNX tendem a se apresentar no início da doença, promovendo um quadro pré-leucêmico e leucemogênese posteriormente após o aparecimento de outras mutações (YOHE, 2015). Mutações RUNX1 estão associadas a LMA por terapia ou, quando herdadas, estão associadas a pacientes com anemia Fanconi congênita, além disso, mutações desse gene podem aparecer em cerca de 10% dos pacientes com LMA, por meio de mutações somáticas (MCCURDY; LEVIS, 2018). Cerca de 5-18% dos casos de LMA apresentam mutações de RUNX1, sendo mais comuns em LMA de risco



intermediário e baixo risco sem alterações de cariótipo. Os coortes realizados por Grossmann *et al* e Gaidzik *et al* demonstram um prognóstico ruim com as mutações de RUNX1, com menores taxas de remissão completa e sobrevida global (YOHE, 2015).

2.3.6. TP53

A p53 é uma proteína envolvida em pontos de parada do ciclo celular como mecanismo de regulação e apoptose. Esse gene é encontrado mutado em aproximadamente metade dos cânceres humanos. Mutações do tipo deleção no cromossomo 17 podem implicar na perda da função da p53. Essas mutações ocorrem em uma média de 12% dos pacientes com LMA e geralmente se relacionam com LMA do tipo secundário ou associada a alguma terapia oncológica. As mutações de p53 foram encontradas em células-tronco mieloides hematopoiéticas e células progenitoras, em pacientes nunca tratados com quimioterápico e anos antes nos pacientes em tratamento de LMA e mielodisplasias. Por isso, é possível associar essa mutação com a idade avançada e resistência a quimioterápicos com expansão após o tratamento (MCCURDY; LEVIS, 2018). A presença da mutação p53 geralmente não está associada a outras mutações como CEPA, NPM1 ou FLT3 ITD, mas se correlaciona com um cariótipo complexo. A TP53MUT LMA está associada a uma sobrevida global mediana com cerca de 4-8 meses, enquanto a TP53 não mutada LMA apresenta 35,6 meses. A coexistência de mutações TP53 com cariótipo complexo, prediz uma sobrevida desfavorável (YOHE, 2015).

2.3.7. RAS

Os genes RAS pertencem a uma família de proteínas G que desempenham grande importância na sinalização da proliferação e manutenção dos receptores de membrana e sinalização intracelular. As mutações do tipo RAS geralmente aparecem em LMA inv (16), com uma incidência média de 36%, e alguns estudos mostram que ela é mais frequente em pacientes com essa mutação do que em pacientes LMA t (8;21) (QUAN; DENG, 2020). Defeitos em KRAS e



NRAS geralmente aparecem na fase tardia da patogênese, são oncogenes de processos hematopoiéticos não controlados, viabilizando a proliferação desenfreada das células progenitoras. Os defeitos RAS são mais comuns em doença inv-(16), (p13;q22), inv-(3) e t-(3:3) e raros em t (5:17), (q22;q21) e LMA com cariótipos complexos; quando o defeito existe, geralmente está associado a uma diminuição dos leucócitos periféricos. A pesquisa de Ritter *et al*, sobre os significados clínicos prognóstico evidenciou que as mutações do tipo NRAS não apresentaram nenhuma diferença na sobrevida global quando comparadas ao gene não mutado. De forma geral, as mutações RAS se mostraram bem variáveis em situações de recidivas, o que implica em uma efetividade pequena como marcadores de doença mínima residual (MCCURDY; LEVIS, 2018).

2.3.8. WT1

O gene WT1 codifica um fator de transcrição que participa da embriologia urogenital e estudos apontam um papel de supressão tumoral em alguns tecidos renais, mas um papel leucemogênico na patologia das leucemias. O aumento da expressão de WT1 em pacientes com diagnóstico de LMA fala a favor de um desfecho ruim e recidiva tumoral em diversos estudos, destacando principalmente os indivíduos com cariótipo sem alterações (YOHE, 2015). As mutações desse gene na LMA são pouco frequentes, com uma média de 14%, sendo encontradas mais tardiamente na patogênese da doença, em pacientes jovens e com mutações FLT3-ITD e CEBPA. A W1MUT LMA associa-se com menores taxas de recaída quando comparada à LMA com o WT1 íntegro. Não foram encontradas evidências de surgimento da mutação na recaída, permitindo inferir-se que esse marcador não poderia ser utilizado na pesquisa de doença residual mínima (MCCURDY; LEVIS, 2018).

2.3.9. DNMT3A

O gene DNMT3A codifica uma das enzimas responsáveis pela metilação do DNA, estando envolvido na regulação epigenética do genoma. (YOHE, 2015). As mutações no DNMT3A são



frequentes na LMA variando de 20% a 30%. Elas podem ocorrer simultaneamente a outras como a FLT3-ITD, NPM1, IDH1 e IDH2, porém são raras em t-(15;17) (MCCURDY; LEVIS, 2018). Essas mutações promovem altos padrões de hipometilação e são encontradas no início da patogênese da doença, com maior frequência em indivíduos com hematopoiese clonal, associando-se à diminuição dos leucócitos e plaquetas, e risco intermediário. Pacientes com mutações DNMT3A e com citogenética normal ou de risco intermediário apresentam pior sobrevida. A remissão completa nesses pacientes com DNMT3A mutado é semelhante àquela de pacientes sem a mutação, não demonstrando uma importância significativa, em contrapartida a sobrevida global demonstra-se encurtada. O prognóstico tende a ser sombrio quando a mutação DNMT3A está associada a FL3-ITD e NPM1. Debarri *et al* evidenciou, em um estudo de coorte, a persistência desta mutação mesmo depois de um longo período de remissão da doença, portanto esse marcador não deve ser útil na investigação de doença residual mínima (MCCURDY; LEVIS, 2018).

2.3.10. IDH1 E IDH2

A isocitrato desidrogenase, a IDH é uma enzima relacionada ao metabolismo celular que tem consequências na metilação do DNA. Mutações nesse gene frequentemente estão associadas a mutações NPM1 como no estudo coorte feito Green *et al*, que encontrou mutações NPM1 positivas em 65% dos pacientes com IDH1 murado. Paschka *et al*, relatam um efeito prognóstico negativo somente quando associada ao genótipo NPM1 mutado.

Essas mutações são encontradas geralmente no início da patogênese e atingem as enzimas citoplasmáticas (IDH1) e nas mitocôndrias (IDH2), esse defeito provoca um acúmulo de IDH, que resulta em uma hipermetilação do DNA. No quadro laboratorial, as mutações IDH geralmente estão associadas a uma diminuição dos números de plaquetas e leucócitos; quanto à classificação, costumam aparecer em pacientes de risco intermediário e citogenética normal. Mutações do gene IDH1 e IDH2 estão associadas com maiores porcentagens de blastos na medula óssea e pacientes com maior idade, respectivamente. Não existem evidências de achados significativos no que tange



a sobrevida, acredita-se que os efeitos se diferenciam para cada tipo de IDH e associações de outras mutações. As mutações do tipo IDH2 foram associadas a uma melhor taxa de sobrevida global. O acompanhamento de mutações IDH1 e 2, associou estes marcadores à predição da recidiva em quase 100% dos casos (MCCURDY; LEVIS, 2021).

2.3.11. ASXL1

O ASXL1 está envolvido na produção de uma proteína de ligação à cromatina, envolvida em processo de modificação epigenética (MCCURDY; LEVIS, 2018). Além da LMA, as mutações do ASXL1 são encontradas em síndromes mielodisplásicas, sendo que na LMA apresenta uma frequência de 3-5%, mas em pacientes com risco intermediário essa porcentagem aumenta para 17%. Os dados coletados nos estudos convergem para um prognóstico ruim quando os pacientes apresentam alguma mutação do ASXL1 (YOHE, 2015). Além disso, essas mutações estão associadas a pacientes do sexo masculino, com idade superior a 60 anos e geralmente apresentam uma diminuição na contagem de leucócitos, bem como uma sobrevida global reduzida, independente da presença de FLT3-ITD. Estas mutações não parecem ser flutuantes em episódios de recaída, podendo ser utilizadas para avaliação de uma doença residual mínima (MCCURDY; LEVIS, 2021).

2.3.12. TET2

TET2 é um modificador epigenético que executa um papel importante na mielopoiese; suas mutações são encontradas em 7-10% dos pacientes adultos com LMA. As mutações são diversas e todas podem levar a uma diminuição da hidroximetilação do DNA. Geralmente, quando se apresentam associadas a outras mutações, as mais frequentes são FLT3-ITD e NPM1, sendo raramente vista com as mutações IDH, pois estas anulam a atividade TET2 (YOHE, 2015). Em pacientes com LMA, as mutações do TET2 são mais frequentes em idades avançadas e geralmente



apresentam-se com aumento de leucócitos, em pacientes com o citogenético inalterado. As taxas de sobrevida variaram bastante em diversos estudos das mutações do tipo TET2, mas diversos dados apontam que a presença delas aumentam as chances de prognósticos desfavoráveis em pacientes com NPM1MUT e biCEBPAMUT com o citogenético normal. Já os efeitos dessas mutações em pacientes de estratificação intermediária não foram bem elucidados, sem nenhum estudo evidenciando uma diferença na sobrevida. As mutações TET2, assim como as DNMT3A, demonstram persistência após remissão, porém um resultado positivo pra TET2 após transplante hematológico de células-tronco pode indicar doença residual (MCCURDY; LEVIS 2018).

As subentidades da LMA são compostas por uma coleção de características e perfis fisiopatológicos, clínicos, laboratoriais, citogenéticos e moleculares que possuem dados e desfechos diferentes entre si. Todos esses achados podem ser utilizados para o refinamento prognóstico da LMA. Apesar de ser um grupo heterogêneo de alterações e dados, pacientes portadores da doença podem se beneficiar da identificação das alterações moleculares e dessa estratificação, tendo em vista que 40% dos pacientes com LMA se apresentam com cariótipo normal e são estratificados dentro da classificação de risco intermediária, que é diversa e difícil de estabelecer prognósticos, principalmente pela sua variabilidade de achados. Esses achados podem ser utilizados para o traçado prognóstico e no manejo e controle de pacientes que possam apresentar possíveis mecanismos de resistência a tratamentos oncológicos frequentemente utilizados. Esses dados permitem um prognóstico objetivo e ações terapêuticas direcionadas (YOHE, 2015).

2.4. Mecanismos de resistência a quimioterápicos

A quimioterapia é um dos tratamentos padrões na prática clínica de pacientes com câncer, responsável por remissões das proliferações cancerígenas, mas suscetível a modificações celulares que desencadeiam um processo de resistência ao quimioterápico (VAN GILS *et al*, 2021). Os mecanismos de resistência são umas das maiores causas de falha em tratamentos de quimioterapia e fracassos no manejo de pacientes com câncer. As tentativas de elucidação desses mecanismos



vêm sendo objeto de estudo de diversas áreas na oncologia, objetivando a melhora da sobrevivência e cura dos pacientes. Dentro dos cenários de resistência a quimioterapia, os mecanismos podem ser classificados como adquiridos ou intrínsecos (ROCHA, 2015).

O mecanismo de resistência adquirida consiste em uma via de adaptação e sinalização de sobrevivência, que é constituída durante o tratamento do tumor, que anteriormente era suscetível à droga em questão, mas que depois da ativação de vias pró sobrevivência reconfigurou suas vias de sinalização e estabeleceu uma via de resistência ao medicamento. Em contrapartida, na via de sinalização intrínseca, as células tumorais já possuem mecanismos que diminuem a ação da droga e impossibilitam que o medicamento exerça suas funções na região tumoral (ROCHA, 2015).

Outro fator de suma importância para o desenvolvimento de tumores com resistência é a capacidade de adaptação das células cancerosas. Mudanças epigenéticas, assim como o microambiente do tumor e da medula óssea são fortes influenciadores dos mecanismos de resistência, e podem inativar ou impedir a entrada dos medicamentos quimioterápicos na região oncológica. As células tronco cancerosas também parecem participar do processo de falência da quimioterapia, pois se mostram altamente resistentes em diversos estudos (ROCHA, 2015).

Os tumores hematológicos e até mesmo de outros sistemas são altamente heterogêneos em sua composição celular e molecular, o que permite o desenvolvimento de mecanismos de resistências quimioterápica por meio da seleção mediada pelo próprio tratamento, este mecanismo garante uma resposta logo na fase inicial, mas em longo prazo falha e o paciente apresenta recidivas devido às células resistentes sobreviventes (VAN GILS *et al*, 2021).

Os principais mecanismos de resistência aos quimioterápicos são: a diminuição do influxo da droga para o meio intracelular, aumento do efluxo da droga para o meio extracelular, inativação da droga, indução e alteração dos alvos da droga, aumento da capacidade de reparo do DNA e modificações genéticas (ROCHA, 2015).

O mecanismo de influxo ocorre a partir dos transportadores que se situam na membrana plasmática da célula oncológica. Os medicamentos quimioterápicos realizam sua função



penetrando o ambiente intracelular por meio dessas estruturas localizadas na membrana. A alteração dos transportadores por meio da redução de sua expressão ou de modificações genéticas que alteram sua atividade é a base da resistência nos mecanismos de influxo. O produto final dessa reação é a diminuição da entrada do medicamento que é viabilizada por esses carreadores (ROCHA, 2015).

Outra via de resistência é o aumento da eliminação do medicamento presente no meio intracelular. Assim como no mecanismo de influxo, o medicamento pode ser ejetado da célula por meio de transportadores, que viabilizam a saída da droga. Nesse contexto, as células aumentam a expressão desses carreadores que passam a liberar a droga para o ambiente extracelular em maior quantidade (ROCHA, 2015).

Quando a droga chega no interior da célula, ela ainda está sujeita a alguns mecanismos de resistência: o medicamento pode ser inativado por meio de vias que inviabilizam o seu funcionamento. Como exemplo, temos o 5-FU, um quimioterápico que é inativado pela enzima dihidropirimidina desidrogenase (DPD) em pacientes com tumor colorretal (ROCHA, 2015).

As mutações também parecem influenciar o impacto das drogas nas células cancerosas, e esse mecanismo é denominado: alterações dos alvos celulares. As topoisomerases por exemplo, são enzimas que clivam e religam a dupla fita do DNA, com objetivo de reduzir a tensão na abertura da dupla hélice durante a replicação no ciclo celular. Os inibidores de topoisomerases, medicamentos quimioterápicos, atuam impedindo essa reação, o que possibilita quebras de DNA e conseqüentemente a morte celular. Foi verificado que existe uma diminuição da expressão, atividade e mutações impedem a interação do quimioterápico com as topoisomerases, em pacientes com resistência terapêutica (ROCHA, 2015).

O último mecanismo de resistência é relacionado ao reparo do DNA, geralmente uma grande parcela das drogas antineoplásicas induz um dano nas moléculas de DNA, paralelamente, as células tumorais tendem a serem defeituosas em alguns mecanismos de reparo do DNA. Dessa forma, as células tumorais sofrem com danos em suas moléculas de material genético e precisam



ativar as vias de reparo, que podem ser inibidas com medicamentos específicos que levam a morte celular. A perda da capacidade de reparo do DNA pode elevar a predisposição ao câncer e células tumorais, pois as células ficam inaptas a detectar o dano no DNA e ativar a apoptose, além disso as diversas mutações causadas pelo dano podem desregular vias moleculares em todo genoma e contribuir para o desenvolvimento dos mecanismos de resistência (ROCHA, 2015).

2.5. Mecanismos de resistência à quimioterapia na leucemia mieloide aguda

O manejo terapêutico da LMA permaneceu por diversos anos inalterado e consistia em um ciclo intenso de associação de dois medicamentos, a antraciclina e a citarabina, tendo como alvo a remissão completa (VAN GILS *et al*, 2021). O desenvolvimento e a descoberta de novos conhecimentos sobre a biologia da LMA possibilitaram um melhor entendimento dos mecanismos e características envolvidos na doença (GURNARI *et al*, 2020). A função alterada dos transportadores responsáveis pelo efluxo é uma das causas dos mecanismos de resistência a quimioterapia (VAN GILS *et al*, 2021).

A recidiva da doença em casos tratados ou em tratamento é produto da quantidade de células resistentes a terapia, denominadas doença residual mínima. Estudos apontam que as células troncos leucêmicas (LSCs, do inglês, Leucemic Stem Cells) dentro da região tumoral são as responsáveis pelo processo de recidiva do tumor, aumentando inclusive após o tratamento, indicando que a terapia pode influenciar o aparecimento das células resistentes (VAN GILS *et al*, 2021).

Como na hematopoiese normal, a hematopoiese leucêmica acontece de forma hierárquicas: as LSCs que estão quiescentes, dividem-se produzindo células-tronco ou células progenitoras diferenciadas. As LSCs se estabelecem no nicho da medula óssea e o estroma da região promove sua dormência, que viabiliza a proteção contra a leucemia. Esse conjunto de células resistentes é o baluarte do processo de resistência e recidiva da lesão oncológica. O processo não depende somente das características já citadas, as mutações genéticas, alterações epigenéticas e transcricionais



participam do processo de leucemogênese e influenciam de forma direta e indireta o mecanismo de resistência (HACKL; ASTANINA; WIESER, 2017).

As alterações genéticas podem induzir alterações epigenéticas nas células, permitindo um aumento da plasticidade das células cancerígenas. Essas modificações podem ser diversas e os perfis celulares individualizados. Apesar disso, as LSCs demonstraram compartilhar um perfil epigenético, que aparentemente independe das mutações genéticas, além disso, as LSCs da LMA apresentaram um perfil molecular que está associado com a persistência leucêmica e capacidade de iniciação da leucemia. Esses resultados revelaram um alto grau de plasticidade e delinearam a importância das célulastronco no processo de quimioterapia em pacientes com LMA (VAN GILS; DENKERS; SMIT, 2021).

A sensibilidade da terapia também é determinada pela célula de origem leucêmica. As anormalidades genéticas no diagnóstico e no período de recidiva demonstrou que as células de doença residual mínima podem originar LSCs (VAN GILS; DENKERS; SMIT, 2021).

Assim como a célula de origem, o microambiente da medula fornece substratos para o desenvolvimento da resistência aos medicamentos. Experimentos com blastos leucêmicos expressaram receptores com características de resistência à quimioterapia por meio da interação com o microambiente medular; através da hiperexpressão de BCL2 que promove a inibição do processo de apoptose (YEUNG; RADICH, 2017).

O nível de oxigênio é outro fator que contribui para a resistência a muitos medicamentos. O regulador transcricional induzível por hipóxia fator 1 alfa (HIF-1 alfa): se liga a produtos da hipóxia e regula genes de resposta a hipóxia, que atuam na ativação de enzimas envolvidas no reparo do DNA, na diferenciação celular e apoptose. As células tumorais em hipóxia permitem um menor acúmulo de medicações quimioterápicas. As situações de hipóxia aumentam os níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS) geradas pela mitocôndria, e as LSCs são capazes de diminuir a produção de ROS e induzir vias de ativação de autofagia aumentando sua sobrevivência (VAN GILS; DENKERS; SMIT, 2021).



Aspectos moleculares e citogenéticos também são importantes para a compreensão de parte da maquinaria das células resistentes. Mutações como FLT3-ITD e FL3-TKD, anteriormente citadas, resultam na ativação de cascatas proliferativas, que expressam um fenótipo celular hiperproliferativo. O envolvimento de outras redes de genes também foi investigado em associação ao FLT3-ITD, como o RUNX3, que quando expresso junto com FLT3-ITD em pacientes com LMA parece aumentar a resistência a citarabina (Ara-C), um medicamento quimioterápico (GURNARI *et al*, 2020). As mutações KIT também apresentam resistência a quimioterápicos, em especial o imatinibe (YEUNG; RADICH, 2017). KIT é um transdutor de sinal composto por uma tirosina quinases, e a mutação dessa proto-oncoproteína demonstrou ser responsável pela manutenção das LSCs (LONG, 2020).

A via de sinalização RAS mutada também pode estar envolvida na condução da leucemogênese e acontece com uma certa frequência nos pacientes com LMA. O eixo da proteína quinase MAPK é ativado pelas mutações RAS aumentando as concentrações de uma proteína anti-apoptótica e conferindo vantagem de sobrevivência às células leucêmicas quando submetidas ao tratamento com quimioterápicos inibidores do FLT3, causando uma expansão de clones e uma quimioresistência adquirida (BRAGA, 2019)

Quanto as enzimas IDH1 e 2, que catalisam a conversão de isocitrato em acetoglutarato (α -KG) no ciclo do ácido cítrico, as variantes mutacionais destes genes catalisam a α -KG para formar o oncometabólito α -hidroxiglutarato (α -HG), que bloqueia a diferenciação e metilação de DNA mediada por TET2. Um estudo recente relatou que pacientes com o gene de IDH2 mutado apresentaram certa resistência ao tratamento quimioterápico como enasidenibe, que era uma das vias de tratamento propostas para mutações IDH (LONG, 2020).

A p53, proteína considerada guardiã do código genético, também está suscetível a processos mutagênicos, as mutações de inativação da p53 acontecem em 8% dos pacientes com LMA e são preditoras preditor para o prognóstico desfavorável. A s mutações TP53 em paciente com LMA investigada em células quimiorresistentes, são capazes de promover a leucemogênese por meio da



expansão clonal. (LONG, 2020). A mutação TP53a prejudicou a expressão de fatores de crescimento induzidos pelo dano no DNA, como o GADD45A, afetando a resposta a Ara-C e diminuindo o efeito da droga (GURNARI; PAGLIUCA; VISCONTE, 2020).

O DNMT3A, gene que pode ser encontrado mutado em pacientes com LMA, é responsável pela codificação de uma DNA metiltransferase que atalisa a metilação da 5metilcitosina, permitindo as interações das metiltransferases de histonas. A mutação desse gene atua de forma a interromper a atividade das metiltransferases, o que promove a resistência a antraciclinas (GURNARI; PAGLIUCA; VISCONTE, 2020).

Algumas mutações, como as do gene ASXL1 não necessitam do processo de metilação para promover a evolução da leucemia e podem gerar os clones mesmo com o tratamento do agente hipometilante 5-azacitidina (AZA), demonstrando resistência e interferindo no prognóstico do paciente (GURNARI; PAGLIUCA; VISCONTE, 2020).

De forma geral, os perfis moleculares e genéticos da LMA são extremamente diversos e heterogêneos e sofrem fortes interações do microambiente tumoral, das vias de sinalização intracelular e da quantidade de células leucêmicas. Os episódios de resistência podem ser desenvolvidos de várias formas; compreendê-los faz parte do manejo do paciente com LMA e possibilita uma melhora da condução de cada caso (GURNARI; PAGLIUCA; VISCONTE, 2020).

3. CONCLUSÃO

Os avanços no entendimento da fisiopatologia e patogênese da LMA aumentaram de forma gradativa nos últimos anos. O conhecimento disponibilizado pelas pesquisas sobre a LMA tem possibilitado diferentes condutas, mais direcionadas para o tratamento dos portadores de LMA.

Paralelamente aos conhecimentos sobre o funcionamento da LMA, processos de resistência ao tratamento quimioterápico dessa doença também emergem nas pesquisas relacionadas no campo científico e no cotidiano médico. As anormalidades moleculares e multifatoriais relacionadas aos



mecanismos de quimioresistência, envolvem uma cascata de sinalização dinâmica, que promove processos e respostas adaptativas às células leucêmicas, conferindo vantagens a essas.

As características de multirresistência em conjunto com a capacidade de desenvolvimento da doença residual mínima, quando combinadas podem ser um grande desafio na prática clínica do médico oncologista, e tem se mostrado frequente nos últimos anos.

Diversos mecanismos de resistência a quimioterapia na LMA foram atribuídos a uma gama de variações genéticas e moleculares. Entretanto, grande parte dessas alterações não foram inseridas nos campos para estratificação de risco da doença. Além disso, os exames de expressão gênica não são tão disponíveis e são de difícil acesso para uma parte da população.

A avaliação do perfil genético e molecular permite aos médicos e profissionais da saúde, uma análise de todo o mecanismo que rege o processo de leucemogênese. Esses dados possuem uma série de aplicabilidades no manejo do paciente com LMA. Para fins de diagnóstico, as alterações genéticas e moleculares podem ser de grande utilidade, principalmente nos pacientes cujo cariótipo encontra-se inalterado, diminuindo assim o diagnóstico e dificuldade a identificação dos pacientes com um processo leucemogênico. Além disso, nos pacientes já diagnosticados, os marcadores possibilitam a estratificação de padrões prognósticos, sendo possível a construção de um painel com as alterações e os efeitos prognósticos associados ou dissociadas para cada uma delas, dessa forma podemos entender que para o diagnóstico e prognóstico os marcadores apresentam grande aplicabilidade e importância.

Os mecanismos de resistência a quimioterápicos também sofrem influência dos padrões moleculares alterados na LMA, mutações como as do gene FLT3, FLT3-ITD e FLT3-TKD1, podem atuar diretamente em cascatas proliferativas e induzirem uma resposta adaptativa aos medicamentos utilizadas no tratamento quimioterápico. Portanto, além das aplicações anteriormente citadas, os biomarcadores moleculares podem ser utilizados para escolha e acompanhamento do tratamento dos pacientes com LMA, na identificação de mecanismos de resistência e das melhores medidas terapêuticas.



Dessa forma, os marcadores biomoleculares mostraram-se de grande interesse principalmente para pacientes com suspeita de resistência quimioterápica, esse grupo pode se beneficiar desses exames de diversas formas. A classificação e estratificação de risco para resposta ao tratamento pode ser feita por meio de biomarcadores, o prognóstico do paciente e a escolha terapêutica podem ser traçados a partir desses resultados, encaminhando o manejo da LMA para caminhos mais acertados e mais seguros.



REFERÊNCIAS

ALLEN, C. et al. The importance of relative mutant level for evaluating impact on outcome of KIT, FLT3 and CBL mutations in core-binding factor acute myeloid leukemia. **Leukemia**, v. 27, n. 9, p. 1891-1901, 2013.

BULLINGER, Lars; DÖHNER, Konstanze; DÖHNER, Hartmut. Genomics of acute myeloid leukemia diagnosis and pathways. **Journal of clinical oncology**, v. 35, n. 9, p. 934-946, 2017.

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

BURNETT, A. K. (2012). Treatment of acute myeloid leukemia: are we making progress?. **Hematology 2010, the American Society of Hematology Education Program Book**, 2012(1), 1-6.

CASTELLI, Germana; PELOSI, Elvira; TESTA, Ugo. Emerging therapies for acute myelogenous leukemia patients targeting apoptosis and mitochondrial metabolism. **Cancers**, v. 11, n. 2, p. 260, 2019.

CHOPRA, Martin; BOHLANDER, Stefan K. The cell of origin and the leukemia stem cell in acute myeloid leukemia. **Genes, Chromosomes and Cancer**, v. 58, n. 12, p. 850-858, 2019.

COLOMBO, Emanuela et al. Nucleophosmin is required for DNA integrity and p19Arf protein stability. **Molecular and cellular biology**, v. 25, n. 20, p. 8874, 2005.

CHENG, Ke et al. The cytoplasmic NPM mutant induces myeloproliferation in a transgenic mouse model. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 115, n. 16, p. 3341-3345, 2010.

DE ARAÚJO BRAGA, Giovanna Alves. LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA: REVISÃO DE LITERATURA.

DEBARRI, Houria et al. IDH1/2 but not DNMT3A mutations are suitable targets for minimal residual disease monitoring in acute myeloid leukemia patients: a study by the Acute Leukemia French Association. **Oncotarget**, v. 6, n. 39, p. 42345, 2015.



DE KOUCHKOVSKY, I.; ABDUL-HAY, M. Acute myeloid leukemia: a comprehensive review and 2016 update. **Blood cancer journal**, v. 6, n. 7, p. e441e441, 2016.

DE OLIVEIRA, Naila Francis Paulo et al. Metilação de DNA e câncer. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 56, n. 4, p. 493-499, 2010.

DINARDO, Courtney D.; CORTES, Jorge E. Mutations in AML: prognostic and therapeutic implications. **Hematology 2014, the American Society of Hematology Education Program Book**, v. 2016, n. 1, p. 348-355, 2016.

DÖHNER, Hartmut et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. **Blood**, v. 129, n. 4, p. 424-447, 2017.

ESTEY, Elihu H. Acute myeloid leukemia: 2021 update on risk-stratification and management. **American journal of hematology**, v. 95, n. 11, p. 1368-1398, 2020.

GAIDZIK, Verena I. et al. RUNX1 mutations in acute myeloid leukemia: results from a comprehensive genetic and clinical analysis from the AML study group. **Journal of Clinical Oncology**, v. 29, n. 10, p. 1364-1372, 2011.

GALE, Rosemary E. et al. The impact of FLT3 internal tandem duplication mutant level, number, size, and interaction with NPM1 mutations in a large cohort of young adult patients with acute myeloid leukemia. **Blood**, v. 111, n. 5, p. 2776-2784, 2008.

GURNARI, Carmelo; PAGLIUCA, Simona; VISCONTE, Valeria. Deciphering the Therapeutic Resistance in Acute Myeloid Leukemia. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 22, p. 8505, 2020.

GREEN, Claire L. et al. The prognostic significance of IDH1 mutations in younger adult patients with acute myeloid leukemia is dependent on FLT3/ITD status. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 116, n. 15, p. 2779-2782, 2010.

GROSSMANN, Vera et al. A novel hierarchical prognostic model of AML solely based on molecular mutations. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 120, n. 15, p. 2963-2972, 2012.

GRISENDI, Silvia et al. Role of nucleophosmin in embryonic development and tumorigenesis. **Nature**, v. 437, n. 7055, p. 147-153, 2005.



HAFERLACH, Torsten; SCHMIDTS, Ines. The power and potential of integrated diagnostics in acute myeloid leukaemia. **British journal of haematology**, v. 188, n. 1, p. 36-48, 2020.

HACKL, Hubert; ASTANINA, Ksenia; WIESER, Rotraud. Molecular and genetic alterations associated with therapy resistance and relapse of acute myeloid leukemia. **Journal of hematology & oncology**, v. 10, n. 1, p. 1-16, 2017.

HERUDKOVA, Zdenka et al. Clonal hierarchy of main molecular lesions in acute myeloid leukaemia. **British journal of haematology**, v. 190, n. 4, p. 562-572, 2020.

HOFF, Paulo Marcelo Gehm (ed). **Tratado de oncologia**. SÃO PAULO: ATHENEU, 2013. 2829p.

KANTARJIAN, Hagop et al. Acute myeloid leukemia: current progress and future directions. **Blood cancer journal**, v. 11, n. 2, p. 1-25, 2021.

KAYSER, Sabine; LEVIS, Mark J. Clinical implications of molecular markers in acute myeloid leukemia. **European journal of haematology**, v. 102, n. 1, p. 20-35, 2019.

LEYTO-CRUZ, Faustino. Leucemia mieloide aguda. **Hematol Méx**, v. 19, n. 1, p. 24-40, 2018.

LONG, Luyao et al. Genetic biomarkers of drug resistance: A compass of prognosis and targeted therapy in acute myeloid leukemia. **Drug Resistance Updates**, p. 100703, 2020

MCCURDY, Shannon R.; LEVIS, Mark J. Emerging molecular predictive and prognostic factors in acute myeloid leukemia. **Leukemia & lymphoma**, v. 59, n. 9, p. 2021-2039, 2018.

MACHADO, Karime K. et al. Sobrevida global e outros desfechos clínicos em câncer de mama: situação atual e controvérsias. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 5, p. 514-516, 2010.

MARINHO, Luciana Cardoso. **A ANGIOGÊNESE NAS LEUCEMIAS: UMA REVISÃO**. 2016. 69 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação STRICTO SENSU em Genética) - Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia - GO.

MUKHOPADHYAY, Amitabha et al. 14-3-3γ prevents centrosome amplification and neoplastic progression. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-19, 2016.



PASCHKA, Peter et al. Adverse prognostic significance of KIT mutations in adult acute myeloid leukemia with inv (16) and t (8; 21): a Cancer and Leukemia Group B Study. **Journal of Clinical Oncology**, v. 24, n. 24, p. 3904-3911, 2006.

PASCHKA, Peter et al. IDH1 and IDH2 mutations are frequent genetic alterations in acute myeloid leukemia and confer adverse prognosis in cytogenetically normal acute myeloid leukemia with NPM1 mutation without FLT3 internal tandem duplication. **Journal of clinical oncology**, v. 28, n. 22, p. 3636-3643, 2010.

PATEL, Sanjay S.; KLUK, Michael J.; WEINBERG, Olga K NPM1 Biology in Myeloid Neoplasia. *Current Hematologic Malignancy Reports*, v. 15, p. 350-359, 2020

PRADA-ARISMENDY, Jeanette; ARROYAVE, Johanna C.; RÖTHLISBERGER, Sarah. Molecular biomarkers in acute myeloid leukemia. **Blood reviews**, v. 31, n. 1, p. 63-76, 2017.

PELCOVITS, Ari; NIROULA, Rabin. Acute Myeloid leukemia: A review. **Rhode Island Medical Journal**, v. 103, n. 3, p. 38-40, 2020.

POZZO, Aline Rangel. **Mecanismos de resistência as antraciclinas e a citarabina em leucemia mielóide aguda**. 2017. Trabalho de conclusão de curso.

QUAN, Xi; DENG, Jianchuan. Core binding factor acute myeloid leukemia: Advances in the heterogeneity of KIT, FLT3, and RAS mutations. **Molecular and Clinical Oncology**, v. 13, n. 2, p. 95-100, 2020.

RENNEVILLE, A., Roumier, C., Biggio, V. *et al.* Cooperating gene mutations in acute myeloid leukemia: a review of the literature. **Leukemia** **22**, 915–931 (2008).

RITTER, Markus et al. Prognostic significance of N-RAS and K-RAS mutations in 232 patients with acute myeloid leukemia. **Haematologica**, v. 89, n. 11, p. 1397-1399, 2004.

ROCHA, Clarissa Ribeiro Reily. **Mecanismos de resistência à quimioterápicos em células tumorais**. 2015. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

ROUSSEL, Xavier et al. Acute Myeloid Leukemia: From biology to clinical practices through development and pre-clinical therapeutics. **Frontiers in Oncology**, v. 10, 2020.

SCHNITTGER, S., et al. "Prognostic impact of FLT3-ITD load in NPM1 mutated acute myeloid leukemia." **Leukemia** **25.8** (2011): 1297-1304.



SHORT, Nicholas J. et al. Advances in the treatment of acute myeloid leukemia: new drugs and new challenges. **Cancer discovery**, v. 10, n. 4, p. 506-525, 2020.

VAN GILS, Noortje; DENKERS, Fedor; SMIT, Linda. Escape From Treatment; the Different Faces of Leukemic Stem Cells and Therapy Resistance in Acute Myeloid Leukemia. **Frontiers in Oncology**, v. 11, p. 1454, 2021

YOHE, Sophia. Molecular genetic markers in acute myeloid leukemia. **Journal of clinical medicine**, v. 4, n. 3, p. 460-478, 2015.

YEUNG, Cecilia CS; RADICH, Jerald. Predicting chemotherapy resistance in AML. **Current hematologic malignancy reports**, v. 12, n. 6, p. 530-536, 2017.

