

estado de “stemness”. Todos os genes incluídos foram compilados ao modelo de aprendizado de máquinas não supervisionado do algoritmo de regressão linear de LASSO (*Least Absolute Shrinkage and Selection Operator*), utilizando o pacote “glmnet” do R, levando em consideração modelo para sobrevida global. Toda a estatística foi realizada utilizando o software R e STATA. **Resultados:** A princípio, foi realizada uma revisão bibliográfica para elencar genes previamente associados à “stemness”, levando em consideração assinaturas moleculares desenvolvidas anteriormente e genes citados individualmente. Dessa forma, 137 genes foram selecionados e adicionados ao modelo de aprendizado de máquinas LASSO. Para validação do modelo, foi utilizado o índice Harrell C, semelhante à área sobre a curva (AUC), em concordância com os dados de sobrevida, onde foi identificado um valor de λ ótimo ($s=0.06$) para penalização da regressão. O modelo retornou 37 genes, dos quais 16 tiveram sua baixa expressão associada a uma pior sobrevida, enquanto 21 tiveram a alta expressão associada a um pior desfecho clínico. Para confirmar o impacto desses genes na sobrevida global, utilizou-se a metodologia de maximização de métricas (através do Cut-pointR), separando os genes em alta e baixa expressão. Esses dados confirmaram que, dos 37 genes selecionados, 23 tiveram impacto direto na sobrevida. Portanto, consideraremos os genes retornados pelo modelo de aprendizado para identificação de uma assinatura molecular, tendo como próxima etapa o modelo de sobrevida multivariado, empregando seleção gradual (*stepwise*) para refinar a seleção dos genes realmente importantes para o modelo. **Discussão e conclusões:** Ao compilar genes previamente associados à “stemness” e realizar análise utilizando modelo de aprendizado de máquinas, conseguimos identificar genes críticos que estão ligados tanto à “stemness” quanto ao desfecho clínico diferencial em LMA. Esta identificação é crucial, pois permite o desenvolvimento de estratégias terapêuticas ajustadas ao risco. Como perspectivas, esses genes serão submetidos a análises estatísticas adicionais para elaboração de um índice prognóstico que compute o risco a partir de expressão gênica.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.682>

ANÁLISE DO CONTEÚDO DE DNA MITOCONDRIAL (MTDNA) E SUA ASSOCIAÇÃO COM RESPOSTA A FÁRMACOS EM CÉLULAS DE LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

AMG Aguiar^a, VJ Silva^a, DAP Martins^b,
MLS Bandeira^c, JL Coelho-Silva^a,
PL França-Neto^a, MT Reis-Silva^a, LP Santos^a,
MAC Bezerra^a, AR Lucena-Araujo^a

^a Universidade Federal de Pernambuco (UFPE),
Recife, PE, Brasil

^b Centro Médico Universitário Groningen (UCMG),
Groningen, Holanda

^c Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP,
Brasil

Introdução/Objetivos: As leucemias mieloides agudas (LMA) são doenças complexas que afetam células precursoras do

sangue na medula óssea. O metabolismo energético das células leucêmicas varia entre subtipos celulares, o que pode impactar a resposta ao tratamento. Dessa forma, este estudo tem por objetivo investigar se a redução do conteúdo de DNA mitocondrial (mtDNA) pode influenciar o metabolismo energético mitocondrial e o tratamento de diferentes subtipos de LMA, dado que o aumento do número de cópias está associado a resistência a tratamentos em diversos tipos de câncer. **Métodos:** O estudo foi realizado no Núcleo de Hematologia Clínica e Laboratorial do Laboratório Central do Centro de Biociências da UFPE. Foram utilizadas células mononucleares de 47 pacientes com LMA, purificadas a partir de aspirados de medula óssea. Para reduzir o mtDNA, um vetor de expressão lentiviral contendo um RNA de interferência (shRNA) foi usado para silenciar o gene da polimerase gama (POLG), essencial para a replicação do mtDNA. A lamivudina, um análogo sintético da pirimidina, também foi utilizada para inibir o DNA mitocondrial sem efeitos citotóxicos, validando o método em linhagens celulares OCI-AML3 (glicolítica) e MV4-11 (fosforilativa). A redução do mtDNA foi confirmada por qPCR, e a apoptose foi avaliada após 24 horas de incubação com fármacos ou veículo. Para análises estatísticas, foi utilizada a correlação de Spearman para apoptose e mtDNA. Em relação à análise de apoptose nas linhagens celulares, utilizou-se ANOVA, seguido do teste de comparações múltiplas de Sidak. Todos os P-valores foram bilaterais com nível de significância 0.05. **Resultados:** Inicialmente, as células mononucleares foram tratadas com citarabina (100 nM por 48 horas), revelando uma correlação inversa significativa entre a apoptose induzida pela citarabina e o nível de mtDNA nas células ($p < 0.0001$) ($r = -0.75$, 95% IC: -0.85 a -0.58). Amostras com elevado mtDNA foram selecionadas para análise aprofundada, confirmando a redução do mtDNA após o silenciamento por shRNA ($p < 0.0001$). A depleção do mtDNA resultou em maior apoptose nas células tratadas com citarabina ($p < 0.0001$). A investigação foi estendida para linhagens celulares (OCI-AML3 – glicolítica; MV4-11 – fosforilativa) com perfis metabólicos distintos, avaliando a concentração inibitória máxima (IC₅₀) de vários fármacos (citarabina, venetoclax, metotrexato e metformina). As células OCI-AML3 mostraram sensibilidade à citarabina ($p = 0.01$), mas resistência a fármacos metabólicos, enquanto a redução do mtDNA com doses elevadas de venetoclax e metformina aumentou a apoptose ($p < 0.0001$). Na linhagem MV4-11, a lamivudina aumentou significativamente a apoptose em resposta a todos os fármacos testados ($p < 0.0001$), sugerindo um efeito sinérgico na eficácia dos tratamentos. **Discussão e conclusões:** Os resultados indicam que a variação no conteúdo de mtDNA influencia o metabolismo energético das células leucêmicas, afetando a resistência à apoptose e a produção de energia. Dada a heterogeneidade da LMA, a eficácia do mtDNA como marcador terapêutico precisa ser considerada cuidadosamente. A interação entre o estado metabólico das células e a resposta à depleção do mtDNA destaca a necessidade de personalizar tratamentos farmacológicos para diferentes subtipos celulares. O mtDNA se mostra promissor como indicador para avaliar a eficácia terapêutica em pacientes com LMA.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.683>