

**Universidade de São Paulo  
Instituto de Matemática e Estatística**

**Centro de Estatística Aplicada**

**Relatório de Análise Estatística**

RAE-CEA-23P03

**RELATÓRIO DE ANÁLISE ESTATÍSTICA SOBRE O PROJETO:**

**“Avaliação da expressão de genes e miRNAs relacionados aos mecanismos de reparo ao dano do DNA em pacientes com leucemia mieloide crônica ao diagnóstico e na crise blástica”**

**Enrico Bergamaschi Weinstock**

**Manuela Bonetto**

**Nicollas Nunes Gandra**

**Viviana Giampaoli**

**São Paulo, julho de 2023**

**CENTRO DE ESTATÍSTICA APLICADA - CEA – USP**

**TÍTULO:** Relatório de Análise Estatística sobre o Projeto: “Avaliação da expressão de genes e miRNAs relacionados aos mecanismos de reparo ao dano do DNA em pacientes com leucemia mieloide crônica ao diagnóstico e na crise blástica”.

**PESQUISADORA:** Dra. Luciana Nardelli

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. Israel Bendit

**INSTITUIÇÃO:** Hospital das Clínicas FMUSP

**FINALIDADE DO PROJETO:** Publicação

**RESPONSÁVEIS PELA ANÁLISE:** Enrico Bergamaschi Weinstock

Manuela Bonetto

Nicollas Nunes Gandra

Viviana Giampaoli

**REFERÊNCIA DESTE TRABALHO:** WEINSTOCK, B. E.; BONETTO, C. P. M.; GANDRA, N. N.; GIAMPAOLI, V. **Relatório de análise estatística sobre o projeto: “Avaliação da expressão de genes e miRNAs relacionados aos mecanismos de reparo ao dano do DNA em pacientes com leucemia mieloide crônica ao diagnóstico e na crise blástica”.** São Paulo, IME-USP, ano. (RAE–CEA-23P03)

## FICHA TÉCNICA

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ANDERSON, M.J. (2017). Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA). In *Wiley StatsRef: Statistics Reference Online*, 1--15. **American Cancer Society**, eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/9781118445112.stat07841>

ANDERSON, M.J.; WALSH, D.C.I. (2013). PERMANOVA, ANOSIM, and the Mantel test in the face of heterogeneous dispersions: what null hypothesis are you testing?. **Ecological monographs**, **83**, 557-574.

JORGE, A.L.; PEREIRA, E.R.; OLIVEIRA, C.S.A.; FERREIRA, E.S.; MENON, E.T.N.; DINIZ, S.N.; PEZUK, J.A.(2021). MicroRNAs: entendendo seu papel como reguladores da expressão gênica e seu envolvimento no câncer. **Einstein**, **19**.

### PROGRAMAS COMPUTACIONAIS UTILIZADOS:

Microsoft Word for Windows (versão 2021)

Microsoft Excel for Windows (versão 2021)

R for Windows, versão 4.3.0.

RStudio for Windows, versão 2023.03.1+446.

### TÉCNICAS ESTATÍSTICAS UTILIZADAS

03:010 – Análise Descritiva Unidimensional

13:070 – Análise de Sobrevivência

08:110 – Análise de Variância Multivariada

### ÁREA DE APLICAÇÃO

14:040 – Medicina – Epidemiologia

**Resumo**

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é um tipo raro de câncer de células do sangue que começa na medula óssea. A maior parte dos doentes é diagnosticada na fase crônica, mas como resultado da instabilidade genômica, pode progredir para a fase acelerada e depois para a fase terminal denominada de crise blástica. Neste trabalho, dados de pacientes em duas fases da doença, juntamente com informações de um grupo formado por doadores saudáveis, foram analisados a fim de analisar as expressões de genes e miRNAs relacionados com as vias de reparo do dano ao DNA em pacientes com LMC. Utilizando métodos de análise descritiva e a técnica PERMANOVA, foi possível perceber que existem diferenças multivariadas e univariadas nos níveis de expressão dos genes e miRNAs entre cada fase da doença, bem como entre pacientes doentes e doadores saudáveis.

## Sumário

1. Introdução	7
2. Objetivo	8
3. Descrição do estudo	8
4. Descrição das variáveis	9
4.1. Variáveis que caracterizam a amostra	9
4.2. Variáveis relacionadas às medidas de expressões dos genes e dos miRNAs	9
5. Análise descritiva	10
6. Análise Inferencial	11
6.1. Resultados	12
6.1.1 Resultados obtidos pelo pacote vegan	13
6.1.2 Testes post hoc	13
6.1.3 Resultados obtidos pelo pacote nrmv	14
7. Conclusão	16
APÊNDICE A	17
APÊNDICE B	36

## 1. Introdução

A leucemia mieloide crônica (LMC) é um dos tipos de câncer que afeta a medula óssea e se caracteriza pela multiplicação de glóbulos brancos anormais devido a uma alteração no DNA das células. A superprodução dessas células anômalas afeta os mecanismos de defesa do organismo e, por consequência, a capacidade de combater infecções e manter o corpo saudável.

A LMC possui uma característica muito singular: a presença da anormalidade genética chamada de cromossomo *Philadelphia*. Este cromossomo é resultado da troca de material genético entre dois outros cromossomos, o de número 9 e o de número 22.

A maior parte dos pacientes é diagnosticada na fase crônica, mas como resultado da instabilidade genômica, pode progredir para a fase acelerada e depois para a fase terminal denominada de crise blástica.

Desde o lançamento da terapia com inibidores da tirosina quinase em 2001, a leucemia mieloide crônica passou a ser uma doença crônica e controlável para a maioria dos pacientes. As pessoas estão vivendo normalmente com a LMC e com menos efeitos colaterais. Entretanto, uma pequena parcela dos pacientes progride para a crise blástica mesmo sob o tratamento, na qual o acúmulo de anormalidades cromossômicas e mutações é mais frequente.

O estudo de níveis de expressão de genes e microRNAs (miRNAs) que atuam em vias associadas à LMC é muito valioso para um melhor entendimento dos motivos subjacentes para a não resposta de alguns pacientes aos tratamentos. Neste sentido, um gene é um segmento de uma molécula de DNA responsável pelas características herdadas geneticamente e miRNAs são pequenas moléculas de RNAs que se relacionam com a síntese de proteínas que regulam a expressão gênica das células (Jorge, et al., 2021). O nível de expressão de determinado gene pode ser quantificado de algumas formas, sendo uma delas o qPCR, técnica utilizada nesta pesquisa.

A quantificação bruta do nível de expressão de um gene denomina-se Ct (Cycle Threshold) e corresponde ao número de ciclos necessários para que o sinal fluorescente utilizado na técnica de qPCR atinja um limiar específico. Já dCt é a diferença entre os valores de Ct de um gene-alvo e um gene de referência, usado para normalização. E  $2e^{-dCt}$  por sua

vez representa a expressão relativa do gene-alvo em relação ao gene de referência, conhecida como fold change. A quantificação utilizada nas análises a seguir será a 2e-dCt.

Dessa forma, esse estudo utiliza dados das expressões de genes e miRNAs de interesse de pacientes em duas fases da doença (Fase crônica e Crise blástica) e de doadores saudáveis, a fim de entender um pouco mais sobre a progressão da LMC.

## 2. Objetivo

Nesse projeto, tem-se como principal objetivo:

- Avaliar a expressão de genes e miRNAs relacionados com as vias de reparo do dano ao DNA em pacientes com LMC na fase crônica, em pacientes na crise blástica e em doadores saudáveis para fins de comparação.

## 3. Descrição do estudo

O monitoramento dos pacientes foi realizado no Laboratório de Biologia Tumoral do HCFMUSP.

Foram avaliadas amostras de qPCR de 4 miRNAs e de 8 genes vindas de 85 indivíduos, dos quais:

- 15 são doadores saudáveis;
- 70 são pacientes com LMC:
  - 54 pacientes com amostras coletadas apenas na Fase crônica;
  - 9 pacientes com amostras coletadas apenas na Crise blástica;
  - 7 pacientes com amostras coletadas na Fase crônica e na Crise blástica. Estes pacientes progrediram da fase crônica diretamente para a crise blástica durante o acompanhamento do estudo.

Além disso, cada miRNA possui dois genes alvos, especificados a seguir:

- miR-34-a
  - TP53
  - MDM4

- miR-17-5p
  - CDKN1A
  - PTEN
- miR-150
  - EIF4
  - MYB
- miR-155
  - SHIP
  - CEBPB

#### 4. Descrição das variáveis

##### 4.1. Variáveis que caracterizam a amostra

- **Grupo:** classificamos os indivíduos em três grupos: DS: 15 doadores saudáveis

FC: 54 pacientes com dados na Fase crônica sem progressão

CB: 16 pacientes com informações na Crise blástica. Este grupo é formado pelos 9 pacientes com dados apenas na Crise blástica e com os outros 7 pacientes que progrediram da Fase crônica para a Crise blástica

- **Resposta molecular maior aos 12 meses:** Sim ou Não (Sim, se a terapia com inibidores da tirosina quinase foi eficaz e Não, caso contrário)
- **Troca de inibidor:** Sim ou Não (Sim, se houve a troca de inibidor e Não, caso contrário)
- **Óbito:** Sim ou Não (Sim, se ocorreu óbito e Não, caso contrário)
- **Evento:** Sim ou Não (Sim, se a resposta molecular maior aos 12 meses for Não ou se a troca de inibidor for Sim ou se houve progressão da doença para uma fase mais avançada ou se houve óbito e Não, caso contrário)
- **Tempo até a ocorrência do evento** (dias)

##### 4.2. Variáveis relacionadas às medidas de expressões dos genes e dos miRNAs

- Medida da expressão do **gene TP53** (2e-dCt)
- Medida da expressão do **gene CDKN1A** (2e-dCt)
- Medida da expressão do **gene PTEN** (2e-dCt)
- Medida da expressão do **gene MDM4** (2e-dCt)
- Medida da expressão do **gene MYB** (2e-dCt)
- Medida da expressão do **gene SHIP** (2e-dCt)
- Medida da expressão do **gene EIF4** (2e-dCt)
- Medida da expressão do **gene CEBPB** (2e-dCt)
- Medida da expressão do **miRNA miR-155** (2e-dCt)
- Medida da expressão do **miRNA miR-150** (2e-dCt)
- Medida da expressão do **miRNA miR-34a** (2e-dCt)
- Medida da expressão do **miRNA miR-17-5p** (2e-dCt)

## 5. Análise descritiva

Nesta seção, apresentamos a análise descritiva dos dados, que nos permite ter uma visão inicial dos resultados do estudo.

Na Tabela A.1, verifica-se a distribuição de frequências dos indivíduos em cada um dos grupos definidos para o estudo e é possível identificar que a maior parte dos sujeitos se encontram na fase crônica da doença (63,53%), enquanto a quantidade de pessoas em crise blástica é 18,82% e de doadores saudáveis é 17,65%.

As medidas-resumo das medidas de expressão dos genes e miRNAs para os grupos FC, DS e CB estão indicadas nas Tabelas A.2 e A.3. Para os genes TP53, PTEN e CEBPB, nota-se que os valores das médias/medianas dessas expressões, para pacientes na crise blástica, são bem menores se comparados com os valores nos outros dois grupos. Para os genes MDM4, CDKN1A, EIF4 e SHIP e para os miRNAs miR-155 e miR-34a, que possuem as médias/medianas dos valores de suas expressões mais baixas para pacientes na fase crônica da doença. Além disso, ainda nas Tabelas A.2 e A.3, é possível notar que alguns desvios padrões são muito superiores quando os grupos são comparados. Os genes CDKN1A, MDM4, MYB, SHIP e o miR-34a são exemplos de casos que tiveram esses desvios muito superiores para os pacientes no grupo CB.

Também é possível perceber, ao analisar graficamente as Figuras B.1 a B.6, que existem algumas diferenças notáveis nos valores dessas expressões, tanto para alguns genes quanto para alguns miRNAs, tais como o gene PTEN e o miR-155, que se destacam por apresentarem valores médios maiores em suas expressões para os doadores saudáveis ao serem comparados com os valores dos pacientes nas outras fases da doença.

As Tabela A.4 e A.5 apresentam medidas-resumo das medidas das expressões dos genes e miRNAs dos pacientes do grupo FC (pacientes com dados na Fase crônica sem progressão) e das expressões na Fase crônica (FCp) dos pacientes que progrediram da Fase crônica para a Crise blástica. Podemos destacar os genes SHIP, MDM4, e CEBPB, para os quais os pacientes que não progrediram apresentaram medidas de expressão consideravelmente maiores do que os pacientes que progrediram.

Nas Tabelas A.6 e A.7 apresentam-se as medidas-resumo para as medidas de expressão dos genes e miRNAs na Fase crônica (FCp) e na Crise blástica (CBp) dos pacientes que progrediram da Fase crônica para a Crise blástica. Para os genes TP53 e MYB, observa-se que os valores das expressões são superiores enquanto os pacientes estavam na Fase crônica da doença. O oposto acontece ao considerar os genes CDKN1A, SHIP, EIF4 e CEBPB, uma vez que as maiores medidas das expressões acontecem enquanto os pacientes já estavam na Crise blástica. Além disso, notam-se altos valores dos erros padrões das expressões dos genes SHIP e CEBPB quando os pacientes estavam na Crise blástica. Para esses pacientes, as medidas das expressões dos miRNAs não apresentaram muitas divergências.

Ao considerar a Tabela A.8, percebe-se que a porcentagem de pacientes que apresentaram resposta molecular maior aos 12 meses é menor no grupo CB (37,5%) do que no grupo FC (53,7%). A Tabela A.9 mostra que a porcentagem de pacientes que trocaram de inibidor é maior no grupo CB (93,8%) do que no grupo FC (34,0%). Além disso, a Tabela A.10 mostra que enquanto 81,2% dos pacientes do grupo CB vieram a óbito, no grupo FC, essa porcentagem é de apenas 5,6%.

As Figuras B.7 a B.18, exibem curvas de sobrevivência do tempo até a ocorrência do evento para os pacientes do grupo FC, considerando dois estratos formados pelos pacientes que apresentam medida de expressão de genes ou miRNAs acima e abaixo da mediana. Pela superposição das bandas de confiança das curvas, de forma geral, parece não haver diferença entre os estratos, o que nos leva a pensar na necessidade da definição de outro critério para a formação dos estratos diferente do valor mediano.

## **6. Análise Inferencial**

Para o contexto deste estudo e a fim de atingir o objetivo de investigar se existem diferenças estatisticamente significativas entre as expressões dos genes e dos miRNAs para cada grupo de pacientes, foi utilizada uma técnica não paramétrica de análise de variância multivariada conhecida por PERMANOVA (Análise de Variância Permutacional Multivariada), uma técnica utilizada para determinar se existem diferenças entre grupos em conjuntos de

dados multivariados (ANDERSON, 2017). Mais especificamente, esta técnica realiza permutações aleatórias para testar a hipótese nula de igualdade das médias multivariadas entre os grupos. A PERMANOVA foi considerada a técnica mais adequada ao conjunto de dados da presente análise, já que os dados violam suposições essenciais de uma MANOVA (Análise de Variância Multivariada) tradicional (valor-p < 0,0001 para o teste Shapiro-Wilk de normalidade multivariada - com e sem outliers multivariados; valor-p < 0,0001 para o teste Box-M de homogeneidade de covariâncias).

A PERMANOVA é robusta a dados de experimentos desbalanceados, violações da normalidade multivariada e homogeneidade de covariâncias, além de lidar bem com valores *missing* e *outliers*. Entretanto, é válido o apontamento de que nos estudos de simulação apresentados no artigo de ANDERSON (2013) a PERMANOVA evidenciou efeitos indesejados nos casos com desenhos experimentais desbalanceados com heterogeneidade entre as dispersões dos grupos (ANDERSON, 2013). Neste artigo os autores apontam que o efeito no resultado causado por essa heterogeneidade depende de qual dos grupos tem maior dispersão (se é o grupo menor, o teste é muito liberal; se é o grupo maior, ele é muito conservador). Em nosso caso, temos os grupos DS (n = 15), CB (n= 16), e FC (n = 54), com dispersões multivariadas heterogêneas, sendo as dispersões de CB e FC maiores do que de DS. Ainda assim, o artigo demonstra que a PERMANOVA é a técnica que melhor lida com este tipo de dados quando comparada a outras metodologias de mesmo objetivo (Análise de Similaridades - ANOSIM e Mantel test). Deste modo, essa foi identificada como a técnica mais apropriada para testar diferenças multivariadas entre as expressões dos grupos DS, FC, e BC.

Para as análises a seguir, foram utilizados os dados de expressão padronizados com a função `scale` do R e dois pacotes diferentes `vegan` e `npmv` aos fins de comparação e de complementar os resultados.

## 6.1. Resultados

Para a realização da PERMANOVA, foram consideradas 3 situações:

- Situação 1: 12 variáveis dependentes (os 8 genes e os 4 miRNAs) e 1 variável independente (classificação dos grupos DS, FC, e CB).

- Situação 2: 8 variáveis dependentes (os 8 genes) e 1 variável independente (a classificação dos os grupos: DS, FC, e CB).
- Situação 3: 4 variáveis dependentes (os 4 miRNAs) e 1 variável independente (a classificação dos grupos: DS, FC, e CB).

O nível de significância adotado para as análises seguintes foi de 5%.

### 6.1.1 Resultados obtidos pelo pacote vegan

Executando a PERMANOVA por meio da função `adonis2`, nas 3 situações, obtiveram-se evidências de que existem diferenças significativas entre, pelo menos, um dos grupos, ao considerarmos as medidas para as expressões dos genes e dos miRNAs (valor  $p = 0,001$  para as três situações, verificar nas Tabelas A.11 a A.13).

Esse resultado foi mais profundamente investigado por meio de testes post hoc comentados a seguir.

### 6.1.2 Testes post hoc

Com o objetivo de entender melhor quais são os grupos diferentes, foi utilizado o teste post hoc de Bonferroni, por meio da função `pairwise.adonis`. Os resultados são apresentados nas Tabelas A.14 a A.16.

Para a situação 1 (Tabela A.14) as comparações entre os pares de grupos FC vs CB (valor- $p = 0,001$ , valor- $p$  ajustado = 0,003), FC vs DS (valor- $p = 0,001$ , valor- $p$  ajustado = 0,003) e CB vs DS (valor- $p = 0,004$ , valor- $p$  ajustado = 0,0012) foram todas estatisticamente significativas, portanto os grupos apresentam diferenças entre si para as expressões estudadas.

No caso da situação 2 (Tabela A.15) as comparações entre os pares de grupos FC vs CB (valor- $p = 0,001$ , valor- $p$  ajustado = 0,003), FC vs DS (valor- $p = 0,005$ , valor- $p$  ajustado = 0,01) foram todas estatisticamente significativas, portanto o grupo FC difere dos grupos CB e DS para as expressões dos genes estudadas. Já no caso da comparação entre os grupos CB

vs DS (valor-p = 0,047), ao se observar o valor-p ajustado = 0,141 mais conservador de Bonferroni, pode-se dizer que não há evidência estatisticamente significativa entre estes grupos para as expressões dos genes estudadas.

Para a situação 3, as comparações entre os pares de grupos FC vs CB (valor-p = 0,001, valor-p ajustado = 0,003), FC vs DS (valor-p = 0,001, valor-p ajustado = 0,003) e CB vs DS (valor-p = 0,009, valor-p ajustado = 0,027) também foram todas estatisticamente significativas e todos os grupos apresentam diferenças entre si para as expressões dos miRNAs estudadas. Assim, percebe-se que existe essa diferença nas medidas das expressões entre os grupos para todas as situações.

### 6.1.3 Resultados obtidos pelo pacote `npmv`

Adicionalmente, por meio de mais uma análise, foi possível obter resultados complementares apresentados nas Tabelas A.17 a A.22.

Ao aplicar a função `nonpartest`, adquiriu-se o efeito relativo de tratamento (RTE) “k”, que pode ser definido como a probabilidade de que um sujeito escolhido aleatoriamente do tratamento “k”, que neste estudo não é outra coisa que o grupo, exiba um nível de expressão mais alto do que um sujeito escolhido aleatoriamente de qualquer um dos grupos de tratamento, incluindo o tratamento “k”.

Para todas as 3 situações, a função `nonpartest` retornou valores-p e valores-p do teste de permutação menores do que 0,001 para todos os testes multivariados de igualdade entre os grupos, sendo estes um “ANOVA type test”, “McKeon approximation for the Lawley Hotelling test”, “Muller approximation for the Bartlett-Nanda-Pillai test”, e o teste de Wilks Lambda. Esses resultados, bem como as estatísticas para os testes citados, são apresentados nas Tabelas A.17 a A.19.

Então, ao considerar a situação 1, (Tabela A.20) notou-se que os genes TP53, PTEN e CEBPB possuem probabilidades menores de terem valores maiores em suas medidas de expressões em pacientes do grupo CB. Já nos pacientes do grupo FC, os genes que têm probabilidades menores de terem valores maiores em suas expressões são: CDKN1a, MDM4,

SHIP, EIF4. Para o caso dos miRNAs, com exceção do miR-17-5p, as probabilidades menores de terem valores maiores em suas expressões pertencem aos pacientes do grupo FC.

Considerando a situação 2 (Tabela A.21), perceberam-se as mesmas conclusões obtidas a partir da análise da situação 1, indicadas pelas avaliações dos genes. As mesmas conclusões podem ser obtidas da observação da Tabela A.22 para a situação 3 pelas análises dos miRNAs.

Caso exista o interesse em identificar em quais expressões os grupos são similares em termos de médias pode-se aplicar a função `nonpartest`. A título de exemplo para ajudar o leitor a interpretar as saídas, se apresentam as Tabelas A.24 e A.25, nas quais é possível verificar que para algumas das variáveis dependentes a hipótese de igualdade entre as medidas das expressões para um determinado par de grupos pode não ser rejeitada. Neste caso, nota-se que, para o gene CDKN1A, pela ausência do par CB vs DS se deduz que o teste não rejeita a hipótese de que existe igualdade entre as médias das medidas das expressões entre estes grupos. De forma oposta, observa-se, na Tabela A.25, que essa mesma hipótese é rejeitada para esse mesmo par, ao considerar o gene PTEN. As saídas para todos os genes e miRNAs podem ser observadas nas Tabelas A.23 a A.34.

A partir da observação dessas tabelas, na comparação dos grupos FC com DS, não se rejeitou a igualdade apenas para o gene TP53 e miR-34a. Dos genes e miRNAs para os quais a igualdade foi rejeitada, CDKN1A, PTEN, MDM4, SHIP, EIF4, CEBPB, miR-155, miR-150 apresentaram uma maior expressão no grupo DS do que nos pacientes do grupo FC (Figuras B.1 a B.6). Já MYB e miR-17-5p apresentaram uma maior expressão nos pacientes do grupo FC do que nos pacientes do grupo DS (Figuras B.1 a B.6).

Já na comparação das observações obtidas nos grupos FC e CB, não houve evidências de diferenças estatisticamente significativas nos genes CEBPB e MYB e no miR-150. Dos genes e miRNAs para os quais a igualdade foi rejeitada, TP53, PTEN, e miR-17-5p apresentaram uma maior expressão nos pacientes do grupo FC do que nos pacientes do grupo CB (Figuras B.1 a B.6). Já CDKN1A, MDM4, SHIP, EIF4, miR-155, e miR-34a apresentaram uma maior expressão nos pacientes do grupo FC do que nos do grupo CB (Figuras B.1 a B.6).

Nas comparações entre os grupos CB e DS, pode-se concluir que não se observaram diferenças estatisticamente significativas entre os dois nas expressões dos genes e miRNA CDKN1A, MDM4, SHIP, EIF4, e miR-17-5p. Dos genes e miRNAs para os quais a igualdade foi rejeitada, MYB, miR-155, e miR-34a apresentaram uma maior expressão nos pacientes do grupo CB do que nos do grupo DS (Figuras B.1 a B.6). Já TP53, PTEN, CEBPB, e miR-150 apresentaram uma maior expressão nos do grupo DS do que nos pacientes do grupo CB (Figuras B.1 a B.6).

Finalmente, pode-se destacar que apenas o gene PTEN e o miRNA miR-155 tiveram todas as hipóteses de igualdade rejeitadas (entre os grupos FC, DS, e CB; FC e DS; FC e CB; e CB e DS), como indicado nas Tabelas A.25 e A.34. Por fim, pode-se indicar a Tabela A.35 que apresenta um resumo dos testes de igualdade entre os grupos para cada gene e miRNA.

## **7. Conclusão**

Foi necessária a aplicação de uma técnica não paramétrica multivariada, a PERMANOVA, pelas falhas nas suposições da MANOVA. Assim foi possível verificar que as expressões dos genes e dos miRNAs apresentaram diferenças significativas entre os grupos estudados, com efeitos em sentido variado a depender do gene ou miRNA. Além disso, fica evidente que algumas expressões se destacam ao apresentarem essas diferenças, como é o caso do gene PTEN (com valores menores para os pacientes em crise blástica do que em comparação aos na fase crônica, e, ainda, menores na fase crônica do que nos doadores saudáveis), e o miRNA miR-155 (com valores maiores para os pacientes em crise blástica em comparação aos pacientes na fase crônica e doadores saudáveis), que apresentam valores em suas expressões bem diferentes nos pacientes para cada grupo estudado. Assim, esta metodologia estatística multivariada permitiu sinalizar as diferenças entre os grupos, em termos de suas expressões, contornando o problema de desbalanceamento e falta de normalidade.

# APÊNDICE A

## Tabelas

**Tabela A.1** Distribuição de frequências da variável Grupo

<b>DS</b>	<b>FC</b>	<b>CB</b>	<b>Total</b>
15 (17,65%)	54 (63,53%)	16 (18,82%)	85 (100,00%)

**Tabela A.2** Medidas-resumo das Medidas de expressão dos genes por Grupo

<b>Gene</b>	<b>Grupo</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Máximo</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>Erro padrão</b>
<b>TP53</b>	CB (n = 16)	1,23	5,15	9,37	45,25	11,00	2,75
	DS (n = 14)	8,88	20,40	20,01	31,34	6,59	1,76
	FC (n = 53)	5,10	19,29	23,38	120,26	18,36	2,52
<b>CDKN1A</b>	CB (n = 15)	1,68	7,11	23,20	100,08	31,36	8,10
	DS (n = 15)	4,96	9,38	11,50	30,91	7,52	1,94
	FC (n = 53)	0,21	4,11	6,76	34,78	7,33	1,01
<b>PTEN</b>	CB (n = 15)	0,29	2,55	5,87	33,36	8,22	2,12
	DS (n = 15)	19,03	28,44	31,81	56,49	9,63	2,49
	FC (n = 53)	1,09	12,38	12,91	34,06	8,22	1,13
<b>MDM4</b>	CB (n = 15)	0,13	3,49	12,37	101,48	25,48	6,58
	DS (n = 15)	7,31	11,79	11,28	15,24	2,18	0,56
	FC (n = 53)	0,28	1,73	2,18	10,85	2,08	0,29

**Tabela A.2** (continuação) Medidas-resumo das Medidas de expressão dos genes por Grupo

<b>Gene</b>	<b>Grupo</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Máximo</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>Erro padrão</b>
	CB (n = 15)	0,80	12,13	116,25	1.499,22	383,01	98,89
<b>MYB</b>	DS (n = 15)	1,30	1,91	2,09	3,14	0,57	0,15
	FC (n = 53)	0,28	6,06	15,33	101,13	22,25	3,06
	CB (n = 15)	24,25	142,02	350,25	2.048,00	599,33	154,75
<b>SHIP</b>	DS (n = 15)	101,13	145,01	155,42	319,57	55,96	14,45
	FC (n = 53)	0,05	105,42	139,84	515,56	120,03	16,49
	CB (n = 15)	0,01	0,21	0,49	3,41	0,93	0,24
<b>EIF4</b>	DS (n = 15)	0,12	0,18	0,20	0,34	0,06	0,02
	FC (n = 53)	0,00	0,01	0,08	2,68	0,37	0,05
	CB (n = 15)	1,78	38,62	127,82	922,88	242,6	62,64
<b>CEBPB</b>	DS (n = 15)	191,34	274,37	311,57	643,59	126,54	32,67
	FC (n = 53)	3,68	212,31	309,22	1.305,15	301,53	41,42

**Tabela A.3** Medidas-resumo das Medidas de expressão dos miRNAs por Grupo

<b>miRNA</b>	<b>Grupo</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Máximo</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>Erro padrão</b>
<b>miR_155</b>	CB (n = 16)	0,09	0,28	0,34	0,82	0,22	0,06
	DS (n = 8)	0,04	0,10	0,11	0,18	0,05	0,02
	FC (n = 51)	0,00	0,05	0,06	0,17	0,05	0,01
<b>miR_150</b>	CB (n = 16)	0,11	1,22	3,61	25,11	6,29	1,57
	DS (n = 10)	2,73	6,50	7,63	19,29	4,56	1,44
	FC (n = 51)	0,06	0,94	1,70	9,32	2,20	0,31
<b>miR_34a</b>	CB (n = 16)	0,00	0,05	0,05	0,13	0,04	0,01
	DS (n = 10)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	FC (n = 51)	0,00	0,00	0,00	0,05	0,01	0,00
<b>miR_17_5p</b>	CB (n = 16)	0,09	0,44	0,74	3,68	0,86	0,22
	DS (n = 9)	0,14	0,39	0,34	0,53	0,13	0,04
	FC (n = 52)	0,22	1,10	1,45	9,65	1,52	0,21

**Tabela A.4** Medidas-resumo das Medidas de expressão dos genes para pacientes na Fase crônica

<b>Gene</b>	<b>Fase crônica</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Máximo</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>Erro padrão</b>
<b>TP53</b>	FC (n = 53)	5,10	19,29	23,38	120,26	18,36	2,52
	FCp (n = 5)	6,06	11,47	10,38	15,35	4,12	1,84
<b>CDKN1A</b>	FC (n = 53)	0,21	4,11	6,76	34,78	7,33	1,01
	FCp (n = 5)	0,21	1,22	2,17	4,69	1,91	0,85
<b>PTEN</b>	FC (n = 53)	1,09	12,38	12,91	34,06	8,22	1,13
	FCp (n = 5)	1,39	7,31	7,13	12,73	4,27	1,91
<b>MDM4</b>	FC (n = 53)	0,28	1,73	2,18	10,85	2,08	0,29
	FCp (n = 5)	0,13	0,72	0,97	1,72	0,71	0,32
<b>MYB</b>	FC (n = 53)	0,28	6,06	15,33	101,13	22,25	3,06
	FCp (n = 5)	0,40	19,16	18,55	48,17	18,57	8,30
<b>SHIP</b>	FC (n = 53)	0,05	105,42	139,84	515,56	120,03	16,49
	FCp (n = 5)	24,25	48,50	44,64	65,34	15,78	7,06
<b>EIF4</b>	FC (n = 53)	0,00	0,01	0,08	2,68	0,37	0,05
	FCp (n = 5)	0,01	0,03	0,04	0,08	0,02	0,01
<b>CEBPB</b>	FC (n = 53)	3,68	212,31	309,22	1.305,2	301,53	41,42
	FCp (n = 5)	11,39	26,08	35,59	78,79	29,68	13,27

**Tabela A.5** Medidas-resumo das Medidas de expressão dos miRNAs para pacientes na Fase crônica

<b>miRNA</b>	<b>Fase crônica</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Máximo</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>Erro padrão</b>
<b>miR_155</b>	FC (n = 51)	0,00	0,05	0,06	0,17	0,05	0,01
	FCp (n = 6)	0,09	0,26	0,29	0,63	0,20	0,08
<b>miR_150</b>	FC (n = 51)	0,06	0,94	1,62	9,32	1,98	0,28
	FCp (n = 6)	0,42	0,74	4,13	16,68	6,48	2,65
<b>miR_34a</b>	FC (n = 51)	0,00	0,00	0,00	0,05	0,01	0,00
	FCp (n = 6)	0,00	0,01	0,02	0,04	0,02	0,01
<b>miR_17_5p</b>	FC (n = 52)	0,22	1,10	1,45	9,65	1,52	0,07
	FCp (n = 5)	1,06	1,35	1,52	2,06	0,49	0,22

**Tabela A.6** Medidas-resumo das Medidas de expressão dos genes para pacientes que progrediram da Fase crônica para a Crise blástica

<b>Gene</b>	<b>Progressão</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Mediana</b>	<b>Média</b>	<b>Máximo</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>Erro padrão</b>
<b>TP53</b>	FCp (n = 5)	6,06	11,47	10,38	15,35	4,12	1,84
	CBp (n = 7)	1,23	2,92	3,18	5,20	1,57	0,59
<b>CDKN1A</b>	FCp (n = 5)	0,21	1,22	2,17	4,69	1,91	0,85
	CBp (n = 7)	1,68	7,11	14,60	44,32	15,17	5,73
<b>PTEN</b>	FCp (n = 5)	1,39	7,31	7,13	12,73	4,27	1,91
	CBp (n = 7)	1,39	5,06	5,11	8,57	2,55	0,96
<b>MDM4</b>	FCp (n = 5)	0,13	0,72	0,97	1,72	0,71	0,32
	CBp (n = 7)	0,13	1,82	4,67	20,53	7,28	2,75
<b>MYB</b>	FCp (n = 5)	0,40	19,16	18,55	48,17	18,57	8,31
	CBp (n = 7)	0,80	5,46	12,15	32,45	11,31	4,28
<b>SHIP</b>	FCp (n = 5)	24,25	48,50	44,64	65,34	15,78	7,06
	CBp (n = 7)	24,25	104,69	139,63	352,14	125,37	47,39
<b>EIF4</b>	FCp (n = 5)	0,01	0,03	0,04	0,08	0,02	0,01
	CBp (n = 7)	0,01	0,30	0,46	1,87	0,64	0,24
<b>CEBPB</b>	FCp (n = 5)	11,39	26,08	35,59	78,79	29,68	13,27
	CBp (n = 7)	5,06	32,63	66,92	261,38	96,53	36,49

**Tabela A.7** Medidas-resumo das Medidas de expressão dos miRNAs para pacientes que progrediram da Fase crônica para a Crise blástica

miRNA	Progressão	Mínimo	Mediana	Média	Máximo	Desvio padrão	Erro padrão
miR_155	FCp (n = 6)	0,09	0,26	0,29	0,63	0,20	0,08
	CBp (n = 7)	0,13	0,48	0,42	0,65	0,20	0,08
miR_150	FCp (n = 6)	0,42	0,74	4,13	16,68	6,48	2,65
	CBp (n = 7)	0,11	1,06	4,76	25,11	9,08	3,43
miR_34a	FCp (n = 6)	0,00	0,01	0,02	0,04	0,02	0,01
	CBp (n = 7)	0,00	0,04	0,04	0,08	0,03	0,01
miR_17_5p	FCp (n = 5)	1,06	1,35	1,52	2,06	0,49	0,22
	CBp (n = 7)	0,35	0,80	1,21	3,68	1,16	0,44

**Tabela A.8** Distribuição de frequências da variável Resposta molecular maior aos 12 meses, por Grupo

Resposta molecular maior aos 12 meses	Grupo		Total
	FC	CB	
Sim	29 (53,7%)	6 (37,5%)	35 (50,0%)
Não	25 (46,3%)	10 (62,5%)	35 (50,0%)
<b>Total</b>	54 (100,0%)	16 (100,0%)	70 (100,0%)

**Tabela A.9** Distribuição de frequências da variável Troca de inibidor, por Grupo

Troca de inibidor	Grupo		Total
	FC	CB	
<b>Sim</b>	18 (34,0%)	15 (93,8%)	33 (47,8%)
<b>Não</b>	35 (66,0%)	1 (6,2%)	36 (52,2%)
<b>Total</b>	53 (100,0%)	16 (100,0%)	69 (100,0%)

**Tabela A.10** Distribuição de frequências da variável Óbito, por Grupo

Óbito	Grupo		Total
	FC	CB	
<b>Sim</b>	3 (5,6%)	13 (81,2%)	16 (22,9%)
<b>Não</b>	51 (94,4%)	3 (18,8%)	54 (77,1%)
<b>Total</b>	54 (100,0%)	16 (100,0%)	70 (100,0%)

**Tabela A.11** PERMANOVA aplicada na situação 1

	Graus de liberdade	Soma de quadrados	Estatística F	Valor-p
<b>Grupo</b>	2	171,68	8,14	0,001
<b>Residual</b>	69	727,81		
<b>Total</b>	71	899,49		

Tabela A.12 PERMANOVA aplicada na situação 2

	<b>Graus de liberdade</b>	<b>Soma de quadrados</b>	<b>Estatística F</b>	<b>Valor-p</b>
<b>Grupo</b>	2	83,74	5,42	0,001
<b>Residual</b>	69	533,12		
<b>Total</b>	71	616,86		

Tabela A.13 PERMANOVA aplicada na situação 3

	<b>Graus de liberdade</b>	<b>Soma de quadrados</b>	<b>Estatística F</b>	<b>Valor-p</b>
<b>Grupo</b>	2	87,93	15,58	0,001
<b>Residual</b>	69	194,70		
<b>Total</b>	71	282,63		

Tabela A.14 Teste post hoc de Bonferroni aplicado na situação 1

<b>Pares</b>	<b>Graus de liberdade</b>	<b>Soma de quadrados</b>	<b>Estatística F</b>	<b>Valor-p</b>	<b>Valor-p ajustado</b>
<b>FC vs CB</b>	1	127,63	11,15	0,001	0,003
<b>FC vs DS</b>	1	44,85	8,27	0,001	0,003
<b>CB vs DS</b>	1	72,33	3,27	0,004	0,001

Tabela A.15 Teste post hoc de Bonferroni aplicado na situação 2

Pares	Graus de liberdade	Soma de quadrados	Estatística F	Valor-p	Valor-p ajustado
FC vs CB	1	59,82	7,06	0,001	0,003
FC vs DS	1	22,63	6,14	0,005	0,015
CB vs DS	1	40,38	2,42	0,047	0,141

Tabela A.16 Teste post hoc de Bonferroni aplicado na situação 3

Pares	Graus de liberdade	Soma de quadrados	Estatística F	Valor-p	Valor-p ajustado
FC vs CB	1	67,81	22,82	0,001	0,003
FC vs DS	1	22,22	12,77	0,001	0,003
CB vs DS	1	31,94	5,93	0,009	0,027

Tabela A.17 Saída do R para a função `nonpartest` aplicada na situação 1

	Estatística	Grau de liberdade 1	Grau de liberdade 2	Valor-p	Valor-p do teste de permutação
<b>ANOVA type test</b>	18,24	8,82	165,16	0,000	0,000
<b>McKeon approx. for the Lawley Hotelling test</b>	14,14	24,00	96,41	0,000	0,000
<b>Muller approx. for the Bartlett-Nanda-Pillai test</b>	9,26	24,97	121,07	0,000	0,000
<b>Wilks Lambda</b>	11,59	24,00	116,00	0,000	0,000

Tabela A.18 Saída do R para a função `nonpartest` aplicada na situação 2

	<b>Estatística</b>	<b>Grau de liberdade 1</b>	<b>Grau de liberdade 2</b>	<b>Valor-p</b>	<b>Valor-p do teste de permutação</b>
<b>ANOVA type test</b>	16,57	6,70	125,43	0,000	0,000
<b>McKeon approx. for the Lawley Hotelling test</b>	14,08	16,00	97,93	0,000	0,000
<b>Muller approx. for the Bartlett-Nanda-Pillai test</b>	10,58	16,66	129,42	0,000	0,000
<b>Wilks Lambda</b>	12,33	16,00	124,00	0,000	0,000

Tabela A.19 Saída do R para a função `nonpartest` aplicada na situação 3

	<b>Estatística</b>	<b>Grau de liberdade 1</b>	<b>Grau de liberdade 2</b>	<b>Valor-p</b>	<b>Valor-p do teste de permutação</b>
<b>ANOVA type test</b>	22,26	6,66	124,74	0,000	0,000
<b>McKeon approx. for the Lawley Hotelling test</b>	13,12	8,00	91,99	0,000	0,000
<b>Muller approx. for the Bartlett-Nanda-Pillai test</b>	11,88	8,34	137,77	0,000	0,000
<b>Wilks Lambda</b>	12,54	8,00	132,00	0,000	0,000

**Tabela A.20** Valores de RTE obtidos pela função `nonpartest` para a situação 1

	<b>FC</b>	<b>CB</b>	<b>DS</b>
<b>TP53</b>	0,54	0,23	0,69
<b>CDKN1A</b>	0,43	0,65	0,67
<b>PTEN</b>	0,51	0,25	0,89
<b>MDM4</b>	0,39	0,64	0,89
<b>MYB</b>	0,50	0,64	0,25
<b>SHIP</b>	0,46	0,57	0,62
<b>EIF4</b>	0,37	0,77	0,82
<b>CEBPB</b>	0,53	0,29	0,64
<b>miR-155</b>	0,38	0,85	0,62
<b>miR-150</b>	0,43	0,53	0,87
<b>miR-34a</b>	0,41	0,82	0,48
<b>miR-17-5p</b>	0,61	0,32	0,13

**Tabela A.21** Valores de RTE obtidos pela função `nonpartest` para a situação 2

	<b>FC</b>	<b>CB</b>	<b>DS</b>
<b>TP53</b>	0,54	0,23	0,69
<b>CDKN1A</b>	0,43	0,65	0,67
<b>PTEN</b>	0,51	0,25	0,89
<b>MDM4</b>	0,39	0,64	0,89
<b>MYB</b>	0,50	0,64	0,25
<b>SHIP</b>	0,46	0,57	0,62
<b>EIF4</b>	0,37	0,77	0,82
<b>CEBPB</b>	0,53	0,29	0,64

**Tabela A.22** Valores de RTE obtidos pela função `nonpartest` para a situação 3

	<b>FC</b>	<b>CB</b>	<b>DS</b>
<b>miR-155</b>	0,38	0,85	0,62
<b>miR-150</b>	0,43	0,53	0,87
<b>miR-34a</b>	0,41	0,82	0,48
<b>miR-17-5p</b>	0,61	0,32	0,13

**Tabela A.23** Saída da função `nonpartest` para o gene TP53

```

~Performing the Subset Algorithm based on Factor levels~
The Hypothesis of equality between factor levels  CB DS FC is rejected
The Hypothesis of equality between factor levels  CB FC is rejected
The Hypothesis of equality between factor levels  CB DS is rejected
All appropriate subsets using factor levels have been checked using a closed
multiple testing procedure, which controls the maximum overall type I error
rate at alpha= 0.05

```

**Tabela A.24** Saída da função `nonpartest` para o gene CDKN1A

```

~Performing the Subset Algorithm based on Factor levels~
The Hypothesis of equality between factor levels  CB DS FC is rejected
The Hypothesis of equality between factor levels  DS FC is rejected
The Hypothesis of equality between factor levels  CB FC is rejected
All appropriate subsets using factor levels have been checked using a closed
multiple testing procedure, which controls the maximum overall type I error
rate at alpha= 0.05

```

**Tabela A.25** Saída da função `nonpartest` para o gene PTEN

```

~Performing the Subset Algorithm based on Factor levels~
The Hypothesis of equality between factor levels  CB DS FC is rejected
The Hypothesis of equality between factor levels  DS FC is rejected
The Hypothesis of equality between factor levels  CB FC is rejected
The Hypothesis of equality between factor levels  CB DS is rejected
All appropriate subsets using factor levels have been checked using a closed
multiple testing procedure, which controls the maximum overall type I error
rate at alpha= 0.05

```

**Tabela A.26** Saída da função `nonpartest` para o gene MDM4

```
~Performing the Subset Algorithm based on Factor levels~  
The Hypothesis of equality between factor levels  CB DS FC is rejected  
The Hypothesis of equality between factor levels  DS FC is rejected  
The Hypothesis of equality between factor levels  CB FC is rejected  
All appropriate subsets using factor levels have been checked using a closed  
multiple testing procedure, which controls the maximum overall type I error  
rate at alpha= 0.05
```

**Tabela A.27** Saída da função `nonpartest` para o gene MYB

```
~Performing the Subset Algorithm based on Factor levels~  
The Hypothesis of equality between factor levels  CB DS FC is rejected  
The Hypothesis of equality between factor levels  DS FC is rejected  
The Hypothesis of equality between factor levels  CB DS is rejected  
All appropriate subsets using factor levels have been checked using a closed  
multiple testing procedure, which controls the maximum overall type I error  
rate at alpha= 0.05
```

**Tabela A.28** Saída da função `nonpartest` para o gene SHIP

```
The Bartlett-Nanda-Pillai type (Muller's F approximation) statistic will be  
used in the following test  
"The Global Hypothesis is not significant, subset algorithm will not  
continue"
```

**Tabela A.29** Saída da função `nonpartest` para o gene EIF4

```
~Performing the Subset Algorithm based on Factor levels~  
The Hypothesis of equality between factor levels  CB DS FC is rejected  
The Hypothesis of equality between factor levels  DS FC is rejected  
The Hypothesis of equality between factor levels  CB FC is rejected  
All appropriate subsets using factor levels have been checked using a closed  
multiple testing procedure, which controls the maximum overall type I error  
rate at alpha= 0.05
```

**Tabela A.30** Saída da função `nonpartest` para o gene CEBPB

```
~Performing the Subset Algorithm based on Factor levels~  
The Hypothesis of equality between factor levels  CB DS FC is rejected  
The Hypothesis of equality between factor levels  CB FC is rejected  
The Hypothesis of equality between factor levels  CB DS is rejected  
All appropriate subsets using factor levels have been checked using a closed  
multiple testing procedure, which controls the maximum overall type I error  
rate at alpha= 0.05
```

**Tabela A.31** Saída da função `nonpartest` para o miRNA miR-150

```
~Performing the Subset Algorithm based on Factor levels~  
The Hypothesis of equality between factor levels  CB DS FC is rejected  
The Hypothesis of equality between factor levels  DS FC is rejected  
The Hypothesis of equality between factor levels  CB DS is rejected  
All appropriate subsets using factor levels have been checked using a closed  
multiple testing procedure, which controls the maximum overall type I error  
rate at alpha= 0.05
```

**Tabela A.32** Saída da função `nonpartest` para o miRNA miR-34a

```

~Performing the Subset Algorithm based on Factor levels~
The Hypothesis of equality between factor levels  CB DS FC is rejected
The Hypothesis of equality between factor levels  CB FC is rejected
The Hypothesis of equality between factor levels  CB DS is rejected
All appropriate subsets using factor levels have been checked using a closed
multiple testing procedure, which controls the maximum overall type I error
rate at alpha= 0.05

```

**Tabela A.33** Saída da função `nonpartest` para o miRNA miR-17-5p

```

~Performing the Subset Algorithm based on Factor levels~
The Hypothesis of equality between factor levels  CB DS FC is rejected
The Hypothesis of equality between factor levels  DS FC is rejected
The Hypothesis of equality between factor levels  CB FC is rejected
All appropriate subsets using factor levels have been checked using a closed
multiple testing procedure, which controls the maximum overall type I error
rate at alpha= 0.05

```

**Tabela A.34** Saída da função `nonpartest` para o miRNA miR-155

```

~Performing the Subset Algorithm based on Factor levels~
The Hypothesis of equality between factor levels  CB DS FC is rejected
The Hypothesis of equality between factor levels  DS FC is rejected
The Hypothesis of equality between factor levels  CB FC is rejected
The Hypothesis of equality between factor levels  CB DS is rejected
All appropriate subsets using factor levels have been checked using a closed
multiple testing procedure, which controls the maximum overall type I error
rate at alpha= 0.05

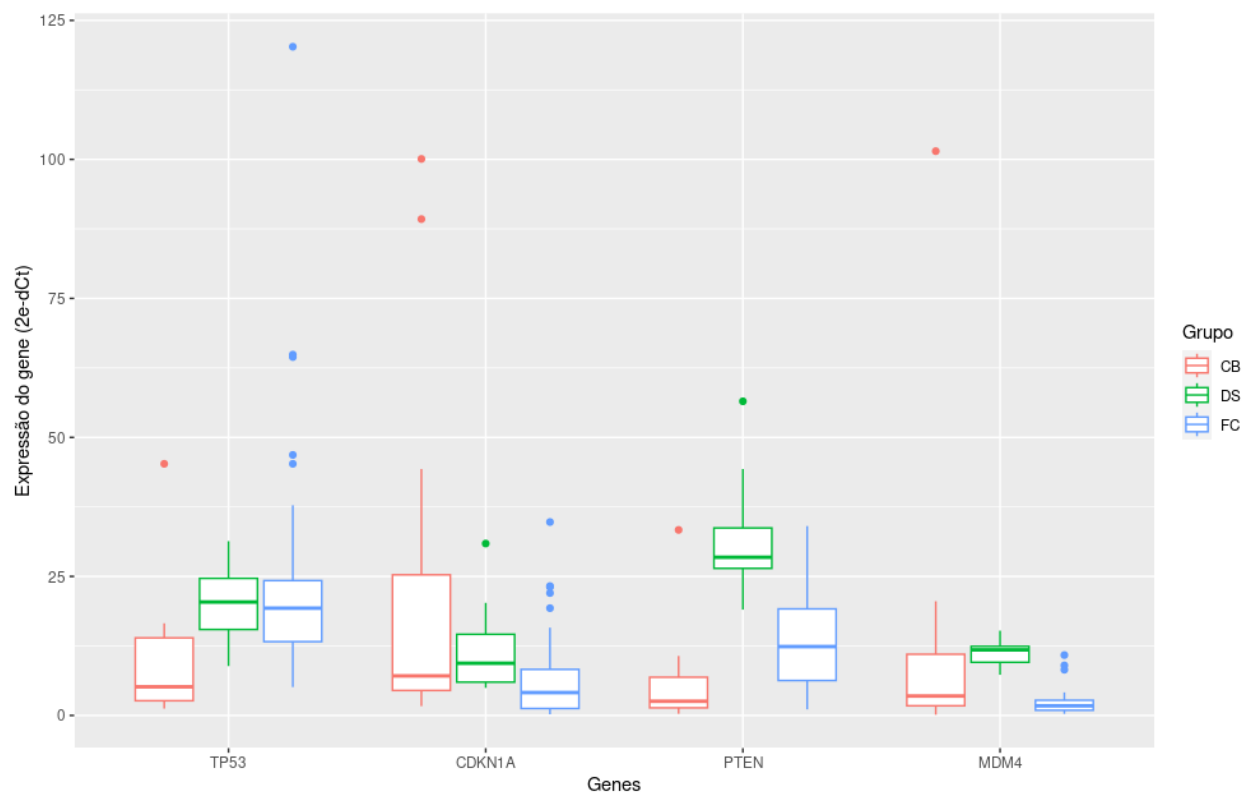
```

**Tabela A.35** Tabela resumo dos resultados dos testes de igualdade entre os grupos para todos os genes e miRNAs. Aqui, o símbolo “=” indica que a função `nonpartest` não rejeitou a igualdade entre os grupos para a expressão do gene / miRNA.

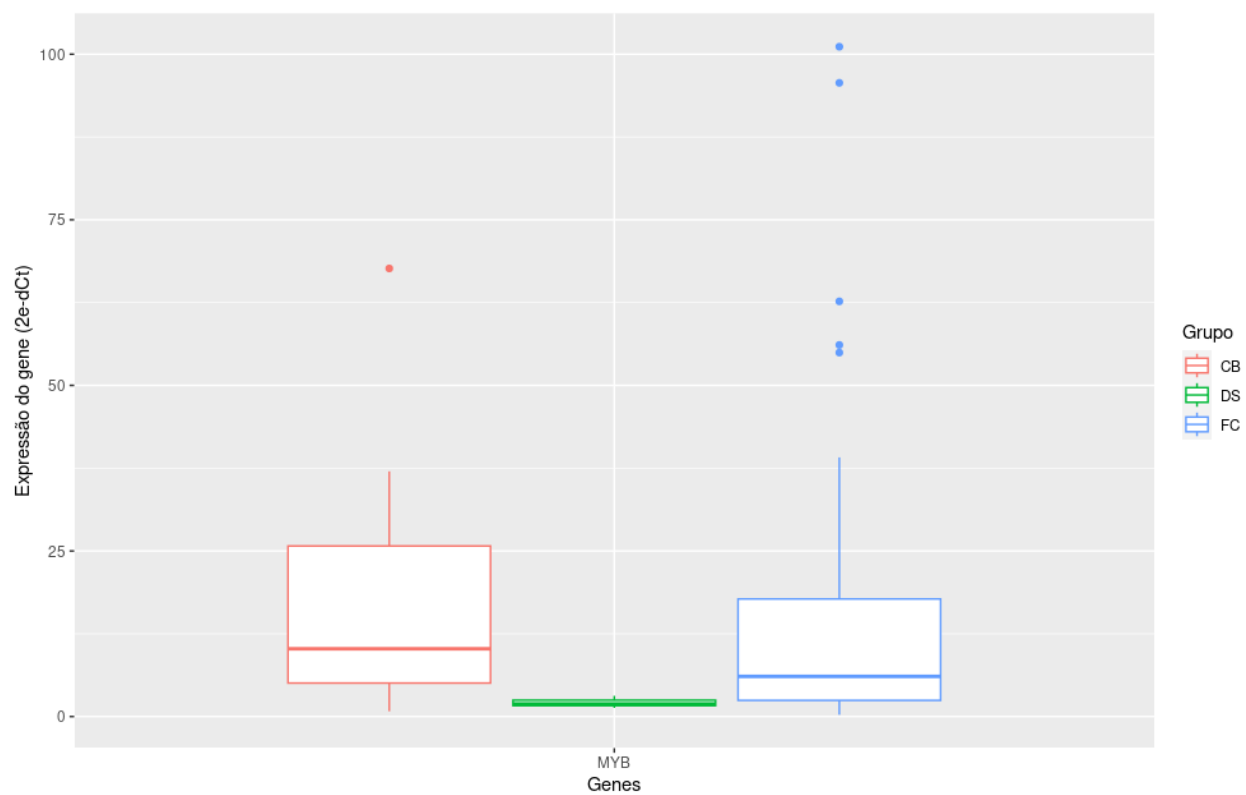
	<b>FC vs. CB</b>	<b>FC vs. DS</b>	<b>CB vs.DS</b>
<b>TP53</b>		=	
<b>CDKN1A</b>			=
<b>PTEN</b>			
<b>MDM4</b>			=
<b>MYB</b>	=		
<b>SHIP</b>			=
<b>EIF4</b>			=
<b>CEBPB</b>	=		
<b>miR-155</b>			
<b>miR-150</b>	=		
<b>miR-34a</b>		=	
<b>miR-17-5p</b>			=

# APÊNDICE B

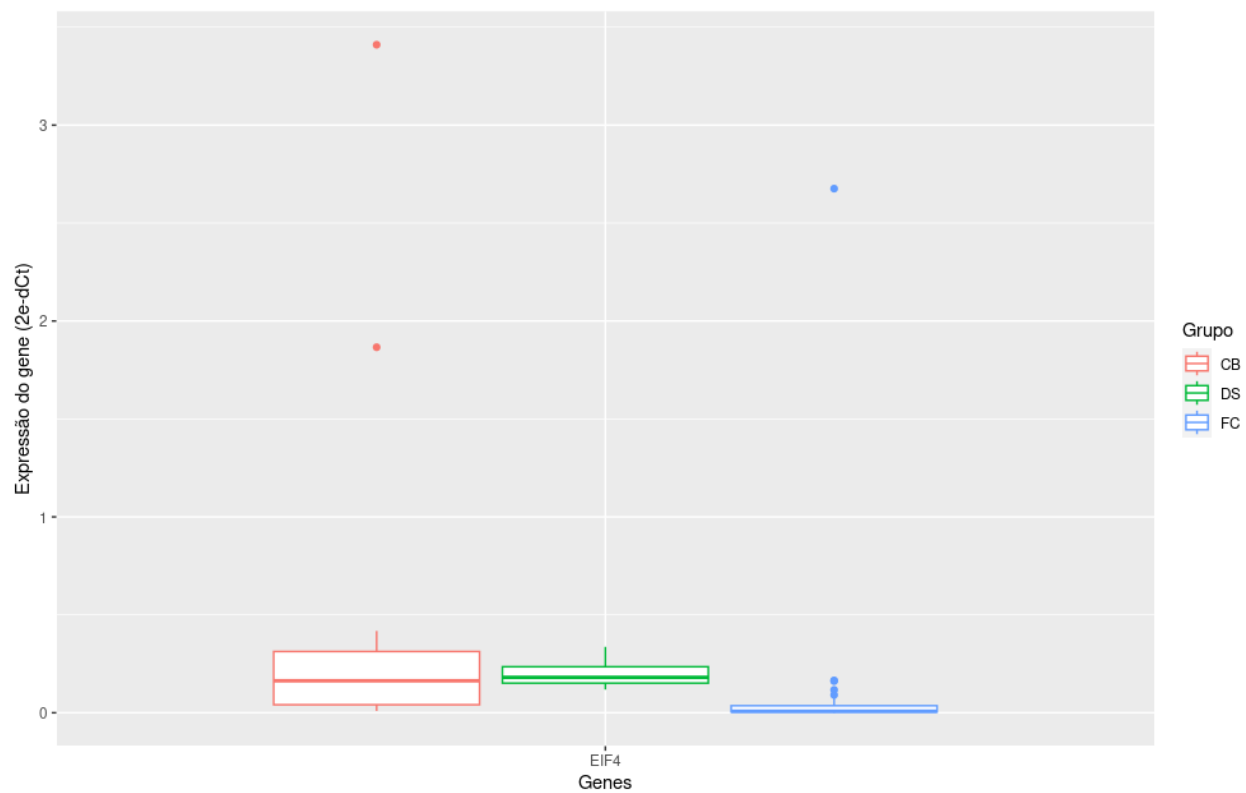
## Figuras



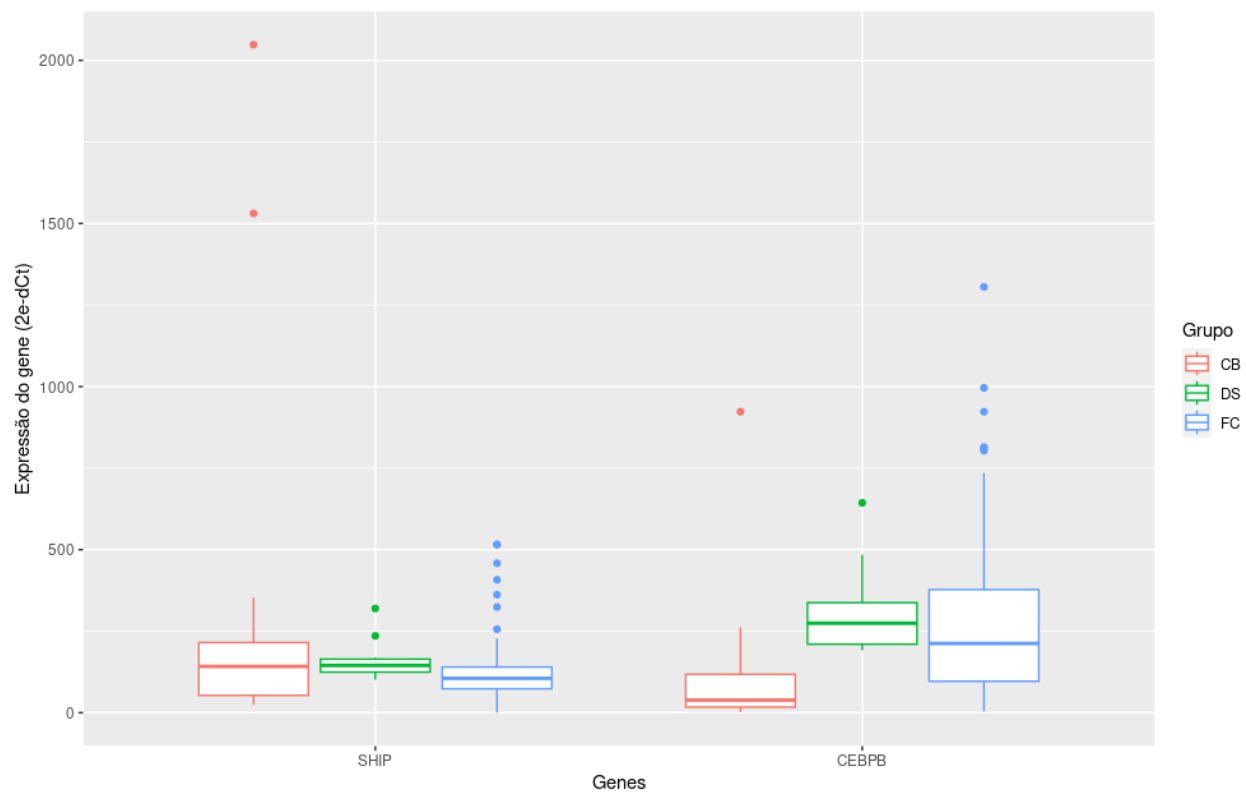
**Figura B.1** *Box plot* para a Medida de expressão dos genes TP53, CDKN1A, PTEN e MDM4, por Grupo



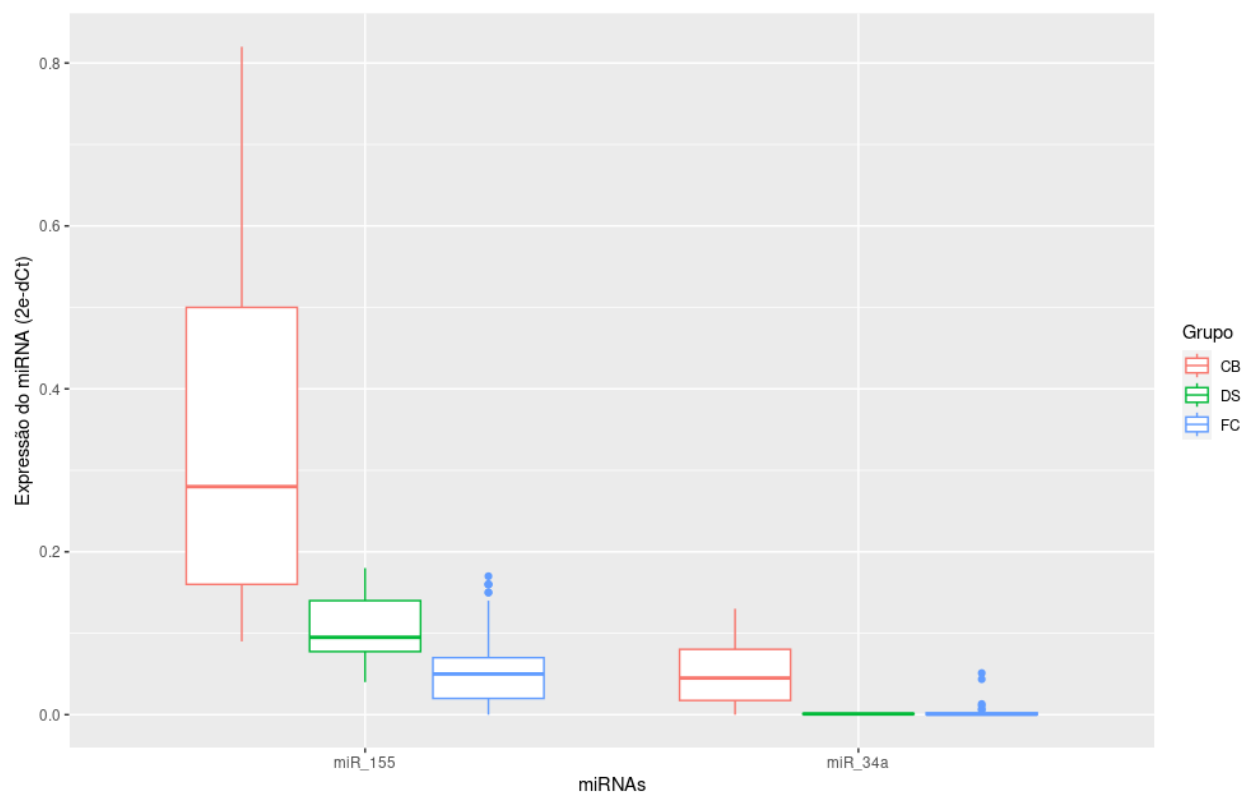
**Figura B.2** *Box plot* para a Medida de expressão do gene MYB, por Grupo



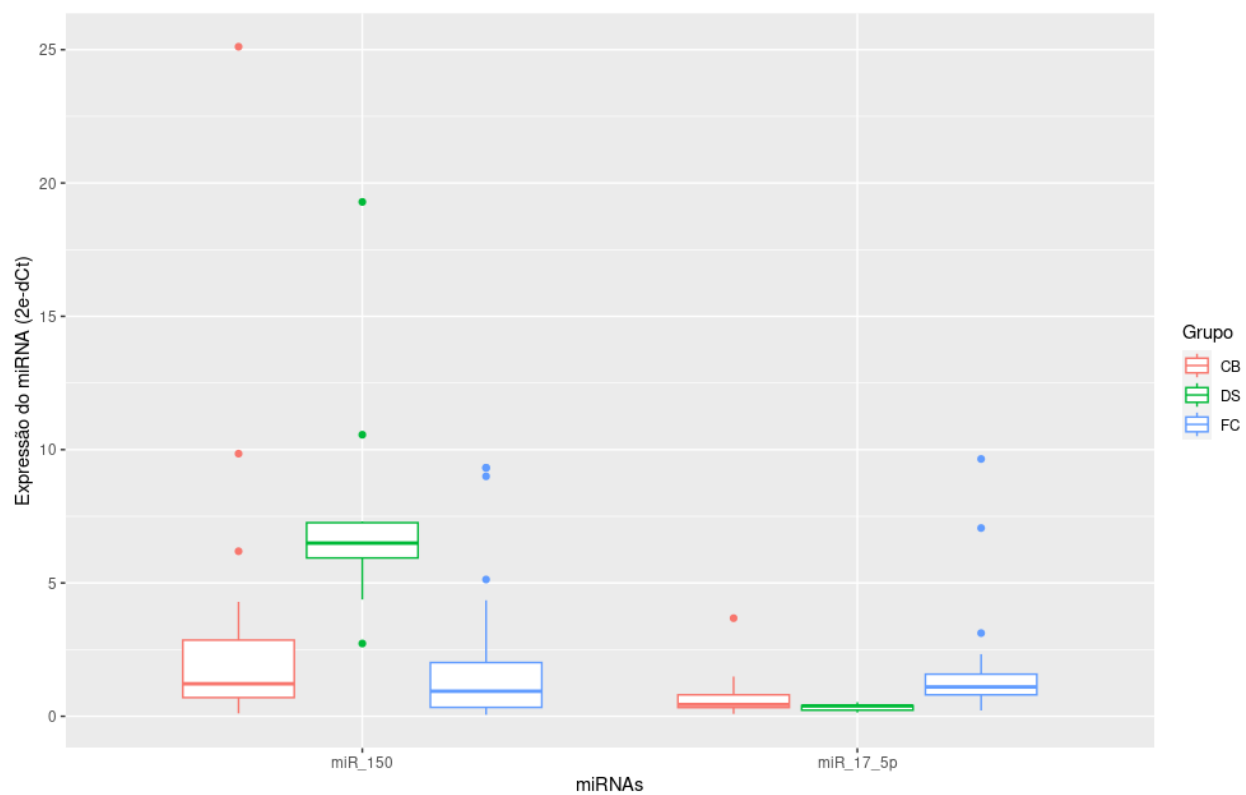
**Figura B.3** *Box plot* para a Medida de expressão do gene EIF4, por Grupo



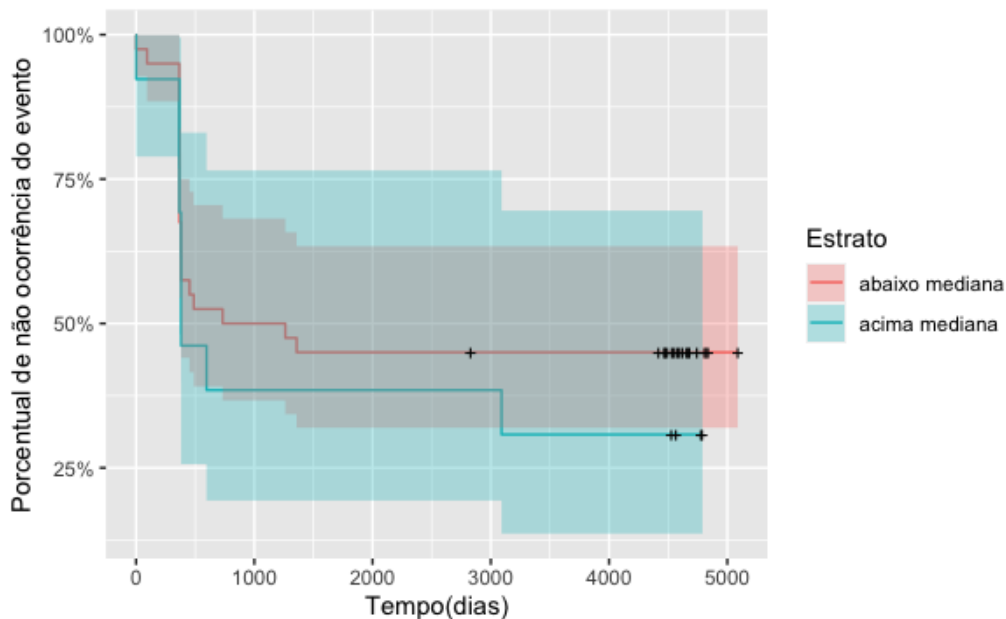
**Figura B.4** *Box plot* para a Medida de expressão dos genes SHIP, e CEBPB, por Grupo



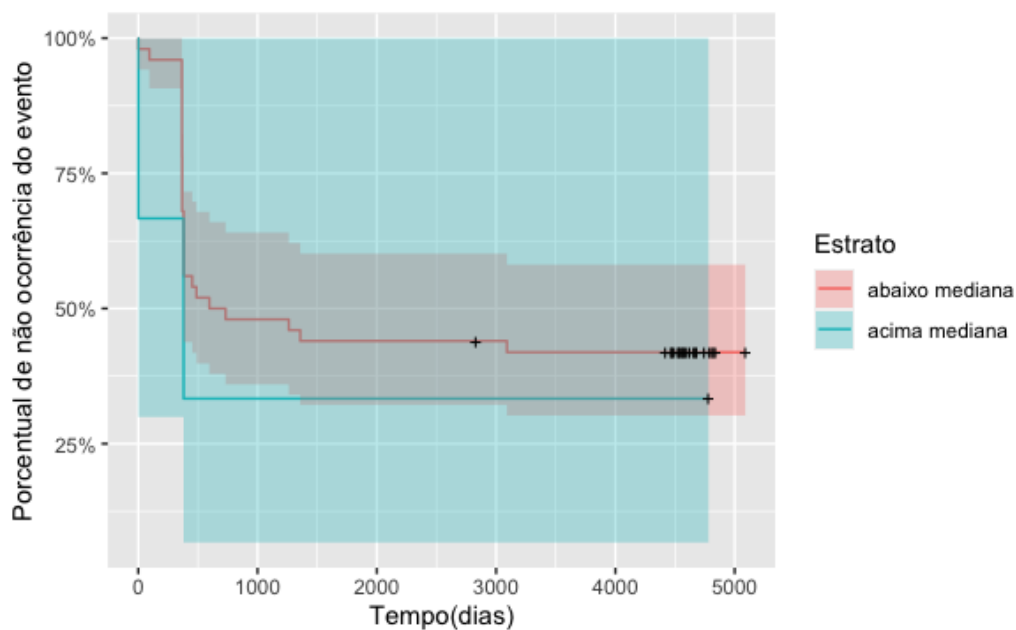
**Figura B.5** *Box plot* para a Medida de expressão dos miRNAs miR-155 e miR-34a, por Grupo



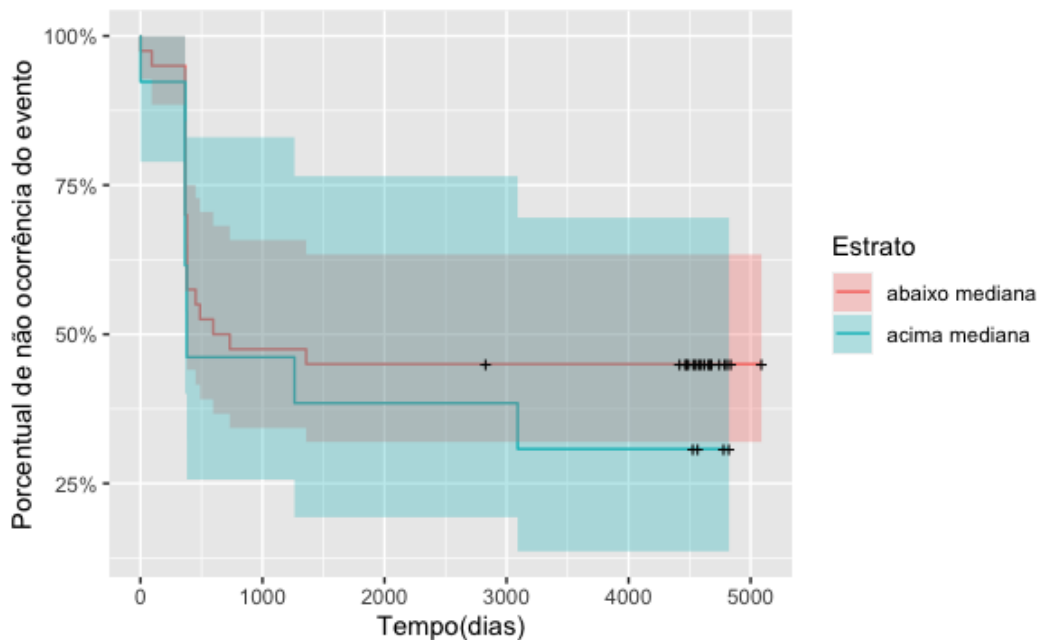
**Figura B.6** *Box plot* para a Medida de expressão dos miRNAs miR-150 e miR-17-5p, por Grupo



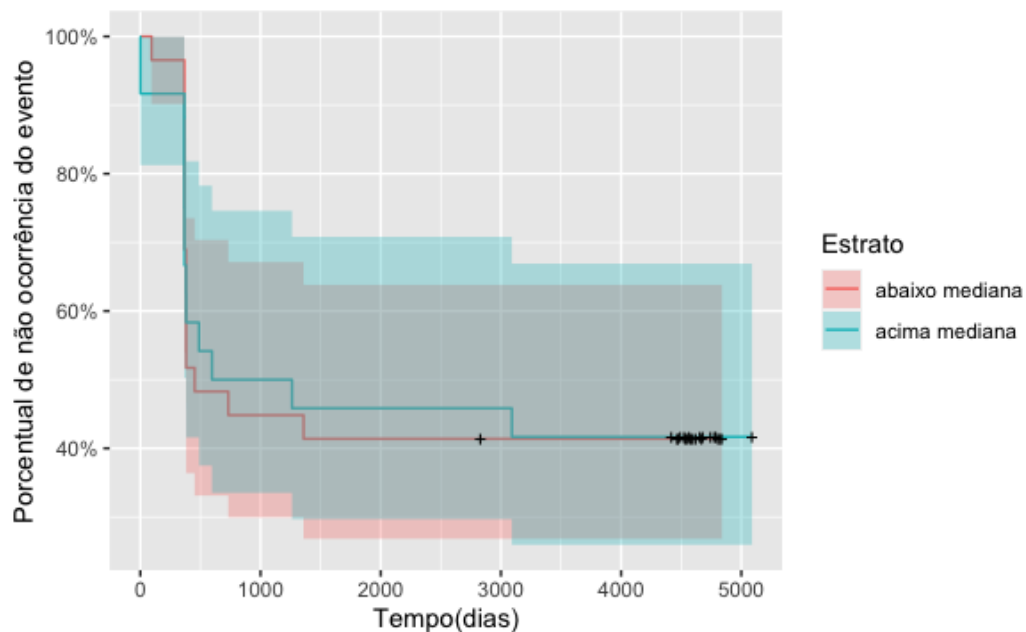
**Figura B.7** Curvas de sobrevivência de pacientes na Fase crônica, por estrato, para o gene CDKN1A



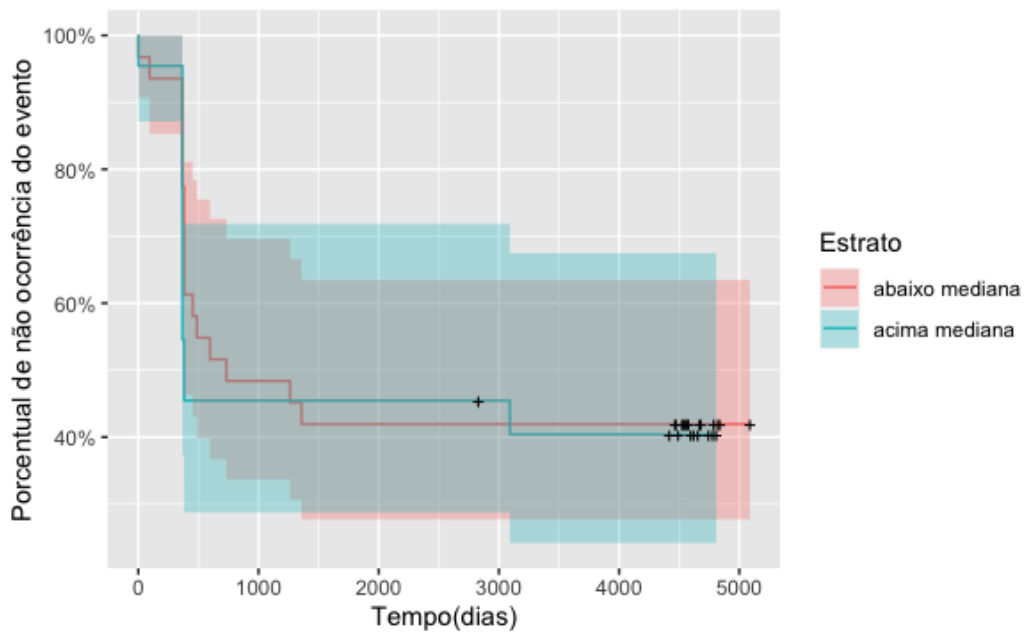
**Figura B.8** Curvas de sobrevivência de pacientes na Fase crônica, por estrato, para o gene PTEN



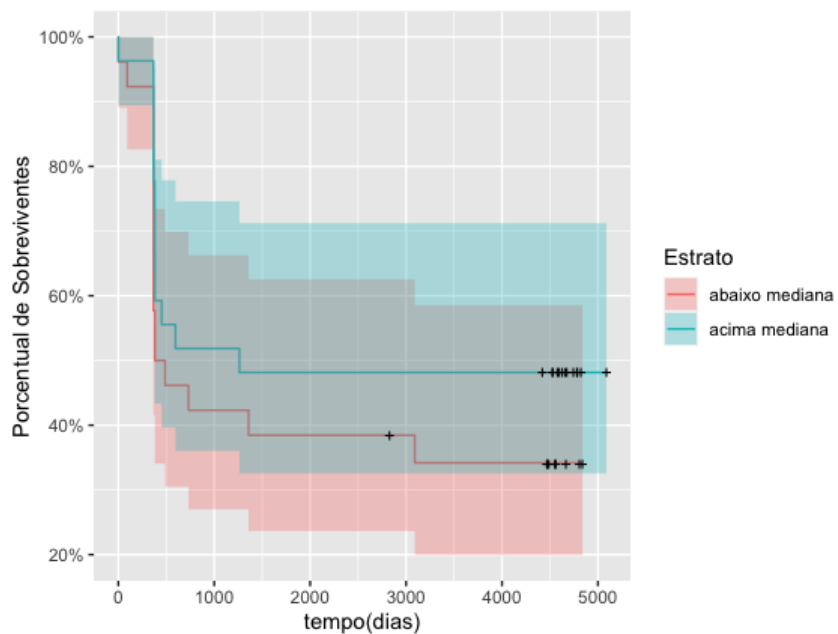
**Figura B.9** Curvas de sobrevivência de pacientes na Fase crônica, por estrato, para o gene SHIP



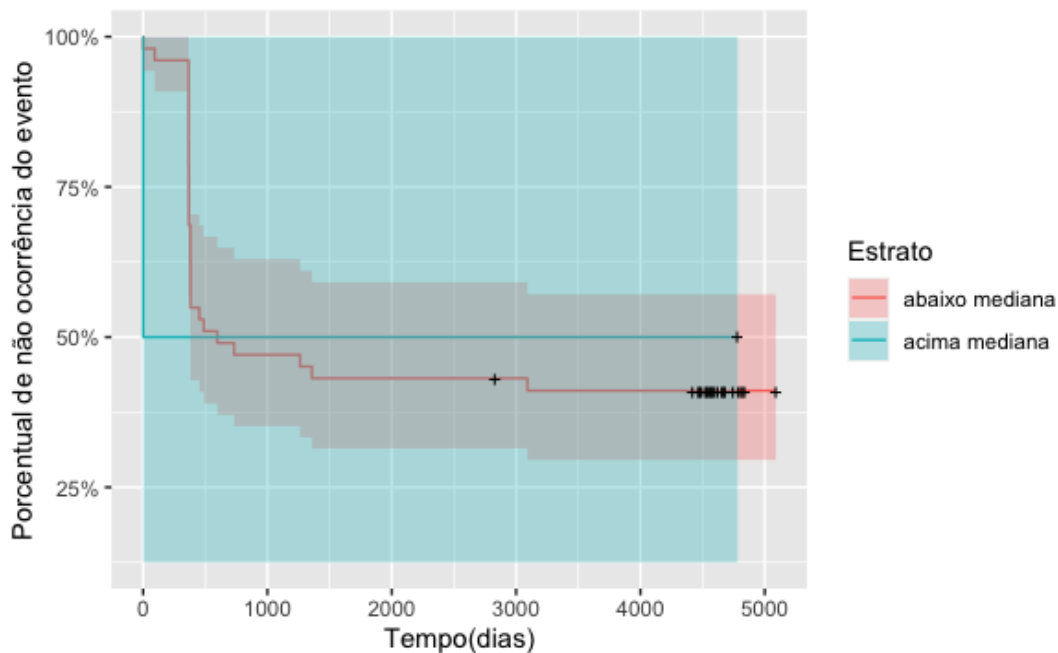
**Figura B.10** Curvas de sobrevivência de pacientes na Fase crônica, por estrato, para o gene CEBPB



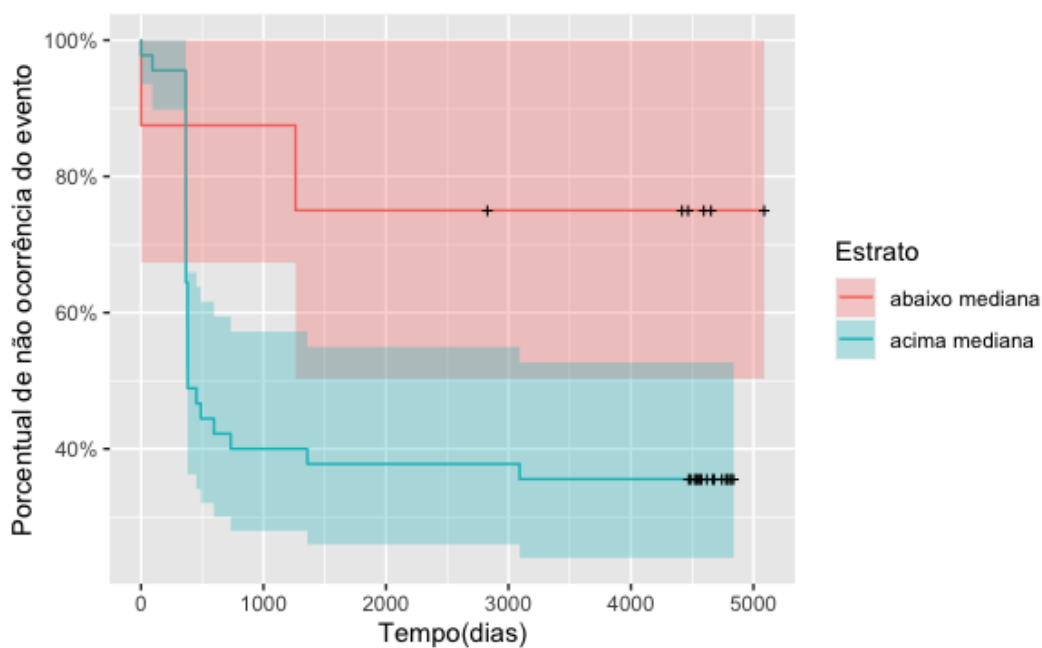
**Figura B.11** Curvas de sobrevivência de pacientes na Fase crônica, por estrato, para o gene TP53



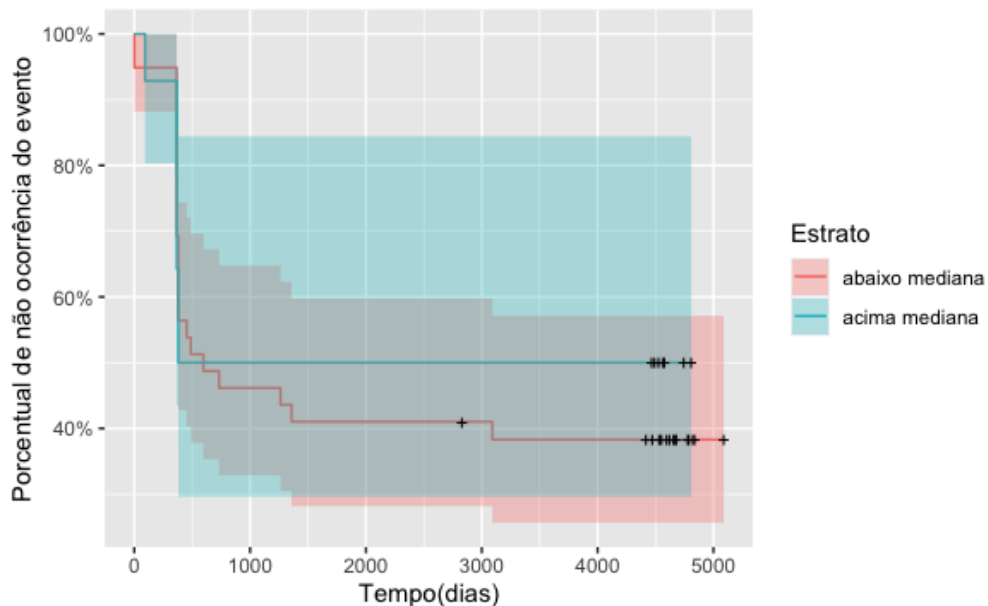
**Figura B.12** Curvas de sobrevivência de pacientes na Fase crônica, por estrato, para o gene MDM4



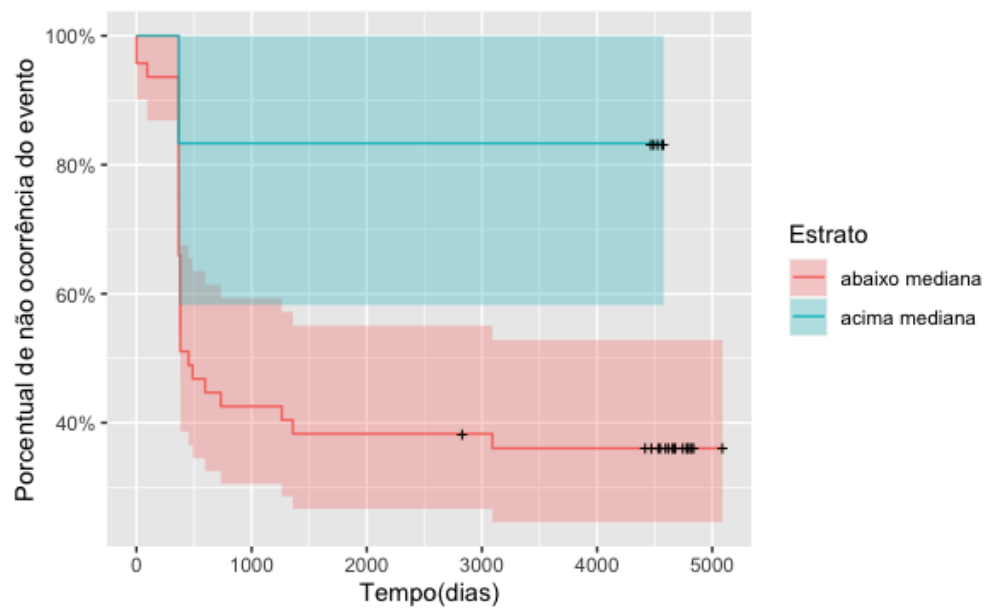
**Figura B.13** Curvas de sobrevivência de pacientes na Fase crônica, por estrato, para o gene EIF4



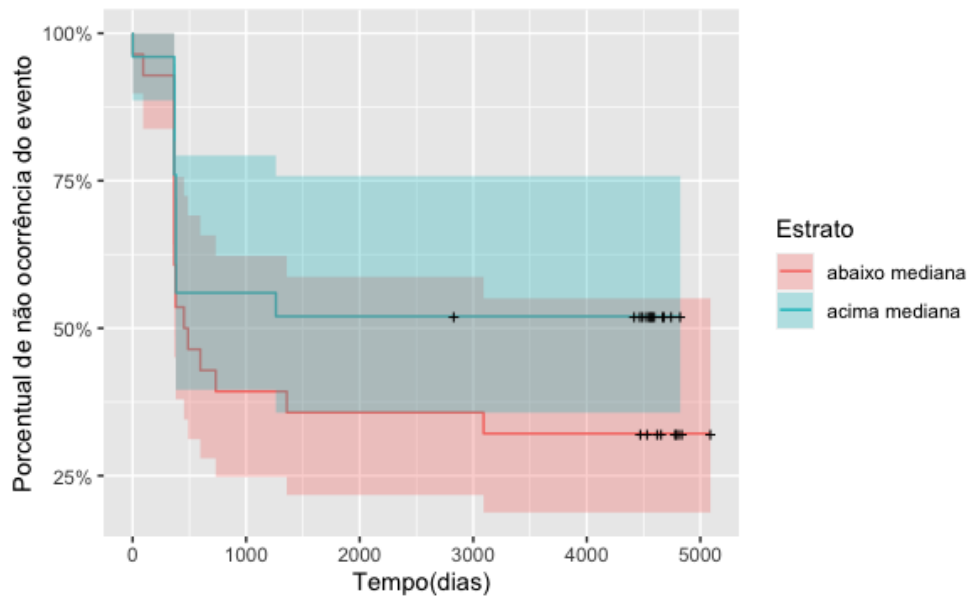
**Figura B.14** Curvas de sobrevivência de pacientes na Fase crônica, por estrato, para o gene MYB



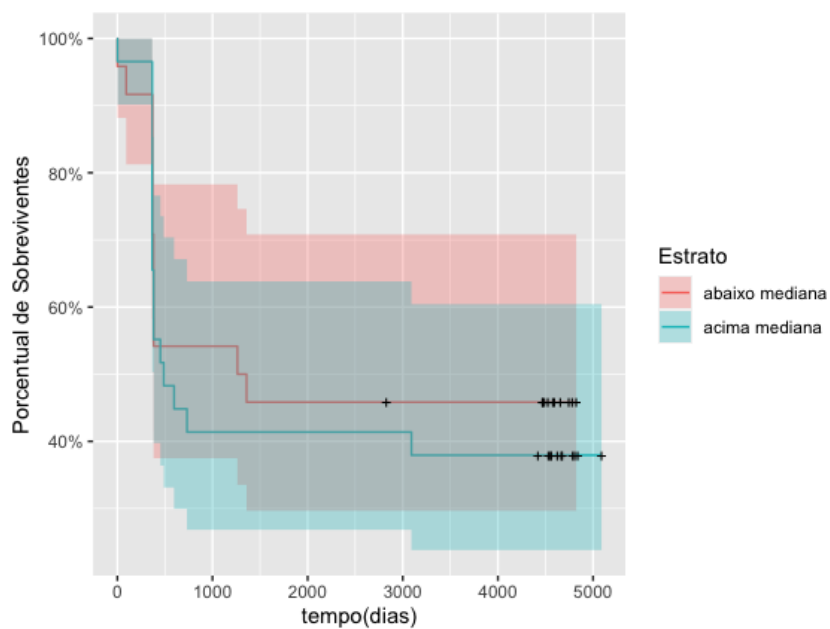
**Figura B.15** Curvas de sobrevivência de pacientes na Fase crônica, por estrato, para o miRNA-155



**Figura B.16** Curvas de sobrevivência de pacientes na Fase crônica, por estrato, para o miRNA-150



**Figura B.17** Curvas de sobrevivência de pacientes na Fase crônica, por estrato, para o miRNA-34a



**Figura B.18** Curvas de sobrevivência de pacientes na Fase crônica, por estrato, para o miRNA-17-5p