

^a Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biomédicas (ICB), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^b Laboratório de Hematologia e Células-Tronco, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brasil

^c Divisão de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, SP, Brasil

^d Laboratório de Investigação Médica em Patogênese e Terapia Dirigida em Onco-Imuno-Hematologia (LIM-31), Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, SP, Brasil

Apesar do desenvolvimento de estratégias terapêuticas para a leucemia linfocítica crônica (LLC), a maioria dos pacientes permanece limitada. Ezrina (EZR) é um oncogene conhecido em tumores sólidos, mas seu papel em neoplasias hematológicas ainda é pouco explorado. Há evidências de que EZR desempenha uma função chave na sobrevivência celular e na ativação da sinalização mediada por BCR em linfomas de células B. Nesse estudo o papel da EZR foi investigado no contexto da LLC. Para estudos de expressão gênica, os dados de expressão de EZR mRNA de doadores saudáveis (n=11) e pacientes com LLC (n=103) foram derivados do banco de dados AmaZonia! (coorte de descoberta). Células CD19+ de sangue periférico foram coletadas de 56 pacientes com LLC e 10 doadores saudáveis pareados por idade do Hospital Universitário da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (coorte de validação). Para os ensaios funcionais e moleculares, amostras de sangue periférico de 24 pacientes com LLC do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo. Todas as amostras foram obtidas após consentimento informado e protocolo aprovado pelo Comitê de Ética. Os dados de RNA-seq foram obtidos do cBioPortal e os transcritos foram pré-classificados de acordo com sua expressão diferencial (alta versus baixa expressão de EZR) usando o pacote limma-voom no Galaxy. A análise de enriquecimento de conjunto de genes (GSEA) foi realizada com os conjuntos de genes Hallmark. A linhagem celular MEC-1 (derivada de LLC) foi cultivada seguindo as recomendações do DSMZ. As células mononucleares de sangue periférico de pacientes com LLC foram cultivadas em RPMI e 10% soro autólogo. NSC305787 foi usado para inibição farmacológica de EZR. A viabilidade celular foi determinada por um ensaio de MTT, as taxas de apoptose foram determinadas por marcação com anexina V/PI e citometria de fluxo (CF), o conteúdo de DNA foi realizado por marcação com PI e CF, a expressão proteica foi determinada por Western Blot. As análises estatísticas foram realizadas usando teste de Mann-Whitney, teste t de Student ou ANOVA e pós-teste de Bonferroni. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. O gene EZR é altamente expresso em linfócitos derivados de pacientes com LLC (todos $p < 0.05$) e essa alta expressão está positivamente associada a vias de sinalização e processos celulares que contribuem para a malignidade desta doença. A GSEA indicou que a alta expressão de EZR foi positivamente associada a vias de sinalização relevantes associadas ao desenvolvimento e progressão da LLC, incluindo p53, PI3K/AKT/mTOR, NFkB e MAPK. Além disso,

demonstramos que a inibição farmacológica do EZR tem efeitos antineoplásicos em células primárias derivadas de pacientes com LLC. Em células MEC-1, a inibição de EZR reduziu a viabilidade, clonogenicidade, progressão do ciclo celular e induziu apoptose. A inibição de EZR também reduz a ativação do ERK, S6RP e NFkB, indicando que EZR não apenas se associa, mas participa da ativação dessas vias de sinalização na LLC. Em conclusão, nossos resultados indicam que EZR é altamente expresso na LLC e associado a assinaturas moleculares relevantes para o desenvolvimento e manutenção da doença. A inibição farmacológica de EZR atenua diversos comportamentos celulares e moleculares associados ao alto risco na LLC e podem apresentar uma nova classe de medicamentos para ampliar o repertório de tratamento desta doença. **Financiamento:** FAPESP, CNPq e CAPES.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.217>

TRICOLEUCEMIA ASSOCIADO A ERITEMA NODOSO - RELATO DE CASO

MFCB Valente^a, KMM Ribeiro^a, PRC Utsch^b, RB Tavares^b, LCLE Silva^a, AA Ferreira^a, STF Grunewald^a

^a Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, MG, Brasil

^b Associação Feminina de Prevenção e Combate ao Câncer de Juiz de Fora (ASCOMCER), Juiz de Fora, MG, Brasil

Introdução: A tricoleucemia ou leucemia de células pilosas é um raro linfoma de células B maduras, com morfologia e imunofenótipo típicos. Apresentamos um caso de tricoleucemia associado a eritema nodoso. **Relato:** Paciente masculino, 53 anos com lesões cutâneas em punho e tornozelo associadas a artralgia, adinamia, febre e perda ponderal de seis quilos em seis meses. Exame físico com esplenomegalia (baço palpável a 4 cm do rebordo costal esquerdo), sem linfonodomegalias. Hemograma revelou pancitopenia com monocitopenia. Esfregaço periférico com linfócitos pilosos. Imunofenotipagem de medula óssea apresentou 18% de linfócitos clonais positivos para CD20, CD19, CD22, CD11c, CD103, CD25 e CD200, além de restrição de cadeia leve kappa. Biópsia de lesão cutânea com paniculite septal, compatível com eritema nodoso. Biópsia de medula óssea hiperclonal para idade (60%), com infiltração por neoplasia linfóide B de pequenas células e grande carga tumoral com positividade para Anexina 1 no estudo imunohistoquímico. **Discussão:** A tricoleucemia é um linfoma B indolente que infiltra difusamente a medula óssea e a polpa vermelha esplênica, com poucas células neoplásicas circulantes em sangue periférico. É um distúrbio raro (< 2% das leucemias linfóides). Acomete principalmente homens de meia idade. A apresentação clínica inclui sintomas de falência medular (fadiga, infecções e sangramentos) associada a esplenomegalia. A monocitopenia é característica. Manifestações cutâneas ocorrem em 12% dos casos. O eritema nodoso é incomum e acontece em qualquer momento do curso da doença, podendo preceder a leucemia. No esfregaço de sangue periférico, os linfócitos clonais estão

em pequena quantidade. São células pequenas redondas ou ovais, com cromatina homogênea, menos condensada que um linfócito não-clonal. Nucléolos estão ausentes. O citoplasma é abundante, com projeções de membrana que conferem o aspecto piloso à célula. A célula de origem é B pós centro germinativo ativada. A mutação BRAF V600E está presente virtualmente em 100% dos casos, com um efeito antiapoptótico. IGHV é mutado em 90%. O imunofenótipo é de B (CD 20+, CD19+, CD22+, CD20+), com expressão de CD11c, CD25 e CD103. A coloração para Anexina 1 é positiva na imunohistoquímica de MO. **Conclusão:** Na investigação de casos de pancitopenia com esplenomegalia, o esfregaço de sangue periférico deve ser realizado para análise morfológica, associado à imunofenotipagem para determinar a célula de origem. A biópsia de medula óssea quantifica a infiltração tumoral. Lesões cutâneas estão presentes na minoria dos casos e o diagnóstico diferencial dermatológico deve ser auxiliado pela realização

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.218>

IGHV: FREQUÊNCIA E MUTAÇÕES PRESENTES EM BRASILEIROS COM LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA

AC Narciso, CC Martino, BR Luiz, KFC Martho, DCS Pereira, AF Sandes, ML Chauffaille

Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A determinação do estado da hipermutação somática (HMS) da região variável da cadeia pesada do gene IGH (IGHV) é um marcador utilizado para estratificação de risco de prognóstico e auxílio na decisão clínica em pacientes com LLC. Essa determinação deve-se ao sequenciamento das regiões V-D-J que formam a porção de ligação ao antígeno. **Objetivos:** Foi realizado um estudo retrospectivo entre outubro/2020 e maio/2022 da análise do estado mutacional de IGHV em pacientes com LLC, atendidos pelo Grupo Fleury. **Materiais e métodos:** 1283 amostras de sangue periférico foram coletadas de pacientes diagnosticados com LLC, 731 homens e 552 mulheres, com mediana de idade de 55,5 anos. O RNA obtido foi processado e analisado de acordo com os critérios previamente descritos pelo *European Research Initiative on Chronic Lymphocytic Leukemia* (ERIC). **Resultados:** Foi possível determinar o estado mutacional de 93% (n = 1197) das amostras analisadas. 5% foram consideradas limítrofe (97% - 97,99% de identidade) e 2% classificados como casos problemáticos (rearranjo não produtivo ou policlonalidade), sem possibilidade de interpretação. Uma única população de IGHV foi observada em 83% (n = 1071), enquanto em 10% (n = 84) mais de uma população. Os rearranjos mais frequentes foram: IGHV1-69 (n = 166), IGHV4-34 (n = 89), IGHV3-23 (n = 84). Em relação ao estado mutacional, 56% (n = 718) foram não mutados, dentre eles, 21% (n = 272) do subgrupo IGHV-1, 19% (n = 249) IGHV-3, 11% (n = 139) IGHV-4, 2% (n = 25) IGHV-2, 2% (n = 27) IGHV-5, 0,3% (n = 4) IGHV-6 e 0,1% (n = 2) IGHV-7. Rearranjos mutados corresponderam a 40% (n = 511), dos quais 20% (n = 264) IGHV-3, 11% (n = 137) IGHV-4, 5% (n = 66) do subgrupo IGHV-1, 2% (n = 23) IGHV-2, 1% (n = 13) IGHV-5, 0,5%

(n = 6) IGHV-6 e 0,1% (n = 2) IGHV-7. Além disso, dentre os rearranjos da família IGHV-3, 9% (n = 42) pertenciam ao IGHV3-21 caracterizado como estereótipo #2, associado a prognóstico desfavorável independentemente da presença de mutação. Outros estereótipos de importância clínica foram observados em menor frequência: i) estereótipo #4 IGHV4-34/IGHD5-18/IGHJ6, observado em 2% (n = 3) dos rearranjos IGHV4 mutados, associado a maior predisposição para transformação Richter; ii) estereótipo #8 IGHV4-39/IGHD6-13/IGHJ6, em 13% (n = 18) dos IGHV4 não mutados, relacionado a pouca idade no diagnóstico e curso clínico indolente em comparação aos outros rearranjos de IGHV mutados. **Discussão:** Foi possível obter um resultado direto e confiável em 93% das amostras e apenas 2% foram inconclusivas. Esses resultados são concordantes com dados obtidos em estudos previamente publicados, nos quais foi observado o rearranjo IGHV1-69 em maior frequência, seguido do IGHV4-34 e IGHV3-23. Da mesma forma, a proporção de casos mutados e não mutados aqui apresentados corroboram com os dados vistos na América Latina cujas taxas de não mutados são maiores que os mutados. **Conclusão:** Foi possível caracterizar HMS em IGHV, em pacientes com LLC, avaliar o prognóstico sob esse aspecto e consequentemente supor resposta a terapia ou desenlace. Com isso, reforçamos a importância de fornecer esses resultados devido à sua comprovada relação com a estratificação de risco e auxílio na decisão clínica.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.219>

SEVERE PAPULAR ECZEMA SKIN REACTION AFTER INTRAVENOUS IMMUNOGLOBULIN INFUSION IN PATIENT WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA: A CASE REPORT

XPH Condori, AA Hofmann, CK Weber, CE Wiggers, EW Correa, F Dortzbacher, RS Ferrelli, T Callai, A Paz, T Soares, T Hanemann, RR Bonamigo

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA),
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS),
Porto Alegre, RS, Brazil

Introduction: Hypogammaglobulinemia is a common finding in Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). Their etiology is multifactorial, due to disease-related immune defects and chemo-immunotherapy treatment as Rituximab. It is present in up to 85 % of patients at some point in their disease course. It is therefore important to monitor patients for the development of an antibody deficiency due to being susceptible to infections. Strategies to prevent infections in patients with secondary antibody deficiencies include replacement Immunoglobulin (Ig). However, nearly 6% develop skin reaction Ig associated, a rare adverse event reported only in case reports. **Case report:** A 64 years-old man was diagnosed with CLL in 2011. Despite treatment with Chlorambucil, in July 2013, the patient had therapeutic failure, so he switched to a 2nd-line regimen, with intravenous chemotherapy with cyclophosphamide, vincristine and prednisone for 2 cycles. In September 2013, due to disease progression, he was switched to a