

Flow Diagnósticos, São Paulo, Brazil

**Introduction:** Chronic myelomonocytic leukemia (CMML) is a clonal hematopoietic disorder that exhibits both myelodysplastic and myeloproliferative features. Progression to acute monocytic leukemia is a notable complication, especially in elderly patients. This case report describes the transformation of CMML to acute monocytic leukemia in an 84-year-old male patient, emphasizing the importance of regular monitoring and timely intervention. **Case report:** M.O., an 84-year-old male, was diagnosed with CMML in August 2020. During a routine follow-up in July 2024, he presented with extensive bruising but no other apparent complaints. At the initial diagnosis, bone marrow studies revealed morphological abnormalities in granulocytic, erythroid, and megakaryocytic lineages with 2% blasts and 18% mature monocytes. Immunophenotyping showed 15.7% monocytic lineage cells, including 11.8% mature monocytes, 2.9% promonocytes, and 1.0% monoblasts and morphological dysplasia. Cytogenetic analysis identified a clone with deletion of part of the long arm of chromosome 20 in 2 out of 20 metaphases analyzed, with the remaining metaphases being normal (46,XY, del(20)(q12)[2]/46,XY[18]). The complete blood count (CBC) at diagnosis was Hb: 15.6 g/dL, WBC: 6,600/mm<sup>3</sup> (Basophils: 66/mm<sup>3</sup>, Neutrophils: 3,102/mm<sup>3</sup>, Eosinophils: 66/mm<sup>3</sup>, Lymphocytes: 1,122/mm<sup>3</sup>, Monocytes: 2,244/mm<sup>3</sup>), and Platelets: 101,000/mm<sup>3</sup>. During the current visit in July 2024, CBC showed Hb: 11.5 g/dL, WBC: 9,400/mm<sup>3</sup> (Basophils: 564/mm<sup>3</sup>, Neutrophils: 5,452/mm<sup>3</sup>, Lymphocytes: 1,222/mm<sup>3</sup>, Monocytes: 1,598/mm<sup>3</sup>, Blasts: 6%) with hypogranular neutrophils, and Platelets: 32,000/mm<sup>3</sup>. The presence of 6% blasts suggested disease progression. A repeat bone marrow examination confirmed disease evolution, showing massive infiltration by medium to large blasts with a moderate nucleocytoplasmic ratio, loose chromatin, basophilic cytoplasm, and frequent microvacuolizations with highly aberrant morphology. Immunophenotyping confirmed these cells to be immature with moderate CD45 expression and moderate internal complexity, exhibiting the following phenotype: positive for CD13 (weak), CD33 (strong), CD38 (strong), CD45 (moderate), CD56 (strong), CD64 (moderate), and cMPO (weak), and negative for cCD3, CD4, CD7, CD10, CD11b, CD14, CD16, CD19, CD34, cCD79a, CD117, CD123, IREM-2, and HLA-DR. Cytogenetic analysis revealed a clonal expansion with complex karyotyping (48,XY,+8,+8[12]/49,idem,+mar[3]/46,XY[5]). **Discussion:** The progression of CMML to acute monocytic leukemia is marked by an increase in blasts in both peripheral blood and bone marrow, along with notable changes in hematological parameters. This case demonstrates the transformation of CMML, corroborated by immunophenotyping and morphological studies. The presence of trisomy 8 and complex karyotype might be associated with a poor prognosis in CMML patients, often correlating with more aggressive disease and reduced overall survival. Identifying specific immunophenotypic markers is critical for diagnosing and differentiating acute monocytic leukemia. **Conclusion:** This case highlights the necessity of regular monitoring and timely reassessment of CMML patients. The transition to acute leukemia, a known complication, demands prompt diagnosis and intervention to manage the disease effectively.

## O SILENCIAMENTO DE RHOA PROVOCA ALTERAÇÕES EM LARGA ESCALA NA EXPRESSÃO GÊNICA GLOBAL DE CÉLULAS DE LEUCEMIA

MCC Ramalho<sup>a</sup>, SSC Sampaio<sup>a</sup>, ASS Duarte<sup>b</sup>, STO Saad<sup>b</sup>, M Lazarini<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

<sup>b</sup> Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

**Introdução:** RHOA é uma proteína Rho GTPase crucial no controle da dinâmica do citoesqueleto. Além disso, Rho GTPases também regulam a expressão gênica. A expressão de RHOA está desregulada e foi associada ao pior prognóstico em diversos tipos de câncer. Porém, suas funções em células leucêmicas ainda não foram exploradas. **Objetivo:** Explorar as vias de sinalização associadas a RHOA em células leucêmicas através da análise de transcriptoma (RNA-seq). **Materiais e métodos:** Células da linhagem mieloide OCI-AML3 foram silenciadas para RHOA com lentivírus específico (shRHOA). Células transduzidas com lentivírus controle foram utilizadas para comparação (shCTRL). O silenciamento foi confirmado por PCR em tempo real e western blot, e a expressão gênica global foi avaliada por RNAseq (Illumina). Uma lista de genes diferencialmente expressos com significância estatística definida em  $p < 0.05$  ( $FDR \leq 0.05$ ) foi gerada após o processamento dos dados. Análises de enriquecimento de genes e vias de sinalização alteradas foram realizadas com software *Gene Set Enrichment Analysis* (GSEA) e a plataforma STRING. **Resultados:** Observamos uma redução de expressão gênica e proteica acima de 80% nas células shRHOA em comparação as células shCTRL. Células silenciadas para RHOA apresentaram expressão diferencial de 222 genes em comparação as células shCTRL (130 genes super expressos e 92 genes menos expressos). Observamos alteração na expressão de genes associados a múltiplos processos celulares, incluindo (a) proliferação e diferenciação celular; (b) componentes da MEC; (c) reorganização do citoesqueleto; (d) reparo e morte celular; (e) degradação de proteínas; (f) transporte e sinalização celular; (g) metabolismo celular e (h) sistema imune. Dentre os genes alterados, LHX2, NKD2 e FAT1 foram genes encontrados com menor valor de expressão, enquanto genes como FN1, CADM1 e FGF2 demonstraram maior valor de expressão em células shRHOA em comparação a shCTRL. **Discussão:** O grande número de genes cuja expressão foi alterada pelo silenciamento de RHOA indica que esta proteína possui funções cruciais em células mieloides. Estes achados estão de acordo com o fenótipo observado pelo nosso grupo de pesquisa: redução da proliferação, migração, adesão e alterações no citoesqueleto de células shRHOA em comparação as células shCTRL. **Conclusão:** Nossos dados são promissores fornecem novas direções quanto às vias de sinalização envolvidas na alteração fenotípica induzida pelo silenciamento de RHOA em células leucêmicas. RHOA tem se mostrado importante em células leucêmicas e explorar as vias de sinalização associadas a esta proteína pode levar a descoberta de novos alvos terapêuticos. **Financiamento:** FAPESP.