

prognóstico e alvo molecular para leucemia mieloide aguda. A ezrina é uma importante proteína associada ao citoesqueleto e que permite a transdução de sinal entre proteínas de membrana e filamentos de actina. O objetivo do presente estudo foi verificar o impacto da inibição farmacológica de ezrina sobre a viabilidade, crescimento clonal autônomo e expressão gênica em modelos celulares de LLA. **Material e métodos:** A linhagens celulares leucêmicas Jurkat (PTEN mutada) NALM6 (ETV6-EBF1) e REH (ETV6-RUNX1) foram tratadas com concentrações crescentes dos inibidores de ezrina, NSC305787 e NSC668394. A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio de MTT, o crescimento de colônias autônomas por cultivo em metilcelulose na ausência de fatores de crescimento, análises de expressão gênica foram realizadas por PCR quantitativo para a avaliação da expressão de genes relacionados ciclo celular e à apoptose. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste ANOVA e pós-teste de Bonferroni e um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. **Resultados:** O tratamento com ambos os inibidores foi capaz de reduzir significativamente a viabilidade celular de células Jurkat, NALM6 e REH de forma dependente de concentração ($p < 0,05$). O composto NSC305787 apresentou maior potência e eficácia que o NSC668394, portanto o composto NSC305787 foi selecionado para continuidade dos estudos. Os valores de IC_{50} para o composto NSC305787 foram de $5.1 \mu M$ para Jurkat, $3.3 \mu M$ para NALM6 e $4.3 \mu M$ para REH no tempo de tratamento de 24 horas. O tratamento em longo prazo com NSC305787 reduziu o crescimento clonal autônomo de células Jurkat, NALM6 e REH de forma dependente de concentração ($p < 0,05$). Um painel de 12 genes relacionados ao ciclo celular e apoptose foi investigado por RT-PCR quantitativo. NSC305787 ($1,6 \mu M$ por 24 horas), regulou negativamente CCNA2, e regula positivamente CDKN1A, BCL2L1 e BIM ($p < 0,05$) em células Jurkat; regulou negativamente CCNA2 e BCL2, e positivamente BCL2L1, BAX e BAD em células NALM6; regulou negativamente CCNA2 e CCNB1 e regula positivamente CDKN1A, CDKN1B, BCL2L1, MCL1 e BAX em células REH. **Discussão:** A regulação negativa de genes relacionados a progressão do ciclo celular (CCNA2 e CCNB1) e resposta antiapoptótica (BCL2) e regulação positiva de genes relacionados a parada de ciclo celular (CDKN1A, CDKN1B), genes pró apoptóticos (BAX) apóiam a hipótese de que NSC305787 esteja envolvido com mecanismos de indução de morte celular. **Conclusão:** Nossos resultados indicam que o inibidor de ezrina, NSC305787, apresenta efeitos antileucêmicos em LLA, incluindo redução da viabilidade e clonogenicidade. Apoio: CNPq, CAPES e FAPESP.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.268>

INVESTIGAÇÃO DE MUTAÇÕES EM NEOPLASIAS MIELOIDES UTILIZANDO UM PAINEL MULTIGENE DE SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO

FK Marques ^{a,b}, FLO Marinho ^a, SSS Araújo ^c,
AP Sabino ^b

^a Pesquisa e Desenvolvimento, Instituto Hermes
Pardini, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de
Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

^c Hospital das Clínicas, Universidade Federal de
Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: As neoplasias mieloides (NMs) são um grupo heterogêneo de neoplasia hematológica que inclui a leucemia mieloide aguda (LMA), síndromes mielodisplásicas (SMD), neoplasias mieloproliferativas (NMP) e as neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas (SMD/NMP). A classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS) para NM tem consolidado a importância das alterações moleculares no diagnóstico e prognóstico dessas neoplasias. Com a crescente utilização da abordagem genômica nos estudos de NMs, novos biomarcadores moleculares tem se mostrado relevantes para o prognóstico e terapêutica. Painéis multigenes de sequenciamento de nova geração (NGS) permitem uma análise mais completa de alterações genéticas diversas, como variantes de nucleotídeo único (SNV), pequenas deleções e inserções, dentre outras. Entretanto, os benefícios da utilização de painel de NGS na investigação das NMs não estão totalmente definidos. **Objetivo:** Investigar mutações gênicas em pacientes com diagnóstico de NM. **Metodologia:** Entre novembro/2019 e julho/2021 foram coletadas 30 amostras de sangue periférico ou medula óssea de pacientes com diagnóstico de NM, no serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFMG. Amostras de DNA e RNA de cada paciente foram sequenciadas utilizando o painel Oncomine Myeloid Assay (Thermo Fisher Scientific), com sequenciamento de 40 genes (23 hotspots e 17 genes completos), fusões gênicas envolvendo 29 genes drivers e análise de expressão dos genes MECOM, WT1, MYC, SMC1A e BAALC. **Resultados:** Foram sequenciadas amostras de 30 pacientes: 11 SMD (36,7%), 10 (33,4%) LMA, 6 NMP (20,0%), 2 SMD/NMP (6,7%) e uma leucemia aguda de fenótipo misto (3,3%). A mediana de idade foi de 52 anos (18 a 83 anos). Dezenove pacientes (63,3%) eram do sexo masculino e 11 (36,7%) do sexo feminino. Em 26 casos (86,7%) foi detectada pelo menos uma mutação, com o número por caso variando de 1 a 5. Foram detectadas um total de 57 mutações em 22 genes, sendo mais frequentes as mutações em TET2, IDH2, FLT3 (ITD) e ASXL1. Foram detectadas mutações em todos os casos de LMA, destacando-se também pelo maior número de mutações, sendo mais frequente a mutação FLT3 -ITD. As mutações FLT3 -ITD tiveram razão alélica mutante/selvagem maior que 0,5; todas confirmadas por eletroforese capilar. Na SMD destacam-se as mutações em TET2 e ASXL1. Mutações em TET2 também foram as mais frequentes na NPM e SMD/NMP. Em 12 casos (40%) foi detectada pelo menos uma mutação em genes associados a prognóstico adverso, como FLT3, ASXL1, TP53, RUNX1, U2AF1 e DNMT3A. Dez (33,3%) pacientes evoluíram para óbito, sendo quatro casos de LMA (três FLT3 -ITD e um RUNX1 mutado) e um caso de SMD AREB-2 com TP53 mutado e cariótipo complexo com monossomia de 17. Detectamos as fusões RUNX1-RUNX1T1, KMT2A-MLLT3 e PICALM-MLLT10 na LMA; e BCR-ABL1 na LMC. Mutações em TET2, SF3B1 e IDH2 foram detectadas em três casos de NPM triplo negativa. Em dois casos de LMA foi observado aumento da expressão de MYC e SMC1A. **Discussão e conclusão:** Neste estudo detectamos uma alta frequência e co-ocorrência de mutações, algumas associadas



à prognóstico adverso. A expressão aumentada de MYC e SMC1A parece estar associada a prognóstico adverso, mas há poucos estudos mostrando a relevância das análises de expressão nas NMs. Como múltiplos genes estão relacionados à patogênese das NMs, com sobreposição significativa de mutações entre os grupos, o uso de um painel NGS mieloide multigene é relevante e factível.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.269>

LEUCEMIA AGUDA DE FENÓTIPO MISTO COM T(9;22)(Q34.1;Q11.2); BCR-ABL1: UM RELATO DE CASO

AHA Resende, LS Oliveira, PCC Bariani, PL Filgueiras, RMS Soares, RS Melo, ACON Luz, FA Silva, LLF Pontes, MIA Madeira

Departamento de Imagens Médicas, Hematologia e Oncologia Clínica, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: As leucemias agudas de fenótipo misto representam um grupo heterogêneo de leucemias raras nas quais não é possível atribuir uma única linhagem de origem, representando até 3% dos casos de leucemia aguda. Segundo a classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS), as leucemias agudas de fenótipo misto podem ser diagnosticadas diante da exclusão de entidades alternativas, como translocações balanceadas definidoras de leucemia mieloide aguda (LMA), LMA com alterações relacionadas à mielodisplasia, LMA relacionada à terapia e leucemia mieloide crônica (LMC) em fase blástica. O objetivo deste trabalho é apresentar um caso raro de leucemias agudas de fenótipo misto com t(9;22)(q34.1;q11.2); BCR-ABL1. **Relato de caso:** Homem, 35 anos, previamente hígido, apresentando quadro de odinofagia e febre iniciados há 2 semanas do atendimento. Em hemograma de admissão foi evidenciado Hb: 11.6, Ht: 37, leucócitos: 61.130 e plaquetas: 62.650, com hematoscopia de sangue periférico apresentando 79% de blastos. Assim, paciente foi submetido a mielograma, com visualização de 2 populações morfológicas distintas de blastos, representando 90% do total de células nucleadas da medula óssea, com coloração positiva para esterase e negativa para mieloperoxidases (MPO). Uma população formada por blastos de tamanho grande, relação núcleo-citoplasma intermediária, núcleo irregular, cromatina frouxa, 1 a 2 nucléolos, citoplasma basofílico e agranular. Outra população constituída por blastos de tamanho intermediário, alta relação núcleo-citoplasma, núcleo redondo, cromatina intermediária, 2 a 3 nucléolos, citoplasma basofílico e agranular. Ressalta-se a ausência de alterações displásicas em estudo morfológico da medula óssea. A imunofenotipagem da medula óssea também revelou 2 populações de blastos, ambas com expressão de CD45dim, HLA-DRdim e CD38, uma caracterizada por expressar CD34, CD117, CD33, CD13 e CD11c, e outra expressando CD34hi, CD19, CD79a e TDT. Avaliação citogenética evidenciou t(9;22)(q34.1;q11.2), com estudo molecular apresentando positividade para BCR-ABL1 e



negatividade para FLT3, NPM1, RUNX1-RUNX1T1 e CBFB-MYH11. Conforme a definição da OMS, paciente apresenta critérios diagnóstico para leucemia aguda de fenótipo misto com t(9;22)(q34.1;q11.2); BCR-ABL1. Diante disso, foi conduzido inicialmente com protocolo de tratamento quimioterápico para leucemia linfoblástica aguda (LLA), hyperCVAD, com adição do inibidor de tirosina quinase (imatinibe), sem avaliação de resposta até esta publicação. **Discussão:** O caso relatado faz parte do maior grupo das leucemias agudas de fenótipo misto, o subtipo B/mieloide, apresentando ainda a anormalidade genética recorrente mais comum do grupo, a t(9;22)(q34.1;q11.2); BCR-ABL1, representando menos de 1% de todos os casos de leucemia aguda. Sabe-se que a sobrevida dos pacientes com leucemia aguda de fenótipo misto é inferior à dos pacientes com LMA ou LLA, devendo-se, portanto, ser considerada uma leucemia de alto risco. Assim como programado para o caso em questão, recomenda-se a realização de quimioterapia de acordo com protocolo para LLA seguida por transplante de medula óssea alogênico logo que alcançar remissão completa. **Conclusão:** A leucemia aguda de fenótipo misto é uma condição rara, dificultando assim a realização de estudos prospectivos, o que compromete a sua melhor abordagem. Portanto, os relatos de casos representam uma importante fonte de informação.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.270>

LEUCEMIA AGUDA INDIFERENCIADA: RELATO DE CASO

LS Oliveira, PCC Bariani, PL Filgueiras, RMS Soares, RS Melo, ACON Luz, LB Lanza, FA Silva, LLF Pontes, LFB Catto

Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: A Leucemia Aguda Indiferenciada não possui a expressão de nenhum marcador definidor de linhagem. Para categorizá-la, é necessário realizar imunofenotipagem com um painel de anticorpos monoclonais abrangente para excluir leucemias de linhagens incomuns, como as derivadas de precursores de células dendríticas, de células NK, basófilos e tumores não hematopoiéticos. Essa entidade é rara, com incidência desconhecida. Os blastos não apresentam características de diferenciação mielóide, são negativos para as colorações mieloperoxidase e esterase. Geralmente expressam HLA-DR, CD34 e/ou CD38 e podem ser positivos para TdT. O CD7, embora frequentemente considerado um antígeno de células T, é expresso fracamente em alguns progenitores hematopoiéticos CD34+ e pode ser expresso de forma semelhante nessas leucemias. **Relato de caso:** Mulher, 25 anos, previamente hígida, encaminhada para Hematologia em julho de 2021 devido a anemia, plaquetopenia e leucocitose. Na admissão, apresentava abscesso amigdaliano, além de petéquias em membros e na região do tronco. A análise de sangue periférico e de medula óssea evidenciou presença de 97% de blastos de tamanho grande, com relação núcleo-citoplasmática intermediária, citoplasma basofílico e agranular,

