

RECONHECIMENTO DE LLA PH-LIKE COM A INTEGRAÇÃO DOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS: EXPERIÊNCIA EM PEDIATRIA

BP Nasr, NS Santosnan, E Delbuono, BN Rhein, SRC Toledo, MGC Pires, FT Gamba, JT Gouveia, ID Oliveira, MLM Lee, AVL Sousa

Grupo de Apoio ao Adolescente e Criança com Câncer (GRAACC), Instituto de Oncologia Pediátrica (IOP), Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: A leucemia linfóide aguda de precursor B (LLA-B) apresenta marcadores citogenético-moleculares com impacto prognóstico bem definidos. A LLA Ph-Like é um subgrupo geneticamente heterogêneo, classicamente de linhagem B, caracterizado pela hiperexpressão do gene CRLF2, em 50% dos casos, e por rearranjos gênicos e mutações com desregulação das vias de sinalização JAK/STAT, e hiperativação das vias de tirosinaquinase. Em países em desenvolvimento, o maior desafio para esse subgrupo ainda está relacionado ao acesso às técnicas para o diagnóstico preciso. A citometria de fluxo (CF) e de extrema importância no diagnóstico de LLA, na determinação de doença residual mínima e na busca de marcadores para alvo terapêutico. A hiperexpressão de CRLF2 pode ser investigada por CF e os rearranjos com CRLF2, através de diferentes métodos moleculares como RT-PCR, FISH e sequenciamento de nova geração (NGS). Descrevemos nossa experiência no diagnóstico de LLA Ph-Like, com a triagem pela hiperexpressão de CRLF2 na CF. **Material e método:** Estudo retrospectivo de revisão de pacientes de uma única instituição com diagnóstico de LLA e hiperexpressão de CRLF2 (10^2 - 10^3) por CF, associado a alterações no gene CRLF2 confirmados por teste molecular. **Resultados:** No período de abril/2015 a maio/2023, a expressão celular de CRLF2 foi analisada por CF em 145 casos de LLA; as análises foram realizadas em toda população, incluindo os casos com Síndrome de Down (SD), como controle positivo. Cinco pacientes apresentaram hiperexpressão de CRLF2; destes, dois com SD, sendo um caso com rearranjo CRLF2::P2RY8 e outro sem avaliação molecular devido ausência de material disponível. Os outros três pacientes, não SD, correspondentes à 2% da amostragem, também apresentaram o rearranjo CRLF2::P2RY8 detectado por NGS ou RT-PCR, confirmando o diagnóstico de LLA Ph-Like. Os três casos com hiperexpressão de CRLF2 na CF e rearranjo CRLF2::P2RY8, apresentaram os seguintes imunofenótipos: LLA-B comum, LAFM B/mieloide e LLA pré-B; não foram encontradas outras alterações genéticas moleculares em nenhum dos casos; todos apresentaram DRM negativa ao final da indução; dois estão vivos sem doença e um caso ainda em tratamento. **Discussão e conclusão:** A correlação entre imunofenotipagem e perfil genético-molecular define subtipos distintos de LLA, com impacto nas decisões terapêuticas e prognóstico. A CF é um método rápido, fácil e de baixo custo para detecção de hiperexpressão de CRLF2, factível de ser incorporada na prática clínica como preditor de alterações genéticas e subtipos moleculares, na suspeita de espectro de LLA Ph-like. Portanto, a pesquisa da hiperexpressão de CRLF2 por CF poderia ser incorporada ao painel imunofenotípico diagnóstico como ferramenta de *screening*, para suspeita na

identificação com maior rapidez do subgrupo Ph-like, além da perspectiva futura de possível alvo terapêutico.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.466>

NOVA CLASSE DE INIBIDORES DE MICROTÚBULOS: CICLOPENTA[B]INDOL EXIBE EFEITOS ANTILEUCÊMICOS

HP Vicari^a, RC Gomes^b, K Lima^{a,c}, NO Rossini^d, LBL Miranda^a, MTR Junior^b, MVB Dias^d, LV Cost-Lotufo^a, F Coelho^b, JA Machad-Neto^a

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

^b Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

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

^d Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Objetivos: Em estudos anteriores, nosso grupo de pesquisa identificou um composto sintético inédito derivado da classe dos ciclopenta[b]indóis que apresentou citotoxicidade seletiva em modelos celulares de leucemia promielocítica aguda através da interrupção da dinâmica de microtúbulos. No presente estudo, nós expandimos a investigação dos efeitos celulares e moleculares do ciclopenta[b]indol C2 sobre o fenótipo leucêmico de um amplo painel, molecularmente heterogêneo, de linhagens celulares de leucemias agudas. **Material e métodos:** Um painel contendo 13 linhagens celulares de neoplasias mielóides e 12 linfóides foi utilizado. As linhagens Kasumi-1, MV4-11, Jurkat e Namalwa foram selecionadas para análises adicionais detalhadas. Dois enantiômeros de C2 foram utilizados (C2E1 e C2EB). A viabilidade celular foi avaliada por MTT e a clonogenicidade por ensaio de formação de colônias. Por citometria de fluxo foram avaliados a apoptose (marcação com anexina V/iodeto de propídio [IP]) e o ciclo celular (marcação com IP). A morfologia celular foi avaliada por coloração H&E e microscopia óptica. Os marcadores moleculares de proliferação (STMN1), apoptose (PARP1) e dano ao DNA (γ H2AX) foram investigados por Western Blot. Experimentos de re-docagem e docagem molecular dos ligantes colchicina, C2E1 e C2EB foram realizados utilizando os dímeros de α/β -tubulina como receptor (PDB:4O2B) através dos softwares Autodock Vina e Gold. As análises estatísticas foram realizadas por ANOVA e pós-teste de Bonferroni. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo. **Resultados:** O C2E1 apresentou alta citotoxicidade em células malignas do sangue e apenas 4 das 25 células foram consideradas resistentes ao composto ($IC_{50} > 50 \mu M$). O C2EB não apresentou atividade citotóxica considerável nos modelos testados e 19