

Objetivo: Demonstrar a relevância do diagnóstico molecular na identificação de heterozigoto composto para beta talassemias HBB:c.118C>T (CD39) e HBB:c.-138C>T (-88C>T) em recém-nascido da triagem neonatal. **Materiais e métodos:** Amostra de sangue de um paciente do sexo masculino, três meses de idade, procedente do Hospital Universitário Júlio Müller (HJUM-UFMT), foi encaminhada para Laboratório de Genética e Biologia Molecular (UFMS/CPTL) para análise laboratorial de perfil hemoglobínico inconclusivo, juntamente com exames hematológicos complementares. Para determinar as frações hemoglobínicas do paciente, a amostra foi submetida à Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC-Ultra2, Trinity Biotech, Kit Resolution) e para o estudo molecular foi realizado o sequenciamento do gene beta globina (HBB) (sequenciador 3770xl DNA analyser). **Resultados:** Após análises por HPLC e sequenciamento, o perfil de hemoglobina da criança foi Hb F (90,2%), Hb A (3%) e Hb A2 (0,9%) com a presença das mutações HBB:c.-138C>T (Beta++ talassemia, -88C>T) e HBB:c.118C>T (Beta⁰ talassemia, CD39), ambas em heterozigose. Em relação aos dados hematológicos os seguintes parâmetros foram observados: RBC de 3,77 milhões/mm³, Hb de 9,9 g/dL, Hct de 29,3%, VCM de 77,7 fl, HCM de 26,4 pg, CHCM de 34,0 g/dL, RDW de 23,5%, contagem de reticulócitos 4,62%, ferritina 384,3 ng/mL, Lactato Desidrogenase (LDH) 418 U/L, bilirrubina total 1,2 mg/dL, bilirrubina direta 0,4 mg/dL e bilirrubina indireta 0,8 mg/dL. **Discussão:** Na mutação CD39 um códon de parada é gerado impedindo a tradução eficaz do RNAm do gene HBB, o que leva ao fenótipo β^0 . Por outro lado, a mutação -88C>T, presente na região promotora, causa uma leve redução na expressão da β -globina. A interação dessas mutações resulta no fenótipo de beta talassemia intermédia, a qual é caracterizada por uma heterogeneidade clínica que se situa entre os sintomas leves do traço talassêmico e as manifestações graves da beta talassemia maior. Neste relato, o probando apresentou anemia discreta, acentuada anisocitose, aumento de reticulócitos, de LDH e de bilirrubina indireta, caracterizando uma anemia hemolítica. O aumento da ferritina pode ser resultado de um processo inflamatório. No entanto, o perfil clínico poderá ser melhor avaliado após os seis meses de vida, uma vez que nesse período ocorre a estabilização nas concentrações das Hbs. É importante salientar que outros fatores genéticos, como a presença de alfa talassemia e mutações que influenciam em maior expressão de Hb F, podem estar associados, contribuindo assim para uma forma mais leve da doença. **Conclusão:** Considerando a diversidade de manifestações fenotípicas, a heterogeneidade genotípica e a gravidade dos sintomas clínicos, a detecção e o tratamento adequados dos pacientes com talassemia intermédia permanecem um desafio significativo. Análises moleculares são imprescindíveis para um diagnóstico confirmatório da doença, permitindo assim a implementação de estratégias que visam otimizar a qualidade de vida dos pacientes e minimizar possíveis complicações.

ANÁLISE DA DOENÇA RESIDUAL MÍNIMA POR SEQUENCIAMENTO GÊNICO EM LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA PEDIÁTRICA TRATADA CONFORME PROTOCOLO AIEOP-BFM ALL 2009 COM CRITÉRIOS DE RISCO MODIFICADOS

AC Azevedo, C Omae, J Yajima, L Prandi, MC Della-Piazza, NA Migita, C Lopes, PY Jotta, JA Yunes, SR Brandalise

Centro Infantil Boldrini, Campinas, SP, Brasil

Objetivo: Avaliar impacto da análise prospectiva da Doença Residual Mínima (DRM) por sequenciamento gênico (Next Generation Sequencing, NGS), no Dia 33 (D33) e Semana 12 (S12) do tratamento, na Sobrevida Livre de Eventos (SLE) da Leucemia Linfóide Aguda (LLA) pediátrica. **Material e métodos:** De outubro de 2021 a abril de 2023, 146 pacientes consecutivos com LLA de novo, negativa para t(9;22)BCR-ABL1, e idade de 1 a 18 anos, foram tratados de acordo com o protocolo AIEOP BFM ALL 2009 com critérios de risco modificados descritos a seguir. Definição do grupo de Alto Risco (AR): ausência de remissão completa no dia 33 ou KMT2A-AFF1+ ou TCF3-HLF+ ou hipodiploidia ou DRM por Citometria de Fluxo em medula óssea do dia 15 $\geq 10\%$ e não ETV6-RUNX1 ou IKZF1plus e DRM (NGS) em D33 positivo (ou inconclusivo) desde que não seja ETV6-RUNX1+, TCF3-PBX1+ ou KMT2A rearranjado ou DRM em D33 $\geq 5 \times 10^{-4}$ e S12 positivo, porém $< 5 \times 10^{-4}$ ou DRM em S12 $\geq 5 \times 10^{-4}$. Grupo de Baixo Risco (BR) definido como: sem critérios de alto risco e DRM em D33 negativo para todos os marcadores investigados (ao menos um marcador com sensibilidade $\leq 10^{-4}$) ou DRM (NGS) em D33 inconclusivo desde que DRM negativa em S12 e D15 (por citometria de fluxo) $< 0,1\%$. Risco Médio (MR): ausência de critérios de AR e sem critérios de BR. Para análise da DRM foram utilizados primers Biomed2 para amplificação dos rearranjos IGH, IGK, IGL, TCRG e TCRD, acrescidos de adaptadores para sequenciamento na plataforma Illumina. Foram utilizados 600 ng de DNA genômico, acrescido de diferentes quantidades de DNA de plasmídeos contendo rearranjos Ig/TCR, para normalização dos resultados. Foram lidos no mínimo 500.000 'reads' por rearranjo, sendo dois os rearranjos analisados por paciente, se disponíveis. Os dados foram analisados na plataforma VidJil. **Resultados:** Remissão citológica foi atingida em 96% (142/146) dos pacientes. Morte durante o período de indução ocorreu em 2 pacientes (1,3%). Análise da DRM por NGS no D33 foi realizada em 137 pacientes (93%), sendo negativo em 80 pacientes (54%) e positivo em 57 (39%) pacientes. A Sobrevida Global e SLE em 1,3 anos dos 146 pacientes foi de $94,2 \pm 2,5\%$ e $92,2 \pm 2,0\%$, respectivamente. Pacientes com DRM $\geq 5 \times 10^{-4}$ no D33 apresentaram SLE significativamente inferior a pacientes com DRM negativa ou abaixo dessa linha de corte ($84,8 \pm 5,9\%$ vs. $98,2 \pm 1,8\%$, $p < 0,001$). Na S12 a diferença entre os grupos foi ainda mais acentuada (SLE: $49,2 \pm 1,7\%$ vs. $97,7 \pm 1,7\%$, $p < 0,001$). **Discussão:** A avaliação da DRM por NGS permite rastrear vários subclones Ig/TCR no mesmo ensaio, prescindindo do desenho e seleção de primers paciente-específicos. O custo dos reagentes e plásticos para o NGS é comparável ao qPCR, porém o NGS é mais rápido e demanda menos mão de

obra. Dados da literatura mostram que os valores de DRM mensurados por NGS tem alta correlação com dados obtidos por qPCR. O qPCR, entretanto, parece dar mais falsos positivos do que o NGS, especialmente em se tratando de valores muito baixos de DRM ($< 5 \times 10^{-5}$). **Conclusão:** Nossos resultados, embora interinos, mostram que a avaliação prospectiva da DRM pelo sequenciamento gênico é factível e permite identificar grupos de pacientes com SLE significativamente diferente.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.1062>

IMPACTO DO USO DE IDARRUBICINA NA TERAPIA DE INDUÇÃO DA LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA DE ACORDO COM O PROTOCOLO AIEOP-BFM ALL 2009. EXPERIÊNCIA DO CENTRO INFANTIL BOLDRINI

AC Azevedo, J Yajima, C Omae, L Prandi, MC Della-Piazza, MBR Amaral, M Veríssimo, A Salgado, JA Yunes, SR Brandalise

Centro Infantil Boldrini, Campinas, SP, Brasil

Objetivos: Avaliar o impacto do uso da idarrubicina em substituição a daunorrubicina na fase de indução de acordo com o protocolo AIEOP-BFM ALL 2009 quanto a resposta terapêutica (citológica e molecular) e toxicidades no 33º Dia da indução (D33). Estudo em crianças e adolescentes com Leucemia Linfóide Aguda (LLA), Filadélfia negativa, tratadas no Centro Infantil Boldrini. **Métodos:** De junho de 2018 a abril de 2020, 87 crianças e adolescentes com idade entre 0–18 anos, com diagnóstico de novo de LLA Filadélfia negativos foram tratados de acordo com o protocolo AIEOP-BFM ALL 2009. A daunorrubicina na dose de 30 mg/m² foi substituída pela idarrubicina 6mg/m². Avaliação da resposta terapêutica medular foi realizada no 33º dia de tratamento, considerando-se remissão citológica quantidade de blastos $< 5\%$ e remissão molecular determinada por Doença Residual Mínima (DRM) $\leq 5 \times 10^{-4}$. A quantificação da doença residual mínima foi realizada por Polimerase Chain Reaction (PCR), cujo DNA das amostras de diagnóstico foi rastreado usando primer BIOMED-2 primários para o processo completo e incompleto dos rearranjos de IgH. As toxicidades foram analisadas segundo os critérios do CTCAE versão 3.0. **Resultados:** O índice de remissão citológica foi obtido em 86 pacientes (98,8%). Houve apenas um óbito (1,1%) durante a fase de indução. A quantificação da DRM foi realizada em 78 pacientes (89,6%) sendo que 56 pacientes (64,3%) atingiram remissão molecular. Eventos tóxicos hepáticos graus 3 e 4, atingiram 6,9% no grupo de pacientes com LLA B derivada e 12,4% no grupo T derivado. Toxicidades grau 3 e 4 para infecção acometeram 63,8% no grupo B derivado e 68,7% no grupo T derivado. **Discussão:** O desabastecimento de quimioterápicos no Brasil, incluindo daunorrubicina, L-asparaginase, actinomicina e procarbazona, tornou-se um grave problema nos últimos anos. Desta forma, entre 2018 e 2020, foi necessário o uso da Idarrubicina no lugar da daunorrubicina na fase de indução nas crianças com Leucemia Linfóide Aguda (LLA) no Centro Infantil Boldrini. O uso da idarrubicina nas fases de indução de tratamentos de leucemia mielóides

agudas e leucemias linfóides aguda recidivadas/refratárias já está bem estabelecido. No entanto sua aplicação no período de indução em crianças e adolescentes com Leucemia Linfóide Aguda (ALL) com diagnóstico de novo, foi pouco estudada. Embora o estudo seja unicêntrico e com número pequeno de pacientes, os resultados quanto a resposta terapêutica, citológica e molecular (98,8% e 64,3% respectivamente), atingiu índices comparáveis aos resultados de grandes grupos internacionais utilizando daunorrubicina. A baixa taxa de mortalidade na indução (1,1%) revela índice abaixo dos 3%–4% publicado pelo grupo brasileiro de tratamento da leucemia linfóide aguda. **Conclusões:** Os dados quanto as toxicidades e resposta terapêutica revelaram que o uso da idarrubicina seja factível na terapia de indução, porém estudos prospectivos e randomizados necessitam ser realizados para melhor definição do papel da idarrubicina na terapia de indução em crianças e adolescentes com diagnóstico de novo de LLA.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.1063>

LEUCEMIA AGUDA DE FENÓTIPO MISTO COM FUSÃO BCR:ABL1 EM ADOLESCENTE – RELATO DE CASO

EP Leite, EF Silva, JAAP Silva, FP Carvalho, LSO Queiroz, CP Marinho, NRSD Santos, MDN Carvalho, TJM Salles, MO Silva

*Centro Especializado em Oncohematologia
Pediátrica, Hospital Universitário Oswaldo Cruz
(CEONHPE/HUOC), Recife, PE, Brasil*

Introdução: As leucemias Agudas de Linhagem Ambígua (ALAL) correspondem a um único grupo de doença hematológica, visto a sobreposição de características clínicas e imunofenotípicas, segundo a última classificação da OMS (2021). São entidades raras, representando 2% a 3% dos casos. Estudos recentes demonstram que as ALAL compartilham mecanismos patogênicos moleculares comuns. A 5ª Classificação da OMS separa em 2 categorias, aquelas com anormalidades genéticas: MPAL com fusão BCR/ABL1; MPAL com rearranjo KMT2A; ALAL com outras alterações genéticas definidoras, MPAL com rearranjo ZNF28 e ALAL com BCL11B; e aquelas definidas apenas por critérios imunofenotípicos: MPAL B/M; MPAL T/M; MPAL tipos raros; ALAL não especificada e AUL (Leucemia Aguda Indiferenciada). **Caso clínico:** Paciente 15 anos, feminino, admitida com dor lombar, astenia, palidez cutânea, perda de peso, linfonodomegalias cervicais e inguinais. Nega uso prévio de corticóide. Refere antecedente de doença de Kawasaki na idade de 8 anos. Hemograma com anemia (Hb 6,3 g/dL), leucocitose discreta ($16,43 \times 10^3/\mu\text{L}$ –40%blastos) plaquetopenia (81.000 mm^3). Ultrassonografia e tomografia de abdome total evidenciam nódulo hepático e linfonodomegalias inguinais e axilares. Biópsia de linfonodo descrevendo proliferação linfocitária com atipismo nuclear e figuras de mitose. Mielograma infiltrado por 70% de blastos com 2 populações, sendo uma de tamanho grande, núcleo redondo, citoplasma basofílico e por vezes granular; e outra de blastos de tamanho pequeno/