

os referidos sinais foram utilizados no diagnóstico diferencial de leucemia aguda. **Discussão:** Inicialmente, destaca-se a ocorrência de estomatite fúngica, causada pelo fungo *Fusarium*. Em pacientes imunodeprimidos, tal fungo pode gerar infecções disseminadas e identificar maus prognósticos. Em achados de miopericardite, não foi encontrado nenhum fator infeccioso ou infiltração direta causada pela leucemia. Mostrou-se relevante, ainda, a manifestação de acidose láctica como indicativo de leucemia aguda. Nesse sentido, associada à infiltração hepática, verificou-se, nas células neoplásicas, uma descompensação da via glicolítica em detrimento da via oxidativa, provocando um exponencial aumento na produção de ácido láctico. Outro raro acometimento causado a partir da infiltração leucêmica dos órgãos é a nefromegalia, sobretudo em pacientes infantis. Esse último quadro pode servir como diagnóstico diferencial de casos de leucemia, apesar de sua difícil constatação. Por fim, a série de casos de associação da patologia em análise com o sarcoma mieloide de seios nasais não identificou uma fisiopatologia para essa apresentação incomum, fator que ainda sustenta a hipercalemia como uma manifestação escassa na literatura médica. **Conclusão:** Constatou-se que a identificação precoce de leucemia aguda - inclusive a partir de sinais e sintomas atípicos - interfere diretamente no prognóstico da doença. Desse modo, torna-se importante difundir as apresentações atípicas das leucemias agudas no meio médico, de forma a capacitar o profissional de saúde e proporcionar a ele condições para uma identificação precoce de casos. Em suma, é imperativo considerar essa gama de manifestações incomuns como uma ferramenta de diagnósticos diferenciais e precisos.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.240>

239

ARTESUNATE LEADS TO ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS VIA EIF2 α -ATF4 PATHWAY IN LEUKEMIC CELLS

R.I. Mancuso, A.C. Castillo, S.T.O. Saad

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP),
Campinas, SP, Brazil

Background: The endoplasmic reticulum (ER) is a subcellular compartment for synthesis, folding, and trafficking of secretory and cell-surface proteins. The ER is highly sensitive to stress that perturb Ca²⁺ concentration. Such stress reduce the protein folding capacity, which results in accumulation of unfolded protein in the ER lumen. ER stress triggers unfolded protein response (UPR) to counteract the deleterious consequence of ER stress and restore ER homeostasis, if stress is prolonged, signaling switches from pro-survival to pro-apoptotic. Artemisinin (ARS), a sesquiterpene lactone, is a frontline drug used against uncomplicated malarial infections. One mechanism of the antimalarial activity includes the inhibition of sarco/endoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase orthologue of *Plasmodium falciparum*. Beyond the anti-malarial effects, increasing evidence has suggested that artesunate (ART), a water-soluble derivative, has antitumor activity. **Aims:** To evaluate the effects ART in leukemic cells *in vitro* and *in vivo*. **Methods:** The cell lines U937 and HL-60 were cultured in RPMI

1640 and IMDM medium, respectively, and supplemented with 10% (v/v) heat-inactivated fetal bovine serum and antibiotics. Cell viability was determined by MTT assay. Apoptosis was evaluated using annexin-V and propidium iodide (PI) staining (FACSCalibur). Quantification of several proteins of the apoptosis and ER stress pathway was performed by western blot. To examine the potency of ART *in vivo*, U937 cells were subcutaneously injected (10⁷ cell/mouse) into 8- to 11-week-old NOD.CB17-Prkdc^{scid}/J mice and when the volume reached 100 mm³ the mice were randomized into groups and intraperitoneally injected with vehicle or ART 200 mg/kg thrice a week. **Results:** ART initiated a stress response 1h and 2h after drug treatment with 1mM in U937 and HL-60 cell line, respectively, with eukaryotic translation initiation factor 2 α (eIF2 α) phosphorylation. Activating transcriptional factor 4 (ATF4), that is central to PERK-governed signaling, activated upon the phosphorylation of eIF2 α at 4h and 6h in U937 and HL-60 cell line, respectively. Subsequently, the transcription factor C/EBP homologous protein (CHOP), whose induction strongly depends on ATF4, was activated 6h and 12h after ART treatment in U937 and HL-60 cell line, respectively. Additionally, an increased protein expression level of Noxa was observed in both cell lines at 24h after treatment. ART derivatives inhibited proliferation of both cell lines in a dose- and time-dependent manner when compared to cells treated with the vehicle (DMSO). ART treatment at 1mM increased the apoptotic cell percentage (n = 4, p = 0.0286, increase of 25.9% in U937 and 19.1% in HL-60 after 24h). Furthermore, ART-treated tumors (n = 10) was 52% less than the average volume of vehicle-treated tumors (n = 9) (p = 0.0071). Besides that, no weight loss was observed in both groups. **Conclusions:** Our preliminary results demonstrated that artesunate has anticancer activity *in vitro* and *in vivo*. ART induced expression of the ER stress markers ATF-4 and CHOP, the latest is well known to promote apoptotic cell death. These pathways are being evaluated for further understanding of the mechanisms mediating the anti-leukemic effects of ART.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.241>

240

ASSOCIAÇÃO ENTRE BLASTOS CUP-LIKE E A MUTAÇÃO DO NPM1: RELATO DE CASO

A.J. Silva, A.P. Udo, D.D.S. Sá, H.D. Andrade,
M.C.N. Seiwald, A.F. Sandes, F.R. Kerbauy

Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São
Paulo, SP, Brasil

Introdução: A Leucemia Mieloide Aguda com blastos de morfologia “cup-like”(LMA-CL) tem sido associada com a presença de mutações no gene da nucleosfomina (NPM1) e do FMS -fator estimulador de colônia de macrófagos- like tyrosine kinase (FLT3). Além disso são blastos frequentemente CD34 e HLA-DR negativos e apresentam cariótipo (CTG) normal. Os blastos “cup-like” são caracterizados por células de tamanho moderado, com invaginações nucleares proeminentes e indentação do núcleo superior a 25%, que devem corresponder a pelo menos 10% dos blastos visualizados. **Relato de caso:** Paciente sexo feminino, 68 anos, previamente

independente para as atividades básicas de vida diária, foi admitida em nosso serviço em junho de 2020 por queixa de desequilíbrio, dificuldade na fala e confusão mental há 04 dias. Avaliada inicialmente pela equipe de neurologia e diagnosticada com acidente vascular encefálico isquêmico (AVCi) no giro temporal superior esquerdo e afasia de Wernicke. Nos exames realizados na admissão o hemograma apresentava-se com hb 9,3 g/dL; leucócitos 22.940 uL; neutrófilos 229 uL, linfócitos 1835 uL e com 89% de blastos; plaquetas 125.00 U/L. Diante da alteração no exame, foi solicitada avaliação da equipe de hematologia que evidenciou em esfregaço de sangue periférico, blastos de características cup-like presentes em mais de 10% dos blastos analisados, conferindo assim, a morfologia de LMA-CL. Realizada imunofenotipagem de sangue periférico que demonstrou 83% de células de linhagem mieloide imatura com positividade para CD45+; cMPO+; HLA-DR fraco; CD33+; CD64+; CD117+ e negativo para CD10-; CD14-; CD19-; CD34- e CD79a. Realizado CTG: 46,XX e provas moleculares com NPM1 mutado na ausência de mutação do gene FLT3. **Discussão:** A LMA é leucemia mais comum no paciente adulto, sendo no Brasil a incidência estimada para o ano de 2020 de 10.810 novos casos, destes correspondendo a 5.920 no sexo masculino e 4.890 no sexo feminino. A estratificação de risco da LMA é baseada nas características do indivíduo assim como da própria doença. Dentre os fatores de risco diretamente ligado a LMA, existem aqueles relacionados com alterações citogenéticas e moleculares conhecidas. Algumas mutações, como do gene NPM1, confere bom prognóstico. Sabe-se que, existe uma estreita relação da LMA-CL com aberrações moleculares específicas. Sendo que a mutação NPM1 e/ou FLT3-ITD individualmente ou em combinação estão presentes em mais de 60% dos casos das LMA-CL de pacientes com CTG normal. O gene NPM1 quando mutado na ausência de mutação do FLT3-ITD confere risco favorável na LMA. Pacientes com a mutação NPM1 e ausência de mutação no FLT3-ITD possuem uma sobrevida global em 5 anos de 60%. Estes pacientes podem alcançar remissões duradouras com quimioterapia convencional sem a necessidade de transplante de células progenitoras hematopoéticas. No entanto, ainda não existe um estudo prospectivo que comprove que a quimioterapia sozinha seja superior ao transplante. **Conclusão:** Os dados presentes na literatura demonstram uma significativa correlação entre as mutações no gene NPM1 com blastos descritos como "cup-like", sugerindo assim que, as características morfológicas podem ser úteis na previsão de alterações moleculares que possuem expressiva relevância prognóstica. Tal observação é importante para que a estratificação de risco da LMA se inicie na análise morfológica dos blastos leucêmicos.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.242>

241

ASSOCIATION OF NATURAL KILLER CELLS FUNCTIONAL SUBTYPES WITH GENETIC RISK STRATIFICATION IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA

A.F.O. Costa^a, L.O. Marani^a, G.L. Jacovelli^a, J.L. Coelho^a, T.M. Bianco^a, I.A. Lopes^a, P.S. Scheucher^a, J. Schiavinato^a, K. Pagnano^b, B.K. Duarte^b, F. Kerbaudy^c, M. Higashi^d, E. Nunes^e, E. Fagundes^f, A.B.F. Glória^f, E.M. Rego^g, F. Traina^a, L.L.F. Pontes^a

^a Divisão de Hematologia, Departamento de Imagens Médicas, Hematologia e Oncologia Clínica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^b Centro de Hematologia e Hemoterapia (Hemocentro), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^c Divisão de Hematologia, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil

^d Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil

^e Divisão de Hematologia, Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brazil

^f Divisão de Hematologia, Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil

^g Departamento de Hematologia, Laboratório de Investigação Médica em Hematologia Molecular (LIM-31), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

Background: Natural Killer (NK) cells have a role in anti-tumor activity, but its potential for regulating acute myeloid leukemia (AML) is not well understood. We believe its numerical or defective maturation may result in leukemic stem cell (LSC) resistance in AML. So, we aimed to immunophenotypically characterize the frequency, subtypes, and maturation of NK cells in AML samples with known prognostic factors. **Methods:** Bone marrow (BM) samples from 73 patients with AML from 7 Brazilian centers were assessed for FLT3 and NPM1 mutations, RUNX1/RUNX1T1 and CBFB-MYH11 gene fusions, karyotyping by classical cytogenetics and immunophenotyping by flow cytometry, using 5 normal BM as controls. NK subtypes were defined as CD19-CD3- and: CD56brightCD16- (secretory) or CD56dimCD16+ (cytotoxic). CD19-CD3-CD56+ NK cells were classified as: CD11b-CD27- (tolerant); CD27+CD11b- (immature secretory); CD27+CD11b+ (secretory) and CD11b+CD27- (cytotoxic). LSC (CD34+CD38lowCD123+) were assessed among total blast cells. Clinical, laboratorial data and ELN2017-based risk stratification were evaluated. Mann Whitney or Kruskal-Wallis tests ($P < 0.05$) were applied using SPSS V.20. **Results:** A tendency of lower lymphocyte frequency in total BM cells in AML patients was observed ($p = 0.1507$), but no difference in NK cell numbers or subtypes were noted. Favorable risk patients showed a higher frequency of total NK cells ($p = 0.042$) as well as

