

O SILENCIAMENTO DA RHO GTPASE RHOC NÃO ALTERA A CAPACIDADE DE PROLIFERAÇÃO CLONAL DE LINHAGENS MIELOIDES

GRS Mendonça^a, JC Melo^a, SSC Sampaio^a, CS Souza^a, ASS Duarte^b, SO Saad^b, M Lazarini^a

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

^b Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: RhoC é uma proteína Rho GTPase que controla a dinâmica do citoesqueleto, participando do processo de proliferação celular. Esta função está desregulada em leucemias, porém o papel de RhoC ainda não está elucidado em células leucemicas. **Objetivos:** Neste estudo investigamos o efeito do silenciamento de RhoC na capacidade de proliferação clonal das linhagens celulares mieloides U937 e OCI-AML3. **Material e métodos:** Células U937 e OCI-AML3 foram silenciadas através de transdução com lentivírus para RhoC ou lentivírus controle. A efetividade do silenciamento foi verificada por western blot. Para determinação da capacidade de proliferação clonal, as células controle (shCTRL) ou silenciadas para RhoC (shRhoC) foram cultivadas em duplicata em placas de cultura de 6 poços em meio semissólido de metilcelulose. O número de células cultivadas por poço foi inicialmente padronizado (500 e 100 células) e o número total de colônias formadas por células U937 e OCI-AML3 foi contado ao microscópio após 7 e 9 dias, respectivamente. **Resultados:** O silenciamento gênico por transdução lentiviral foi confirmado por western blot nas linhagens U937 e OCI-AML3. As células shRhoC apresentaram redução de mais de 80% na expressão proteica de RhoC em comparação às células shCTRL. Para realização do ensaio de proliferação clonal, o cultivo inicial de 100 células/poço se mostrou mais adequado. Na linhagem celular U937, observamos a formação de $101,33 \pm 10,73$ (média $\pm$ DP) colônias shCTRL versus $97,50 \pm 11,62$ colônias shRhoC. As células OCI-AML3 shCTRL formaram $96,00 \pm 10,84$ colônias versus $103,67 \pm 15,16$ colônias shRhoC. **Discussão:** A redução da proliferação em decorrência do silenciamento de RhoC já foi reportada em células tumorais, como em modelo de hepatocarcinoma, câncer de mama e câncer gástrico. Porém, nossos resultados indicam que RhoC não parece estar envolvida na proliferação clonal de linhagens mieloides. **Conclusão:** RhoC é uma Rho GTPase geralmente associada à promoção da carcinogênese, porém, nas linhagens mieloides U937 e OCI-AML3, o seu silenciamento não alterou a capacidade de proliferação clonal. **Financiamento:** FAPESP.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.546>

RELATO DE CASO: LEUCEMIA AGUDA AMBÍGUA

MPO Moraes^a, FCL Morais^a, SC Mourad^b, LAM Oliveira^b

^a Grupo Fleury, Porto Alegre, RS, Brasil

^b Grupo Fleury, São Paulo, SP, Brasil

Introdução/Objetivos: apresentar e discutir caso acompanhado, pela regional do RS do Grupo Fleury, sobre leucemia aguda ambígua. **Material e métodos:** foram avaliados resultados dos exames hemograma do período de out/2019 a out/2022, fenotipagem do período de julho de 2022 e teste genético para neoplasia mieloide de setembro de 2022. **Resultados:** indivíduo de sexo masculino, 42 anos, realizou hemograma em out/2019 e se observou leucocitose ($195.970/\text{mm}^3$) com presença de 2% de blastos ($3.920/\text{mm}^3$) em sangue periférico. Em dez/2019 apresentou leucocitose ($32.790/\text{mm}^3$, com presença de 1% de blastos), anemia e trombocitose. Em jan/2020, voltou a apresentar leucocitose com presença de blastos em sangue periférico. Os resultados do hemograma apresentavam desvio à esquerda escalonado, sugestivo de LMC. Em ago/2022, resultados de hemograma apresentaram tríade leucêmica, com presença de 70% de blastos. Foi realizado exame de fenotipagem em sangue periférico em jul/2022, em que se observou presença de duas populações distintas: mieloblastos (56%) e linfoblastos B (0,1%), compatível com leucemia aguda de linhagem ambígua mieloide/B. Teste genético para neoplasia mieloide, realizado por sequenciamento NGS, identificou variantes patogênicas no gene ABL1 e variante provavelmente patogênica no gene PTPN11, além de fusão patogênica BCR:ABL1. **Discussão:** a leucemia aguda ambígua representa um subgrupo raro de leucemias agudas que coexpressa marcadores para mais de uma linhagem em uma população homogênea de blastos ou apresenta a coexistência de duas populações de linhagens diferentes de blastos. Este subgrupo representa em torno de 2-3% das leucemias agudas. A análise genética indica que a alteração mais recorrente identificada é a translocação t(9;22), estando associada ao fenótipo mieloide/B (em torno de 59% de incidência). Estudos recentes demonstraram que leucemias ambíguas com cromossomo Philadelphia positivo são mais comuns em homens, com tendência a apresentar leucocitose no diagnóstico e têm mau prognóstico aos pacientes. Em relação ao caso apresentado, observa-se diagnóstico de LMC e a transformação desta neoplasia mieloide em leucemia aguda ambígua, com apresentação de duas linhagens distintas de blastos. Em relação a prognóstico, como descrito em literatura, a presença do cromossomo Philadelphia implica em pior prognóstico para a doença, evidenciado que o cliente foi internado a partir da comunicação do resultado de hemograma com presença de 70% de blastos e foi a óbito quatro meses após. **Conclusão:** O relato de caso trata de um homem, com diagnóstico de LMC em acompanhamento, que apresentou leucocitose com alta contagem de blastos em hemograma, sugerindo crise blástica. A imunofenotipagem demonstrou presença de duas populações de blastos, mieloblasto e linfoblasto B, caracterizando como leucemia aguda ambígua. A análise genética identificou a translocação t(9;22), bem como mutações relacionadas a oncogenes, como por exemplo no gene PTPN11, envolvido na regulação da via relacionadas a funções celulares como proliferação, diferenciação, migração e apoptose. Estes resultados estão de acordo com as descrições na literatura, visto que se tem a associação entre a translocação t(9;22) e mutações em genes relacionados com funções celulares e o desenvolvimento de leucemia aguda ambígua. Por se tratar de um subgrupo de leucemia aguda raro, ainda não se tem levantamento da incidência na população brasileira.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.547>