

avaliação medular foi confirmado o diagnóstico de LMA. Devido à idade e às comorbidades importantes, o paciente foi considerado inelegível à quimioterapia intensa. **Discussão:** Sabidamente, a progressão para LMA é um decurso natural de parte dos casos de neoplasias mielodisplásicas. No entanto, a apresentação morfológica desse caso de LMA simulou LLC, condições malignas com diferenças exuberantes no tratamento e no prognóstico. A aglomeração anormal da cromatina em mieloblastos foi descrita em apenas três estudos até o momento, e parece estar relacionada à disgranulopoiese, tal qual como em nosso paciente, que apresentava diagnóstico prévio de neoplasia mielodisplásica. **Conclusão:** O presente caso ilustra a dificuldade que a avaliação morfológica das LMAs pode trazer, especialmente no contexto de uma neoplasia mielodisplásica prévia. Nesse sentido, a identificação fenotípica destas células por citometria de fluxo apresenta uma estratégia fundamental para o diagnóstico correto e tratamento apropriado.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.675>

ANÁLISE DA TRISSOMIA 8 NA LMA TEM UM PERFIL DE MUTAÇÕES PATOGENÉTICAS EM REGULADORES EPIGENÉTICOS CORRELACIONADOS COM VIAS DO CICLO CELULAR E ADESÃO

J Maues, B Kosa, C Svidnicki, H Filho,
F Niemann, A Duarte, I Toni, P Campos,
SO Saad

Centro de Hematologia e Medicina Transfusional
(Hemocentro), Universidade Estadual de Campinas
(UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Objetivo: A trissomia isolada (TI) na leucemia mieloide aguda (LMA) é a presença de uma cópia extra de um cromossomo específico em células leucêmicas, sem outras alterações citogenéticas significativas que impacta na patogênese e prognóstico desse subgrupo de LMA. Esse estudo aplicou comparações genômicas e análises de expressão gênica para identificar oncogenes envolvidos na progressão da LMA. **Métodos:** Analisamos as genômicas de 14 pacientes brasileiros com LMA de novo com as trissomias: 8, 9, 10, 13, 14, 21 e 22, de um total de 19 pacientes seguidos no Hemocentro da Unicamp entre 2011 a 2022. As mutações foram identificadas com um painel NGS de 40 genes. Os resultados foram analisados com bioinformática, incluindo filtros de variantes missense e preditores de patogenicidade. As variantes foram analisadas com oncoplot e comparadas com genômicas obtidas do cBioportal (OSHU-Database), sendo 78 citogeneticamente normais (CN) e 27 de TI. Ainda, foram usadas 97 amostras de RNA-SEQ (87 CN e 10 somente trissomia +8, T8). Dada a alta prevalência de T8 neste estudo, o edgeR foi usado para estimar a expressão diferencial (ED): $\text{Log}_2 \text{Fold-Change} = (\text{TI}/\text{CN}) - > 1$; $\text{Pvalue} < 5\%$. Foram obtidos genes com aumento de expressão, cuja função foi analisada com GSEA. RT-PCR validou os principais genes. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e todos os pacientes assinaram o TCLE. **Resultados:** Os pacientes com TI tinham idade mediana

de 54 anos, com NPM1 e FLT3-ITD não mutados. Dentre eles, 14 (73%) receberam terapia de indução e 6 (31%) Allo SCT. A remissão ocorreu em 10 (31%) pacientes e a mediana da SG foi de 6 meses. Mutações patogênicas em reguladores epigenéticos DNMT3A (43%), ASXL1 (29%), IDH2 (21%), IDH1 (14%) e TET2 (7%) foram encontradas em 10 (71%) pacientes. Essas alterações foram frequentes na database, com 62% de ocorrência. Mutações de coocorrência ($\text{VAF} > 0,3$) foram frequentes na T8 para os genes DNMT3A, KRAS, FLT3, NPM1, SRSF2 e ASXL1. A análise da ED apontou 180 genes com aumento de expressão e 176 com diminuição. Apenas os genes com aumento de expressão foram validados: RAD21, FC = 1.22; MCM4, FC = 1.14; CDH1, FC = 2.64; LAMC1, FC = 2.25; FN1, FC = 1.97; $P < 0.05$. Os resultados com GSEA mostram que o RAD21 e MCM4 podem interagir durante a replicação do DNA no ciclo celular. Os genes de adesão celular LAMC1, FN1 e CDH1 potencializam uma interação isolada na progressão da doença, importantes para migração células leucêmicas com o microambiente tumoral. **Discussão:** Pacientes com trissomia 8 apresentam um prognóstico ruim, frequentemente exibindo uma resposta mista ao tratamento, com poucos alcançando remissão e geralmente apresentando uma reduzida sobrevida global. Mutações em genes reguladores epigenéticos são condutores e impactam na progressão da doença, principalmente em pacientes mais idosos. A coocorrência dessas mutações sugere uma interação complexa que pode influenciar o prognóstico. Além disso, a análise da expressão de oncogenes como RAD21 e MCM4, relacionados à replicação do DNA, e genes de adesão celular como LAMC1, FN1 e CDH1, podem desempenhar papéis críticos na progressão da LMA com trissomia 8, sendo alvos importantes para estudos de intervenções terapêuticas. **Conclusão:** Este estudo fornece informações valiosas das características genômicas e moleculares da LMA com trissomia 8, enfatizando a necessidade de abordagens personalizadas e a importância de explorar novos alvos terapêuticos para melhorar os resultados clínicos.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.676>

EXPRESSÃO DO SQLE COMO MARCADOR PROGNÓSTICO E POTENCIAL ALVO PARA SENSIBILIZAÇÃO À CITARABINA EM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

BA Santos-Ormrod^a,
ML Salustiano-Bandeira^{a,b}, CA Ortiz-Rojas^a,
A Moreira-Aguiar^b, JL Coelho-Silva^b,
DA Pereira-Martins^c, AR Lucena-Araújo^b,
EM Rego^a

^a 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

^b Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

^c Departamento de Hematologia, Centro de Pesquisa do Câncer Groningen, Centro Médico Universitário Groningen (UCMG), Groningen, Holanda

Introdução: A leucemia mieloide aguda (LMA) é uma neoplasia hematológica heterogênea, cujos pacientes apresentam diferentes lesões genéticas que se traduzem em diferentes respostas clínicas. Apesar disso, o tratamento quimioterápico padrão continua o mesmo desde 1970, composto pela combinação de antracíclicos e citarabina (Ara-C), com cerca de um terço dos pacientes não se beneficiando do esquema. A busca por tratamentos alternativos tem evoluído nos últimos anos para incluir terapias-alvo, com as quais pacientes inicialmente resistentes podem passar a ser sensíveis às drogas utilizadas. Nosso grupo demonstrou que a expressão de genes envolvidos na biossíntese do colesterol está associada ao prognóstico de pacientes com LMA tratados com a quimioterapia padrão, destacando-se o gene *SQLE*, que codifica a enzima squaleno epoxidase. Assim, objetivamos validar a expressão do *SQLE* como marcador de prognóstico numa coorte brasileira de LMA e avaliar sua inibição farmacológica como potencial sensibilizador ao Ara-C. **Métodos:** Incluímos 111 pacientes adultos com LMA *de novo* (não-LPA) tratados em centros de referência em Recife, PE, Brasil (CAAE #47769821.7.0000.5208). O diagnóstico foi determinado por citomorfologia e estudos genéticos, de acordo com os critérios da OMS. Os níveis de transcrição do *SQLE* foram determinados por RT-qPCR e normalizados com dois genes endógenos (*ACTB* e *HPRT1*). Em seguida, avaliamos o efeito da inibição farmacológica do *SQLE* usando a terbinafina, uma droga antifúngica amplamente utilizada. A concentração inibitória que reduz 50% da viabilidade celular (*IC*₅₀) foi avaliada pelo ensaio de MTT após 72h de incubação com diferentes concentrações de terbinafina (0-400 μ M) ou Ara-C (0-24 μ M), em 6 linhagens de LMA: MV4-11, OCI-AML3, SET-2, Kasumi-1, KG1a e MOLM-13. Por fim, o índice combinatório (IC) foi determinado pela avaliação da viabilidade das células tratadas com o *IC*₂₅ do Ara-C mais diferentes concentrações de terbinafina. **Resultados e discussão:** Após dicotomização dos pacientes em grupos de baixa e alta expressão do *SQLE*, observamos que os pacientes *SQLE* alto apresentaram uma menor sobrevida global (SG) comparado com o grupo *SQLE* baixo (mediana = 5,3 vs. 11 meses, Log-rank $p = 0,044$; HR = 1,59, $p = 0,046$). Depois de considerar possíveis variáveis de confusão como idade, sexo, número de leucócitos e a mutação FLT3-ITD, o *SQLE* alto se manteve como variável associada a prognóstico desfavorável (HR = 1,85, $p = 0,014$). Em seguida, testamos o potencial da inibição do *SQLE* em linhas celulares de LMA, usando a terbinafina. Encontramos que as células OCI-AML3, MV4-11 e MOLM-13 foram as mais sensíveis ao tratamento (*IC*₅₀ = 82,9, 97,1 e 98,9 μ M, respectivamente); SET-2 e Kasumi-1 tiveram resposta intermediária (*IC*₅₀ = 136,6 μ M e 143,6 μ M); e a KG1a foi a mais resistente (*IC*₅₀ = 196,7). Finalmente, a análise combinatória com o Ara-C indicou sinergismo na MV4-11 e SET-2 (IC = 0,78 e 0,77, respectivamente), efeito aditivo na KG1a (CI = 0,91) e antagonismo na OCI-AML3 (CI = 1,42). **Conclusão:** Nossos resultados demonstram o potencial prognóstico da expressão do *SQLE* em pacientes adultos com LMA tratados com a terapia padrão. Além disso, a inibição farmacológica do *SQLE* reduziu a viabilidade das

células leucêmicas, com efeitos sinérgicos com o Ara-C. Entretanto, análises adicionais em contextos específicos são necessárias.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.677>

EXPLORING THE EFFICACY OF GALLIC ACID IN INDUCING APOPTOSIS AND MODULATING ROS IN MYELOID AND LYMPHOID LEUKEMIA CELL LINES

GV Romano ^{a,b}, ICF Silva ^{a,b}, I Rocha ^a, NG Amòr ^a, STO Saad ^a, MC Alvarez ^{a,b}

^a Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil

^b Universidade São Francisco (USF), Bragança Paulista, Brazil

Leukemia is the fifth most prevalent cancer worldwide. Despite significant progress in treatment through new drugs, side effects remain a major challenge. Plant derivatives are important sources for cancer treatment. Gallic acid (GA), a natural polyphenol widely distributed in plants, fruits, and foods, has demonstrated antioxidant, anti-inflammatory, and antitumor properties. Recent studies suggest that gallic acid can induce apoptosis in various cancer cell types, indicating its potential as a therapeutic agent. In this study, we evaluated the capacity of gallic acid to induce apoptosis and the production of intracellular reactive oxygen species (eROS) in several leukemia cell lines, including THP-1, K562, KG-1, HEL, MOLT-4, Daudi, and Jurkat. Cells were treated with concentrations of gallic acid ranging from 75 to 150 μ M for periods of 24 to 48 hours. Apoptosis analysis was performed using flow cytometry, while ROS production was measured using 25 μ M 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFDA) by flow cytometry. The cell lines were treated with concentrations of 1 μ M and 75 μ M, and the evaluation periods were 30 min, 1 h, 3 h, and 6 h. The results indicate that gallic acid has a variable effect on the induction of apoptosis in different leukemia cell lines: THP-1, K562, KG-1, and Jurkat: These cell lines showed apoptosis percentages of 14.5% at 75 μ M and up to 24% at 150 μ M, maintaining these levels for both 24 and 48 hours of treatment. Hel: Apoptosis ranged from 14% to 26% at 24 hours and up to 40% at 48 hours. Molt-4: Apoptosis ranged from 28% to 65% at 24 hours and up to 77% at 48 hours. Daudi: Apoptosis ranged from 7% to 12% at 24 hours and from 18% to 29% at 48 hours. Jurkat: Apoptosis ranged from 7% to 17% at both 24 and 48 hours. To determine if apoptosis induced by gallic acid was related to abnormal intracellular ROS levels, we performed preliminary analyses of ROS generation. These analyses showed that both the Hel and Molt-4 cell lines experienced a reduction in ROS at the concentration of 75 μ M at 3 and 6 hours of treatment. However, at 1 μ M, there was a slight increase in ROS generation compared to the control at 1, 3, and 6 hours. Gallic acid demonstrates a variable but generally effective ability to induce apoptosis in different leukemia cell lines. Myeloid leukemia cell lines (THP-1, K562, KG-1, Hel) tend to be more responsive to gallic acid-induced apoptosis compared to lymphoid lines (Daudi, Jurkat), with Molt-4