

ID – 1654

ONCO-HEMATOLOGIA TRANSLACIONAL: O PAPEL ESTRATÉGICO DO LABORATÓRIO INSTITUCIONAL DE PESQUISA EM BIOMARCADORES DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS NA INVESTIGAÇÃO DE BIOMARCADORES E POTENCIAIS ALVOS TERAPÉUTICOS

LKC Neves Andrade, MMdC Lopes, LdA Xavier, DF Coutinho, RSdS Alves, SV Mendes Nolasco, SR Ribeiro, SdS Melo, CMdC Paraguai, AdP Sabino

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: A evolução da oncologia de precisão está diretamente relacionada à capacidade dos centros de pesquisa em integrar tecnologias moleculares com a prática clínica. Nesse contexto, o Laboratório Institucional de Pesquisa em Biomarcadores (LINBIO), tem se consolidado como uma referência em onco-hematologia translacional. Sua atuação abrange a coleta, preservação, processamento e análise de amostras biológicas, com o objetivo de identificar biomarcadores com potencial diagnóstico, prognóstico e de estratificação clínica, sobretudo por meio da biópsia líquida, além de identificação de potenciais alvos terapêuticos. **Objetivos:** Apresentar o escopo de atuação e os impactos científicos do LINBIO em estudos voltados à identificação de biomarcadores em pacientes com neoplasias hematológicas. **Material e métodos:** Foram conduzidos estudos retrospectivos do tipo caso-controle, com amostras de sangue periférico e medula óssea de pacientes atendidos no Hospital das Clínicas da UFMG. As variáveis registradas incluíram tipos de doenças estudadas, tipos de amostras analisadas, vinculação com projetos aprovados pelo Comitê de Ética da UFMG e resultados relevantes obtidos pelos projetos desenvolvidos. **Resultados:** O LINBIO processa amostras regularmente, obtendo frações como plasma, pellet de leucócitos e vesículas extracelulares, utilizadas para extração de DNA, RNA e microRNAs. Entre as patologias investigadas, destacam-se leucemias agudas, leucemias crônicas, linfomas não Hodgkin, trombocitemia essencial, mielofibrose, mieloma múltiplo e síndromes mielodisplásicas. Nos últimos cinco anos, foram desenvolvidos mais de 15 projetos com foco em doenças hematológicas, como leucemias agudas ($n=4$), doenças linfoproliferativas crônicas ($n=9$), neoplasias mieloproliferativas ($n=1$) e síndromes mielodisplásicas ($n=1$). Dentre os achados mais relevantes, destacam-se: alterações em proteínas associadas à apoptose e à sobrevivência celular na leucemia linfocítica crônica (LLC); análise metabolômica em pacientes com LLC, SMD e leucemias agudas; expressão diferencial de miRNAs em miRnomas de pacientes com LLC; análises específicas do perfil de miR-197, miR-26a e miR-27a na LLC; e análise proteômica (peptidômica) em leucemias mieloides e linfoides agudas. **Discussão e conclusão:** Há cerca de dez anos a atuação do LINBIO tem parceria com instituições de saúde, atualmente integra a Rede Mineira de Pesquisa Translacional em Oncologia com o uso de painéis multigênicos para avaliação de neoplasias

hematológicas. Tem viabilizado tais investigações pelo uso de metodologias avançadas como citometria de fluxo, PCR em tempo real (qPCR), sequenciamento de nova geração (NGS), citogenética, cultura celular e plataformas ômicas. A aplicação dessas tecnologias impulsiona desfechos diagnósticos, prognósticos e escolha terapêutica personalizada. Com a possibilidade de inclusão de pacientes, essas análises, normalmente inacessíveis no Sistema Único de Saúde (SUS) devido ao alto custo, estão sendo desenvolvidas no LINBIO com grande foco em expansão para demais serviços públicos no Brasil. **Conclusão:** O LINBIO tem trabalhado na otimização dos protocolos de análises e contribuído para o avanço científico ao integrar infraestrutura, dados e precisão, acelerando descobertas científicas para a prática clínica. Essa atuação fortalece a oncologia pública em Minas Gerais, promovendo impacto social, econômico e tecnológico. Agradecimentos: Este trabalho contou com apoio da FAPEMIG, CNPq e CAPES.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104237>

ID – 387

OPTIMIZING KARYOTYPE ANALYSIS IN A REFERENCE CYTOGENETICS LABORATORY THROUGH WEB-BASED AI INTEGRATION

A Amaro, S Ciota, L Fazan, N Santos, T Barbosa, MF Pedro, DADL Souza, RM Martinez, R Proto-Siqueira

Flow Diagnósticos, São Paulo, SP, Brazil

Introduction: Karyotype analysis is a meticulous process that demands highly trained professionals and significant time for execution. Recently, artificial intelligence (AI)-based systems have been increasingly incorporated into cytogenetics to reduce analysis time and enhance productivity, offering a promising alternative for high-complexity laboratories facing rising test volumes. **Objectives:** To validate and implement the VALI platform, a cloud-based system for image capture and cytogenetic analysis and to evaluate the platform's performance in processing and classifying bone marrow samples from patients with suspected acute myeloid leukemia (AML) and myelodysplastic syndromes (MDS). **Material and methods:** For validation, 50 onco-hematologic samples were processed. Following validation, from Sep/2024 to Apr/2025, a total of 3,046 onco-hematologic karyotype cases were analyzed using VALI. All cases were manually captured, and analyses were independently reviewed by two experienced cytogeneticists, ensuring diagnostic accuracy through mandatory dual validation. During validation, the average time for manual image capture was 42 minutes, and analysis time was 21 minutes. Among the 3,046 cases routinely processed, 72.9% showed normal karyotypes and 15.8% had relevant abnormalities and the remaining 11.3% were classified as ATM (total metaphase absence). A focused evaluation of 203 samples for suspected AML or MDS, received up to 48 hours after collection, showed that 140 (89.9%) were classified as IMA (>18 metaphases), 48 (23.6%) as BIM (3-17 metaphases), and only 15 (7.4%) ATM. Among the IMA and BIM samples, 55

(39%) and 15 (31%) presented relevant cytogenetic abnormalities, respectively (chi-square $p=0.320$). The most frequent findings in karyotype were related to chromosomes 5, 7, 8 and 20. Overall, 93% of these AML/MDS samples were successfully classified using immunophenotyping and cytogenetics. **Discussion and conclusion:** The implementation of a web-based system with AI-powered chromosome clustering, remote access, and no licensing restrictions significantly increased analytical capacity, reduced turnaround times, and enabled decentralized karyotype analysis. The system supported remote access for image capture and interpretation, and maintained high technical standards through mandatory dual review by experienced professionals. Moreover, it allowed high-quality processing of AML and MDS samples, with a lower ATM rate than typically reported in the literature.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104238>

ID – 1218

PADRORIZAÇÃO DE ENSAIO DE PCR EM TEMPO REAL PARA ANÁLISE DAS VARIANTES DO GENE NPM1 EM AMOSTRAS DE PACIENTES COM LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA

MLBS Silva, JC Gaspar, SFB da Silva, FE de Paula, RM Reis, MT Pinto

Hospital do Câncer de Barretos, Barretos, SP, Brasil

Introdução: O câncer é uma das principais causas de mortalidade no mundo, e a leucemia mieloide aguda (LMA) destaca-se entre suas formas mais agressivas, sobretudo em adultos. A mutação no gene nucleofosmina-1 (NPM1) é um biomarcador importante para diagnóstico e prognóstico, especialmente em pacientes com cariotípico normal. A detecção precoce de células leucêmicas residuais (doença residual mensurável - DRM) é fundamental para detectar recidiva iminente, aprimorar a estratificação de risco, otimizar o acompanhamento pós-tratamento e possibilitar intervenções precoces, conforme as recomendações internacionais para a doença. Considerando a relevância clínica do monitoramento molecular de NPM1 e sua limitada implementação nos laboratórios assistenciais brasileiros, torna-se necessário o desenvolvimento e a padronização de métodos sensíveis, reprodutíveis e de baixo custo que sejam capazes de aprimorar a análise de DRM. **Objetivos:** Padronizar um ensaio de reação da cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) para análise das variantes do gene NPM1 em amostras de pacientes diagnosticados com LMA. **Material e métodos:** O estudo utilizou qPCR para detecção das variantes A, B e D do gene NPM1. A padronização do ensaio foi conduzida com RNA proveniente de duas linhagens celulares: OCI-AML3, conhecidamente positiva para a variante tipo A, e HL-60, com perfil selvagem para NPM1 e amostras de RNA de medula óssea provenientes de pacientes com LMA do Hospital do Câncer de Barretos, previamente caracterizados quanto ao status de NPM1 (selvagem ou mutado) por meio de sequenciamento direto ou de nova geração. A partir de 1 μ g de RNA, foi realizada a transcrição reversa para

obtenção de cDNA, seguida de reações de qPCR com primers específicos para cada variante, conforme descrito na literatura. A eficiência do ensaio foi avaliada a partir de diluições seriadas da linhagem OCI-AML3 na HL-60. **Resultados:** O ensaio demonstrou desempenho satisfatório, com amplificação eficiente e reprodutível das variantes A, B e D do gene NPM1. A eficiência da reação foi de 96%, com $R^2 = 0,994$ e $slope = -3,4$, detectando níveis menores que 0,01% de alteração. O tempo total de execução foi de, no máximo, 2 horas. **Discussão e conclusão:** A padronização de um protocolo in house para detecção das variantes em NPM1 por qPCR demonstrou ser uma abordagem eficaz, sensível para análise de DRM e tecnicamente viável. O método demonstra potencial para implementação em laboratórios com infraestrutura básica de biologia molecular e/ou com baixo volume de exames, destacando-se como uma alternativa economicamente viável frente ao alto custo e à curta validade dos kits comerciais, muitas vezes subutilizados. Sua reprodutibilidade e rápida execução, em comparação aos métodos ortogonais, reforçam sua aplicabilidade na rotina de laboratórios clínicos, especialmente no contexto onco-hematológico.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104239>

ID - 2741

PANCITOPENIA GRAVE ASSOCIADA AO USO CRÔNICO DE METOTREXATO: RELATO DE CASO

NC Telles ^a, TP Do Nascimento ^a, F Geronimo ^a, CA Sepanski ^a, LL Dos Santos ^a, EAP Nobre ^a, MEdS Ferreira ^a, ESA Lisboa ^a, DC Kalva ^b

^a Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais, Ponta Grossa, PR, Brasil

^b Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR, Brasil

Introdução: O metotrexato (MTX) é um antimetabólito e antagonista do ácido fólico, amplamente utilizado no tratamento de doenças inflamatórias crônicas, como psoríase, artrite reumatoide e lúpus eritematoso sistêmico, além de neoplasias hematológicas e sólidas. Atua inibindo a enzima diidrofolato redutase (DHFR), interferindo na síntese de purinas e timidina, fundamentais para a proliferação celular. Esse mecanismo afeta células de alta taxa de proliferação, como as hematopoieticas, podendo causar efeitos adversos graves, como pancitopenia, sobretudo em casos de uso inadequado ou prolongado. **Objetivo:** Relatar o caso de um paciente que desenvolveu pancitopenia grave após uso crônico de metotrexato por 10 anos sem diagnóstico clínico prévio, cuja única queixa eram lesões cutâneas, com o objetivo de discutir os riscos da prescrição sem acompanhamento adequado e a importância do monitoramento laboratorial regular. **Relato de caso:** Paciente masculino, 60 anos, fez uso de metotrexato oral por conta própria (7,5 a 15mg semanais), por cerca de 10 anos, para tratar lesões cutâneas semelhantes às de um familiar com psoríase, sem avaliação dermatológica ou acompanhamento laboratorial. Evoluiu com piora expressiva das