

^e Escola de Enfermagem de Manaus (EEM),
Universidade Federal do Amazonas (UFAM),
Manaus, AM, Brasil

Objetivos: Associar o polimorfismo NLRP3 C/T rs10754558 com a quantidade de blastos identificados ao diagnóstico em pacientes com leucemia linfoblástica aguda (LLA) diagnosticados na Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM). **Material e métodos:** Foi realizado um estudo observacional do tipo caso-controle retrospectivo com 158 pacientes com LLA (subtipo B e T) e 192 indivíduos controles. A genotipagem foi realizada através da técnica de Real-time PCR utilizando sondas Taqman alelo-específicas. Foi realizada regressão linear simples e múltipla para investigar a associação entre o polimorfismo em estudo e a quantidade de blastos na medula óssea ao diagnóstico (20-60% e >60%). **Resultados:** A maioria dos pacientes pertenceu à faixa etária entre 0 a 10 anos de idade (43%), sendo o gênero masculino (63%) e raça parda (78%) predominantes. Além disso, 73% dos pacientes eram portadores de LLA tipo B, 76% foram realocados no grupo alto risco, 69% recaíram durante o tratamento e 44% evoluíram ao óbito. Nesse estudo, o alelo homozigoto mutado foi associado com 1.81 mais chances de apresentar quantidade maior que 60% de blastos na medula óssea ao diagnóstico (C vs. T [OR: 1.81 IC 95%: 1.03-3.20, $p = 0,037$]). **Discussão:** Diversos fatores secretados pelo estroma e pelo blasto leucêmico contribuem para a manutenção do fenótipo maligno e consequente proliferação celular, dentre eles, a produção da citocina IL-1 β pela ativação do inflamassoma NLRP3 (Bucher, 1990). Na literatura, o polimorfismo em estudo é associado com o aumento da expressão de NLRP3 e consequente aumento na produção dessa citocina, sendo isso observado em pacientes com LLA (Zhang et al, 2019) e leucemia mieloide crônica (LMC) (Wang et al, 2017). NLRP3 também está envolvido na migração de células leucêmicas da medula óssea para órgãos extramedulares, contribuindo para a piora do quadro clínico (Ratajczka, 2020). Uma vez que, NLRP3 C/T rs10754558 está diretamente associado com o aumento da atividade de NLRP3/IL-1 β , este pode ter um papel importante no aumento de células leucêmicas, como demonstrado nesse estudo. **Conclusão:** O polimorfismo NLRP3 C/T rs10754558 foi associado com o aumento de blastos na medula óssea ao diagnóstico de pacientes com leucemia linfoblástica aguda. No entanto, estudos futuros utilizando modelos *in vitro* são necessários para melhor descrever a influência desse polimorfismo na fisiopatogênese da doença.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.262>

A CEFALOCROMINA EXIBE ATIVIDADE CITOTÓXICA EM MODELOS CELULARES DE LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

GC Lima^a, HP Vicari^a, MCD Nascimento^b,
K Lima^b, MJP Ferreira^c, LV Costa-Lotufo^a,
CSM Serra^a, EM Rego^b, JA Machado-Neto^a

^a Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biomédicas (ICB), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^b Departamento de Hematologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, SP, Brasil

^c Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Objetivos: A Leucemia Mieloide Aguda (LMA) é uma neoplasia hematológica maligna que se origina a partir de mutações nas células tronco hematopoiéticas e que afeta os precursores da linhagem mieloide. Apesar dos avanços no entendimento de sua fisiopatologia, novas opções terapêuticas ainda são necessárias, devido as altas taxas de resistência e recaída. Um estudo anterior verificou que a cefalocromina, composto derivado da fermentação do fungo *Cosmopora vilior*, apresentou atividade antiproliferativa e citotóxica através de parada do ciclo celular em células A549 de câncer de pulmão humano. Estudos dos efeitos da cefalocromina em leucemias agudas, no entanto, ainda não foram explorados. Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi investigar o potencial citotóxico e as respostas de dose e tempo de cefalocromina nas linhagens celulares Kasumi-1, NB4-R2 e OCI-AML3. **Material e Métodos:** As linhagens celulares de LMA Kasumi 1, NB4-R2 e OCI-AML3 foram expostas a doses graduadas e crescentes de cefalocromina (0, 0.3, 0.6, 1.2, 2.5, 5, 10 e 20 μ M) por 24, 48 e 72 horas. O DMSO foi usado como controle negativo. A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio de metiltiazoletrazolio (MTT). A IC₅₀ foi estabelecida por regressão linear e a análise estatística foi realizada por ANOVA e pós-teste de Bonferroni utilizando o software GraphPad Prism. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo. **Resultados:** O tratamento com cefalocromina apresentou alto potencial citotóxico dependente de tempo com IC₅₀ na faixa de micromolar para as células Kasumi-1, NB4-R2 e OCI-AML3 ($p < 0.05$). Os valores de IC₅₀ para 24, 48 e 72 horas de tratamento com cefalocromina foram >20, 5 e 1.9 μ M para Kasumi 1, 14.3, 5.1 e 2.9 μ M para NB4-R2 e >20, 18.3 e 2.0 μ M para células OCI-AML3, respectivamente. **Discussão:** Nossos resultados demonstraram que a cefalocromina, composto derivado de fungo, exibe citotoxicidade dependente da dose e, principalmente, do tempo nas linhagens celulares leucêmicas testadas, sendo que as células Kasumi 1, portadora de mutação em c-kit e translocação t(8;21), e NB4-R2, portadora da translocação t(15;17), apresentam maior sensibilidade à cefalocromina quando comparadas às células OCI-AML3, portadora de mutação em DNMT3A. **Conclusão:** Em resumo, nossos dados evidenciaram um perfil citotóxico da cefalocromina em modelos celulares de leucemia mieloide aguda, mostrando-se um possível futuro agente para aumentar o arsenal antileucêmico. Futuros estudos da cefalocromina em combinação com outros agentes são de interesse. **Financiamento:** CNPq, CAPES e FAPESP.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.263>

IKZF1 DELETIONS IN B-ALL: FROM GENETIC BASIS TO DIAGNOSTIC ENHANCEMENT

BA Lopes^a, ALT Maciel^a, TC Barbosa^a,
ES Costa^b, TF Aguiar^c, MM Lins^d, MRV Ikoma^e,
M Schramm^{f,g}, E Chapchap^h, M Emerenciano^a

^a Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^b Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^c Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (Hemorio), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^d Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP), Recife, PE, Brazil

^e Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil

^f Prontobaby Hospital da Criança, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^g Serviço de Hematologia, Hospital do Câncer I, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^h Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), São Paulo, SP, Brazil

Introduction: Because IKZF1 deletions are associated with an increased risk of relapse in patients with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia (B-ALL), the development of methods for rapid and accurate detection of this alteration has a great clinical impact. Although multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) has been widely used for the evaluation of IKZF1 deletions, multiplex (M)-PCR is a valuable tool for the validation of those IKZF1 deletions. However, this method is still limited to detect recurrent intragenic deletions ($\Delta 2-3$, $\Delta 2-7$, $\Delta 2-8$, $\Delta 4-7$, $\Delta 4-8$). Therefore, here we evaluate the breakpoint map of IKZF1 deletions with a special focus on non-recurrent deletions to update methodologies for the diagnosis of this genetic alteration. Moreover, we explore the genetic features underlying those IKZF1 deletions to infer its molecular pathogenesis. **Methodology:** This study included four international cohorts of pediatric and adult patients with B-ALL. IKZF1 deletions were identified by MLPA (P335 and P202 assays) and M-PCR. Non-recurrent deletions were verified by next-generation sequencing using the Illumina DNA Prep with Enrichment assay. We also revised previously published data regarding IKZF1 deletions in B-ALL for compiling breakpoint sequence information of these deletions. Sequence data from our cohorts and literature were used in further analyses. After identifying the breakpoint clusters, we performed an agnostic motif search using MEME and annotated the presence of filler DNA or microhomologies at the junctions of IKZF1 deletions. **Results:** A total of 1,472 B-ALL samples were screened, and IKZF1 deletions were found in 16% of these patients. Although non-recurrent deletions were associated with 1% of the total cohort, it represents 8% of all IKZF1 deletions. The analysis of breakpoint sequences at DNA level revealed that non-recurrent IKZF1 deletions comprises miscellaneous alterations, but the majority of them encompasses $\Delta 1$ and $\Delta 1-3$. Considering that IKZF1 exon 1 deletions are more difficult to reliably detect by MLPA due to the high GC content (>50%) of this region, we mapped several exon 1 deletions at DNA level and identified one commonly deleted region which is ideal for designing MLPA probes. Next, we searched for motifs, additional nucleotides/microhomologies associated with IKZF1 deletion sequences. We verified an enrichment of the 5'-CACACAGTG-3' sequence within 21 out of 24 breakpoint clusters of IKZF1 deletion (E-value: 2.9×10^{-8}).

Additionally, the filler DNA within the junctions of IKZF1 deletions presented a higher GC nucleotide content at these clusters as compared to the deletions outside of them (71% vs. 56%). **Conclusions:** This study provides the genetic landscape of IKZF1 deletions in B-ALL. Although rare types of deletion may be identified at the routine diagnosis, they should be considered after using adapted MLPA protocols, including additional probes within the common deleted region nearby IKZF1 exon 1. We also verified the occurrence of the heptamer sequence and an enrichment of GC nucleotides exclusively within breakpoint clusters, suggesting that RAG recombination and TdT activity may promote most IKZF1 deletions, although rare types of alterations may be associated with another molecular mechanism of leukemogenesis.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.264>

PURINE-DERIVED PHENYLHYDROXAMATE COMPOUNDS INDUCES CELL DEATH IN HEMATOLOGICAL NEOPLASM MODELS

JAEG Carlos^a, LC Almeida^a, K Lima^a, MT Tavares^b, KB Waitman^b, LV Costa-Lotufo^a, R Parise-Filho^b, JA Machado-Neto^a

^a Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Departamento de Farmácia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

Objective: The histone acetylation process is the best-studied type of post-translational modification, playing a key role in chromatin remodeling regulated by the activity of two enzymes: histone acetyltransferases and histone deacetylases (HDAC). High levels of HDAC have been observed in patients with hematological and solid cancers and are associated with poor prognosis. The present study aimed to evaluate the cellular effects of three novel potential HDAC inhibitors in hematological neoplasm models. **Material and methods:** A panel containing myeloid (OCI-AML3, Kasumi 1, HL60, THP1, MOLM13, MV4-11, U937, NB4, NB4-R2, K562, KU812, SET2, and HEL) and lymphoid (Jurkat, CEM, Namalwa, NALM6, Daudi, Raji, SUP-B15, REH, U266, MM1.S, MM1.R, and Karpas 422) neoplasm cells were used. Peripheral blood mononuclear cells (normal leukocytes) from healthy donors were used for toxicity evaluation (n = 4). Three novel purine-derived phenylhydroxamate with potential HDAC inhibitor activity (named here as 82, 83, and 84) were used. Vorinostat was used as a reference drug. Cell viability was assessed by MTT assay, apoptosis by annexin V/propidium iodide labeling and flow cytometry (FC), clonogenicity by autonomous colony formation, cell cycle by propidium iodide and FC, and protein expression by Western Blot. IC₅₀ values were obtained by non-linear regression. Statistical analysis was performed by ANOVA and Bonferroni post-test. A p < 0.05 was considered significant. **Results:** All compounds tested reduced cell viability at submicromolar concentrations being compound 82 more potent than the others exhibiting less concentration