

POLIMORFISMOS TET2 RS3733609 E TERT RS2736100 ASSOCIAM-SE À MUTAÇÃO JAK2V617F EM PACIENTES COM NEOPLASIA MIELOPROLIFERATIVA BCR::ABL1-NEGATIVA EM COORTE BRASILEIRA

RS Tristão^a, SLAP Filho^a, BGS Macedo^a,
FB Silva^a, PMM Garibaldi^a, LC Palma^a,
LLF Pontes^a, JA Machado-Neto^b, F Traina^a

^a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP),
Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP,
Brasil

^b Instituto de Ciências Biomédicas (ICB),
Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP,
Brasil

Objetivos: O polimorfismo TERT rs2736100 A>C é associado a aumento do risco ao desenvolvimento de neoplasias mielo-proliferativas (NMP) potencialmente ligado ao ganho de função da enzima TERT e aumento do comprimento telomérico leucocitário. O polimorfismo TET2 rs3733609 C>T é particularmente pouco estudado, mas é relacionado como fator predisponente ao desenvolvimento de NMP JAK2V617F -positiva além de parecer conferir ganho proliferativo à linhagem eritroide. Este trabalho tem por objetivo descrever a coorte de pacientes NMP BCR::ABL1 -negativas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP) e investigar se o status polimórfico dos pacientes repercute sobre seus aspectos clínicos, laboratoriais, citogenéticos e moleculares. **Materiais e métodos:** O trabalho conta com análise retrospectiva de prontuários de 245 pacientes adultos com diagnóstico de NMP BCR::ABL1 -negativas clássicas, mielofibrose primária (MFP), policitemia vera (PV) e trombocitemia essencial (TE), em seguimento no HCFMRP-USP entre 2006 a 2019. Análise citogenética revisada segundo o Sistema Internacional para Nomenclatura Citogenômica Humana (ISCN, 2017) conforme praticável; e genotipagem baseada em qPCR e sondas de hidrólise. **Resultados:** 245 pacientes foram avaliados, 123 do sexo masculino e 122 do sexo feminino, mediana de idade de 73 anos. Cento e dezanove pacientes tiveram diagnóstico de MFP, sendo a mutação JAK2V617F detectada em 71, mutação CALR em 25, mutação MPL em 5, e 18 considerados triplo-negativos; 72 PV sendo JAK2V617F detectado em 64, mutação JAK2 éxon 12 em 1 paciente e JAK2 selvagem em 7 pacientes; e 54 TE dos quais a mutação JAK2V617F foi detectada em 25, mutação CALR em 12 pacientes e 17 triplo-negativos. Da perspectiva citogenética, 124 dos 245 foram avaliados, os 121 restantes não obtiveram metáfases ou não foram submetidos à análise citogenética. Dos 124, 107 apresentaram cariótipo normal. Entre 17 portadores de alterações citogenéticas, 10 tiveram diagnóstico de MFP sendo um destes cariótipo complexo. A alteração mais frequentemente observada foi a trissomia do cromossomo 8. Dos 245 pacientes, 227 foram genotipados para TET2 rs3733609, 36 portaram o alelo polimórfico (T), dos quais 4 eram homozigotos. Para TERT rs2736100, 242 foram genotipados. Destes, 152 portaram o alelo polimórfico (C) dos quais 33 pacientes eram homozigotos. Nenhuma associação foi estabelecida entre a presença do alelo polimórfico e os aspectos clínicos, laboratoriais e

citogenéticos supracitados, salvo a detecção da associação molecular entre a presença dos polimorfismos e a mutação JAK2V617F (TET2 rs3733609, $p = 0.02$; TERT rs2736100, $p = 0.02$). **DISCUSSÃO:** A associação entre os polimorfismos TET2 rs3733609 ; TERT rs2736100 e a mutação JAK2V617F encontrada nesta coorte reforça os achados já descritos na literatura compreendendo a outras populações e os aspectos anteriormente descritos neste resumo. **Conclusão:** A associação com uma importante entidade molecular de ordem etiológica para as NMP BCR::ABL1 -negativas pode representar o envolvimento de fatores germinativos dignos de investigação não apenas para prática da genética médica, mas também pela dinâmica de aquisição da mutação condutora ao fenótipo neoplásico.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.364>

INFLAMMATORY CYTOKINES PERTURB NK CELL FUNCTION AND GENE SIGNATURE IN CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

V Kuznetsova^a, S Patel^a, AFO Costa^b, F Luca^a,
A Franceski^a, P Goel^a, R Welner^a

^a University of Alabama, Birmingham, United States

^b Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

Objectives: Natural killer (NK) cells have the capacity to eliminate malignant cells by releasing cytotoxic granules, which makes them a potent anti-cancer immunotherapeutic. NK cells' mature phenotype and counts positively correlate with prolonged treatment-free survival in chronic myeloid leukemia (CML), while dysfunctional NK cells are predictive of relapse in CML patients. The molecular drivers of this impairment during leukemic progression remain unclear. Given the established role of inflammatory cytokines (namely IL1 β , IL-6, GM-CSF, TNF α) in driving myeloid malignancies, we aimed to define their effect on NK cell phenotype and function using a unique pre-clinical chimeric mouse model of CML. We hypothesize that leukemic cytokines impede NK cell maturation and cytotoxicity and shift NK cells toward a pro-tumor cytokine-producing phenotype. **Methods:** We establish a chimeric mouse model of CML by transplanting bone marrow BCR-ABL+ CD45.2 cells into sub-lethally irradiated CD45.1 C57BL/6 wild-type mice. For controls, mice are transplanted with non-mutant cells. Such chimeras represent a robust model to study the exposure of non-transformed host cells to leukemia. At the endpoint, splenic, blood, and bone marrow NK cells are harvested and profiled by flow cytometry, RT-qPCR, scRNA-seq, or used for degranulation assay. Blood samples are collected to obtain serum. **Results and Discussion:** Consistent with clinical observations, NK cells are severely reduced in numbers and frequencies and display an immature phenotype and diminished expression of activating receptors (Nkp46, Ly49D) while upregulating inhibitory molecules (Lag-3, TIGIT, NKG2A) during leukemia. Moreover, CML-exposed NK cells have a higher proliferation rate and a greater cell death indicating perturbed homeostasis. We