

ASSOCIAÇÃO ENTRE PARÂMETROS IMUNOFENOTÍPICOS E ESTRATIFICAÇÃO DE RISCO EM PACIENTES PORTADORES DE LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

FMCP Pessoa ^a, IV Barreto ^a, RB Gadelha ^a, BMD Nogueira ^a, AKC Machado ^a, RM Ribeiro ^b, DS Oliveira ^{a,b}, MEA Moraes ^a, CA Moreira-Nunes ^a, MOM Filho ^a

^a Laboratório de Farmacogenética, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos (NPDM), Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brasil

^b Departamento de Hematologia, Hospital Geral de Fortaleza (HGF), Fortaleza, CE, Brasil

Objetivo: Atualmente, a ampla aplicação da imunofenotipagem e caracterização genética tornou-se fundamental para refinamento diagnóstico, estratificação de risco, predição de prognóstico e promoção de terapia-alvo em pacientes com Leucemia Mieloide Aguda (LMA). Portanto, este estudo visou identificar possíveis correlações entre marcadores imunofenotípicos e estratificações de risco em pacientes com LMA. Metodologia: Esse trabalho obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (n° 4.798.575) e incluiu amostras de sangue periférico e medula óssea de 77 pacientes portadores de LMA atendidos no Hospital Geral de Fortaleza (HGF). Todos os pacientes foram submetidos a testes de imunofenotipagem, cariótipo e biologia molecular para que posteriormente fossem estratificados seguindo as diretrizes estabelecidas pelo European Leukemia Net de 2022. Os pacientes com foram submetidos à pesquisa das seguintes alterações: FLT3-ITD, RUNX1::RUNX1T1, CBFβ::MYH11 e PML::RARA através da técnica de RT-qPCR. **Resultados:** Entre os 77 pacientes com LMA, 8 foram classificados com risco favorável, 54 com risco intermediário e 15 com risco adverso. Os fenótipos mais frequentes com o grupo de risco favorável foram CD45, CD33, CD34, CD117, HLA-DR e MPO. Em relação ao grupo de risco intermediário, os marcadores mais incidentes foram CD33, CD45, CD117, CD13, CD34 e HLA-DR. Por sua vez, os principais fenótipos associados ao grupo de risco adverso foram CD117, CD34, CD33, CD45 e CD13. Em geral, foi observada a associação de dos marcadores CD7 e CD10 com maiores taxas de óbito. Em relação às alterações genéticas que conferem um risco favorável, 1 paciente possuía a translocação CBFβ::MYH11 e 7 apresentavam a translocação RUNX1::RUNX1T1. Quanto às alterações genéticas associadas ao risco intermediário, 4 pacientes apresentavam a mutação FLT3-ITD e 10 possuíam a translocação PML::RARA. **Discussão:** Estudos reportaram que taxas de sobrevida global e de remissão completa aparentam ser influenciadas pela expressão de determinados marcadores, como CD10, CD13, CD34, CD41, CD61, CD117 e HLA-DR. Estudos relataram maior expressão de CD33, CD34, CD117, HLA-DR, CD15, CD64 e CD14 em paciente com a fusão CBFβ::MYH11, enquanto este trabalho observou expressão de CD45, CD34, CD227, MPO, CD38, HLA-DR e CD33. Os imunofenótipos dos pacientes com RUNX1::RUNX1T1 identificados neste estudo corroboraram com os marcadores descritos na literatura: CD34, CD117, CD13, CD33, CD19, CD56,

CD38, HLA-DR e MPO. Outros trabalhos ainda identificaram fenótipos que aparentam estar associados a alterações genéticas, como os fenótipos CD33, CD34, CD123, CD25 e CD99 que predizem FLT3-ITD. Entretanto, no presente estudo foram observados CD64, CD45, CD33 e HLA-DR associados à mutação FLT3-ITD. Os pacientes com PML::RARA analisados neste estudo apresentaram os marcadores CD33, CD64, CD117, CD13 e MPO, corroborando com outros trabalhos na literatura. **Conclusão:** Através deste estudo foi possível destacar a existência de correlação entre a expressão de determinados imunofenótipos e a estratificação de risco de pacientes com LMA. A identificação dessas informações pode proporcionar um diagnóstico mais rápido e preciso, além de estratégias de tratamento mais bem direcionadas.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.615>

CARACTERIZAÇÃO DA HETEROGENEIDADE MOLECULAR E IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES ASSOCIADOS COM IKZF1PLUS EM LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA DE CÉLULAS PRECURSORAS-B

CB Blunck ^a, CP Poubel ^b, BA Lopes ^a, TC Barbosa ^a, MB Mansur ^c, M Emerenciano ^a

^a Laboratório de Genética das Leucemias Agudas (GenLab), Programa de Carcinogênese Molecular, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Bioinformatics and Computational Biology Laboratory, Research Centre, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^c Department of Paediatrics, Children's Hospital, John Radcliffe Hospital and MRC Weatherall Institute of Molecular Medicine - WIMM, University of Oxford, Oxford, Reino Unido

A leucemia linfoblástica aguda de células precursoras B (LLA-CPB) pode ser classificada pela ocorrência de várias alterações genéticas. O subgrupo IKZF1plus é definido pela coocorrência de IKZF1del e de deleções em CDKN2A, CDKN2B, PAX5 ou na região pseudoautosômica 1 (PAR1), na ausência de deleções de ERG. Os pacientes com este perfil genômico apresentam um pior prognóstico e maior risco de recaídas. Desta forma, nosso trabalho visa caracterizar a heterogeneidade molecular e identificar marcadores moleculares associados com a presença de IKZF1plus em LLA-CPB. **Materiais e métodos:** Foram avaliadas duas séries de casos independentes (TARGET e GenLab). Realizamos análises de expressão diferencial entre grupos de pacientes do TARGET: IKZF1plus, IKZF1dele IKZF1selvagem. A quantificação da expressão dos genes foi realizada por sequenciamento de RNA (RNA-seq) e a análise dos dados através do DESeq2. A caracterização molecular das amostras GenLab foi por RT-PCR, FISH e MLPA convencional/digital. A quantificação da expressão gênica foi realizada por RT-qPCR. Os testes de X2 e de Fisher foram usados para avaliar a significância estatística das associações entre as diferentes variáveis avaliadas. Valores de $P < 0,05$ foram

considerados estatisticamente significantes. As análises de sobrevida foram realizadas utilizando o método de Kaplan-Meier e as diferenças entre os grupos foram comparadas pelo teste de log-rank ($<0,10$). **Resultados:** Foram incluídos 125 pacientes do TARGET que foram agrupados em IKZF1plus (12,8%), IKZF1del (9,6%) ou IKZF1selvagem (78,4%). A análise de expressão diferencial mostrou que os genes que codificam proteínas de membrana mais associados ao grupo IKZF1plus são: KCNA5, GREB1, EPOR, SDK1 e PTPRB. Foram caracterizados, 60 pacientes do nosso laboratório (GenLAB). A frequência de pacientes agrupados como IKZF1plus, IKZF1del e IKZF1selvagem foi 33,3% em todos os grupos. Em relação aos pacientes IKZF1del, 81,8% dos pacientes foram categorizados com risco prognóstico alto e não houve diferença em relação ao sexo nos três grupos de IKZF1. Observamos que o gene KCNA5 apresentou-se mais expresso no grupo IKZF1plus quando comparado ao grupo IKZF1del ($p=0,038$) e IKZF1selvagem ($p=0,001$). Por outro lado, o gene GREB1 apresentou-se menos expresso no grupo IKZF1plus quando comparado ao grupo IKZF1del ($p=0,052$) e IKZF1selvagem ($p=0,008$). Esses resultados corroboram com os resultados vistos pelo DESeq2 na série de casos de descoberta TARGET. Entretanto, não observamos significância estatística ao analisarmos a expressão dos genes PTPRB, SDK1 e EPOR nos grupos de IKZF1. Através de MLPA digital observamos uma alta frequência de deleções no gene VPREB1 (22q11.22) no grupo IKZF1plus comparado a IKZF1del não plus e IKZF1selvagem. Deleções em CD200 (3q13.3) também foram mais frequentes em pacientes IKZF1plus do que em IKZF1não-plus e IKZF1selvagem. Não observamos diferenças na sobrevida global entre os grupos. **Conclusão:** Estes resultados nos permitiram: identificar um painel de genes diferencialmente expressos na série de casos TARGET entre os diferentes grupos de IKZF1; verificar que os níveis de expressão dos genes KCNA5 e GREB1 observados na série de caso GenLAB validam com os resultados observados pela DESeq2 na série de casos TARGET e que deleções em VPREB1 são recorrentes, especialmente em pacientes IKZF1plus, sendo um biomarcador extremamente relevante para auxiliar na estratificação de risco terapêutico para pacientes IKZF1plus.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.616>

KINETICS OF MINIMAL RESIDUAL DISEASE BEFORE AND AFTER HEMATOPOIETIC CELL TRANSPLANTATION

AP Azambuja, Y Schluga, JLP Justus,
MP Beltrame, M Malvezzi, VAM Funke,
R Pasquini, CMS Bonfim

Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba,
Brazil

Introduction: Minimal residual disease (MRD) detected before and after hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is associated with poor outcomes in high-risk acute leukemia. This study prospectively evaluates the impact of MRD

accessed by multiparameter flow cytometry (MFC) in a reference hospital in southern Brazil. **Methods:** Prospective analysis of 67 consecutive patients transplanted between 2019/Jun and 2022/Jun, with high-sensitive MFC analysis in the month before HSCT. Pre-transplant MRD was negative (MRD-) in 34 (50.7%) and positive (MRD+) in 33 (49.3%) patients (14 ALL and 18 AML). Posttransplant MRD evaluation showed MRD+ in five patients at d30 (5/26, 19.2%), two (2/23, 8.7%) at d60 and 5 (5/57, 8.8%) at d100. **Results:** There were no differences concerning pretransplant variables between positive and negative MRD pre-HSCT groups. Considering alive patients at d100: Pre-HSCT MRD negative versus posttransplant kinetic: Considering patients available at d100 ($n=57$) in relation to pre-transplant MRD status, almost half ($n=30/57$, 52.6%) had negative MRD both before and after transplantation. Two AML patients MRD negative became positive and subsequently relapsed, at d488 and d426. Both patients had AML with negative CD34, but this LAIP was not known prior to relapse. Pre-HSCT MRD positive versus posttransplant kinetic: In relation to the 27 patients with positive disease before transplantation who were alive at d100 ($n=27/35$, 77.1%), the majority ($n=22/27$, 81.5%) became MRD negative, suggesting minimal residual disease clearance in response to treatment. Four patients MRD+ relapsed within the first year after transplantation (d117, d136, d168 and d347) and two other two patients relapsed on d405 and d744. Cumulative incidence of relapse in total cohort was 11.4%, NRM was 22.4% and probabilities of EFS and OS were 64.2% and 70.4%, respectively. MRD positivity before transplantation was associated with decreased OS (88.2% versus 51.5%, $p=0.001$) and EFS (82.4% versus 45.5%, $p=0.001$), but relapse was not different (5.9% vs 18.2%, $p=0.036$); non-relapse mortality was 8.8% vs 36.4% ($p=0.003$). Extended follow-up showed a high risk of disease relapse in AML MRD+ subgroup (EFS 78.6% vs 36.8%, $p<0.001$, and OS 92.9% vs 47.4%, $p=0.001$), and this was associated to MRD positivity at d100. MRD analysis before transplantation had a high sensitivity (75%) in predicting survival, while MRD positivity at d100 was more specific in predicting subsequent relapse (90.5%) in this cohort. **Conclusion:** A highly sensitive assessment of MRD before HSCT in a real-life setting allowed the correct identification of patients with poor prognosis. Moreover, the persistence of MRD after transplantation identified patients at risk of relapse.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.617>

SARCOMA MIELOIDE COM APRESENTAÇÃO DE MASSA MEDIASTINAL: RELATO DE CASO

ASA Silva, MESE Sá, MFH Costa, JO Vieira,
MCDM Cahu, VECB Dantas, ACC Lopes,
AQMS Aroucha, MP Cesar, MC Araújo

Instituto de Medicina Integral Professor Fernando
Figueira (IMIP), Recife, PE, Brasil

Introdução: O sarcoma mieloide (SM) é uma doença rara, caracterizada por uma massa tumoral extramedular de blastos