

^b Curso de Biomedicina, Centro de Biociências,
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife,
PE, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide aguda (LMA) é uma neoplasia hematológica de caráter clonal que afeta os progenitores hematopoiéticos. O processo de transformação é dependente da reprogramação do metabolismo celular induzida pelas alterações oncogênicas subjacentes. As alterações dos metabólitos causadas pela reprogramação metabólica induzida pelo câncer têm efeitos na expressão gênica, diferenciação e modulação do microambiente. Um importante efeito metabólico desta reprogramação é a desregulação do metabolismo de ácidos graxos que, apesar de representar um eixo metabólico importante, foi apenas recentemente associado a fisiopatologia da LMA e os resultados a respeito são escassos. O descobrimento de biomarcadores moleculares vem sendo utilizados cada vez mais para um melhor entendimento da heterogeneidade da doença. Dentre os biomarcadores existentes as proteínas da família Carnitina palmitoiltransferase (CPT) que em condições fisiológicas estão envolvidos no transporte de ácidos graxos para dentro das mitocôndrias, onde são oxidados para produção de energia. **Objetivo:** Investigar a associação da expressão dos genes da família Carnitina palmitoiltransferase (CPT) em pacientes com LMA. **Metodologia:** Foi realizada uma análise de coortes públicas de 121 pacientes com LMA, pelo banco de dados “The Cancer Genome Atlas” (TCGA), que expressavam os genes CPT1A, CPT1B, CPT1C e CPT2. Foram incluídos pacientes LMA não LPA e tratados com quimioterapia intensiva. Para os testes estatísticos foram realizados os testes de qui-quadrado e Mann-Whitney para análises de associação, e o teste de Log-rank para a curva de sobrevida global (OS) no software SPSS, sendo considerados significativos os resultados com p-valor < 0,05. **Resultados e discussão:** As análises da OS, nas quais o teste de log-rank, mostraram uma associação entre a alta expressão dos genes CPT1A (p-valor 0,026) e CPT1B (p-valor 0,009) a uma pior sobrevida desses indivíduos. O teste de qui-quadrado mostrou haver associação entre a classificação FAB e a expressão do gene CPT1A (p-valor < 0,001), com a análise dos resíduos padronizados ajustados mostrou que há mais casos com baixa expressão no subgrupo M4. Já o teste Mann-Whitney mostrou associação entre o aumento no número de leucócitos totais e o grupo de baixa expressão do gene CPT1C (p-valor 0,016). As demais variáveis clínicas como sexo, idade, percentual de blastos na medula óssea e estratificação de risco pelo “European leukemia Net 2022”, não apresentaram associação com a expressão gênica dos alvos estudados. **Conclusão:** A literatura relata um aumento da oxidação dos ácidos graxos com o processo de manutenção e quimiorresistência das células troncos leucêmicas. As análises desse estudo da associação da alta expressão do gene CPT1A e CPT1B com uma pior sobrevida, servem para atuar como ponto inicial para um melhor entendimento e possível utilização desses genes como biomarcadores para um tratamento mais personalizado para pacientes que possuem um aumento na expressão desses alvos.

CHARACTERIZATION OF THE PHILADELPHIA-LIKE SUBTYPE OF B-CELL ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA

M Villares, CB Blunck, BA Lopes, TFD Amaral,
M Emerenciano, T Barbosa

Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro,
Brazil

Introduction and objectives: B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) is characterized by a variety of genomic alterations relevant for risk stratification and prognosis of patients. Notably, Philadelphia-like (Ph-like) ALL is defined by a gene expression profile similar to Philadelphia-positive patients but without the historically known BCR::ABL1 rearrangement. The Ph-like subgroup is associated with an unfavorable prognosis and is observed in 15% of children and 40% of adolescents and young adults (AYA) with B-ALL. The characterization of this subgroup involves the evaluation of gene expression of 8 genes, and it is a complex challenge for centers of leukemia diagnosis. Given this scenario, the aim of this study is to establish a predictive genetic panel for defining the Ph-like subgroup in the Brazilian Unified Health System (SUS), thereby improving and expediting its diagnosis. **Materials and methods:** 108 samples from children and adult patients diagnosed with B-ALL according to World Health Organization criteria, and collected from different cancer treatment centers in Brazil were included. The patients were classified as B-other based on the absence of recurrent primary alterations: high-hyperdiploidy, ETV6::RUNX1, BCR::ABL1, TCF3::PBX1 and KMT2Ar. The Ph-like subgroup was characterized using cDNA samples to analyze the expression profile of SPATS2L, MUC4, CRLF2, CA6, NRXN3, BMPR1B, JCHAIN, and ADGFR1 genes by quantitative PCR (qPCR) using commercial TaqMan assays (Life Technologies). Gene expression profiles were correlated with the presence of rearrangements in genes frequently altered in this subgroup, including PDGFRB, CRLF2, JAK2, ABL1, ABL2, IGH and CSF1R, evaluated by Fluorescent in situ Hybridization (FISH) using break-apart probes (Zytovision and Cytocell). Patients positive for primary alterations were used as a reference control group. This study was approved by the Research Ethics Committee of INCA (CAEE #87793418.0.0000.5274). **Results and conclusion:** A total of 53 samples were included so far. Among them, 32 patients were classified as B-other and the remaining 21 patients had recurrent abnormalities: ETV6::RUNX1 (n=6), BCR::ABL1 (n=5), KMT2A-r (n=3), TCF3::PBX1 (n=3), and high-hyperdiploidy (n=4). The Ph-like profile was identified in 37.5% of patients, based on the occurrence of CRLF2, ABL1 or JAK2 rearrangements and the expression profile, simultaneously. Most Ph-like patients were AYA (66.7%) and had low white blood cell count at diagnosis. It was observed that 11 of the 12 Ph-like patients had at least one overexpressed gene. Our preliminary results confirm the existence of distinct molecular profiles previously described among the subtypes of Ph+ and Ph-like B-ALL. While FISH has demonstrated effectiveness to identifying Ph-like cases when a differential gene expression was not observed, the current sample size is not enough to confirm the most appropriate diagnostic strategy for

characterize this complex B-ALL subtype. **Support:** CNPq, FAPERJ, Ministério da Saúde, Swiss Bridge Foundation.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.688>

AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DA PODOPLANINA EM PACIENTES COM LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA

CRP Moraes^a, CMA Saraiva^a, IT Borba-Junior^a, IM Toni^a, BKL Duarte^b, PM Campos^b, STO Saad^{a,b}, KBB Pagnano^a, EV Paula^{a,b}

^a Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Centro de Hematologia e Hemoterapia (Hemocentro), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: A leucemia promielocítica aguda (LPA) é marcada por uma coagulopatia intensa, responsável por uma taxa elevada de hemorragias e óbitos, contrastando com o prognóstico relativamente favorável dessa leucemia em outros aspectos. A podoplanina (PDPN), uma proteína associada à ativação plaquetária em processos inflamatórios, emerge como um fator chave nessa coagulopatia. Especula-se que a expressão anômala dessa proteína pelas células leucêmicas explique, em parte, a gravidade dessa complicação. **Objetivo:** Quantificar a expressão gênica de PDPN em pacientes com LPA através de do PCR em tempo real de células leucêmicas obtidas da medula óssea ao diagnóstico, e explorar o papel da PDPN na ativação plaquetária. **Materiais e métodos:** Amostras dos pacientes com LPA foram obtidas no momento do diagnóstico no Hospital das Clínicas da Unicamp. Amostras do biobanco de 21 pacientes com outras LMAs pareadas por idade e sexo foram utilizadas para análises comparativas. Dados clínicos e laboratoriais foram extraídos dos prontuários. A expressão de PDPN foi quantificada por PCR em tempo real. Para o ensaio *in vitro* da ativação plaquetária foi realizada agregação plaquetária com amostras de 6 indivíduos saudáveis, com pré-estímulo de PDPN recombinante na concentração de 3 µg/mL em sangue total por 1 hora a 37°C. A agregação plaquetária por transmissão de luz após estímulo com 1,25 µM de ADP foi avaliada na sequência. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética e todos os participantes forneceram consentimento informado por escrito. **Resultados:** Foram incluídos 52 pacientes com LPA e 21 pacientes com outras LMAs. A proporção de pacientes com LPA nos grupos de risco baixo, intermediário e alto foram respectivamente, 4, 29 e 19 pacientes. Os níveis de fibrinogênio foram inferiores nos pacientes com LPA quando comparado as outras formas de LMAs (107 (52,2-408,0) vs 407 (177,3-638,2) mg/dL, U = 39; p < 0,0001). A contagem de plaquetas também apresentou-se significativamente menor na LPA (21.000 (3.000-89.000) vs 38.000 (5.000-148.000)/µL, U = 323,5; p = 0,006). A expressão de PDPN foi significativamente maior nos pacientes com LPA em comparação com outras formas de LMAs (0,384 (0,01-20,9) vs 0,0 (0,00-0,01) fold change, U = 25; p < 0,0001). A acurácia diagnóstica da expressão gênica da PDPN para segregação da LPA de outras formas de LMAs foi de AUC 0,97 (95% CI: 0.94-1.0; p

< 0.0001). O pré-estímulo com PDPN recombinante resultou em aumento da agregação plaquetária mediada por ADP (86,6 ± 2,9 vs 68,9 ± 10,7 %; p = 0,009). A expressão gênica de PDPN não foi associada com desfechos clínicos ou laboratoriais nesta população. **Discussão e conclusão:** A expressão gênica de PDPN é marcadamente aumentada na LPA, segregando com elevada acurácia diagnóstica a LPA de outras formas LMAs. O efeito da PDPN sobre a ativação plaquetária foi confirmado em nosso estudo em amostras de sangue total, reforçando o papel potencial desta proteína na coagulopatia da LPA.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.689>

PAX5 ALTERATIONS IN CHILDREN, ADOLESCENTS AND YOUNG ADULTS WITH B-OTHER ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA

TFD Amaral, MD Villares, CB Blunk, BA Lopes, TC Barbosa, M Emerenciano

Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, Brazil

B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) is the most prevalent form of ALL and its development varies with age. It is characterized by chromosomal and genetic alterations such as aneuploidy, gene fusions, copy number alterations (CNA) and point mutations, which are crucial for diagnosis and therapy risk stratification. However, ~25% of pediatric and ~8% of adult cases with B-ALL lacking recurrent alterations are classified as “B-other”. New clinically relevant genetic alterations involving PAX5 gene are being demonstrated in this subtype, including rearrangements (PAX5 -r), deletions (PAX5 del), amplifications (PAX5 amp), and a point mutation (PAX5 P80R). Around 30% of B-ALL cases show PAX5 alterations (PAX5 alt), which are associated with relapses and poor outcomes. This study aims to characterize PAX5 alterations and evaluate their prognostic impact in children, adolescents and young adults (AYA) with B-other ALL. Pediatric (< 15 years) and AYA (15-39 years) cases diagnosed with B-ALL between 2018 and 2023 in different Brazilian cancer treatment centers were included. Recurrent and primary alterations were previously characterized by reverse transcription PCR (RT-PCR) or quantitative PCR (qPCR). Only patients categorized as B-other, defined by the lack of ETV6::RUNX1, BCR::ABL1, TCF3::PBX1, KMT2A::AFF1 and high-hyperdiploidy (DNA index), were included. CNA were identified by multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA), using the P335-C1 probemix (MRC-Holland). PAX5 -r were detected by fluorescence in situ hybridization (FISH - ZytoLight SPEC PAX5 Dual Color Break Apart Probe - Zyto Vision), and the PAX5 P80R mutation was assessed by TaqMan customized allelic discrimination assay (Life Technologies). This study was approved by the institutional ethical committee (CAEE #87793418.0.0000.5274). A total of 62 B-other ALL cases were evaluated (44 pediatric and 18 AYAs). Approximately 27% of these cases were characterized as PAX5 alt, due to the presence of PAX5 amp (23%), PAX5 del (52%) or PAX5 -r (41%), occurring alone or simultaneously. In this subtype, most