

AML with maturation. This is the subtype most associated with granulocytic sarcoma, also called chloroma. Granulocytic sarcoma is a solid tumor of granulocyte precursor cells located in various extramedullary sites, which can cause a copious constellation of symptoms. In this case, MRI showed a highly suspicious lesion for infiltrative chloroma in the CNS, causing a medullary compression syndrome with serious clinical repercussions. In other tissues, local management of the tumor can be performed with surgical resection or radiotherapy, which were unfeasible therapeutic options for the case presented. **Final commentary:** Although rare, granulocytic sarcoma should be considered a differential diagnosis in patients with acute leukemia, who present with compressive symptoms. In some cases, it may represent a hematological urgency, even before the primary neoplasm diagnosis, and its correct management is essential in such situations.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.266>

IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES CELULARES ASSOCIADOS COM IKZF1PLUS EM LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA DE CÉLULAS PRECURSORAS-B

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

^a Divisão de Pesquisa Clínica, Instituto Nacional de
Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b 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 primárias. As alterações de número de cópias (CNAs) em genes relacionados ao desenvolvimento de células-B, como por exemplo as deleções em *IKZF1* (*IKZF1^{del}*), tem sido associada a um aumento na taxa de recaída e, consequente, prognóstico desfavorável em pacientes com LLA-CPB. Recentemente, foi descrito um novo subgrupo denominado *IKZF1^{plus}*, que é definido pela coocorrência de *IKZF1^{del}* e de deleções em *CDKN2A*, *CDKN2B*, *PAX5* ou *PAR1* na ausência de deleções de *ERG*. Os pacientes com este perfil genômico apresentam um pior prognóstico e um risco significativamente maior de recaídas quando comparados aos casos apresentando somente *IKZF1^{del}*. **Objetivos:** Desta forma, nosso trabalho visa identificar marcadores celulares associados com a presença de *IKZF1^{plus}* em LLA-CPB capazes de identificar este subgrupo precocemente na rotina diagnóstica. **Materiais e métodos:** Foram avaliadas duas séries de casos independentes (TARGET e MECS). Realizamos análises de expressão diferencial entre grupos de pacientes do TARGET: *IKZF1^{plus}*, *IKZF1^{del}* e *IKZF1^{selvagem}*. 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 MECS foi realizada por RT-PCR, FISH e MLPA convencional/digital. A quantificação da expressão gênica foi avaliada por RT-qPCR. Os testes de χ^2 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. **Resultados:** Foram incluídos 125 pacientes da série TARGET agrupados em *IKZF1^{plus}* (13%), *IKZF1^{del}* (9%) ou *IKZF1^{selvagem}*. Em consequência de um enriquecimento de casos *IKZF1^{plus}* no subgrupo B-others, usamos este subgrupo para realizar análises de expressão diferencial usando DESeq2 para comparar os três grupos *IKZF1*. A análise de expressão diferencial mostrou que os genes que codificam proteínas de membrana mais associados ao grupo *IKZF1^{plus}* são: *KCNA5*, *GREB1*, *EPOR*, *SDK1* e *PTPRB*. Foram caracterizados 113 pacientes do nosso laboratório (MECS), também agrupados em *IKZF1^{plus}* (15,5%), *IKZF1^{del}* (18,5%) ou *IKZF1^{selvagem}* (63,8%). Em relação aos pacientes *IKZF1^{plus}*, 31,5% tinham idade entre 5-11 anos e 52,6% foram categorizados com risco prognóstico alto ($p = 0,05$). Através da análise de expressão gênica observamos que *KCNA5* apresentou-se mais expresso no grupo *IKZF1^{plus}* quando comparado ao grupo *IKZF1^{del}* e *IKZF1^{selvagem}* ($p = 0,002$). Os genes *EPOR*, *PTPRB* e *GREB1* apresentaram-se menos expressos no grupo *IKZF1^{plus}* quando comparado aos demais grupos ($p = 0,031$; $p = 0,02$ e $p < 0,0001$, respectivamente). **Discussão e conclusão:** Os resultados da análise de expressão observados na série de caso MECS validaram os resultados observados pela análise DESeq2 na série de casos TARGET. Estes resultados nos permitiram identificar genes diferencialmente expressos entre os diferentes grupos de *IKZF1* (*IKZF1^{plus}*, *IKZF1^{del}* e *IKZF1^{selvagem}*); observamos que os genes *KCNA5*, *GREB1*, *PTPRB*, *SDK1* e *EPOR*, que codificam marcadores celulares de membrana, estão associados com a presença de *IKZF1^{plus}* em LLA-CPB. Desta forma, o uso de uma ferramenta mais acessível (citometria de fluxo) utilizando esses marcadores, seria capaz de preencher uma lacuna translacional para uma estratificação de risco adequada desses pacientes.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.267>

INIBIÇÃO FARMACOLÓGICA DE EZRINA REDUZ O CRESCIMENTO E REGULA GENES RELACIONADOS APOPTOSE E CICLO CELULAR EM LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

JCL Silva, HP Vicari, K Lima, LV Costa-Lotufo,
JA Machado-Neto

Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP,
Brasil

Objetivos: A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é uma neoplasia hematológica caracterizada por uma parada no processo de diferenciação de precursores linfóides em um estágio inicial e que pode invadir medula óssea, sangue periférico e locais extramedulares. As opções terapêuticas disponíveis para a pacientes adultos ainda permanecem limitadas, e as taxas de sobrevida global em 5 anos é inferior a 45%. Um dos principais objetivos do tratamento é prevenir recidivas e diminuir a invasividade em outros órgãos. Recentemente, nosso grupo de pesquisa identificou o gene *EZR*, que codifica a proteína ezrina, como um marcador independente de



prognóstico e alvo molecular para leucemia mieloide aguda. A ezrina é uma importante proteína associada ao citoesqueleto e que permite a transdução de sinal entre proteínas de membrana e filamentos de actina. O objetivo do presente estudo foi verificar o impacto da inibição farmacológica de ezrina sobre a viabilidade, crescimento clonal autônomo e expressão gênica em modelos celulares de LLA. **Material e métodos:** A linhagens celulares leucêmicas Jurkat (PTEN mutada) NALM6 (ETV6-EBF1) e REH (ETV6-RUNX1) foram tratadas com concentrações crescentes dos inibidores de ezrina, NSC305787 e NSC668394. A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio de MTT, o crescimento de colônias autônomas por cultivo em metilcelulose na ausência de fatores de crescimento, análises de expressão gênica foram realizadas por PCR quantitativo para a avaliação da expressão de genes relacionados ciclo celular e à apoptose. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste ANOVA e pós-teste de Bonferroni e um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. **Resultados:** O tratamento com ambos os inibidores foi capaz de reduzir significativamente a viabilidade celular de células Jurkat, NALM6 e REH de forma dependente de concentração ($p < 0,05$). O composto NSC305787 apresentou maior potência e eficácia que o NSC668394, portanto o composto NSC305787 foi selecionado para continuidade dos estudos. Os valores de IC_{50} para o composto NSC305787 foram de $5.1 \mu M$ para Jurkat, $3.3 \mu M$ para NALM6 e $4.3 \mu M$ para REH no tempo de tratamento de 24 horas. O tratamento em longo prazo com NSC305787 reduziu o crescimento clonal autônomo de células Jurkat, NALM6 e REH de forma dependente de concentração ($p < 0,05$). Um painel de 12 genes relacionados ao ciclo celular e apoptose foi investigado por RT-PCR quantitativo. NSC305787 ($1,6 \mu M$ por 24 horas), regulou negativamente CCNA2, e regula positivamente CDKN1A, BCL2L1 e BIM ($p < 0,05$) em células Jurkat; regulou negativamente CCNA2 e BCL2, e positivamente BCL2L1, BAX e BAD em células NALM6; regulou negativamente CCNA2 e CCNB1 e regula positivamente CDKN1A, CDKN1B, BCL2L1, MCL1 e BAX em células REH. **Discussão:** A regulação negativa de genes relacionados a progressão do ciclo celular (CCNA2 e CCNB1) e resposta antiapoptótica (BCL2) e regulação positiva de genes relacionados a parada de ciclo celular (CDKN1A, CDKN1B), genes pró apoptóticos (BAX) apóiam a hipótese de que NSC305787 esteja envolvido com mecanismos de indução de morte celular. **Conclusão:** Nossos resultados indicam que o inibidor de ezrina, NSC305787, apresenta efeitos antileucêmicos em LLA, incluindo redução da viabilidade e clonogenicidade. Apoio: CNPq, CAPES e FAPESP.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.268>

INVESTIGAÇÃO DE MUTAÇÕES EM NEOPLASIAS MIELOIDES UTILIZANDO UM PAINEL MULTIGENE DE SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO

FK Marques ^{a,b}, FLO Marinho ^a, SSS Araújo ^c,
AP Sabino ^b

^a Pesquisa e Desenvolvimento, Instituto Hermes
Pardini, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de
Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

^c Hospital das Clínicas, Universidade Federal de
Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: As neoplasias mieloides (NMs) são um grupo heterogêneo de neoplasia hematológica que inclui a leucemia mieloide aguda (LMA), síndromes mielodisplásicas (SMD), neoplasias mieloproliferativas (NMP) e as neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas (SMD/NMP). A classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS) para NM tem consolidado a importância das alterações moleculares no diagnóstico e prognóstico dessas neoplasias. Com a crescente utilização da abordagem genômica nos estudos de NMs, novos biomarcadores moleculares tem se mostrado relevantes para o prognóstico e terapêutica. Painéis multigenes de sequenciamento de nova geração (NGS) permitem uma análise mais completa de alterações genéticas diversas, como variantes de nucleotídeo único (SNV), pequenas deleções e inserções, dentre outras. Entretanto, os benefícios da utilização de painel de NGS na investigação das NMs não estão totalmente definidos. **Objetivo:** Investigar mutações gênicas em pacientes com diagnóstico de NM. **Metodologia:** Entre novembro/2019 e julho/2021 foram coletadas 30 amostras de sangue periférico ou medula óssea de pacientes com diagnóstico de NM, no serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFMG. Amostras de DNA e RNA de cada paciente foram sequenciadas utilizando o painel Oncomine Myeloid Assay (Thermo Fisher Scientific), com sequenciamento de 40 genes (23 hotspots e 17 genes completos), fusões gênicas envolvendo 29 genes drivers e análise de expressão dos genes MECOM, WT1, MYC, SMC1A e BAALC. **Resultados:** Foram sequenciadas amostras de 30 pacientes: 11 SMD (36,7%), 10 (33,4%) LMA, 6 NMP (20,0%), 2 SMD/NMP (6,7%) e uma leucemia aguda de fenótipo misto (3,3%). A mediana de idade foi de 52 anos (18 a 83 anos). Dezenove pacientes (63,3%) eram do sexo masculino e 11 (36,7%) do sexo feminino. Em 26 casos (86,7%) foi detectada pelo menos uma mutação, com o número por caso variando de 1 a 5. Foram detectadas um total de 57 mutações em 22 genes, sendo mais frequentes as mutações em *TET2*, *IDH2*, *FLT3* (ITD) e *ASXL1*. Foram detectadas mutações em todos os casos de LMA, destacando-se também pelo maior número de mutações, sendo mais frequente a mutação *FLT3* -ITD. As mutações *FLT3* -ITD tiveram razão alélica mutante/selvagem maior que 0,5; todas confirmadas por eletroforese capilar. Na SMD destacam-se as mutações em *TET2* e *ASXL1*. Mutações em *TET2* também foram as mais frequentes na NPM e SMD/NMP. Em 12 casos (40%) foi detectada pelo menos uma mutação em genes associados a prognóstico adverso, como *FLT3*, *ASXL1*, *TP53*, *RUNX1*, *U2AF1* e *DNMT3A*. Dez (33,3%) pacientes evoluíram para óbito, sendo quatro casos de LMA (três *FLT3* -ITD e um *RUNX1* mutado) e um caso de SMD AREB-2 com *TP53* mutado e cariótipo complexo com monossomia de 17. Detectamos as fusões *RUNX1-RUNX1T1*, *KMT2A-MLLT3* e *PICALM-MLLT10* na LMA; e *BCR-ABL1* na LMC. Mutações em *TET2*, *SF3B1* e *IDH2* foram detectadas em três casos de NPM triplo negativa. Em dois casos de LMA foi observado aumento da expressão de *MYC* e *SMC1A*. **Discussão e conclusão:** Neste estudo detectamos uma alta frequência e co-ocorrência de mutações, algumas associadas

