

indicated intermediate risk, and with wild-type *NPM1*, it indicated unfavorable risk. The 2022 ELN guidelines classify *FLT3-ITD* alone as intermediate risk, regardless of *NPM1* status. Mutated *NPM1* is favorable only when *FLT3-ITD* is absent. Supporting these findings, *FLT3* mutation, regardless of allelic ratio, in the absence of *NPM1*, led to immature SLA and increased GMP-L frequency. This SLA was linked to PD after the 1IR. Immature SLA significantly impacts prognosis with lower survival rates, higher relapse risks, and increased post-induction remission failure. Our findings enhance the understanding of the cell of origin in AML, and further investigation of the SLA-dependent mechanisms that contribute to leukemia resistance are warranted.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.612>

INVESTIGATION OF THE GENETIC ALTERATIONS IN *CDKN2A/B* AND *IL7R* IN T-CELL ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA

RMB Lemos^a, ES Costa^b, T Ferraz^c,
MT Schramm^{a,d}, MM Lins^e, MCN Fagundes^a,
ALT Maciel^f, M Emerenciano^a

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

^b Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira (IPPMG), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, Brazil

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

^d Prontobaby Hospital da Criança Ltda, Rio de Janeiro, Brazil

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

^f Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, Brazil

T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) is an aggressive hematopoietic disorder triggered by the acquisition of molecular alterations that affect thymocytes in early stages of its development. Deletions in *CDKN2A/B* are found in 65-70% of cases. However, their prognostic value is still undefined. Loss of *CDKN2A*, in addition to *IL7R* activation, contributes to the development of B-cell precursor ALL (B-ALL). The activation of *IL7R*, either due to the presence of gain-of-function mutations (10% of cases) or its upregulation, is a recurrent event in T-ALL associated with disease relapse. Thus, *IL7R* activation is a crucial event in T-ALL initiation, but its transcriptional profile and prognostic role are still unclear. We aimed to investigate the presence of molecular alterations in *CDKN2A/B* and in *IL7R* in samples from pediatric and adult patients diagnosed with T-ALL. Samples from patients with a morphological and immunophenotypic diagnosis of T-ALL between the years 2018-2023 from the INCA Hematology Service and different cancer treatment centers in Brazil were included. The SALSA MLPA P335-C1 kit (MRC Holland), multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) technique, was used to evaluate the presence of copy number alterations (CNA) in genes related to lymphopoiesis and commonly

altered in ALLs, such as *CDKN2A/B*. The presence of mutations/single nucleotide polymorphism (SNP) in *IL7R* was assessed by polymerase chain reaction (PCR) for amplification of exon 6 followed by ABI3500 sanger sequencing. The transcriptional levels of *IL7R* were investigated using real-time quantitative PCR (RT-qPCR). 38 T-ALL samples were included (13 female and 25 male individuals), whose median age was 11.5 years. *CDKN2A/B* deletions were observed in 16 pediatric (44.4%, being 8 monoallelic and 8 biallelic deletions) and 2 adults (5.6%, 1 monoallelic and 1 biallelic deletions). Activating indel mutations in *IL7R*, which affect the juxtamembrane region of the protein, were found in 2 pediatric patients. Both patients had high leukocyte counts ($> 100 \times 10^9$ cells/mL) at diagnosis and presented concomitant *CDKN2A/B* biallelic deletions. Besides, we found that 36.8% of our cohort presented a single nucleotide polymorphism (SNP) rs6897932 in exon 6 of *IL7R*. Among these samples, 12/14 were pediatric and 2/14 adults. In the pediatric subset, 7 samples presented heterozygous (TC) and 5 homozygous variants (TT). Both adult samples had heterozygous genotype (TC). Our data corroborates the literature showing that *CDKN2A/B* genetic alterations are frequently found in T-ALL patients. The analysis of the mutation or SNP on the *IL7R* expression is undergoing. However, the two patients harboring *IL7R* activating mutations did not present transcriptional deregulation in this gene. Since it's still unclear whether the mutations lead to increased gene expression in our series of cases, we aim to explore other transcriptional pathways that might play a role in *IL7R* deregulation scenario in T-ALL. Of note, to the best of our knowledge, this is the first study describing a high frequency of the SNP rs6897932 in T-ALL.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.613>

RHOA KNOCKDOWN AFFECTS P53 SUBCELLULAR LOCALIZATION IN LEUKEMIA CELLS IRRADIATED WITH UVC

AD Ferreira^a, SSC Sampaio^a, PSSM Ferrari^a,
ASS Duarte^b, CRR Rocha^a, STO Saad^b,
M Lazarini^a

^a Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, Brazil

^b Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil

Introduction and aims: Acute myeloid leukemia (AML) is a severe hematological malignancy with low rates of survival. Mutations in the tumor suppressor gene *TP53* are present in around 10% of AML cases and are associated with a worse prognosis. Evidence suggests that the Rho GTPase proteins RhoA and RhoC are involved in the regulation of p53 activity. In this study, we aimed to investigate the relation between RhoA and RhoC expression and p53 expression and subcellular localization in leukemia cells. **Methods:** OCI-AML3 cell line (wild type *TP53*) was transduced with lentiviral particles containing specific shRNA for the silencing of RhoA (shRhoA) or RhoC (shRhoC) or non-specific shRNA (shCTRL). Cells were irradiated with UVC and nucleus (DAPI) and p53 were

identified by confocal microscopy. **Results:** Non irradiated OCI-AML3 cells presented a mild p53 fluorescence intensity since they were not exposed to any exogenous stress. However, shRhoA and shRhoC cells presented a slight increase in p53 in the cytoplasm and nucleus. As expected, UVC irradiation increased the p53 fluorescence. Notably, shRhoA cells irradiated with UVC showed an even more pronounced increase in p53 fluorescence (both in the cytoplasm and nucleus) compared to shCTRL cells under the same conditions. **Conclusions:** Our results suggest that p53 expression and localization may be at least partially controlled by Rho signaling in leukemia cells. **Funding:** FAPESP.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.614>

COMPLEXIDADE CARIOTÍPICA E STATUS MUTACIONAL DO TP53 SE ASSOCIAM A PROGNÓSTICO EM NEOPLASIAS MIELOIDES COM CROMOSSOMOS EM ANEL

TGD Santos, MFMD Santos, D Borri, RK Kishimoto, SEA Rosa, CN Silveira, LGF Cortes, PV Campregher, EDRP Velloso

Sociedade Beneficente Israelita Brasileira Albert Einstein (SBIBAE), São Paulo, SP, Brasil

Objetivos: Cromossomos em anel (RC) são moléculas circulares de DNA geradas após um dano com consequente reparo, sendo raramente descritos em Neoplasias mieloides (NM). O intuito deste trabalho foi avaliar o significado prognóstico dos RC em NM e verificar sua correlação com alterações no gene TP53. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo envolvendo amostras de medula óssea de pacientes com NM (≥ 18 anos), entre elas: Síndrome Mielodisplásica (SMD), Leucemia Mieloide Aguda (LMA), Neoplasia Mieloproliferativa (NMP) e Leucemia Aguda Bifenotípica (LAB), que possuíam cariótipo com RC, entre 2017-2022 em laboratório de citogenética de rotina. Complexidade cariotípica foi definida como a presença de 3 ou mais anormalidades citogenéticas, sendo muito complexo 5 ou mais anormalidades. Foi analisada a alteração cariotípica do cromossomo 17p. Deleção e mutação no gene TP53 foram analisadas por técnica de FISH (sonda TP53 - MetaSystems) e NGS, respectivamente. TP53 multi-hit foi definido por VAF $> 40\%$ ou duas mutações com VAF $> 10\%$ ou presença de deleção e mutação VAF $> 10\%$. Análises estatísticas foram realizadas com uso dos softwares IBM-SPSS/Microsoft-Excel de acordo com dados coletados em REDCap. A sobrevida global foi calculada a partir da data do exame citogenético até o último seguimento ou óbito, com utilização da curva de Kaplan Meier e comparações realizadas por teste de log-rank ou regressão de Cox bivariada. Estudo aprovado pelo comitê de ética institucional, com submissão de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. **Resultados:** Entre os 12.935 cariótipos, somente 38 (0,29%) dos cariótipos oncohematológicos apresentaram RC, sendo analisados 21 indivíduos que preenchem critérios de inclusão. Mediana de idade de 69 anos (53-89), 14 (67%) homens, LMA e SMD em 9 (43%) casos cada. Mediana de anormalidades cariotípicas de 9 (1-28). Complexidade cariotípica (3 ou +), alteração 17p, deleção TP53, mutação

TP53 e TP53 multi-hit esteve presente em (81%; 17/21), (38,1%; 8/21), (19%; 4/21), (78%; 14/18) e (61%; 11/18) dos casos, respectivamente. RC identificáveis derivativos dos cromossomos 6 e 7 foram os mais encontrados. A mediana de sobrevida global foi de 3,2 meses. Mutações multi-hit em TP53 (HR 10,63; IC_{95%} 2,25-50,31; $p=0,001$) e o número de anormalidades ao cariótipo (HR 1,06; IC_{95%} 1,00-1,11; $p=0,043$) se associaram significativamente a maiores taxas de mortalidade, sendo que pacientes com KT muito complexo (66,7%) apresentaram risco de óbito 5,53 vezes maior (IC_{95%} 1,12-27,28) em relação a cariótipos não complexos. **Discussão:** A incidência de RC foi baixa em NM, se associou a alta taxa de cariótipo complexo e mutações em TP53, fatores associados a prognóstico bastante reservado. **Conclusão:** Nosso estudo contribui com a hipótese de que os cromossomos em anel são uma alteração secundária no desenvolvimento das neoplasias mieloides, surgindo devido à instabilidade genética gerada pelo cariótipo complexo e não estando envolvidos de forma causal com a patologia.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.615>

LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA: ANÁLISE IN SILICO DAS VARIANTES GENÉTICAS NO GENE ABCB1 E SUA INFLUÊNCIA NA RESISTÊNCIA A MEDICAMENTOS

TRX Viana, RP Ratti, LT Rabi

Centro Universitário Nossa Senhora do Patrocínio (CEUNSP), Itu, SP, Brasil

Introdução: A leucemia mieloide aguda (LMA) é uma neoplasia hematológica agressiva que frequentemente apresenta resistência a tratamentos quimioterápicos. O gene ABCB1, que codifica a P-glicoproteína (P-gp), um transportador de membrana, desempenha um papel crucial na modulação da eficácia dos medicamentos ao remover substâncias tóxicas das células. Variantes genéticas no ABCB1 têm sido associadas a diferenças na resposta ao tratamento, impactando a resistência a medicamentos e o prognóstico dos pacientes com LMA. **Objetivos:** Analisar variantes genéticas que possam influenciar a resistência a medicamentos em pacientes com LMA. **Material e métodos:** Trata-se de uma análise *in silico* dos polimorfismos do gene ABCB1 e sua influência na resistência a medicamentos e o prognóstico dos pacientes com LMA. Para isso, foram utilizadas 13 ferramentas bioinformáticas, incluindo PredictSNP1 (que abrange PredictSNP, SIFT, PolyPhen-1, PolyPhen-2, MAPP, PhD-SNP, SNAP, PANTHER e nsSNPAnalyzer), iStable (que abrange iStable, MuPRO e I-Mutant) e DynaMut2. Essa seleção baseou-se na capacidade dessas ferramentas de prever o impacto das variações genéticas nas proteínas, possibilitando uma avaliação abrangente das consequências das alterações de aminoácidos nas proteínas. **Resultados:** Quarenta e uma alterações de aminoácidos R41H - rs201459845, Y42C - rs146259092, G120E - rs28381804, A198P - rs200061099, A361V - rs41304191, R404Q - rs200915526, C431W - rs9282564, V473L - rs112801674, I500T - rs201917713, T522S - rs371192766, K536R - rs199551851, A540T - rs201564736, A544T - rs1202183, R547C - rs139583955, A557G