

^c Departamento de Hematologia, Centro de Pesquisa do Câncer Groningen, Centro Médico Universitário Groningen (UCMG), Groningen, Holanda

Introdução: A leucemia mieloide aguda (LMA) é uma neoplasia hematológica heterogênea, cujos pacientes apresentam diferentes lesões genéticas que se traduzem em diferentes respostas clínicas. Apesar disso, o tratamento quimioterápico padrão continua o mesmo desde 1970, composto pela combinação de antracíclicos e citarabina (Ara-C), com cerca de um terço dos pacientes não se beneficiando do esquema. A busca por tratamentos alternativos tem evoluído nos últimos anos para incluir terapias-alvo, com as quais pacientes inicialmente resistentes podem passar a ser sensíveis às drogas utilizadas. Nosso grupo demonstrou que a expressão de genes envolvidos na biossíntese do colesterol está associada ao prognóstico de pacientes com LMA tratados com a quimioterapia padrão, destacando-se o gene *SQLE*, que codifica a enzima squaleno epoxidase. Assim, objetivamos validar a expressão do *SQLE* como marcador de prognóstico numa coorte brasileira de LMA e avaliar sua inibição farmacológica como potencial sensibilizador ao Ara-C. **Métodos:** Incluímos 111 pacientes adultos com LMA *de novo* (não-LPA) tratados em centros de referência em Recife, PE, Brasil (CAAE #47769821.7.0000.5208). O diagnóstico foi determinado por citomorfologia e estudos genéticos, de acordo com os critérios da OMS. Os níveis de transcrição do *SQLE* foram determinados por RT-qPCR e normalizados com dois genes endógenos (*ACTB* e *HPRT1*). Em seguida, avaliamos o efeito da inibição farmacológica do *SQLE* usando a terbinafina, uma droga antifúngica amplamente utilizada. A concentração inibitória que reduz 50% da viabilidade celular (*IC*₅₀) foi avaliada pelo ensaio de MTT após 72h de incubação com diferentes concentrações de terbinafina (0-400 μ M) ou Ara-C (0-24 μ M), em 6 linhagens de LMA: MV4-11, OCI-AML3, SET-2, Kasumi-1, KG1a e MOLM-13. Por fim, o índice combinatório (IC) foi determinado pela avaliação da viabilidade das células tratadas com o *IC*₂₅ do Ara-C mais diferentes concentrações de terbinafina. **Resultados e discussão:** Após dicotomização dos pacientes em grupos de baixa e alta expressão do *SQLE*, observamos que os pacientes *SQLE* alto apresentaram uma menor sobrevida global (SG) comparado com o grupo *SQLE* baixo (mediana = 5,3 vs. 11 meses, Log-rank $p = 0,044$; HR = 1,59, $p = 0,046$). Depois de considerar possíveis variáveis de confusão como idade, sexo, número de leucócitos e a mutação FLT3-ITD, o *SQLE* alto se manteve como variável associada a prognóstico desfavorável (HR = 1,85, $p = 0,014$). Em seguida, testamos o potencial da inibição do *SQLE* em linhas celulares de LMA, usando a terbinafina. Encontramos que as células OCI-AML3, MV4-11 e MOLM-13 foram as mais sensíveis ao tratamento (*IC*₅₀ = 82,9, 97,1 e 98,9 μ M, respectivamente); SET-2 e Kasumi-1 tiveram resposta intermediária (*IC*₅₀ = 136,6 μ M e 143,6 μ M); e a KG1a foi a mais resistente (*IC*₅₀ = 196,7). Finalmente, a análise combinatória com o Ara-C indicou sinergismo na MV4-11 e SET-2 (IC = 0,78 e 0,77, respectivamente), efeito aditivo na KG1a (CI = 0,91) e antagonismo na OCI-AML3 (CI = 1,42). **Conclusão:** Nossos resultados demonstram o potencial prognóstico da expressão do *SQLE* em pacientes adultos com LMA tratados com a terapia padrão. Além disso, a inibição farmacológica do *SQLE* reduziu a viabilidade das

células leucêmicas, com efeitos sinérgicos com o Ara-C. Entretanto, análises adicionais em contextos específicos são necessárias.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.677>

EXPLORING THE EFFICACY OF GALLIC ACID IN INDUCING APOPTOSIS AND MODULATING ROS IN MYELOID AND LYMPHOID LEUKEMIA CELL LINES

GV Romano ^{a,b}, ICF Silva ^{a,b}, I Rocha ^a, NG Amòr ^a, STO Saad ^a, MC Alvarez ^{a,b}

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

^b Universidade São Francisco (USF), Bragança Paulista, Brazil

Leukemia is the fifth most prevalent cancer worldwide. Despite significant progress in treatment through new drugs, side effects remain a major challenge. Plant derivatives are important sources for cancer treatment. Gallic acid (GA), a natural polyphenol widely distributed in plants, fruits, and foods, has demonstrated antioxidant, anti-inflammatory, and antitumor properties. Recent studies suggest that gallic acid can induce apoptosis in various cancer cell types, indicating its potential as a therapeutic agent. In this study, we evaluated the capacity of gallic acid to induce apoptosis and the production of intracellular reactive oxygen species (eROS) in several leukemia cell lines, including THP-1, K562, KG-1, HEL, MOLT-4, Daudi, and Jurkat. Cells were treated with concentrations of gallic acid ranging from 75 to 150 μ M for periods of 24 to 48 hours. Apoptosis analysis was performed using flow cytometry, while ROS production was measured using 25 μ M 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFDA) by flow cytometry. The cell lines were treated with concentrations of 1 μ M and 75 μ M, and the evaluation periods were 30 min, 1 h, 3 h, and 6 h. The results indicate that gallic acid has a variable effect on the induction of apoptosis in different leukemia cell lines: THP-1, K562, KG-1, and Jurkat: These cell lines showed apoptosis percentages of 14.5% at 75 μ M and up to 24% at 150 μ M, maintaining these levels for both 24 and 48 hours of treatment. Hel: Apoptosis ranged from 14% to 26% at 24 hours and up to 40% at 48 hours. Molt-4: Apoptosis ranged from 28% to 65% at 24 hours and up to 77% at 48 hours. Daudi: Apoptosis ranged from 7% to 12% at 24 hours and from 18% to 29% at 48 hours. Jurkat: Apoptosis ranged from 7% to 17% at both 24 and 48 hours. To determine if apoptosis induced by gallic acid was related to abnormal intracellular ROS levels, we performed preliminary analyses of ROS generation. These analyses showed that both the Hel and Molt-4 cell lines experienced a reduction in ROS at the concentration of 75 μ M at 3 and 6 hours of treatment. However, at 1 μ M, there was a slight increase in ROS generation compared to the control at 1, 3, and 6 hours. Gallic acid demonstrates a variable but generally effective ability to induce apoptosis in different leukemia cell lines. Myeloid leukemia cell lines (THP-1, K562, KG-1, Hel) tend to be more responsive to gallic acid-induced apoptosis compared to lymphoid lines (Daudi, Jurkat), with Molt-4

being an exception among lymphoid lines showing high sensitivity. These findings suggest that gallic acid could be a more potent therapeutic agent for myeloid leukemias, and its efficacy in lymphoid leukemias may depend on specific cellular contexts. Regarding ROS generation, preliminary results indicate that the compound acts as a scavenger at the analyzed concentration and times. Further studies are needed to elucidate the mechanisms underlying these differential responses and to explore the potential of gallic acid in combination therapies for treating various subtypes of leukemia.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.678>

INVESTIGAÇÃO E COMPARAÇÃO DOS EFEITOS CELULARES E MOLECULARES DOS INIBIDORES DE IGF1R-IRS1/2 E INIBIDORES DE FLT3 EM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

D Bastos, MA Melo, F Traina

Departamento de Imagens Médicas, Hematologia e Oncologia Clínica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

A Leucemia Mieloide Aguda (LMA) é uma neoplasia maligna agressiva que provoca a falência da medula óssea, podendo ser fatal quando não tratada. Mutações em FLT3 se configuram como a alteração genética mais comum em LMA, especialmente mutações de duplicação em tandem interna (FLT3-ITD), a qual é responsável por cerca de 25 a 35% dos casos e são frequentemente associadas a menores taxas de sobrevida. Dados recentes revelaram que o receptor do fator de crescimento do tipo insulina 1 (IGF1R) também é diferencialmente expresso em pacientes com LMA, associado com baixa taxa de sobrevida. Nessa perspectiva, diferentes inibidores de ambos os receptores foram desenvolvidos e têm se mostrado eficazes no tratamento *in vitro* de células leucêmicas. Aliado a isso, pesquisas recentes mostraram que assim como o inibidor de FLT3 (Midostaurin), seus metabólitos produzidos apresentaram a capacidade de inibir outras quinases importantes para o desenvolvimento da LMA, como IGF1R. Pensando nisso, o objetivo deste trabalho é investigar e comparar os efeitos antineoplásico dos inibidores de IGF1R-IRS1/2 e inibidores de FLT3 em neoplasias mieloides com mutação em FLT3. Para tal, análises *in silico* (quanto a expressão desses genes - pelo banco de dados R2, interação de proteínas - pelo banco de dados do STRING, e análise da sequência de aminoácidos - pela ferramenta IUPred3) foram utilizadas para determinar o comportamento dos genes e proteínas de interesse. O ensaio de viabilidade por MTT foi empregado para determinar a capacidade de citotoxicidade dos inibidores em 24, 48 e 72 h. Nossos dados mostraram que a expressão de FLT3 se mostrou maior que IGF1R, IRS1/2 nos diferentes grupos de estratificação de LMA (favorável, intermediário e ruim), mas não foi possível observar nenhuma correlação entre a expressão de IGF1R e IRS1/2. Apesar disso, as linhagens MOLM-13^{FLT3-ITD} e MV4-11^{FLT3-ITD} mostraram diferentes níveis de dependência gênica, para os genes de interesse (FLT3, IGF1R, IRS1/2) de modo similar aos níveis de expressão

dos mesmos genes na população. As análises *in silico* das proteínas alvo mostraram que FLT3 e IGF1R interagem entre si e com outras proteínas como mTOR, PI3K, SHC e GRB2 de maneira similar, enquanto IRS1/2 mostraram interagir com essas proteínas, mas sem interação com FLT3. FLT3 e IGF1R se mostraram ser proteínas com pouco grau de desordem, em comparação com IRS1/2 que mostraram ser proteínas muito desordenadas. Nossos resultados *in vitro* mostraram que todos os inibidores testados (Midostaurin, Quizartinib, Linsitinib e NT-157) foram capazes de reduzir a viabilidade das linhagens de LMA com mutação em FLT3 com diferentes respostas, e o maior efeito observado correspondeu ao inibidor Quizartinib. Nessa perspectiva, até o presente momento, foi possível concluir que a expressão dos genes visto em diferentes coortes dialoga diretamente com a dependência gênica das linhagens escolhidas para este estudo, bem como que a inibição farmacológica de FLT3, IGF1R e IRS1/2 provocaram uma redução na viabilidade celular, com diferenças nas respostas que podem estar associadas aos diferentes mecanismos dos fármacos. Apesar dos resultados promissores, mais ensaios serão realizados a fim de compreender e comparar os mecanismos envolvidos na inibição dessas proteínas.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.679>

ANÁLISE DE SOBREVIDA NAS LEUCEMIAS AGUDAS EM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DO RIO DE JANEIRO

ALBR Soares^{a,b}, K Vicenzi^{a,b}, LST Papinutto^{a,b},
RL Almeida^{a,b}, BB Wigderowitz^{a,b},
JM Santos^{a,b}, TA Barros^{a,b}

^a Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Objetivo: As leucemias agudas são urgências médicas, com necessidade de intervenção e que, ainda que instituído o tratamento quimioterápico precoce, mantém elevadas taxas de mortalidade. Essas taxas variam de acordo com o tipo de leucemia aguda e com a instituição na qual ocorre o tratamento. O objetivo do trabalho é analisar a sobrevida global (SG) dos pacientes após o diagnóstico de leucemias agudas, estratificando em sobrevida após indução e após 5 anos. **Materiais e métodos:** Realizada análise retrospectiva de dados no sistema de prontuário eletrônico dos pacientes diagnosticados com leucemia aguda entre os anos de 2000 a 2023 em nosso Hospital Universitário. Foram analisados: data do diagnóstico, início do tratamento, último seguimento, óbito, idade, tipo de leucemia e resposta à indução de remissão em primeira linha. **Resultados:** Foram incluídos 228 pacientes, sendo 142 do sexo masculino (62,3%) e 86 do sexo feminino (37,7%). A idade mediana foi de 48 anos (12-88 anos). Quanto à classificação da leucemia, 161 (70,6%) pacientes tinham diagnóstico de leucemia mieloide aguda (LMA), 19 (8,3%) de leucemia promielocítica aguda (LPA) e 48 (21,1%) com leucemia linfoblástica aguda (LLA). A SG em 30 dias (período da indução) foi de 82%, sendo