

between the patients with LSC <1% or LSC >1% within the total cohort and within each risk group. **Discussion:** The increased understanding of AML pathogenesis has prompted interest in LSC as possible prognostic markers and therapeutic targets. In our cohort, higher percentages of LSCs (>1%) at diagnosis were associated with markers of inferior prognosis: higher leukocytosis, NPM1mutFLT3mut status and higher FLT3-ITD allelic ratio. In the group of intermediate-risk, those with LSC>1% presented a lower mean overall survival than that of the patients with LSC <1% at diagnosis. This finding is relevant for this group of patients, for which prognosis and therapy choices are not as well defined as for the low and high-risk patients. However, logrank test displayed equality of survival distributions between the two groups of LSC, which could have been due to the limited number of patients studied. **Conclusion:** Our results fortify the potential value of LSCs as an easily assessed prognostic factor at diagnosis that may be further evaluated along measurable residual disease time points and help on therapeutic decisions. **Funding:** FAPESP grant #2013/08135-2. GLJ: FAPESP grant #19/20215-8. AFOC: INCTC grant #88887.284979/2018-00. LOM: INCTC grant #88887.313021/2019-00. LLFP: FAPESP grant #2015/21866-1.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.259>

258

#### IDENTIFICATION AND EVALUATION OF POTENTIAL STATHMIN 1 INHIBITORS IN ACUTE LEUKEMIA CELLULAR MODELS



J.A.E.G. Carlos<sup>a</sup>, K. Lima<sup>a</sup>, L.V. Costa-Lotuf<sup>a</sup>, A. Leitão<sup>b</sup>, J.A. Machado-Neto<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

<sup>b</sup> Grupo de Química Medicinal e Biológica, Instituto de Química de São Carlos (IQSC), Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

**Objectives:** Acute leukemia (AL) is characterized by exacerbated clonal proliferation of immature hematopoietic progenitors that accumulates in peripheral blood, bone marrow and extramedullary sites, impairs the normal blood production, and AL presents high relapse and mortality rates. Stathmin 1 (STMN1) is a highly expressed phosphoprotein in different types of cancer that regulates microtubule dynamics, relaying the integration of extra- and intracellular signals. In leukemia cells, STMN1 is overexpressed and induces cell proliferation and autonomous clonal growth being its role poorly explored by pharmacological agents. The present study aimed to identify compounds that inhibit STMN1-mediated signaling and to evaluate their cellular and molecular effects. **Material and methods:** Cheminformatic tools were used to identify compounds similar to GDP366, the only STMN1 inhibitor reported. For the functional assays, acute lymphoblastic leukemia cells, Jurkat and Namalwa, and acute myeloid leukemia cells, NB4 and U937, were used. Cell viability was assessed by MTT, apoptosis by annexin V/7AAD labeling, cell cycle by propidium iodide labeling and flow cytometry (CF), clonogenicity by autonomous colony formation, and protein

expression and phosphorylation by Western blot. Statistical analysis was performed by ANOVA test and Bonferroni post-test. A  $p < 0.05$  was considered significant. **Results:** Cheminformatic analysis identified three compounds with high similarity to GDP366: AD80, GSK2606414, and GW768505A. In the initial drug screening, AD80 was more potent and effective than GSK2606414 and GW768505A in all leukemia cell lines tested, being it selected for further analysis. GDP366 was used as the reference compound. GDP366 and AD80 reduced cell viability in a dose- and time-dependent manner in leukemia cells ( $p < 0.05$ ), being AD80 (IC<sub>50</sub> for 72 hours ranged from 1.6 to 6.7  $\mu\text{M}$ ) more potent than GDP366 (6 to >50  $\mu\text{M}$ ). Both compounds induced apoptosis and G<sub>2</sub>/M cell cycle arrest, and reduced autonomous clonal growth in a dose-dependent manner in all leukemia cells ( $p < 0.05$ ). Namalwa cells were more resistant to the compounds compared to other leukemia cells. In the molecular scenario, GDP366 induces STMN1 phosphorylation (inactive form), and apoptosis (cleaved PARP1) and DNA damage markers ( $\gamma\text{H2AX}$ ) in Jurkat and NB4 cells. AD80 reduced STMN1 expression and also induces PARP1 cleavage and  $\gamma\text{H2AX}$  expression. In addition, AD80, but not GDP366, effectively inhibits S6 Ribosomal Protein phosphorylation and Survivin (BIRC5) expression in both leukemia cell lines tested. **Discussion and conclusion:** GDP366 and AD80 inhibit STMN1 signaling and display antineoplastic effects in acute leukemia cellular models, reducing clonogenicity, survival, and cell cycle progression. AD80 was the most potent and effective compound identified in this context and presented an interesting multitarget activity in leukemia cells. **Funding:** Supported by CNPq and FAPESP (2017/24993-0, 2018/19372-9, 2018/15904-6, and 2015/17177-6).

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.260>

259

#### IMAGEAMENTO IN VIVO DE CAMUNDONGOS TRANSPLANTADOS COM LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA (PML-RAR $\alpha$ )



R.N. Shiraishi<sup>a</sup>, A.L. Bombeiro<sup>b</sup>, T.C.L. Castro<sup>a</sup>, F. Martins<sup>a</sup>, F.I.D. Via<sup>a</sup>, I. Santos<sup>a</sup>, E.M. Rego<sup>c</sup>, M.L.S. Queiroz<sup>a,d</sup>, C.O. Torello<sup>a</sup>, S.T.O. Saad<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Centro de Hematologia e Hemoterapia (Hemocentro), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

<sup>b</sup> Departamento de Biologia Estrutural e Funcional, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

<sup>c</sup> Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

<sup>d</sup> Departamento de Farmacologia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

**Objetivos:** Nosso objetivo foi confirmar a eficiente padronização do modelo experimental de leucemia promielocítica aguda (LPA) em camundongos imunocompetentes BALB/c através da técnica de imageamento in vivo, e

acompanhar a sobrevida dos animais. **Material e métodos:** Camundongos BALB/c foram irradiados com 6Gy e transplantados após 4 horas por via retro-orbital com  $1 \times 10^6$  células leucêmicas provenientes de animais transgênicos (PML/RAR $\alpha$ ) marcadas com nanocristais (Qtracker 800 Cell Labeling Kit, Life Technologies, Eugene, EUA, código Cat. Q25071MP), de acordo com o protocolo do fabricante. Os camundongos foram submetidos ao imageamento nos dias 1, 3, 7, 11, 13 e 15 utilizando um analisador de imagem *in vivo* (In vivo FXBRO, Bruker, EUA). Os comprimentos de onda de excitação e emissão foram estabelecidos em 710 e 790 nm, respectivamente, e o tempo de imagem foi de 2,5 minutos. As radiografias foram obtidas dos camundongos para determinar a localização anatômica da marcação. Durante os procedimentos, os camundongos foram anestesiados (isoflurano 1,5%). Um controle negativo (camundongo não receptor de células) foi submetido ao imageamento junto com os camundongos transplantados para excluir possíveis marcações inespecíficas. Em paralelo, os critérios diagnósticos de leucemia foram acompanhados: sinais clínicos como palidez, magreza, menor atividade física, postura arqueada, pêlos arrepiados, pequena desidratação, menor quantidade de fezes e urina na gaiola; leucocitose (WBC  $>30 \times 10^3/\mu\text{L}$ ), anemia (Hb  $<10 \text{ g/dL}$ ), plaquetopenia (Plt  $<500 \times 10^3/\mu\text{L}$ ), e presença de blastos nos esfregaços de sangue periférico corados com Leishman-Wright-Giemsa. Para análise de sobrevida, camundongos BALB/c ( $n = 12/\text{grupo}$ ) transplantados com células leucêmicas conforme descrito acima foram acompanhados até a data de morte. O grupo controle não foi transplantado com células leucêmicas. **Resultados:** Observou-se infiltração de células imaturas na medula óssea e nos órgãos dos camundongos transplantados em diferentes momentos. A marcação foi detectada principalmente no pescoço e baço nos dias 1 e 3 após o transplante. Nos dias 7, 11 e 13, a marcação foi menor no baço e pescoço, provavelmente devido ao *homing* das células sobreviventes para o nicho da medula óssea, onde essas células se estabelecem e proliferam. Após o estabelecimento das células no nicho da medula óssea e sua proliferação (no dia 15), as células foram liberadas para o sangue periférico, e disseminadas para diferentes órgãos (áreas distintas marcadas foram identificadas no fígado, baço, fêmur, pulmões e tireoide). Os camundongos apresentaram os critérios diagnósticos de leucemia: leucocitose, anemia, plaquetopenia e presença de blastos no sangue periférico, confirmando, junto ao imageamento, a efetiva padronização da APL nos camundongos BALB/c. Além disso, o acompanhamento da sobrevida mostrou que os animais leucêmicos sucumbem entre os dias 15-18 após o transplante. **Discussão e conclusão:** O desenvolvimento de modelos tumorais “*in vivo*” é fundamental para a investigação de novas terapias medicamentosas. O interessante aqui é que os camundongos BALB/c permitem o estabelecimento efetivo da APL, como confirmado em nossos resultados de Imagem de fluorescência *in vivo* e curva de sobrevida. Além disso, a linhagem BALB/c apresenta resposta imune competente, o que os torna uma excelente ferramenta na hematologia oncológica.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.261>

260

## IMPACTO ECONÔMICO DA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA NA PERSPECTIVA DO SISTEMA DE SAÚDE SUPLEMENTAR DO BRASIL

E. Ribeiro<sup>a</sup>, A.P.A. Bueno<sup>b</sup>, E.S. Moreira<sup>b</sup>, L.F. Yoshida<sup>b</sup>, R. Picoli<sup>b</sup>, L. Saturnino<sup>a</sup>, R. Soler<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Astellas Farma Brasil, São Paulo, SP, Brasil

<sup>b</sup> Kantar Health Brasil, São Paulo, SP, Brasil

**Introdução:** A Leucemia Mieloide Aguda (LMA) é um câncer raro que acomete predominantemente adultos com maior risco em indivíduos acima de 60 anos. No Brasil, foram registrados 6.837 óbitos por leucemia em 2015 e estima-se que em 2020 o país deverá ter cerca de 10.810 novos casos. Apesar da sua gravidade, não há dados do impacto da LMA no Brasil, sobretudo na perspectiva do Sistema de Saúde Suplementar (SSS). **Objetivo:** Mensurar e descrever o custo para o manejo de pacientes com LMA na perspectiva do SSS. **Método:** O custeio compreendeu as etapas de identificação, mensuração e valoração. A identificação utilizou referências da literatura médica científica, como diretrizes do Ministério da Saúde e da Sociedade Brasileira de Oncologia Clínica. Para mensuração foi realizada entrevista com médico hematologista e enfermeira auditora, ambos com experiência no SSS. Para valoração foram utilizados dados da SIMPRO 2020, CBHPM 2016 e CMED PF 18%. Foram considerados custos médicos diretos reembolsados pela SSS como internação com ou sem UTI, visitas ambulatoriais e de emergência, exames clínicos e de imagem, tratamento padrão intra-hospitalar, transfusões e serviços de cuidados paliativos. Não foram considerados custos de tratamento fora do ambiente hospitalar. Os custos foram mensurados considerando pacientes que sobrevivem livres de evento (SLE) e pós evento, independentemente de realização de Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas (TCTH). Para o regime de baixa intensidade do paciente SLE, considerou-se tratamento ambulatorial com uma transfusão de plaquetas e hemácias no primeiro mês e uma consulta médica especializada no segundo. Já para aqueles que necessitam do regime de alta intensidade, considerou-se que 30% dos pacientes internam em UTI. No estado pós evento, foram considerados 3 meses de cuidado ambulatorial e uma internação hospitalar. **Resultados:** O custo médio para o diagnóstico da LMA foi R\$ 5.930. Em relação aos recursos, conforme premissas definidas no método para cada regime, o custo para baixa intensidade foi de R\$ 10.562 enquanto para alta intensidade foi de R\$ 85.142, sendo R\$ 71.023 devido à internação hospitalar e R\$ 14.119 para internação em UTI. O custo médio total para manejo da LMA, incluindo o custo de final de vida, foi de R\$ 112.049 para regime de baixa intensidade e de R\$ 186.629 para o de alta intensidade. O custo médio por mês do manejo pós evento (recidiva, progressão ou falha no tratamento) foi de R\$ 10.470 para manejo ambulatorial e de R\$ 22.451 para intra-hospitalar. O custo do TCTH variou entre R\$ 241.536 e R\$ 1.247.640 para pacientes de baixo e alto risco, respectivamente. **Discussão:** A LMA gera alto impacto no SSS por exigir uso intensivo de cuidados e hospitalizações. Observou-se diferença quanto ao uso de recursos entre os regimes, uma

