

effective therapeutic options. In most studies, venetoclax was used in therapeutic regimens containing epigenetic modulators. Histone deacetylases (HDAC) are important epigenetic modulators, as they alter the accessibility of chromatin to transcription factors, reducing the expression of genes with tumor suppressor functions. Higher levels of HDAC have been observed in leukemia patients and associated with poor outcomes. The present study aimed to evaluate the cellular effects of a novel HDAC inhibitor in combination with venetoclax in AML models. **Material and methods:** NB4-R2 and HEL cell lines, which are resistant to venetoclax, were used. The purine-derived phenylhydroxamate with potential HDAC inhibitor activity (compound 82) (0, 0.37, 0.5, 0.75, 1, 1.5 μ M) was used in combination with venetoclax (0, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2, 6.4 μ M). Vorinostat (0, 0.37, 0.5, 0.75, 1, 1.5 μ M) was used as a reference drug for all assays. Cell viability was assessed by MTT assay and apoptosis by annexin V/propidium iodide labeling and flow cytometry. Statistical analysis was performed by ANOVA and Bonferroni post-test. A $p < 0.05$ was considered significant. **Results:** In HEL and NB4-R2 cells, a synergic effect was observed in the combination of compound 82 plus venetoclax (all $p < 0.05$). Similar results, at less extension, were observed for the vorinostat plus venetoclax combination (all $p < 0.05$), indicating that compound 82 is more potent in this context. Apoptosis assays confirm these findings, the levels of apoptosis in NB4 cells treated with vehicle, 1.6 μ M venetoclax, 1 μ M compound 82, 1 μ M vorinostat, 1.6 μ M venetoclax plus 1 μ M compound 82, 1.6 μ M venetoclax plus 1 μ M vorinostat were $9 \pm 1\%$, $17 \pm 1\%$, $29 \pm 4\%$, $22 \pm 2\%$, $78 \pm 1\%$ and $57 \pm 4\%$, respectively (all $p < 0.05$). Similarly, the levels of apoptotic HEL cells treated with vehicle, 6.4 μ M venetoclax, 1 μ M compound 82, 1 μ M vorinostat, 6.4 μ M venetoclax plus 1 μ M compound 82, 6.4 μ M venetoclax plus 1 μ M vorinostat were $12 \pm 2\%$, $47 \pm 2\%$, $73 \pm 4\%$, $39 \pm 3\%$, $88 \pm 1\%$ and $76 \pm 5\%$, respectively (all $p < 0.05$). **Discussion and Conclusion:** Pharmacological inhibition of HDAC sensitizes venetoclax-resistant cells. A novel HDAC inhibitor identified by our research group showed greater potency and efficacy than vorinostat in increasing venetoclax-induced apoptosis in cellular models of AML. Future studies are needed to elucidate the molecular mechanisms involved. **Funding:** CNPq, CAPES, and FAPESP.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.267>

IMBALANCED ACTIVATING AND INHIBITORY RECEPTORS ON CD56^{DIM} NATURAL KILLER CELLS PREDICTS POOR OUTCOMES IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA

AFO Costa^a, V Kuznetsova^b, LO Marani^a,
IA Lopes^a, LS Binelli^a, PS Scheucher^a,
JL Schiavinato^a, MIA Madeira^a, KBB Pagnano^c,
BK Duarte^c, ABF Glória^d, EM Rego^e, F Traina^a,
R Welner^b, LL Figueiredo-Pontes^a

^a Divisão de Hematologia, Departamento de Imagem Médica, Hematologia e Oncologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^b Division of Hematology and Oncology, Department of Medicine, UAB Comprehensive Cancer Center, University of Alabama, Birmingham, United States

^c Centro de Hematologia e Hemoterapia (Hemocentro), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^d Divisão de Hematologia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil

^e Laboratório de Investigação Médica em Patogênese e Terapia Dirigida em Onco-Imuno-Hematologia (LIM-31), Departamento de Hematologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, SP, Brazil

Background: Even with advances in understanding the physiopathology of Acute Myeloid Leukemia (AML), most patients still relapse leading to poor long-term prognosis and cure rates. Natural Killer (NK) cells are regulated by opposing signals from receptors that activate and inhibit effector function and are known to mediate anti-leukemic immunosurveillance in AML, but the mechanisms by which they control hematopoietic neoplasms remain unclear. **Aims:** We hypothesize that functionally impaired NK cells can predict poor outcomes in AML. **Methods:** We analyzed the expression of DNAM-1 and NKG2D (activating) and NKG2A and KIR2DL1 (inhibitory) receptors on CD56⁺, CD56^{bright} CD16⁻ and CD56^{dim} CD16⁺NK subsets, by flow cytometry, in 100 *de novo* AML bone marrow (BM), followed up from 02/2016 to 06/2022, 17 healthy BM (HBM) and 6 BM from remission after induction chemotherapy (AML-CR). Correlations with ELN2017 risk, complete remission (CR), relapse (R), measurable residual disease (MRD), overall survival (OS), and relapse-free survival (RFS) were verified. Co-culture of AML-exposed NK cells and K562 cell line was used to assay for killing and degranulation. Proteomics and genomics were accessed by CITE-seq single-cell sequencing. **Results:** All NK cell subsets were decreased in AML ($p < .01$). AML CD56⁺ NK cells showed decreased NKG2D ($p < .01$) and increased NKG2A ($p = .04$) and KIR2DL1 ($p < .01$), recovering to near healthy values in AML-CR. NKG2D and DNAM-1 activating receptors were decreased ($p < .01$), while inhibitory NKG2A ($p = .02$) and KIR2DL1 ($p < .01$) were increased in CD56^{dim} NK (Most cytotoxic subset). Both activating receptors within CD56^{dim} NK were decreased in ELN2017 adverse risk (NKG2D, $p = .05$; DNAM-1, $p < .01$), in relapse ($p < .01$), and in MRD+ patients after remission induction. Inhibitory receptors were increased in adverse risk ($p < .01$), relapse (NKG2A, $p < .01$; KIR2DL1, $p < .05$), and MRD+ (NKG2A, $p = .03$) patients. Degranulation ($p < .01$) and target cell death (5:1, $p = .01$; 10:1, $p = .002$) were decreased in AML. Patients with lower frequency of CD56^{dim} NK expressing low NKG2D and DNAM-1 showed less degranulation and target cell death ($p = .03$), whereas in those with higher inhibitory receptors lower degranulation (NKG2A, $p = .06$) and cytotoxicity (KIR2DL1, $p = .005$) was found. Both OS and RFS were decreased in patients with lower CD56^{dim} NK (OS, $p = .04$; RFS, $p = .03$) and patients with lower expression of NKG2D (OS, $p = .03$; RFS, $p = .008$) and DNAM-1 (OS, $p = .02$; RFS, $p = .11$). Our single cell preliminary analysis showed that NK cells from AML display a distinct pro-inflammatory gene signature compared to HBM, which is strongly correlated to its impaired

function. **Conclusion:** Our data points that CD56^{dim} NK shows an exhaustion phenotype with high expression of inhibitory and low expression of activating receptors. This imbalance leads to impaired cytotoxicity, compromised anti-leukemic activity, and can predict worst response to treatment, relapse, and MRD positivity, and so, can be considered an adverse risk prognostic factor associated with lower survival rates. On top of that, identifying a pro-inflammatory gene signature on AML NK cells can lead to the identification of pathways that prevent their activation and functionality, making it possible to intervene and prevent the onset of the disease. Closing these gaps in the knowledge of NK-mediated immune evasion in leukemia is of significant interest for targeting the leukemic microenvironment by NK cell-mediated immunotherapy.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.268>

OS EFEITOS COLATERAIS DA ASPARAGINASE EM UMA PACIENTE JOVEM EM TRATAMENTO DE LEUCEMIA LINFOCÍTICA AGUDA (LLA): UM RELATO DE CASO

JC Vieira, VRM Neto, LF Dornelas, LA Batista, VR Crivelaro, DR Vieira

Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (Hemorio), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A Asparaginase é um antineoplásico bastante utilizado no tratamento das leucemias agudas, principalmente nos pacientes pediátricos. Apesar de essencial no tratamento, necessita de monitoramento intenso devido a possibilidade de diversos efeitos colaterais. **Objetivo:** Apresentar um relato de caso em que o uso da Asparaginase não foi como o esperado e o impacto das manifestações desfavoráveis no tratamento da paciente. **Metodologia:** Revisão de prontuário com levantamento de dados clínicos, laboratoriais, exames complementares e revisão da literatura sobre a temática. **Resultados:** Paciente jovem, 29 anos, é admitida já com diagnóstico de LLA feito pelo hospital de origem. Iniciado protocolo de quimioterapia (QT) no dia seguinte. Realizados exames laboratoriais antes do início da indução da QT e todos estavam normais. No 29º dia de início das medicações quimioterápicas os níveis de bilirrubina, transaminases e enzimas colestáticas começaram a se elevar, contraindicando no momento, a administração da nova dose da Asparaginase. Apresentou queda da pressão arterial sendo necessário o uso de noradrenalina e encaminhamiento para a unidade de terapia intensiva com quadro de choque séptico e hepatite colestática. Após um mês da primeira dose da medicação a bilirrubina chegou ao seu valor mais elevado e a paciente apresentou encefalopatia hepática e trombose venosa profunda de membro inferior direito. Após as medidas de suporte e suspensão das medicações hepatotóxicas houve melhora da função hepática, porém ainda não em níveis normais, fazendo com que o próximo bloco de indução da QT seja postergado, influenciando negativamente no tratamento. **Discussão:** A Asparaginase pode provocar durante a sua infusão ou

posteriormente a ela muitos efeitos colaterais dos mais simples aos mais catastróficos. Dependendo da intensidade do quadro, a medicação será abolida nos próximos blocos de tratamento. Algumas contraindicações para seu uso incluem: hipersensibilidade à medicação, pancreatite, comprometimento hepático grave e trombose com uma terapêutica anterior com Asparaginase. Dessa forma, a paciente apresentada não poderá fazer uso novamente da droga. **Conclusão:** No caso apresentado, verificamos que apesar da medicação apresentar diversos efeitos colaterais ela foi bem tolerada. Visto através da revisão de literatura que o medicamento em questão é bem tolerado, principalmente em crianças e continuando sendo uma opção importante a ser considerada no tratamento da LLA.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.269>

PERFIL DE TOXICIDADE DA PEG- ASPARAGINASE EM PACIENTES ADULTOS COM LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

DLF Silva^a, EDRP Velloso^{a,b}, VG Rocha^{a,b}, EM Rego^{a,b}, WF Silva^b

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

^b Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A incorporação da asparaginase nos protocolos de tratamento da leucemia linfoblástica aguda (LLA) em adultos parece melhorar os desfechos a longo prazo. Na última década, a forma peguilada da droga (PEG) tornou-se a formulação padrão mais utilizada. No Brasil, a PEG foi incorporada há 5 anos, trazendo consigo um perfil de toxicidade específico, onde hepatotoxicidade e tromboembolismo predominam. Redução empírica de dose tem sido recomendada para mitigar a ocorrência de hepatotoxicidade em pacientes de risco, porém o impacto destas medidas ainda não foi avaliado. **Objetivos:** Descrever o perfil de toxicidade da PEG no tratamento de pacientes adultos com LLA, visando avaliar o impacto de medidas para reduzir a hepatotoxicidade. **Métodos:** Este é um estudo transversal retrospectivo em pacientes a partir de 15 anos tratados para LLA ou Leucemia de linhagem ambígua no Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP) com protocolos contendo PEG entre setembro/2018 e junho/2022. Todos os pacientes receberam ao menos uma dose da droga. Os eventos foram graduados de acordo com o CTCAE versão 5.0. Profilaxia antitrombótica não foi sistematicamente indicada. **Resultados:** Um total de 54 pacientes foram incluídos, com idade mediana de 23 anos (15 – 65). A maior parte dos sujeitos tinha LLA B (72%), seguidos pelo fenótipo T (28%). Cromossomo Philadelphia estava presente em 7,4% dos casos. 83% estavam recebendo PEG no tratamento de primeira linha e os demais estavam em terapia de resgate. BFM adaptado foi o protocolo mais utilizado (83%). A dose de 2000 UI/m² foi a dose mais prescrita (85%), seguida por 1000 UI/m² (15%). Os pacientes receberam uma mediana de 2 doses cada (1 – 3). Via intravenosa foi utilizada em 70% e a via intramuscular nos demais (30%). Reação infusional leve