

RECONHECIMENTO DE LLA PH-LIKE COM A INTEGRAÇÃO DOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS: EXPERIÊNCIA EM PEDIATRIA

BP Nasr, NS Santosnan, E Delbuono, BN Rhein, SRC Toledo, MGC Pires, FT Gamba, JT Gouveia, ID Oliveira, MLM Lee, AVL Sousa

Grupo de Apoio ao Adolescente e Criança com Câncer (GRAACC), Instituto de Oncologia Pediátrica (IOP), Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: A leucemia linfóide aguda de precursor B (LLA-B) apresenta marcadores citogenético-moleculares com impacto prognóstico bem definidos. A LLA Ph-Like é um subgrupo geneticamente heterogêneo, classicamente de linhagem B, caracterizado pela hiperexpressão do gene CRLF2, em 50% dos casos, e por rearranjos gênicos e mutações com desregulação das vias de sinalização JAK/STAT, e hiperativação das vias de tirosinaquinase. Em países em desenvolvimento, o maior desafio para esse subgrupo ainda está relacionado ao acesso às técnicas para o diagnóstico preciso. A citometria de fluxo (CF) e de extrema importância no diagnóstico de LLA, na determinação de doença residual mínima e na busca de marcadores para alvo terapêutico. A hiperexpressão de CRLF2 pode ser investigada por CF e os rearranjos com CRLF2, através de diferentes métodos moleculares como RT-PCR, FISH e sequenciamento de nova geração (NGS). Descrevemos nossa experiência no diagnóstico de LLA Ph-Like, com a triagem pela hiperexpressão de CRLF2 na CF. **Material e método:** Estudo retrospectivo de revisão de pacientes de uma única instituição com diagnóstico de LLA e hiperexpressão de CRLF2 (10^2 - 10^3) por CF, associado a alterações no gene CRLF2 confirmados por teste molecular. **Resultados:** No período de abril/2015 a maio/2023, a expressão celular de CRLF2 foi analisada por CF em 145 casos de LLA; as análises foram realizadas em toda população, incluindo os casos com Síndrome de Down (SD), como controle positivo. Cinco pacientes apresentaram hiperexpressão de CRLF2; destes, dois com SD, sendo um caso com rearranjo CRLF2::P2RY8 e outro sem avaliação molecular devido ausência de material disponível. Os outros três pacientes, não SD, correspondentes à 2% da amostragem, também apresentaram o rearranjo CRLF2::P2RY8 detectado por NGS ou RT-PCR, confirmando o diagnóstico de LLA Ph-Like. Os três casos com hiperexpressão de CRLF2 na CF e rearranjo CRLF2::P2RY8, apresentaram os seguintes imunofenótipos: LLA-B comum, LAFM B/mieloide e LLA pré-B; não foram encontradas outras alterações genéticas moleculares em nenhum dos casos; todos apresentaram DRM negativa ao final da indução; dois estão vivos sem doença e um caso ainda em tratamento. **Discussão e conclusão:** A correlação entre imunofenotipagem e perfil genético-molecular define subtipos distintos de LLA, com impacto nas decisões terapêuticas e prognóstico. A CF é um método rápido, fácil e de baixo custo para detecção de hiperexpressão de CRLF2, factível de ser incorporada na prática clínica como preditor de alterações genéticas e subtipos moleculares, na suspeita de espectro de LLA Ph-like. Portanto, a pesquisa da hiperexpressão de CRLF2 por CF poderia ser incorporada ao painel imunofenotípico diagnóstico como ferramenta de *screening*, para suspeita na

identificação com maior rapidez do subgrupo Ph-like, além da perspectiva futura de possível alvo terapêutico.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.466>

NOVA CLASSE DE INIBIDORES DE MICROTÚBULOS: CICLOPENTA[B]INDOL EXIBE EFEITOS ANTILEUCÊMICOS

HP Vicari^a, RC Gomes^b, K Lima^{a,c}, NO Rossini^d, LBL Miranda^a, MTR Junior^b, MVB Dias^d, LV Cost-Lotufo^a, F Coelho^b, JA Machad-Neto^a

^a Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^b Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^c Laboratório de Investigação Médica em Patogênese e Terapia Dirigida em Onco-Imuno-Hematologia (LIM-31), Departamento de Clínica Médica, Divisão de Hematologia, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, SP, Brasil

^d Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Objetivos: Em estudos anteriores, nosso grupo de pesquisa identificou um composto sintético inédito derivado da classe dos ciclopenta[b]indóis que apresentou citotoxicidade seletiva em modelos celulares de leucemia promielocítica aguda através da interrupção da dinâmica de microtúbulos. No presente estudo, nós expandimos a investigação dos efeitos celulares e moleculares do ciclopenta[b]indol C2 sobre o fenótipo leucêmico de um amplo painel, molecularmente heterogêneo, de linhagens celulares de leucemias agudas. **Material e métodos:** Um painel contendo 13 linhagens celulares de neoplasias mielóides e 12 linfóides foi utilizado. As linhagens Kasumi-1, MV4-11, Jurkat e Namalwa foram selecionadas para análises adicionais detalhadas. Dois enantiômeros de C2 foram utilizados (C2E1 e C2EB). A viabilidade celular foi avaliada por MTT e a clonogenicidade por ensaio de formação de colônias. Por citometria de fluxo foram avaliados a apoptose (marcação com anexina V/iodeto de propídio [IP]) e o ciclo celular (marcação com IP). A morfologia celular foi avaliada por coloração H&E e microscopia óptica. Os marcadores moleculares de proliferação (STMN1), apoptose (PARP1) e dano ao DNA (γ H2AX) foram investigados por Western Blot. Experimentos de re-docagem e docagem molecular dos ligantes colchicina, C2E1 e C2EB foram realizados utilizando os dímeros de α/β -tubulina como receptor (PDB:4O2B) através dos softwares Autodock Vina e Gold. As análises estatísticas foram realizadas por ANOVA e pós-teste de Bonferroni. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo. **Resultados:** O C2E1 apresentou alta citotoxicidade em células malignas do sangue e apenas 4 das 25 células foram consideradas resistentes ao composto ($IC_{50} > 50 \mu M$). O C2EB não apresentou atividade citotóxica considerável nos modelos testados e 19

das 25 linhagens foram consideradas resistentes. As análises de docagem molecular indicam que apenas o C2E1 apresenta maior sobreposição na região de ancoramento do anel A da colchicina, o que pode ser a causa para baixa atividade do C2EB. Sendo assim, apenas o composto C2E1 foi utilizado nos ensaios posteriores. O C2E1 apresentou efeito citotóxico dependente de concentração e tempo (IC50 variou de 1,8 a 31,5 μ M em 72 h). Em células de leucemia aguda, o composto C2E1 diminuiu a clonogenicidade, induziu apoptose, resultou no acúmulo de células em subG1 e parada do ciclo celular na fase G2/M após 48 h de exposição ao fármaco (todos $p < 0,05$). As análises morfológicas indicaram aberrações mitóticas nas células tratadas. O C2E1 aumentou a fosforilação e reduziu a expressão de STMN1 e elevou a expressão de PARP1 clivada e γ H2AX. **Discussão:** Nossos resultados evidenciaram que o composto inédito derivado da classe dos ciclopenta[b]indóis reduziu a viabilidade de células de leucemia aguda. No cenário molecular, C2E1 reduziu marcadores de proliferação (STMN1) e induziu marcadores de apoptose (PARP1 clivada) e dano no DNA (γ H2AX). Portanto, o composto indólico C2E1 mostrou-se capaz reproduzir seu mecanismo de ação inicialmente caracterizado, sendo este o colapso mitótico gerado pela perturbação da dinâmica de microtúbulos. **Conclusão:** Nosso estudo apresentou evidências pré-clínicas de uma nova classe de inibidores de microtúbulos como potencial opção terapêutica em neoplasias hematológicas. **Apoio:** FAPESP, CNPq e CAPES.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.467>

FIVE-YEAR REAL-WORLD DATA ON AML RETROSPECTIVE STUDY FROM PUBLIC HEALTH CENTER IN BRAZIL

F Feistauer, MA Salvino, M Batista, LA Noblat

Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, Brazil

Introduction: Acute myeloid leukemia (AML) is a heterogeneous aggressive leukemia with poor prognosis. The standard remission induction regimen for medically eligible patients with AML consists of a backbone of cytarabine & an anthracycline ("7+3" therapy). Brazil is a large country with striking differences in climate, ethnic heterogeneity and socioeconomic factors. **Objectives:** To assess effectiveness (Eligible to the Next Treatment-ENT CR and sufficient performance status to the next treatment, PFS and OS) and security (Early Mortality) of cytarabine and anthracycline in a public health center in Salvador, Brazil. Subgroups analyzed were about FLT3 and NPM1 mutations, leukocytes ($>10,000$ or $<10,000$), platelets ($>20,000$ or $<20,000$), and transplanted or non-transplanted. **Methods:** It was a retrospective analysis of all the cases of non-promyelocytic AML diagnosed between 2018 and 2022 in the University Hospital Professor Edgar Santos of Federal University of Bahia, after being approved by the Ethics Committee of the hospital. Kaplan-Meier methods were used to determine the median of the time to OS and PFS. **Results:** A total of 45 patients were analyzed. Median age at diagnosis was 43 years (range, 16-69 years) with 62% females.

There were 21% and 11% patients with FLT3-ITD and NPM1 mutations, respectively. Only 14 patients had karyotype test (85% with normal karyotype). Regarding effectiveness, 52% of patients were eligible for the next therapy after complete remission (consolidation or stem cell transplantation). Refractory patients were 20%. Early (4 weeks) mortality was 28%. The median of PFS and OS were 3.6 and 8.2 months respectively. Patients with FLT3 mutation, platelet $< 20,000$ and leukocytes $< 10,000$ had poor outcomes. In AML patients after stem cell transplantation, PFS and OS were, respectively 20 and 43 months. Average waiting time for start induction therapy was 12 days. **Discussion:** Bone marrow transplantation is indicated as standard in consolidation for patients with intermediate or unfavorable cytogenetic risk. The performance of the BMT carried out by the Hospital das Clínicas de Salvador can be considered a differential service in the public context, since not all services perform this treatment. Effectiveness and safety results of this study, which evaluated induction with a 7+3 scheme in patients with AML in a public service in Salvador/Bahia, showed that 52% were eligible for the next treatment (complete remission and with performance), mediated survival progression-free time of 3.6 months, median overall survival of 8.2 months, and early mortality of 28% (61% due to septicemia). These results are consistent with other real-life studies in Brazil. **Conclusion:** The outcomes were consistent with the literature, adjusted for the population in question. Even with access to diagnostic tests (not common in Brazilian's health public centers), patients did not have access to targeted therapies, with the 7+3 regimen being the only treatment for fit patients. To achieve complete remission followed consolidation/transplantation is still the BEST scenarios in AML eligible patients, but the improvement of access to diagnostic and treatment is still an unmet need.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.468>

OS DESAFIOS DO TRATAMENTO DA LEUCEMIA AGUDA EM TESTEMUNHA DE JEOVA

JMD Nascimento^a, LC Afonso^a,
MJMD Nascimento^b, NP Rodrigues^b

^a Hospital Regional do Câncer de Passos (HRC), Passos, MG, Brasil

^b Centro Universitário Presidente Tancredo de Almeida Neves (UNIPTAN), São João del Rei, MG, Brasil

Objetivo: Pacientes que negam hemotransfusões enfrentam grandes desafios na busca por centros que aceitam tratá-los e se deparam com situações de riscos ainda maiores de sangramento e anemia grave, diante da recusa do sangue e hemoderivados. Relatamos um caso atendido no HRC, após ser recusado em três serviços próximos de sua cidade de origem. **Materiais e métodos:** J.E.Z, 57 anos, previamente hígido, procedente de Araxá-MG, pertencente a religião Testemunha de Jeová, deu entrada em nosso serviço com astenia, palidez e taquicardia, apresentando anemia (Hb 8,0), plaquetopenia (12.000) e leucócitos em contagem normal, com 74% de