

leucemia aguda. **Material e Métodos:** Um painel contendo 13 linhagens celulares de neoplasias mieloides e 12 linfoides foi utilizado para ensaios iniciais de viabilidade celular, além de células mononucleares de sangue periférico (CMSP) de três doadores saudáveis. As linhagens celulares NB4, NB4-R2, OCI-AML3, MOLM13, Jurkat e Namalwa foram selecionadas para análises detalhadas adicionais. As células foram tratadas com concentrações crescentes de eribulina (0-100 nM). A viabilidade celular foi avaliada por MTT, clonogenicidade por ensaio de formação de colônias, apoptose por marcação com anexina-V/7AAD e citometria de fluxo, ciclo celular por marcação com iodoeto de propídio e citometria de fluxo e morfologia celular por coloração H&E e microscopia óptica. Marcadores moleculares de proliferação (STMN1), apoptose (PARP1) e dano ao DNA (p-H2AX) foram investigados por Western Blot. As análises estatísticas foram realizadas por ANOVA e pós-teste de Bonferroni. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo. **Resultados:** A eribulina apresentou alta citotoxicidade em células malignas do sangue, apenas 5 das 25 células foram consideradas resistentes à droga ($IC_{50} > 100$ nM). As células sensíveis à eribulina apresentaram citotoxicidade dependente da dose e do tempo (IC_{50} variou de 0,13 a 12,12 nM em 72 h). Em leucócitos normais (CMSP), a IC_{50} não foi alcançada ($IC_{50} > 50 \mu M$) nas concentrações testadas. Em células de leucemia aguda, a eribulina diminuiu significativamente a clonogenicidade à exposição a longo prazo, e foi capaz de induzir apoptose, 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. No cenário molecular, a eribulina reduziu a expressão e a atividade de STMN1 e induziu a fosforilação de PARP1 e H2AX (todos $p < 0,05$). **Discussão:** Nossos resultados mostraram que a eribulina reduziu a viabilidade de células de leucemia aguda, mas não de leucócitos normais, sugerindo seletividade para células sanguíneas malignas. O tratamento com eribulina induziu acúmulo de células em subG1 e parada nas fases G2/M e a análise morfológica indicou mitose aberrante, o que corrobora os achados do ciclo celular. Molecularmente a eribulina reduziu a expressão e a atividade de STMN1 e induziu a fosforilação de PARP1 e H2AX, indicando redução da proliferação celular, apoptose e dano ao DNA. Portanto, a eribulina é capaz de perturbar a dinâmica de microtúbulos e levar ao colapso mitótico e morte celular. **Conclusão:** Em resumo, nosso estudo apresentou a eribulina como uma provável nova opção terapêutica em neoplasias hematológicas. Estudos sobre mecanismos de resistência e testes in vivo são de interesse. **Financiamento:** FAPESP, CNPq e CAPES.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.247>

IDENTIFICAÇÃO DE BIOMARCADORES DE RESISTÊNCIA À ERIBULINA EM MODELOS CELULARES DE NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

HP Vicari^a, K Lima^b, JCL Silva^a,
LV Costa-Lotufo^a, JA Machado-Neto^a

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

^b Departamento de Hematologia, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, SP, Brasil

Objetivos: A eribulina é um inibidor de microtúbulos utilizado em pacientes com lipossarcoma e câncer de mama metastático. Resultados recentes do nosso grupo mostraram que a eribulina reduz seletivamente a viabilidade de uma gama de linhagens celulares de leucemias agudas, sendo uma possível opção terapêutica. Porém, a eribulina possui mecanismos de resistência que podem levar a falha no tratamento e diminuição na sobrevida. Nesse sentido, entender os mecanismos de resistência relacionados à eribulina pode ajudar a melhorar a resposta ao tratamento. O objetivo do presente estudo foi avaliar possíveis biomarcadores de resposta à eribulina, usando um painel heterogêneo de células de neoplasias hematológicas. **Materiais e métodos:** Um painel contendo 13 linhagens celulares de neoplasias mieloides e 12 linfoides foi utilizado para ensaios iniciais de viabilidade celular, avaliada pelo ensaio MTT e as células foram expostas a doses crescentes de Eribulina (0,3, 0,6, 1,2, 2,5, 5, 10 e 20 nM) por 24, 48 e 72 horas. Os valores das IC_{50} foram estabelecidos por regressão linear. Extratos celulares de todas as linhagens foram coletados e a expressão proteica de NFkB, p-NFkB, AKT e p-AKT foi investigada por Western Blot e a expressão gênica de ABCB1, ABCC1, TUBB3 e STMN1 foi investigada por qPCR. Foi realizada uma correlação entre a IC_{50} para eribulina e a expressão gênica/proteica das vias previamente associadas à resistência à eribulina. O ensaio de apoptose foi realizado por citometria de fluxo em células Kasumi 1 tratadas com eribulina (2,5 e 5 nM) e/ou elacridar (1 e $2 \mu M$) e/ou PDTC (10e $20 \mu M$) por 72 horas por marcação com anexina V e iodoeto de propídio. As análises estatísticas foram realizadas por ANOVA e pós-teste de Bonferroni e teste de Spearman. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo. **Resultados:** A eribulina apresentou alta citotoxicidade nos modelos de neoplasias hematológicas. As células sensíveis à eribulina apresentaram citotoxicidade dependente da dose e tempo (IC_{50} variou de 0,13 a 12,12 nM por 72 h). Notavelmente, a maior IC_{50} para eribulina foi correlacionada com alta expressão de NFkB p65 (total e fosforilado), MDR1 (ABCB1 e ABCC1) e AKT fosforilada em células malignas sanguíneas (todos $p < 0,05$). Em células Kasumi 1, o tratamento combinado de eribulina com inibidor de MDR1 (elacridar), mas não com inibidor de NFkB (PDTC), aumenta expressivamente a apoptose induzida pela eribulina ($p < 0,05$). **Discussão:** Os modelos celulares de neoplasias hematológicas mieloides e linfoides apresentaram alta sensibilidade à eribulina. As expressões gênicas e/ou proteicas de vias previamente relacionadas com a resistência a eribulina foram avaliadas em todas as linhagens tratadas e correlacionadas com a IC_{50} das células. A expressão e ativação de NFkB, MDR1 e PI3K/AKT foi significativamente relacionada com a resistência (maior IC_{50}) das células. A célula Kasumi 1 foi considerada resistente e selecionada para tratamento combinado com eribulina e elacridar ou PDTC, sendo o elacridar considerado um agente potencializador nesse contexto. **Conclusão:** Nossos dados indicam que a expressão e ativação de NFkB, MDR1 e PI3K/AKT podem ser biomarcadores de resposta à eribulina em malignidades hematológicas e o tratamento combinado de eribulina com elacridar pode melhorar a resposta e superar

a resistência à eribulina. **Financiamento:** FAPESP, CNPq e CAPES.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.248>

PARP INHIBITION INDUCES PHILADELPHIA P190 POSITIVE ACUTE LYMPHOID LEUKEMIA CELL DEATH IN LEVELS SIMILAR TO IMATINIB TREATMENT

CB Machado^a, EL Silva^a, AJS Portilho^a, MEA Moraes^a, MOM Filho^a, RC Montenegro^a, LEB Souza^b, CA Moreira-Nunes^a

^a Laboratório de Farmacogenética, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM), Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brazil

^b Centro de Terapia Celular (CTC), Hemocentro de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

Objective: Acute Lymphoid Leukemia (ALL) is the most common leukemic subtype among pediatric populations. The prognosis is worse among patients which are Philadelphia chromosome positive (Ph+), detected with BCR-ABL1 p190 translocation, and, although treatments strategies utilizing tyrosine-kinase inhibitors improved Ph+ patient's outcomes, the development of new therapeutic approaches is of utmost importance in the oncologic practice when facing the inevitable cases of resistance emergence. This study aims to evaluate the cytotoxic effect of inhibiting poly-ADP-ribose 1 (PARP1), a signaling pathway for DNA repair machinery, in an ALL Ph+ cell model. **Methodology:** Cytotoxicity analyses of the compounds AZD2461, Imatinib and Doxorubicin were performed by Alamar Blue assay in three cell lines: SUP-B15 – B-lymphoblast Ph p190+ ALL –, Raji and Namalwa – both B-lymphocyte Burkitt's lymphoma. Drug cytotoxicity was determined through serial dilutions resulting in final concentrations of 10 μ M, 2 μ M, 0.4 μ M, 0.08 μ M, 0.016 μ M and 0.0032 μ M for every drug. All concentrations were analyzed in triplicates for each cell line after a period of 72 hours of treatment, except for SUP-B15, which was also analyzed with all the drugs in periods of 24 and 48 hours. After the treatment period, Alamar Blue was added to each well, plates were incubated and then read for fluorescence. Viability results were analyzed through non-linear regression using GraphPad Prism (v. 5.01). **Results:** AZD2461 showed cytotoxic activity comparable to that of Imatinib in Ph+ SUP-B15, represented by an IC₅₀ at 72 hours of treatment of 344.3 nM and 329.2 nM, respectively. The use of PARP inhibitors showed little to no efficacy when treating either of the remaining cell lines, with an IC₅₀ that was not reached in treatment of Raji and a high IC₅₀ of 20.9 μ M in the treatment of Namalwa. Doxorubicin showed high cytotoxic activity against all cell lines, with IC₅₀ values at 72 hours of low nanomolar levels; 20.32 nM, 85 nM and 75.93 nM for SUP-B15, Raji and Namalwa, respectively. Due to non-responsiveness of Raji and Namalwa to the targeted therapies, only SUP-B15 was evaluated at 24 and

48 hours and treatment. AZD2461 and Imatinib's IC₅₀ remained comparable at 1421 nM and 1230 nM at 48 hours, respectively, and 3295 nM and 3966 nM at 24 hours, respectively. **Discussion:** The use of PARP inhibitors (PARPi) shows great clinical efficiency in the treatment of BRCA1/2-mutated tumors and other malignancies that harbor defects in double-strand-breaks repair through homologous recombination. Although Raji and Namalwa have been previously shown to considerably overexpress PARP1 in relation to SUP-B15, the presence of BCR-ABL1 translocation is highly associated with increased chromosomal instability through intracellular accumulation of reactive oxygen species and promotion of non-conservative repair pathways. The major cytotoxic effect of AZD2461 over SUP-B15, in levels comparable to those of Imatinib, shows that ALL Ph+ models seem to be over reliant on pathways that regulate genomic damage and minimize the instability brought by BCR-ABL1, specifically PARP1. **Conclusion:** The use of PARPis shows great effect over the viability of ALL Ph+ models and PARP1 represents a potential new target for investigation in BCR-ABL1 positive tumors. However, studies are being conducted to confirm cell death through on-target effects of AZD2461 and the possible effects of PARPi in the expression levels of BCR-ABL1.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.249>

LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA SECUNDÁRIA. RESULTADOS DE TRATAMENTOS REALIZADOS E CURVA DE SOBREVIVÊNCIA EM UM HOSPITAL PÚBLICO

VHTR Silva, MG Cliquet, VD Poggetto, IV Rosani, RB Guimarães, GA Miguel, CAC Vieira, JA Rena, MA Gonçalves, GMR Gonçalves

Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP), São Paulo, SP, Brasil

Objetivos: Avaliar os resultados dos tratamentos de pacientes com Leucemia Mieloide Aguda Secundária (sLMA) do Serviço de Oncohematologia do Conjunto Hospitalar de Sorocaba (CHS), avaliar a sobrevida através da curva de Kaplan-Meier e ainda avaliar as características dos pacientes e diagnósticos prévios à transformação leucêmica. **Material e método:** trata-se de um trabalho retrospectivo com análise de prontuários dos pacientes diagnosticados com sLMA de 2016 a 2020 no ambulatório de oncohematologia do CHS. A análise ocorreu após autorização obtida via Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). As informações foram coletadas e transferidas para um computador, onde foram avaliadas estatisticamente. **Resultados:** 80 pacientes foram diagnosticados com Leucemia mieloide aguda (LMA) no período descrito. Destes, 22 (31.25%) foram diagnosticados com sLMA. A idade dos pacientes deste grupo variou de 28 a 81 anos, com média de 58.09 anos e mediana de 61 anos. Metade dos pacientes, ou seja, 11 tinham mais de 60 anos. Com relação à etiologia das LMA, foi observado que 18 (81.82%) eram secundárias à Síndrome Mielodisplásica (LMA/SMD), duas (9.09%) eram secundárias à Leucemia Mieloide Crônica e duas (9.09%)