

prognóstico dos pacientes idosos em geral é prejudicado pelo fato de não suportarem quimioterapia intensiva e não poderem ser submetidos a Transplante de Medula Óssea, sendo atualmente as melhores alternativas as associações de Venetoclax com Azacitidina ou Citarabina. Conforme publicação suplementar da revista *Blood* referente as apresentações orais do ASH de 2022 o acompanhamento de longo prazo do ensaio clínico Viale-a, que avaliou a associação de Venetoclax e Azacitidina para pacientes com LMA, em um acompanhamento médio de 43,2 meses, a sobrevida global mediana foi de 14,7 meses, mesmo em pacientes com doença residual mínima indetectável a sobrevida global mediana foi de 34,2 meses. Aos 50 meses de acompanhamento menos de 20% dos pacientes que participaram do estudo estavam vivos. **Conclusão:** O caso descrito chama atenção pois o paciente em questão permanece com ótima qualidade de vida após 50 meses de seu diagnóstico, extrapolando os dados de sobrevida global do estudo pivotal de aprovação do protocolo empregado.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.456>

AD80 HAS HIGHER POTENCY COMPARED TO CLINICALLY USED FLT3 INHIBITORS IN FLT3-ITD AML CELLS

LBL Miranda ^a, NO Rossini ^b, K Lima ^c,
DA Pereir-Martins ^d, JJ Schuringa ^d, EM Rego ^c,
F Traina ^e, MVB Dias ^b, JA Machad-Neto ^a

^a Department of Pharmacology, Institute of Biomedical Sciences, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, Brazil

^b Department of Microbiology, Institute of Biomedical Sciences, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, Brazil

^c Laboratory of Medical Investigation in Pathogenesis and Targeted Therapy in Onco-Immuno-Hematology (LIM-31), Department of Internal Medicine, Hematology Division, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, Brazil

^d Department of Experimental Hematology, Cancer Research Center Groningen, University Medical Center Groningen, University of Groningen, Groningen, Netherlands

^e Department of Medical Imaging, Haematology, and Oncology, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, Brazil

Objectives: Acute myeloid leukemia (AML) with *fms*-like tyrosine kinase 3 (FLT3) mutations account for around 30% of all AML cases. FLT3 is a transmembrane receptor with important roles for hematological cells. The mutations will cause over-activation of signaling pathways such as PI3K, RAS, and STAT5. AD80 has been described as a multikinase inhibitor and previous data from our group has shown that treatments with AD80 decreased cell proliferation and clonogenicity, induced apoptosis, and inhibited the activation of different

proteins. The present study aims to further investigate the effects of the multikinase inhibitor. **Materials and methods:** For the study, AML FLT3-ITD cell lines MV4-11 and MOLM-13 were utilized. Flow cytometry was used to analyze apoptosis and cell cycle progression. Gene expression was performed by qPCR analysis and molecular docking was performed using the softwares Autodock Vina and Gold, and viability comparison between AD80, quizartinib, and midostaurin was performed by MTT assay. **Results:** AD80 treatments resulted in an increased subG1 cell population, confirming previous findings about it inducing cell death. The apoptosis assay using chloroquine was performed to investigate the autophagy found in early results, and it showed that the inhibition of autophagy causes apoptosis. AD80 decreased the expression of genes related to cell survival such as cyclins and increased the expression of genes related to cell cycle arrest, apoptosis, and autophagy. Lastly, the molecular docking showed that AD80 binds to the FLT3 protein on the same site as the drug quizartinib. Treatments with AD80 were also more effective in reducing cell viability than quizartinib and midostaurin treatments (all $p < 0.05$). **Discussion:** Treatments as low as 0.64 nM were able to induce cell death and increase subG1 populations, evidenced by cell cycle analysis. Previous results confirmed that AD80 induced autophagy in FLT3-ITD cell lines, so chloroquine was used as an autophagy inhibitor to further investigate the process. Similarly to other FLT3 inhibitors, results showed that autophagy happens as a cell protector, hence when it is inhibited the apoptosis levels increase. qPCR confirmed what was found in the protein expression analysis from previous data, in which pathways related to cell survival and cell proliferation were downregulated and pathways related to cell cycle arrest, cell death, and autophagy were overexpressed. When it comes to the protein binding analysis, AD80 was able to form bonds with more residues in the site of action when compared to quizartinib, which could justify that AD80 was nearly twice as potent as quizartinib in both cell lines. **Conclusions:** AD80 exhibits antineoplastic effects affecting different cell processes, highlighting its potential as a treatment for FLT3-ITD AML patients. **Funding:** Supported by FAPESP, CNPq, and CAPES.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.457>

DOENÇA RESIDUAL MENSURÁVEL POR CITOMETRIA DE FLUXO MULTIPARAMÉTRICA É VIÁVEL E DETERMINA RISCO PROGNÓSTICO DINÂMICO EM PACIENTES DE UMA COORTE BRASILEIRA DE LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

LO Marani ^{a,b}, AFO Costa ^c, PS Scheucher ^a,
JL Schiavinato ^a, CAO Rojas ^d, MIA Madeira ^a,
K Pagnano ^e, BK Duarte ^e, ABF Gloria ^f,
E Nunes ^g, M Higashi ^h, S Freeman ⁱ, F Traina ^a,
EM Rego ^j, LL Figueired-Pontes ^{a,b}

^a Divisão de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular, Departamento de Imagens Médicas, Hematologia e Oncologia Clínica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

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

^d Laboratório de Investigação Médica (LIM31), Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, SP, Brasil

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

^f Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

^g Divisão de Hematologia, Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

^h Hospital Amaral Carvalho (HAC), Jaú, SP, Brasil

ⁱ Clinical Immunology Service, Institute of Immunology and Immunotherapy, University of Birmingham, Birmingham, Reino Unido

^j Divisão de Hematologia e Hemoterapia, Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, SP, Brasil

O monitoramento da Leucemia Mieloide Aguda (LMA) é uma estratégia de avaliação prognóstica para identificar Doença Residual Mensurável (DRM). Indica-se o estudo de DRM por métodos moleculares em casos com mutações NPM1 /translocações tipo *core-binding factor*; mas a citometria de fluxo multiparamétrica (CFMP) é aplicável a mais de 90% das LMAs e preditora do sucesso terapêutico. Diante da escassez no acesso a métodos moleculares em países em desenvolvimento, um protocolo de determinação de DRM na rotina laboratorial é uma necessidade não atendida. Objetivamos implantar um protocolo de DRM por CFMP para LMA e avaliá-lo quanto à sua eficiência e como fator prognóstico adicional à estratificação de risco clássica. Foram incluídos 191 pacientes com LMA *de novo* ou secundária à síndrome mielo-displásica, entre 18 e 65 anos (09/2015 a 02/2023), com remissão morfológica completa após tratamento com 1 ou 2 ciclos de indução (ciclo 1:3 dias de daunorrubicina 60 mg/m² e 7 dias de citarabina 200 mg/m²; ciclo 2:3 dias de daunorrubicina 60 mg/m² e 6 dias de citarabina 1 g/m² 2x/dia). Na Consolidação foi administrada no ciclo1:citarabina 1 g/m² 2x/dia, 6 dias e no ciclo2: idem 1 ou transplante de Medula Óssea (MO) autólogo com condicionamento BuCy. Os pacientes foram estratificados (ELN2017*-exceto mutações TP53 ou ASXL1) de acordo com cariótipo, testes moleculares e coleta de dados clínicos. As DRMs 1, 2 (Pós-indução) e 4 (Pós consolidação), foram avaliadas com: CD45, CD34, CD117, CD33, CD38, CD19, CD123, CD7, CD56, CD13, CD11b, CD14, CD64, CD300e, CD15, CD133 e HLA-DR. Utilizamos a abordagem de LAIPs e DfN, comparando dados de MO saudável e diagnóstico e sendo DRM+ a frequência de células em CD45⁺ ≥ 0,1% (mínimo 1 fenótipo anormal). Analisamos Sobrevida Global e Livre de

Recaída (SG e SLR) e Incidência Cumulativa de Recaída (ICR) - software R ($\alpha = 5\%$). Não foram encontradas associações entre DRM+ e idade, leucócitos, % de blastos, subtipo morfológico e alterações citogenéticas. Observou-se 21% de DRM+ na DRM1, 13% na DRM2 e 12,5 % na DRM4. Na DRM1, a frequência de DRM+ para pacientes de risco baixo, intermediário e alto foi: 46,5%, 33,4%, 20,1% e nas DRMs 2 e 4, 33,4%/ 38,9%/ 27,7% e 48,8%/ 48,8%/ 14,4%, respectivamente. Globalmente as DRMs foram definidas como LAIPs ou DfN em 72,3% e 27,7% das amostras. A expressão de CD56 foi a mais frequente (22%), seguida por alterações em CD34/CD13 (21%) e CD33 (17%). DRMs negativas foram mais frequentes em pacientes com NPM1^{mut} (DRM1, 69,7%) do que em FLT3-ITD (15,2%). A DRM+ após o 2º ciclo de Indução implicou em maior risco de óbito (HR = 1329 (IC;75,16-235022), $p = 0,002$), maior ICR (44,5% em 30 meses, $p = 0,033$) e menor SG (4,4 meses, $p = 0,018$) no risco intermediário. A detecção de DRM+ não se associou aos riscos favorável e alto. Nossos achados demonstram a padronização da DRM por CFMP em uma população brasileira com tratamento único reprodutível usando painel racional com número limitado de marcadores. A detecção de fenótipos ao diagnóstico (LAIP) é mais útil do que os fenótipos semelhantes a DfN, embora sua combinação tenha validade o tubo proposto como “consenso”, aplicável a todos os casos a despeito do fenótipo inicial. Em pacientes de risco intermediário, o resultado da DRM por CFMP se mostrou fator de risco independente para SG. Sendo este grupo correspondente à cerca 1/3 dos casos, comumente com cariótipo normal e desfechos variáveis, a identificação de fatores prognósticos adicionais e dinâmicos tem grande utilidade e pode guiar as decisões terapêuticas. Por fim, a identificação dos fenótipos de DRM definidos neste protocolo pode contribuir na busca por alvos terapêuticos para erradicação das células leucêmicas resistentes.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.458>

CARACTERIZAÇÃO DOS EFEITOS ANTINEOPLÁSICOS DA CEFALOCROMINA EM MODELOS CELULARES DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

CSM Serra^a, HP Vicari^a, GC Lima^a, K Lima^b, MCD Nascimento^b, EM Rego^b, MJP Ferreira^c, LV Cost-Lotufo^a, JA Machad-Neto^a

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

^b Laboratório de Investigação Médica em Patogênese e Terapia Dirigida em Onco-Imuno-Hematologia (LIM-31), Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, SP, Brasil

^c Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é uma neoplasia hematológica maligna que se origina de mutações em células tronco hematopoéticas afetando os precursores da