

risco intermediário e 9 (64,3%) como alto risco. Em comparação com o Painel Molecular para LMA, o NGS detectou mutações em 5 (35,7%) casos não visualizados por esse, portanto alterando a estratificação de risco. Em três (21,4%) pacientes, não foram encontradas alterações pelos métodos estudados. Dos 14 pacientes, foram observadas as seguintes anormalidades genéticas: expressão gênica de FLT3-ITD ($n = 4$), sendo associados a NPM1 ($n = 3$), DNMT3A ($n = 3$), IDH1 ($n = 1$), IDH2 ($n = 4$), ETV6 ($n = 1$), PTPN11 ($n = 2$), CEBPA ($n = 2$), JAK2 ($n = 1$), GATA2 ($n = 1$), WT1 exon 7 ($n = 1$), WT1 exon 6 ($n = 1$), SRSF2 ($n = 1$), TP53 ($n = 1$), BRAF ($n = 1$), NRAS ($n = 1$). **Discussão:** A LMA é uma neoplasia maligna de células hematopoéticas progenitoras, com diversas peculiaridades clínicas, morfológicas e moleculares, e por isso amplamente estudada no intuito de melhorar desfechos. Um dos pilares principais neste contexto, e que foi modificado ao longo das últimas décadas, foi sua forma classificatória através do avanço citogenético e molecular, trazendo maior segurança e direcionamento no prognóstico e tratamento do paciente, como descrito nas diretrizes da European Leukemia Network (ELN), de 2022. A classificação de risco prognóstico ajuda a personalizar o tratamento, visando melhorar os resultados e ajudar a definir a melhor abordagem terapêutica para cada paciente. **Conclusão:** O NGS é uma tecnologia de ponta que revolucionou a definição prognóstica de pacientes com diagnóstico de LMA. Cada vez mais é notado o impacto das novas descobertas no diagnóstico molecular e na definição de prognóstico e de linha terapêutica.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.694>

A CLOROQUINA REVERTE RESISTÊNCIA E POTENCIALIZA O EFEITO ANTILEUCÊMICO DOS INIBIDORES DE FLT3 EM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

MA Melo ^a, DA Pereira-Martins ^b, BGS Macedo ^a, PS Scheucher ^a, JA Machado-Neto ^c, F Traina ^a

^a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b University Medical Center Groningen, Groningen, Holanda

^c Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Objetivos: A autofagia foi recentemente postulada como um potencial mecanismo que contribui para o desenvolvimento de resistência aos inibidores de FLT3 (FLT3i) em leucemia mieloide aguda (LMA). A cloroquina é um medicamento seguro e de baixo custo e um dos seus efeitos é a inibição da autofagia. Aqui, investigamos o potencial efeito anti-neoplásico da cloroquina (CQ) associada aos FLT3i em modelos de LMA FLT3-ITD. **Métodos/Resultados:** Em modelos de LMA FLT3-ITD (células MOLM13 e MV411), o tratamento com FLT3i (PKC412 e AC220) aumentou significativamente o fluxo autofágico induzindo a formação de organelas vesiculares ácidas, conforme quantificado por citometria de fluxo e confirmado por microscopia de fluorescência, por meio do

marcador de autofagia laranja de acridina. Observamos uma redução nos reguladores negativos da autofagia, evidenciada pela inibição da fosforilação em AKT (pSer473), mTOR (pSer2448) e seu alvo a jusante p70S6K (pThr421/Ser424), bem como uma redução em p-ULK1 (pSer757). O tratamento com FLT3i resultou na conversão de LC3B-I em LC3B-II, seguido pela degradação de LC3B-II e p62, indicando indução de autofagia. A combinação de FLT3i com CQ (10 μ M) reduziu significativamente a viabilidade e sobrevivência celular. Para investigar se a CQ induziu a morte celular por meio de potenciais efeitos off target e não devido ao bloqueio da autofagia, realizamos um silenciamento induzido por shRNA (KD) do mediador de autofagia ATG5 em células FLT3-ITD. O tratamento com FLT3i em células MOLM13 ATG5-KD reduziu significativamente o IC₅₀ para o PKC412 (ATG5-KD:17nM vs controle:31nM) e aumentou a indução de apoptose. Para investigar se a inibição da autofagia seria uma opção para células resistentes a FLT3i, geramos células MV411 resistentes a AC220 (MV411 QR). Células MV411 QR exibiram um nível basal mais alto de autofagia em comparação com células MV411 convencionais, indicado pelo aumento da formação de organelas vesiculares ácidas e níveis reduzidos de proteína de LC3B e p62. O tratamento com CQ reduziu efetivamente o IC₅₀ para o AC220 (monoterapia:7,68nM vs combinação:5,3nM) e aumentou a morte celular, sugerindo seu uso para mediar a resistência ao FLT3i na LMA. Molecularmente, a análise proteica revelou aumento no efeito do AC220 quando associado com CQ em células MV411 QR, evidenciado pelo aumento de Caspase3 e pela redução de pSTAT5 e pP70S6K. Amostras de células primárias de LMA tratadas ex vivo mostraram que a combinação de FLT3i com CQ reduziu a proliferação e sobrevivência em células FLT3-ITD. Por fim, realizamos um estudo in vivo em modelo murino de xenoinxerto (células MOLM13, $n = 5$ por grupo). Os animais foram tratados com veículo, PKC412 (6 mg/Kg/dia), CQ (20 mg/Kg/dia) e combinação até o óbito. O tratamento combinado aumentou a sobrevida global e preservou a hematopoese saudável. **Discussão/Conclusão:** O tratamento com FLT3i desencadeia fluxo de autofagia, restringindo a atividade inibitória da droga. A eficácia anti-leucêmica do FLT3i pode ser potencializada pela inibição da autofagia com CQ, superando a resistência farmacológica. Apesar da CQ apresentar tolerância clínica favorável, é essencial considerar a heterogeneidade do paciente. Avaliar o perfil autofágico na LMA pode contribuir significativamente para estratégias de tratamento personalizadas.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.695>

LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA: AVALIAÇÃO CLÍNICA E MOLECULAR DE UMA COORTE HISTÓRICA DO INCA (2000-2023)

JB Costa ^a, JA Teles ^a, DT Vianna ^{a,b}, IR Zalcberg ^a, LM Gutiyama ^a, JSR Aragão ^a, BCR Monte-Mór ^a

^a Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Serviço de Hematologia Pediátrica, Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira

(IPPMG), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

A leucemia mieloide aguda (LMA) é uma doença heterogênea e agressiva com taxa de sobrevida global em 5 anos de 31,9% relatada em dados de registro norte-americano. A classificação da LMA pela Organização Mundial da Saúde, pela European Leukemia Net e pelo Consenso Internacional foi atualizada em 2022 para revisar critérios diagnósticos, estratificação de risco e diretrizes de tratamento. Estima-se que mais de 90% das LMAs possam ser classificadas com base em marcadores genético-moleculares, que podem estar associados a características clínico-patológicas distintas. No entanto, as principais diretrizes de caracterização e tratamento da LMA foram geradas a partir de grandes coortes de pacientes caucasianos. A população brasileira tem uma das constituições genéticas mais heterogêneas do mundo e, que podem influenciar nos perfis clínicos e genômicos da LMA. Neste estudo, analisamos retrospectivamente uma coorte histórica de adultos com LMA recém diagnosticados, atendidos no serviço de hematologia do Instituto Nacional de Câncer (INCA), entre 2000-2023. O projeto encontra-se aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa. Foram obtidos dados clínicos e laboratoriais dos pacientes por revisão de prontuário eletrônico e registros do Laboratório de Biologia Molecular. No total, 377 pacientes acima de 18 anos foram estudados. Dentre estes, 52 casos de leucemia promielocítica aguda (LPA) foram identificados por meio da detecção da translocação t(15;17)(q22;q21) ou por amplificação do gene de fusão PML::RARA. Na análise dos 325 pacientes com LMA não LPA foram identificados 111 (34%) casos de LMA de novo, 36 (11%) de LMA secundária a tratamento, 75 (23%) de LMA com alterações relacionadas a mielodisplasia, 11 (3,4%) de transformação de mielofibrose primária e 28,5% (92) dos casos não tiveram o status definido. A distribuição entre homens e mulheres foi equilibrada. A mediana de idade ao diagnóstico foi de 53 anos, variando de 18 a 88 anos. Ao diagnóstico, a mediana de leucócitos foi de 27.465/ μ L (184-498.310), de plaquetas foi de 41.000/ μ L (1.000 - 753.000) e do percentual de blastos foi 65% (3% - 100%). Na avaliação citogenética, 49% (92/188) apresentaram cariótipo normal e 19,5% (37/188) apresentaram alterações citogenéticas de alto risco. Quanto aos genes de fusão, 7,5% (12/160) apresentaram RUNX1::RUNX1T1, 13,6% (22/162) CBFB::MYH11 e nenhum paciente apresentou BCR::ABL. O perfil mutacional mostrou que 20% (17/85) dos pacientes apresentaram mutação em NPM1 e 30,8% (28/91) em FLT3-ITD, sendo oito pacientes duplo-mutados. O esquema de tratamento aplicado à maioria (67%, 172/255) dos pacientes foi de quimioterapia intensa conforme o protocolo 7+3, enquanto 20% (49/255) receberam esquemas de baixa intensidade. Do total de 281 pacientes com informação disponível, 45 foram submetidos a transplante alogênico de medula óssea. O tempo mediano de acompanhamento foi de 210 dias (0 - 6.409). A mediana de idade reportada nesta coorte foi menor do que em registros internacionais, no entanto, está de acordo com outros estudos brasileiros. Por outro lado, os dados laboratoriais e genéticos estão de acordo com dados de coortes internacionais. A compreensão das características genéticas e clínicas na população brasileira pode contribuir para o

entendimento da biologia da doença e para o manejo mais eficaz da LMA.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.696>

RELATO DE CASO: AVALIAÇÃO GENÉTICA DE PACIENTE COM CASO REFRATÁRIO DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA DE CÉLULAS B INFANTIL

GS Loureiro ^{a,b}, TC Barbosa ^c, M Villares ^c, ASCP Campos ^a, A Maiolino ^a, M Emerenciano ^c, P Horn ^d, ES Costa ^e, C Lage ^b

^a Serviço de Hematologia Clínica, Faculdade de Medicina, Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (IBCCF), Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^c Divisão de Pesquisa Clínica, Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^d Serviço de Hematologia Clínica, Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE), Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^e Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina e Serviço de Citometria, Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira (IPPMG), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A Leucemia Linfoblástica Aguda de precursores B (LLA-pB) é uma das neoplasias mais comuns na infância, representando cerca de 25% dos casos em crianças abaixo de 15 anos, com pico de incidência entre 2 e 3 anos. Mecanismos de reparo de DNA, como a Reparação por Excisão de Base (BER), a Reparação por Excisão de Nucleotídeo (NER) e a Recombinação Homóloga (HRR), são cruciais para manter a estabilidade do genoma. Alterações nesses mecanismos podem afetar negativamente a resposta ao tratamento e a sobrevivência. **Objetivo:** Relatar um caso de resistência à quimioterapia em um paciente pediátrico com LLA-pB, com foco nas alterações genéticas e moleculares, especialmente nos mecanismos de reparo de DNA. **Relato de caso:** Menino de 11 anos com astenia, palidez e dor abdominal, apresentando HB 4,5 g/dL, leucometria 4.500/mm³ e plaquetas 258.000/mm³. A imunofenotipagem da medula óssea revelou LLA-pB com 40% de células precursoras B leucêmicas, e a citogenética mostrou 46XY. Foi tratado com o protocolo BFM AEIOP 2013. A medula óssea permaneceu infiltrada no D15 (18% de blastos) e D33/TP1 (21% de blastos), e entrou em remissão morfológica no D78/TP2 (4% de blastos), detectados por citometria de fluxo (CF). Alcançou a primeira Doença Residual Mensurável (MRD) negativa (< 0,001%) após o bloco HR-II. Na avaliação pré-protocolo III, foi observada progressão com 3,2% de DRM, evoluindo rapidamente para 55% de blastos. O protocolo de recaída Flag-Ida foi realizado sem resposta. O tratamento