

confirm PCR results. Descriptive statistics were used for qualitative variables, determining absolute and relative frequencies. For quantitative variables, median values and standard deviations were calculated. ANOVA was applied to assess associations between age groups, according to NCI risk criteria, and clinical data, adopting a p -value ≤ 0.05 as statistically significant. Statistical analyses were performed using RStudio 12.1. **Results:** Regarding sex distribution, 65% of patients were male and 35% female. The median age was 7 years. Median white blood cell count was $19,350/\text{mm}^3$, median platelet count was $31,000/\text{mm}^3$, and median hemoglobin level was 8 g/dL. ANOVA revealed no statistically significant differences between NCI age- based risk groups (1–6 years, 6–10 years, and >10 years) and the evaluated hematological parameters. **Discussion:** Studies conducted in Nordic countries, Egypt, China, and Mexico have reported a higher prevalence of females with t(1;19), differing from our findings, which revealed male predominance (ratio 1.86:1). In terms of age, previous reports indicate a median of 5–8 years for patients with the TCF3::PBX1 biomarker, consistent with our observations. Regarding leukocyte count, literature shows a median of approximately $22,000/\text{mm}^3$ in such patients, aligning with the present study and reinforcing the association of this gene fusion with an unfavorable prognosis during ALL treatment. **Conclusion:** The TCF3::PBX1 gene fusion activates genes encoding proteins with malignant potential and may also lead to CNS involvement. Further investigation into the leukemogenic mechanisms of this biomarker is warranted. In this cohort, 7% of patients were classified as high-risk according to NCI guidelines due to age >10 years combined with a white blood cell count $>50,000/\text{mm}^3$.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104550>

ID - 1126

IMMUNE EVASION IN AML: NK CELL LIGAND ALTERATIONS LINKED TO LEUKEMIC STEM CELL PERSISTENCE

LO Marani^a, AFO Costa^b, MIA Madeira^a,
JL Schiavinato^a, PS Scheucher^a,
LL Figueiredo-Pontes^a

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

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

Introduction: Natural Killer (NK) Cell-Mediated Immune Evasion Plays a Key Role in Clonal Persistence, Refractoriness, and Relapse in Acute Myeloid Leukemia (AML). Growing evidence indicates that alterations in the expression of innate immune recognition ligands by leukemic blasts contribute to the inhibition of NK cell effector responses, thereby favoring disease maintenance. However, the immunophenotypic mechanisms underlying this process remain poorly understood. **Objectives:** In this study, we investigated the

expression profile of NK cell ligands on leukemic blasts and their association with clinical outcomes and measurable residual disease (MRD). **Material and methods:** A total of 127 bone marrow samples collected at diagnosis from adult AML patients were analyzed. Samples were processed within 24 hours, lysed using ammonium chloride solution, and stained with monoclonal antibodies targeting CD45, CD34, CD38, CD123, CD112, CD155, and HLA-E. Flow cytometry analysis was performed using a FACSCanto II cytometer (BD Biosciences), applying validated panels for both diagnosis and MRD assessment. At least 500,000 viable events were acquired per sample, and analysis was standardized using internal controls and healthy donor bone marrow samples. Patients were treated according to standard AML therapeutic protocols, including induction with cytarabine and anthracyclines (7+3 regimen), followed by high-dose cytarabine (HiDAC) consolidation, according to clinical and biological eligibility. Leukemic stem cell (LSC)-enriched subpopulations were defined as CD45dim/CD34⁺/CD38⁻/CD123⁺, along with CD34⁻ blasts. Activating (CD112, CD155) and inhibitory (HLA-E) NK ligands were assessed by both the frequency of positive cells and median fluorescence intensity (MFI). MRD was measured in post-induction samples with a minimum sensitivity of 10^{-4} , and clinical outcomes (remission, relapse, refractoriness, early death) were obtained from electronic medical records, with a minimum follow-up of 12 months. **Results:** Patients with unfavorable clinical outcomes showed, at diagnosis, a significant reduction in CD112 ($p = 0.004$) and CD155 ($p = 0.013$) expression, along with increased HLA-E levels ($p = 0.009$), when compared to patients in remission and healthy controls. MRD positivity after induction was associated with higher HLA-E expression ($p = 0.027$) and a trend toward decreased CD112 ($p = 0.078$) and CD155 ($p = 0.065$), particularly within the CD34⁺ subpopulation. Among CD34⁺ blasts, higher HLA-E expression ($p = 0.006$) and lower CD155 levels ($p = 0.021$) were observed compared to CD34⁻ cells, suggesting enhanced immune evasion capacity in the LSC-enriched fraction. **Discussion and conclusion:** These findings support the hypothesis that phenotypic alterations in NK cell recognition ligands contribute to immune escape and MRD persistence. The consolidation of the inhibitory HLA-E/NKG2A axis as a key mechanism of immune suppression in AML highlights its potential as a therapeutic target. Altogether, our results support the development of immunomodulatory strategies aimed at restoring innate immune surveillance and preventing LSC persistence, with the potential to reduce relapse rates and improve clinical control of AML.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104551>

ID - 3180

IMPACTO DE MUTAÇÕES FLT3-ITD E FLT3-TKD NO PROGNÓSTICO E NAS DECISÕES SOBRE USO DE INIBIDORES ALVO

ES Galdino^a, MGM Silva^a, AM Silva^a,
MT Bessoni^a, GLG Santos^a, MT Reis-Silva^a,
VJ Silva^a, SP Barbosa^a, MAC Bezerra^{a,b},
ARL Araujo^{a,b}

^a Universidade Federal de Pernambuco (UFPE),
Recife, PE, Brasil

^b Programa de Pós-Graduação em Genética,
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife,
PE, Brasil

Introdução: Mutações no gene da tirosina quinase 3 (FLT3) são alterações genéticas frequentes na Leucemia Mieloide Aguda (LMA), ocorrendo em até 30% dos casos. As principais variantes, duplicações internas em tandem (FLT3-ITD) e mutações no domínio da tirosina quinase (FLT3-TKD), ativam vias que promovem a proliferação de blastos leucêmicos. O impacto prognóstico dessas mutações, no entanto, é complexo e modulado por fatores como carga alélica, etnia do paciente e o perfil de co-mutações. **Objetivos:** Analisar o impacto das mutações FLT3-ITD e FLT3-TKD no prognóstico e conduta terapêutica de pacientes com LMA, considerando fatores clínicos e moleculares. **Material e métodos:** Foi realizada uma revisão bibliográfica descritiva por meio da análise de artigos nas bases de dados Pubmed, ScienceDirect e Scielo, publicados nos últimos 5 anos, utilizando os descritores “acute myeloid leukemia (AML)” e/ou “FLT3-TKD mutations” e/ou “FLT3-ITD mutations”. Os critérios de seleção incluíram artigos originais e revisões que abordassem o impacto prognóstico e terapêutico das mutações FLT3-ITD e FLT3-TKD em humanos. **Discussão e conclusão:** A mutação FLT3-ITD é um marcador consistente de prognóstico adverso. Sua alta carga alélica se correlaciona com maior contagem de leucócitos, maior percentual de blastos, pior classificação de risco (ELN 2017) e dificuldades na obtenção da doença residual mínima (DRM) negativa. Além disso, a mutação FLT3-ITD está associada com maior probabilidade de recaída e menor sobrevida global (OS) dos pacientes. Em contrapartida, o impacto prognóstico da FLT3-TKD é mais complexo e controverso, podendo variar entre etnias, observando que a mutação está associada a um prognóstico adverso para caucasianos, mas a um favorável para asiáticos. A presença de FLT3-TKD pode ser favorável quando co-ocorre com FLT3-ITD em pacientes tratados com transplante de células-tronco hematopoiéticas alogênicas, mas desfavorável em outros subgrupos, como na LMA com a fusão RUNX1::RUNX1T1. Do ponto de vista terapêutico, a FLT3-ITD é um alvo validado. Além dos inibidores diretos, novas estratégias são exploradas, como a inibição da via da síntese de ácidos graxos (FASN), que atua a jusante da sinalização do FLT3. A partir dos resultados, é possível concluir as mutações FLT3-ITD e FLT3-TKD têm impactos prognósticos distintos. A FLT3-ITD confere um risco consistentemente elevado, mas o efeito da mutação FLT3-TKD é heterogêneo, dependendo do contexto étnico e molecular do paciente. Portanto, a decisão terapêutica precisa integrar a análise da carga alélica, o status da DRM e a presença de co-mutações para uma estratificação de risco e a escolha terapêutica mais assertiva.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104552>

ID - 402

IMPACTO DO MICROAMBIENTE TUMORAL E DE ALTERAÇÕES MOLECULARES NA RECAÍDA DE PACIENTES COM EM LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA DE CÉLULAS B COM ETV6::RUNX1

MM Simões ^a, PMC Rosseti ^b, MC Ribeiro ^b,
RM Pontes ^b, BVM Henrique ^b, R Camargo ^b,
BC Guido ^b

^a Centro Universitário de Brasília (CEUB), Brasília,
DF, Brasil

^b Laboratório de Pesquisa Translacional (LPT),
Hospital da Criança de Brasília José Alencar (HCB),
Brasília, DF, Brasil

Introdução: A Leucemia Linfóide Aguda de células B precursoras (LLA-B) é o subtipo mais comum na infância, sendo que cerca de 25% dos casos apresentam a fusão ETV6::RUNX1, geralmente associada a bom prognóstico e altas taxas de sobrevida. No entanto, recaídas tardias têm sido relatadas em até 20% dos casos, levantando a hipótese de que alterações moleculares adicionais possam coexistir com a fusão ETV6::RUNX1 e contribuir para desfechos desfavoráveis em um subconjunto de pacientes. Um fator relevante para tentar identificar um perfil dos pacientes com recaídas é a compreensão dos ensaios utilizados para a estratificação de risco. Nesse contexto, o sequenciamento de nova geração (NGS) tem se destacado por permitir a identificação ampla de alterações genéticas, facilitando o diagnóstico molecular e o monitoramento da progressão da doença. Além disso, o microambiente medular tem ganhado atenção por sua influência na resposta terapêutica. Interações entre células estromais e tumorais podem favorecer a progressão da leucemia, e estudos sobre essas interações têm apontado possíveis alvos terapêuticos. Compreender tanto os fatores moleculares quanto o microambiente pode contribuir para estratégias mais eficazes na prevenção de recaídas e no manejo da LLA-B. **Objetivos:** O objetivo do estudo foi analisar o perfil molecular e o microambiente tumoral de pacientes pediátricos do Hospital da Criança de Brasília, diagnosticados entre 2012 e 2022, com leucemia linfoblástica aguda do tipo B que apresentam fusões gênicas ETV6::RUNX1, a fim de identificar fatores associados à remissão completa ou à ocorrência de recaídas. **Material e métodos:** Amostras de medula óssea de pacientes com LLA-B foram utilizadas para a avaliação do microambiente tumoral por citometria de fluxo, com foco na proporção das subpopulações de células estromais (endoteliais e mesenquimais). O NGS foi realizado com um painel de 156 genes, utilizando RNA total para identificar fusões, variantes genéticas e perfis de expressão gênica. A análise estatística abrangeu o uso de curva ROC para predição de recaída, Kaplan-Meier para sobrevida livre de eventos, teste