264

INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO NA LEUCOSE AGUDA, DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA: RELATO DE CASO

M.R. Costa[a,b], R.E.O. Guimarães[a], N.D.P.Y. Caro[a], I.O. Dias[b], M.A. Carneiro[b], F.S.D. Santos[b], G.V.C. Freire[b]

[a] *Hospital Felício Rocho, Belo Horizonte, MG, Brasil*
[b] *Faculdade Ciências Médicas de Minas Gerais (FCM-MG), Belo Horizonte, MG, Brasil*

Homem de 72 anos, atendido em outubro/2019 na urgência do Hospital Felício Rocho de Belo Horizonte com quadro de síndrome coronariana aguda (SCA) sem supra-ST. Revisão laboratorial evidenciou troponina positiva, hiperleucocitose (GL 106.700/mm^3, 72% blastos), anemia (Hb 10,4 g/dL) e plaquetopenia (13.000/mm^3). Aventada hipótese de IAM tipo 2 secundário a leucostase. Transferido à UTI, onde foi submetido a estudo medular: Mielograma com MO acentuadamente hipercelular, infiltrada por 76,5% de blastos mielóides grandes, citoplasma moderado, basofílico com grânulos, núcleo arredondado e raros bastonetes de Auer. Imunofenotipagem detectou 33,8% de blastos mieloides, compatível com Leucemia Mieloide Aguda. Cariótipo de medula 46, XY. Biópsia de Medula óssea com achados compatíveis com quadro leucêmico agudo (hipercelular 90%, celularidade imatura/blástica 40%). Análise citogenética- FLT3 não mutado, BCR-ABL negativo, NPM1 negativo. Não foi possível realizar cineangiocoronariografia no primeiro momento devido severa plaquetopenia, sendo optado iniciar tratamento quimioterápico com o agente hipometilante, Azacitidina. Apresentou congestão sistêmica e pulmonar após o primeiro ciclo de QT, decorrente de cardiotoxicidade, ecocardiograma transtorácico antes da QT com fração de ejeção 56% e após QT 45% associado a piora do Strain (-25,5% para -18,2%). Otimizado tratamento para insuficiência cardíaca com melhora clínica global, normalização da FE (65%) e do Strain (-21,2%). No segundo ciclo foi associado ao hipometilante o inibidor de BCL-2, Venetoclax, sem intercorrências e com boa tolerância. Posteriormente realizou AngioTC de coronárias, que evidenciou lesão não calcificada em 1/3 proximal de artéria descendente anterior (DA), ocasionando obstrução grave. Cateterismo revelou DA com obstrução luminal grave (80%) em terço proximal e obstrução luminal moderada (50%) em terço médio. Submetido em fevereiro/2020 a angioplastia com implante de stent farmacológico na DA com bom resultado angiográfico final. Estudo medular de controle em junho/2020, evidenciou medula normocelular (remissão). Realizou total de 04 ciclos de azacitidina e está em uso contínuo de venetoclax até o momento. Segue em assistência com equipes de Hematologia e Cardiologia. **Discussão:** Nas leucemias agudas nem sempre os sintomas iniciais serão clássicos como fadiga, anemia, infecções ou sangramentos. Nesse caso o diagnóstico de leucemia mieloide aguda foi com manifestação inicial de síndrome coronariana aguda secundário a leucostase, que se caracteriza por contagem extremamente elevada de células blásticas e sintomas de perfusão tecidual diminuída. De acordo com a 4ªdefinição universal de infarto, o IAM tipo 2 ocorre no contexto de um desequilíbrio entre a oferta e a demanda de oxigênio para o miocárdio e, pode ocorrer na presença de doença coronariana aterosclerótica subjacente, como foi evidenciando nesse paciente. Nas leucemias agudas, sobretudo no subtipo mielóide, deve-se considerar maior risco coronário, pois além da hiperleucocitose, os blastos mieloides apresentam morfologia de tamanho elevado, demandando maior volume intra-luminal. Evidências sugerem que apresentações leucostáticas, como IAM, pode ocorrer na LMA com hiperleucocitose extrema, particularmente se houver aterosclerose preexistente.

https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.266

265

INIBIÇÃO FARMACOLÓGICA DE EZRINA REDUZ A VIABILIDADE, A CLONOGENICIDADE E A ATIVAÇÃO DA VIA PI3K/AKT/MTOR EM MODELOS CELULARES DE LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

J.C.L. Silva[a], J.L. Coelho-Silva[b], K. Lima[a], H.P. Vicari[a], L.V. Costa-Lotufo[a], F. Traina[b], J.A. Machado-Neto[a]

[a] *Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil*
[b] *Departamento de Imagens Médicas, Hematologia e Oncologia Clínica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil*

Objetivos: A leucemia mieloide aguda (LMA) é o tipo mais comum de leucemia em adultos e apesar dos grandes avanços no entendimento das bases moleculares da doença, as opções terapêuticas para LMA ainda permanecem muito limitadas, sendo as taxas de sobrevida dos pacientes baixa, devido a grande prevalência de resistência ou recaída aos quimioterápicos utilizados na prática clinica. Recentemente, nosso grupo de pesquisa identificou o gene *EZR*, que codifica a proteína ezrina, como um marcador independente de prognóstico desfavorável em pacientes com LMA. A ezrina é uma importante proteína associada ao citoesqueleto e que permite a transdução de sinal entre proteínas de membrana e filamentos de actina, e seu papel na transdução da sinalização mediada por FLT3 e KIT já foi reportado. O objetivo do presente estudo foi verificar o impacto da inibição farmacológica de ezrina sobre a viabilidade, crescimento clonal autônomo, apoptose e vias de sinalização em modelos celulares de LMA. **Material e métodos:** A linhagens celulares leucêmicas MOLM13 (FLT3-ITD) e Kasumi 1 (KIT^{N822K}) foram tratadas com concentrações crescentes dos inibidores de ezrina, NSC305787 e NSC668394. A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio de MTT, o crescimento de colônias autônomas por cultivo em metilcelulose na ausência de fatores de crescimento, a apoptose pela marcação com anexina-V/iodeto de propídio e citometria de fluxo, e a sinalização celular por Western Blotting. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste ANOVA e pós-teste de

Bonferroni e um valor de p < 0,05 foi considerado estatisticamente significativo. **Resultados:** O tratamento com ambos inibidores foi capaz de reduzir significativamente a viabilidade celular de células MOLM13 e Kasumi 1 de forma concentração dependente (todos p < 0,05). O composto NSC305787 apresentou maior potência e eficácia que o NSC668394. Os valores de IC_{50} para o composto NSC305787 foram de 1,1; 1,1 e 1,1 μM para MOLM13 e 1,5; 1,3 e 1,1 μM para Kasumi 1 nos tempos de tratamento de 24, 48 e 72 horas, respectivamente. O composto NSC668394 apresentou os valores de IC_{50} de 14; 8,2 e 6,7 μM para MOLM13 e 26, 25 e 23 μM para Kasumi 1 para 24, 48 e 72 horas, respectivamente. A apoptose foi desencadeada forma concentração dependente para ambos os inibidores de EZR nas células MOLM13 e Kasumi 1 (p < 0,05). O tratamento em longo prazo reduziu a clonogenicidade de células MOLM13 e Kasumi 1 de forma concentração dependente (p < 0,05). Em ambas as linhagens celulares, os inibidores reduziram a fosforilação da proteína ribossomal S6 e 4EBP1, ambas efetoras de mTOR e envolvidas com o crescimento celular, e induziram a clivagem de PARP1. **Discussão e conclusão:** Nossos resultados indicam que os inibidores de ezrina, NSC305787 e NSC668394, apresentam efeitos antileucêmicos: redução da sobrevivência celular e do crescimento clonal autônomo. Ambos os compostos inibiram a ativação da via PI3/AKT/mTOR mesmo na presença das mutações leucemogênicas FLT3-ITD e KIT^{N822K}, que sabidamente ativam esta via de forma constitutiva, sugerindo que a ezrina pode atuar com um efetor-chave na transdução de sinais oncogênicos e as vias de sinalização ajusante. **Apoio:** FAPESP, CAPES e CNPq.

https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.267

266

INIBIDORES FARMACOLÓGICOS DE IGF1R-IRS1/2 ATUAM POR MECANISMOS DISTINTOS E REVELAM VULNERABILIDADES PARA O TRATAMENTO DA LMA

J.L. Coelho-Silva[a,b], D.A. Pereira-Martins[b], V.C. Silvestrini[b,c], J.A. Machado-Neto[d], E.M. Rego[b,e], M. Smolka[f], V.M. Faça[b,c], F. Traina[a,b]

[a] *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] *Centro de Terapia Celular, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil*
[c] *Departamento de Bioquímica e Imunologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil*
[d] *Departamento de Farmacologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil*
[e] *Divisão de Hematologia, Laboratório de Investigação Médica em Hematologia Molecular (LIM-31), Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil*
[f] *Department of Molecular Biology and Genetics, Weill Institute for Cell and Molecular Biology, Cornell University, Ithaca, Estados Unidos*

Objetivo: Evidências recentes demonstram a importância da via de sinalização de IGF1R-IRS1/2 na fisiopatologia da LMA. Emerge como terapia-alvo promissora a utilização de inibidores farmacológicos da via. Entretanto, particularidades em seus mecanismos de ação são relacionadas as suas eficiências diferenciais. O linsitinibe (inibidor tirosinoquinase de IGF1R/IR) atua como fármaco pró-autofágico, enquanto o NT157 (inibidor alostérico de IGF1R-IRS1/2) exerce seu efeito antineoplásico ativando as vias MAPK de resposta a estresse celular. Portanto, objetivamos revelar mecanismos não canônicos regulados pela via de IGF1R-IRS1/2 e eventos moleculares não explícitos relacionados à sua inibição. **Material e métodos**: Para descrever as vias associadas à expressão dos genes *IGF1R*, *IRS1* e *IRS2*, realizamos uma análise de enriquecimento de conjuntos gênicos usando a coorte de LMA-TCGA (n = 173). A dependência celular de IGF1R-IRS1/2 foi acessada no portal DepMap. MOLM13 e MV4;11 foram tratadas com linsitinibe (10μM) ou NT157 (1μM) por 24 horas e submetidas a análise de quantificação proteômica livre de marcação (n = 3). Enriquecimento funcional para processos biológicos e funções moleculares para proteínas diferencialmente expressas foram realizados usando o *pipeline* Limma-Voom e aplicando a correção de Benjamin-Hochberg para múltiplas comparações. **Resultados**: Os pacientes com alta expressão de *IGF1R* foram associados a assinatura de células-tronco leucêmicas (CTL) (NES= 3,22; FDR-q= 0,004), enquanto baixa expressão de *IGF1R* com assinatura de diferenciação de células-tronco hematopoéticas (CTH) (NES = -1,72; FDR-q = 0,029). A expressão de *IRS1* foi positivamente associada com a assinatura CTL (NES= 1,65; FDR-q= 0,04), proliferação de CTH (NES= 1,91; FDR-q = 0,01), e negativamente associada com a diferenciação CTH (NES = -1,59; FDR-q = 0,01). A expressão *IRS2* foi negativamente associada com a assinatura CTL (NES = -1,91; FDR-q < 0,001) e autorrenovação de CTH (NES = -2,97; FDR-q < 0,001). *IRS2* foi o gene mais relevante para a sobrevivência celular em 12 das 20 linhagens celulares, enquanto *IGF1R* foi dependente para as células NB4 e SHI1. O tratamento com linsitinibe regulou positivamente 7 funções moleculares, enquanto o NT157 resultou na regulação positiva de 18 e na regulação negativa de 17 funções moleculares. Linsitinibe ativou mecanismos de regulação pós-transcricional (ligação de RNA log_2FDR: 27,4; p = 1,15E-12), enquanto o NT157 afetou dramaticamente a função mitocondrial (transporte transmembrana de prótons log_2FDR: 9,7; p = 1,55E-12). O linsitinibe levou à regulação positiva de 13 e à regulação negativa de 4 processos biológicos, enquanto o NT157 regulou positivamente 86 processos biológicos. Linsitinibe aumentou o metabolismo de RNA (processamento de RNA log_2FDR: 6,8; p = 8,64E-7) e reduziu o metabolismo de proteínas e macromoléculas (metabolismo de proteínas celulares log_2FDR: 6,8; p = 3,86E-6). O NT157 aumentou vários processos relacionados à fosforilação oxidativa (log_2FDR:13,1; P = 5,19E-8). **Conclusões**: Os componentes de IGF1R-IRS1/2 foram enriquecidos com programas transcriptômicos relacionados à manutenção de CTH e CTL. *IRS2* foi necessário para a viabilidade e crescimento de células de LMA. Os dados proteômicos lançam luz