

LEUCEMIAS AGUDAS

AVALIAÇÃO FUNCIONAL DA VIA TP53/TP73 NA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

DA Pereira-Martins ^{a,b,c}, C Ortiz ^{b,c},
I Weinhuser ^{b,c}, DR Silveira ^d, TM Bianco ^e,
EM Rego ^c, AR Lucen-Araujo ^a

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

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

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

^d King's College London, London, United Kingdom

^e Centro de Terapia Celular (CTC), Fundação
Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP),
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP),
Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP,
Brasil

Embora mutações no gene supressor de tumor TP53 (TP53^{mut}) estejam presentes em menos de 10% dos casos de leucemia mieloide aguda (LMA) do adulto, pacientes TP53^{mut} geralmente apresentam respostas insatisfatórias ao tratamento. Em termos práticos, isso se justifica porque algumas drogas usadas nos protocolos atuais dependem da ativação da via do TP53. Entretanto, este pode não ser o único motivo. Análises preliminares do nosso grupo mostraram que um grupo de pacientes sem mutações no TP53 (TP53^{wt}) podem apresentar um comportamento clínico semelhante aos pacientes TP53^{mut}. Neste subgrupo, nós identificamos um aumento da expressão relativa de Δ Np73, uma das isoformas do gene TP73. Esta isoforma truncada tem origem a partir de um promotor adicional, a qual não apresenta o domínio de transativação proteína completa (TAp73). Desta forma, ela é incapaz de transcrever os genes responsáveis da via TP53/TP73, atuando de forma dominante negativa sob a via. Análise transcriptômica de pacientes adultos com LMA apresentando Δ Np73^{alto}/TP53^{wt} revelou um perfil transcricional similar ao perfil transcricional de pacientes TP53^{mut}, o que inclui um status de stemness e frequência aumentada de mutações em genes relacionados a um prognóstico adverso em LMA. Validando esses achados, a expressão forçada de Δ Np73 (por meio de vetores lentivirais) também conferiu um status de stemness em células CD34⁺ de doadores saudáveis. Funcionalmente, células CD34⁺/ Δ Np73^{alto} apresentaram um aumento na taxa de proliferação celular e capacidade clonogênica. Em linhagens celulares de LMA TP53^{wt} (MOLM13 e MV4-11), a expressão lentiviral de Δ Np73 conferiu resistência a apoptose a diferentes drogas de uso clínico. Esses resultados foram corroborados ex vivo, onde amostras de pacientes que apresentaram ao diagnóstico um padrão Δ Np73^{alto} foram mais resistentes ao tratamento com venetoclax+5-azacitidina. Finalmente, os dados de acessibilidade da cromatina em pacientes com LMA permitiram a identificação de uma região diferencialmente acessível no intron 2 do gene TP73

(+24Kb após o início do sítio de transcrição, referido como pico B). Por meio de técnicas de CRISPR/Cas9, geramos células MOLM13 knockout sem essa região pico B (MOLM13-KO) para avaliar se esta atuaria como uma região controladora da expressão de Δ Np73. As células MOLM13-KO exibiram expressão significativamente reduzida de Δ Np73. A perda dessa região também prejudicou a capacidade de regular positivamente a expressão de Δ Np73 após estresse induzido por drogas, sugerindo ser esta a região responsável pela expressão diferencial desta isoforma. A análise de imunoprecipitação de cromatina comprovou uma redução da ligação do Δ Np73 as regiões reguladoras da expressão de TP53 e TP73, bem como de genes alvo da via, como o CDKN1A. Como resultado da diminuição de Δ Np73, as células MOLM13-KO se tornaram mais sensíveis a estímulos apoptóticos. Em resumo, células Δ Np73^{alto}/TP53^{wt} apresentam assinatura genética semelhante a células TP53^{mut}. Funcionalmente, células Δ Np73^{alto}/TP53^{wt} são mais resistentes a apoptose induzida por drogas e apresentam maior capacidade proliferativa. Além disso, é a primeira vez que um estudo identificou um enhancer capaz de direcionar a expressão diferencial das isoformas do gene TP73. Em combinação, nossos resultados podem ajudar a esclarecer o porquê pacientes TP53^{wt} apresentam respostas clínicas tão heterogêneas, além de fornecer um possível alvo terapêutico para pacientes adultos com LMA.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.452>

A INIBIÇÃO FARMACOLÓGICA DE EZRINA REDUZ O CRESCIMENTO, ADESÃO, MIGRAÇÃO E REGULA O GENES RELACIONADOS À APOPTOSE E CICLO CELULAR EM LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA

JCL Silva ^{a,b}, K Lima ^{a,c}, M Lazarini ^d, HP Vicari ^a,
WF Silva ^c, EM Rego ^c, BC Ede ^b, AJ Ridley ^b,
JA Machad-Neto ^e

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

^b Escola de Medicina Celular e Molecular, Faculdade
de Ciências da Vida, University of Bristol, Bristol,
Reino Unido

^c 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

^d Departamento de Ciências Farmacêuticas,
Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São
Paulo, SP, Brasil

^e Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São
Paulo, SP, Brasil

Objetivo: As atuais opções terapêuticas disponíveis para pacientes adultos com leucemia linfoblástica aguda (LLA) permanecem limitadas. Recentemente, nosso grupo de pesquisa