

identificou o gene EZR, que codifica a proteína ezrina, como marcador prognóstico independente e alvo molecular para leucemia mieloide aguda. Ezrina é uma importante proteína associada ao citoesqueleto que permite a transdução de sinal entre proteínas de membrana como tirosina quinases, Rho GTPases e filamentos de actina. O presente estudo teve como objetivo verificar o impacto da inibição farmacológica de ezrina na viabilidade, crescimento clonal autônomo, apoptose, adesão, migração e expressão gênica na LLA. **Métodos:** As linhagens celulares de LLA Jurkat, NALM6 e REH e células primárias de pacientes com LLA (n = 15) foram tratadas com concentrações crescentes do inibidor de ezrina, NSC305787. A viabilidade celular foi avaliada por MTT, colônias autônomas por ensaio clonogênico, análise de expressão gênica por PCRq, adesão celular avaliada por ensaio de adesão em fibronectina, migração celular por transwell e quimiotaxia com CXCL12, vias de sinalização foram investigadas por western blot e proteômica. A expressão diferencial de genes foi determinada na ferramenta Galaxy. As análises estatísticas foram realizadas pelo teste ANOVA e pós-teste de Bonferroni, sendo considerado estatisticamente significativo um valor de $p < 0,05$. **Resultados:** O tratamento com NSC305787 reduziu significativamente a viabilidade celular das células Jurkat, NALM6 e REH de uma maneira dependente da concentração ($p < 0,05$). Os valores de IC50 foram 5,1, 3,3 e 4,3 μM para Jurkat, NALM6 e REH, respectivamente, no tempo de tratamento de 24 horas. O tratamento a longo prazo com NSC305787 reduziu o crescimento clonal autônomo de células Jurkat, NALM6 e REH de maneira dependente da concentração ($p < 0,05$). A inibição farmacológica de ezrin reduziu fortemente a adesão e migração em células LLA ($p < 0,05$). Em células primárias, NSC305787 reduziu a viabilidade celular em uma faixa de IC50 de 2,5 a 11,2 μM . O tratamento com NSC305787 (1,6 μM / 24 h), levou a redução de CCNA2 e aumento de CDKN1A, BCL2L1 e BIM ($p < 0,05$) em células Jurkat; redução de CCNA2 e BCL2 e aumento de BCL2L1, BAX e BAD em células NALM6; redução de CCNA2 e CCNB1 e aumento de CDKN1A, CDKN1B, BCL2L1, MCL1 e BAX em células REH. Em todas as linhagens celulares, o inibidor reduziu a fosforilação de RPS6 e induziu a clivagem de PARP1. Dados proteômicos de células NALM6 tratadas com NSC305787 (3,2 μM / 12h) evidenciaram uma regulação positiva de proteínas envolvidas em processos biológicos, como regulação do ciclo celular e processos catabólicos de RNA, e regulação negativa do alongamento da tradução mitocondrial e alongamento da tradução. **Discussão e conclusão:** A regulação negativa de genes relacionados à progressão do ciclo celular e resposta anti-apoptótica e a regulação positiva de genes relacionados à parada do ciclo celular, pró-apoptóticos suportam a hipótese de que NSC305787 está envolvido com mecanismos de indução de morte celular. Nossos resultados indicam que o inibidor de ezrina, NSC305787, tem efeitos antileucêmicos em modelos de LLA. Apoio: CNPq, CAPES e FAPESP.

NOVEL POTENTIAL HDAC INHIBITOR INDUCES CELL DIFFERENTIATION IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA CELLS

JAEG Carlos^a, LC Almeida^a, K Lima^b, MT Tavares^c, KB Waitman^c, LV Cost-Lotufo^a, R Paris-Filho^c, JA Machad-Neto^a

^a Department of Pharmacology, Biomedical Science Institute, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^b Department of Internal Medicine, Hematology Division, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^c Department of Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Science, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Objective: Histone deacetylases (HDAC) are enzymes responsible for the deacetylation of histone proteins and play important roles in cell survival, cell proliferation, and gene expression in various types of cancers, including leukemias. High HDAC levels have been observed in hematological neoplasm patients being associated with poor prognosis. In a previous study, we identified three purine-derived phenylhydroxamate as potential HDAC inhibitors with selective potential antineoplastic effects in hematological neoplasms. The present study aimed to evaluate the effects of compound 82, the most potent purine-derived phenylhydroxamate identified, on cell differentiation of acute myeloid leukemia cells. **Material and methods:** NB4-R2 (resistant to ATRA) and THP-1 leukemia cell lines were used. Vorinostat was used as a reference drug. Compound 82, a purine-derived phenylhydroxamate with potential HDAC inhibitor activity, was used. Cells were exposed for 96h to the vehicle or the drugs. Cell differentiation was evaluated by CD11b staining and flow cytometry, and morphological analysis by cytospin and panoptic staining. Statistical analysis was performed by ANOVA and Bonferroni post-test. A $p < 0.05$ was considered significant. **Results:** NB4-R2 and THP-1 cells treated with vorinostat or compound 82 presented increased markers of differentiation (CD11b) ($p < 0.05$). A reduction in the nucleus-to-cytoplasm ratio and increases in vacuolization were observed upon 96h of exposition to drugs. **Discussion and Conclusion:** Therapy based on cell differentiation has been successfully applied to some types of acute leukemias, such as acute promyelocytic leukemia. Thus, the identification of new compounds with the potential to induce differentiation is of interest in oncohematology. Our results indicate that purine-derived phenylhydroxamate induced cell differentiation in acute leukemia cell lines. **Funding:** Supported by CNPq, CAPES, and FAPESP.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.454>

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.453>