

IDENTIFICAÇÃO DE VULNERABILIDADES PARA INIBIÇÃO FARMACOLÓGICA DAS PIP4K2S EM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

K Lima ^{a,b}, MFL Carvalho ^b,
DA Pereir-Martins ^{a,c}, LBL Miranda ^b,
MCD Nascimento ^{a,b}, FL Nogueira ^a,
RC Cavaglieri ^a, JJ Schuringa ^c,
JA Machad-Neto ^b, EM Rego ^a

^a Laboratório de Investigação Médica em Patogênese e Terapia Dirigida em Onco-Imuno-Hematologia (LIM-31), Departamento de Clínica Médica, Divisão de Hematologia, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, SP, Brasil

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

^c Departamento de Hematologia Experimental, Cancer Research Centre Groningen, University Medical Center Groningen, University of Groningen, Groningen, Holanda

Objetivo: As proteínas da família PIP4K2s (PIP4K2A, PIP4K2B e PIP4K2C) participam da geração do PIP_{4,5} P₂ (PIP₂), o qual atua como mensageiro secundário na transdução de sinal, substrato para processos metabólicos ou possui funções estruturais. Em pacientes com LMA, a alta expressão de PIP4K2A /C é um marcador independente de pior prognóstico. Recentemente, nosso grupo de pesquisa reportou que o THZ-P1-2 (pan-inibidor das PIP4K2s) exibe atividade antileucêmica por interrupção da homeostase mitocondrial e autofagia em modelos de LMA. No presente estudo, nós descrevemos o perfil de expressão das PIP4K2s em células mieloides normais e leucêmicas, assim como, identificamos a associação entre a expressão das PIP4K2s e a resposta *ex vivo* à diversos agentes antineoplásicos em LMA. **Material e métodos:** Os dados de expressão de PIP4K2A, PIP4K2B e PIP4K2C em diferentes populações de células hematopoiéticas foram obtidos do estudo GSE24759. A expressão das PIP4K2s nos diferentes subgrupos de LMA foi obtida da coorte do TCGA e visualizada pelo Blood-Spot. A expressão gênica e proteica das PIP4K2s foi investigada em um painel contendo doze linhagens celulares de LMA e uma amostra de células CD34+ normal. Os dados de tratamentos *ex vivo* em pacientes com LMA foram obtidos do Beat AML. Células Kasumi-1, NB4 e U-937 foram tratados com veículo ou concentrações crescentes de THZ-P1-2 e/ou venetoclax por 48h. A viabilidade celular foi avaliada por MTT, apoptose por citometria de fluxo (anexina V/PI) e a sinalização celular por Western blot. Análises de correlação e comparação entre grupos foram realizados por testes de Spearman, Mann-Whitney ou ANOVA, conforme apropriado. Um valor $p < 0.05$ foi considerado significativo. **Resultados:** Em células mieloides, a expressão da PIP4K2A foi maior nas células eritroides e megacariocíticas ($p < 0.05$). A expressão da PIP4K2B foi maior nas células-tronco hematopoiéticas ($p < 0.05$). A expressão de PIP4K2C foi menor nos progenitores mieloide comum e células eritroides ($p < 0.05$). Em pacientes com LMA, a expressão de PIP4K2A e PIP4K2C foi maior nos grupos de cariótipos complexos, já a expressão de PIP4K2B foi maior nos

grupos com del(5q)/5q- e t(8;21)+outros. Nas linhagens celulares, a expressão da PIP4K2A foi maior nas células K562, KU812, HEL e SET2. A expressão de PIP4K2B e PIP4K2C foi similar entre as células avaliadas. Nos ensaios *ex vivo*, a expressão das PIP4K2s foi relacionada a sensibilidade e resistência à diversos fármacos, se destacando a associação entre a alta expressão de PIP4K2A e a resistência ao venetoclax em LMA ($p < 0.05$). A combinação do THZ-P1-2 e venetoclax apresentou efeitos potencializadores na redução da viabilidade e indução de apoptose em células Kasumi-1, NB4 e U-937 ($p < 0.05$). No cenário molecular, a combinação de THZ-P1-2 e venetoclax induziu maiores níveis de PARP1 clivado (marcador de apoptose) e γ H2AX (marcador de dano em DNA) comparado às monoterapias. **Discussão e conclusão:** Nosso estudo caracterizou a expressão das PIP4K2s no compartimento mieloide das células hematopoiéticas, bem como nos diferentes subgrupos moleculares da LMA. A identificação da correlação entre a expressão das PIP4K2s e a resposta à agentes antineoplásicos em ensaios *ex vivo* em LMA expôs vulnerabilidades que podem ser exploradas em terapias combinadas, o que poderia resultar em melhores respostas terapêuticas. **Apoio:** FAPESP, CNPq e CAPES.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.484>

ANÁLISE RETROSPECTIVA DA UTILIDADE DA BRONCOSCOPIA NO MANEJO DE COMPLICAÇÕES INFECCIOSAS RESPIRATÓRIAS EM PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA AGUDA

JVR Oliveira, CWA Cano, GC Barreto,
JVMF Junior, RCB Melo, FR Mendes,
EDRP Velloso, V Rocha, EM Rego, WF Silva

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

Introdução/Objetivo: Pacientes com leucemia aguda comumente apresentam, em sua evolução natural, complicações infecciosas pulmonares, sendo a broncoscopia uma ferramenta valiosa de acordo com dados mais recentes da literatura. Dito isso, relatamos as indicações, os resultados e as complicações das broncoscopias realizadas durante o tratamento de pacientes com leucemia aguda. **Material e métodos:** Foi realizada uma análise descritiva com dados obtidos de prontuários de pacientes com leucemia aguda de qualquer fenótipo, que foram submetidos a esquema de quimioterapia intensiva no Instituto do Câncer do Estado de São Paulo, FMUSP, entre os anos de 2012 a 2020. Todos os pacientes que realizaram broncoscopia para investigação de foco infeccioso foram incluídos. **Resultados:** De um total de 437 pacientes, 47 realizaram broncoscopia. Leucemia mieloide aguda foi a doença mais comum ($n = 28$, 59,5%), seguida de leucemia linfoblástica aguda ou bifenotípica ($n = 17$, 36,2%), e de leucemia promielocítica aguda ($n = 2$, 4,3%). A maior parte dos exames foi realizada na fase de indução (29,8%), seguido de consolidação (21,3%), terapia de resgate/refratariedade (17%), em remissão (17%) e 14,9% antes de iniciar tratamento. A principal indicação da broncoscopia foi investigação de lesão

pulmonar em exame de imagem (n=41, 87,2%). A mediana das plaquetas do procedimento foi de 67.000, e 36,2% dos pacientes apresentavam neutropenia grave (<500) durante o exame. O procedimento foi realizado em vigência de antifúngico/antibiótico em 89%. Dentre os lavados broncoalveolares (LBA), destaca-se 16,2% de positividade na análise bacterioscópica direta, e 2,3% de micológico direto. Culturas aeróbias foram positivas em 25,5% dos casos, com o germe mais comum sendo a *Pseudomonas aeruginosa*. A cultura de fungos foi positiva em apenas 5% dos casos. A dosagem da galactomanana do LBA resultou positiva (> 0,5) em 3 dos 21 casos. Apenas 6 pacientes realizaram biópsia transbrônquica, as quais se mostraram inconclusivas. Foram descritas complicações da broncoscopia em apenas 4 casos (8%), sendo 2 por sangramento, 1 por piora da oxigenação e 1 por pneumotórax. O procedimento acarretou mudança no manejo clínico em apenas 9 dos 47 pacientes (19,4%), onde foi realizado escalonamento de antibiótico (3), suspensão de antibiótico (3), início ou manutenção de antibiótico/antifúngico (2) e suspensão de antifúngico (1). **Discussão:** Durante o tratamento das leucemias agudas, é universal a utilização de antimicrobianos de modo empírico. A realização de broncoscopia para investigação de quadros infecciosos, neste cenário, parece ter baixo rendimento diagnóstico, com pequena mudança na conduta médica. Embora limitado pela natureza retrospectiva e unicêntrica, observamos que a positividade e o impacto da broncoscopia se mostraram inferiores aos dados disponíveis na literatura. Isto pode ser justificado por limitações técnicas próprias, como indisponibilidade de todos os testes moleculares e microbiológicos, além de possível imprecisão na solicitação dos exames. No entanto, notou-se uma baixa taxa de complicações a despeito do cenário clínico adverso. **Conclusão:** O papel da broncoscopia para investigação de infecções pulmonares em pacientes com leucemia aguda é controverso, uma vez que apresenta baixo impacto nas decisões clínicas e baixa taxa de positividade quando realizada no cenário de uso de antimicrobiano empírico.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.485>

PIM447, NOVO INIBIDOR DE PROTEÍNAS PAN-PIM QUINASES, TEM MÚLTIPLOS EFEITOS NA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA ATRAVÉS DA VIA HGF

FM Roversi^{a,b}, MLP Bueno^a, FS Niemann^a, I Santos^a, NG Amôr^a, ADS Santos^a, A Bastos^a, STO Saad^a

^a Centro de Hematologia e Hemoterapia (Hemocentro), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Department of Surgery, Emory University, Atlanta, United States

Objetivos: PIM-quinases, associadas à progressão de cânceres induzidos pelo fator de crescimento de hepatócitos (HGF) por meio de seu receptor, MET, interagem com a serina protease tipo kunitz-2 (SPINT2), no microambiente tumoral (TME) e sua interação pode representar uma importante estratégia

terapêutica multialvo na leucemia mieloide aguda (LMA). Analisamos a interação entre SPINT2, HGF e pan-PIM quinases avaliando a expressão gênica e os efeitos de um inibidor de pan-PIM quinase, PIM447 (Novartis), em células leucêmicas e no TME. **Métodos:** Expressão de mRNA foi obtida do estudo OHSU (2018) e TCGA (cBio Portal). A análise de correlação foi obtida pelo coeficiente de Spearman (r). Células mesenquimais estromais (MSC) da medula óssea (BM) de 5 doadores saudáveis (HD) e 5 pacientes com LMA foram tratadas com 5-Azacidina (Aza). OCIAML3, MOLM13, U937, RS4;11, Jurkat foram tratadas com PIM447 e as taxas de apoptose foram determinadas. Sangue periférico e células mononucleares (MC) da BM (PBM/CM) de HD foram testados quanto à citotoxicidade. Células leucêmicas foram examinadas para espécies reativas de oxigênio (ROS), produção de óxido nítrico (NO) e potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi_m$). Foram realizadas coculturas de células de leucemia com monócitos/macrófagos derivados de monócitos (MDMs) ou MSC com SPINT2 superexpresso. Estatística foi realizada por Kruskal Wallis, ANOVA ou Mann-Whitney ($p < 0,05$). **Resultados:** A expressão gênica de 188 pacientes com LMA mostrou que os níveis de HGF correlacionaram-se positivamente com PIM1/PIM2/PIM3 (($r = ,8727; ,9094; ,9093$), $p < ,0001$) e negativamente com SPINT2. Aza regulou positivamente a expressão do SPINT2 em AML-BMMSC ($p < ,05$). PIM447 reduziu a viabilidade e aumentou a apoptose em células leucêmicas [IC50: 12,2-22,2 μ M, $p < ,01$] sem afetar as células HD e reduziu a produção de ROS, NO e $\Delta\Psi_m$ ($p < ,0001$). PIM447 promoveu em MDMs uma população diminuída de M2 e aumentada de M1 ($p < ,05$), além de causar apoptose de células leucêmicas nas co-culturas ($p < ,0001$). MSCs com SPINT2 superexpresso aumentaram a atividade citotóxica de PIM447 em células de leucemia e reduziram a adesão célula-célula diminuindo CD49b, CD49d e CD49e ($p < ,05$). **Conclusão:** PIM447 atua no microambiente de suporte tumoral, além de interagir com a via SPINT2/HGF no TME, reduzindo a progressão da LMA. Esses achados sugerem que uma estratégia fundamental para tratar a LMA pode ser uma terapia multialvo, atuando tanto nas células leucêmicas quanto no microambiente tumoral. **Suporte:** FAPESP #2017/21801-2, #2019/25247-5, #2021/05320-0; CNPq #303405/2018-0.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.486>

INIBIÇÃO DA MET TIROSINA QUINASE NO TRATAMENTO DA LMA: FOCO NO MICROAMBIENTE TUMORAL INFLAMATÓRIO

MLP Bueno^a, I Santos^a, NG Amôr^a, ADS Santos^a, A Bastos^a, KP Ferro^a, STO Saad^a, FM Roversi^{a,b}

^a Centro de Hematologia e Hemoterapia (Hemocentro), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Department of Surgery, Emory University, Atlanta, United States

Objetivos: Na leucemia mieloide aguda (LMA), MET, um receptor do fator de crescimento de hepatócitos (HGF), contribui