

momento classificada com o índice prognóstico DIPSS 1 intermediário 1 (sintomas constitucionais). Em agosto de 2019, apresentou aumento do baço (+/-20cm). Hb 17,5 g/dL, GB 13.260/mm<sup>3</sup>, PMN 11.006/mm<sup>3</sup>, PLQ 44.000/mm<sup>3</sup> DHL 811 mg/dL. Foi reclassificada como DIPSS plus intermediário 2. Iniciado prednisona 40 mg/dia e após 2 semanas, aumentada dose para 60 mg/dia, com melhora da plaquetometria: 93.000/mm<sup>3</sup>. Iniciado ruxolitinib (01/2020) 15 mg 12/12 h. Após 7 dias de uso de ruxolitinib paciente apresentou redução de tamanho do baço para a metade. Atualmente paciente aguarda realização de TCTH alogênico, com irma HLA idêntica, e mantém PLQ 50.000/mm<sup>3</sup> e baço na altura da cicatriz umbilical (+/-8 cm do RCE). **Discussão/Conclusão:** A MFP é uma doença heterogênea e apresenta muitos desafios ao tratamento. Mostramos um caso de MFP, que apresentava esplenomegalia importante, acentuado desconforto abdominal e sintomas constitucionais, afetando a qualidade de vida da paciente. No momento paciente encontra-se em avaliação pré TCTH, em uso de ruxolitinib, com melhora importante no tamanho do baço e na qualidade de vida, conforme descrito na literatura.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.228>

228

#### USO DE UM SEGUNDO INIBIDOR DE TIROSINA QUINASE DE SEGUNDA GERAÇÃO COMO TERAPIA DE TERCEIRA LINHA EM PACIENTES COM LMC FASE CRÔNICA



A.B.V.D. Santos, F.A.M. Oliveira, T.C. Bortolheiro

Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

**Introdução:** Nilotinibe e dasatinibe são inibidores de segunda geração da tirosina quinase (ITQ) que, no Brasil, são aprovados para o tratamento LMC em fase crônica, refratários ou intolerantes ao imatinibe. Em torno de 20% a 30% dos pacientes com LMC não respondem ao tratamento de primeira linha com imatinibe e necessitarão de tratamento com inibidor de segunda geração. **Método:** Foram incluídos indivíduos com LMC com cromossomo Filadélfia, com pelo menos 18 anos de idade no momento do diagnóstico, que receberam inicialmente imatinibe e, posteriormente, tiveram o tratamento substituído por dasatinibe ou nilotinibe (durante a fase crônica da doença), como segunda linha e que, por sua vez, permutaram de inibidor de segunda geração como 3ª linha de tratamento, seja por intolerância ou falha de resposta. Resposta molecular maior (RMM) foi definida como redução dos transcritos BCR-ABL em 3 log a partir do valor basal do laboratório. Avaliamos as respostas hematológicas, citogenéticas e moleculares de pacientes com leucemia mielóide crônica tratados com um terceiro inibidor de tirosina quinase após não responder ao imatinibe e ao nilotinibe/dasatinibe. As respostas hematológicas, citogenéticas e moleculares foram definidas de acordo com as recomendações da European LeukemiaNet. **Resultados:** Em um total de 310 pacientes que acompanham regularmente no ambulatório de Leucemia mielóide crônica da Irmandade da Santa Casa de São Paulo,

28 pacientes se encontram em 3ª linha de tratamento, seja com Dasatinibe ou Nilotinibe. 13 pacientes permutaram para dasatinibe e 15 pacientes para nilotinibe como terapia de terceira linha. O tempo de seguimento, desde o diagnóstico, foi de 4,1 a 18,2 anos, com uma mediana de 9,6 anos. No tocante ao seguimento após a segunda troca, a mediana de acompanhamento foi de 4,9 anos (de 1 ano até 10,4 anos). Dos pacientes na fase crônica (n = 28), 5 (19%) não obtiveram nenhuma resposta, 2 (7%) resposta hematológica, 1 (3%) resposta citogenética completa, 16 (57%) resposta molecular maior e 4 (14%) evoluíram a óbito por progressão da doença. Dos pacientes que obtiveram RMM (n = 16), 7 (44%) mudaram de nilotinibe para dasatinibe e 9 (56%) mudaram de dasatinibe para nilotinibe. No que condiz ao motivo da troca no inibidor de 2ª geração, n = 9 (32%) deveu-se a toxicidade relacionada ao tratamento. Destes, n = 4 apresentaram RMM após a troca da medicação e n = 5 não a obtiveram. No tocante ao motivo de falha ou perda de resposta, n = 19 (68%), destes n = 12 obtiveram resposta molecular sustentada após a permuta. A pesquisa de mutações BCR-ABL foi avaliada em 13 pacientes, sendo a ausência de mutação encontrada em 10 pacientes e detectadas em 3 pacientes, sendo elas: L387M, M244V, F317L e F359V, sendo a mesma paciente apresentando a concomitância de 2 mutações detectáveis (F317L/L387M). **Conclusão:** Apesar do inibidor de terceira geração (Ponatinibe) já estar registrado no Brasil, ainda não foi incorporado ao PCDT e não é ainda disponibilizado aos pacientes do SUS. Embora as respostas obtidas pelo terceiro inibidor de tirosina quinase não sejam sustentáveis, um terceiro inibidor de tirosina quinase pode ser uma opção para melhorar o status do paciente e impedir a progressão da doença até que um doador esteja disponível para os que tem condições de suportar o procedimento ou o inibidor de terceira geração esteja seja incorporado ao PCDT.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.229>

#### LEUCEMIAS AGUDAS

229

#### A EXPRESSÃO DA RHO GTPASE RHOC ESTÁ CORRELACIONADA COM OS ONCOGENES RRAS E SRC E ASSOCIADA A MUTAÇÕES EM TP53 EM LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA



B. Contieri<sup>a</sup>, J.C.L. Silva<sup>b</sup>, J.A.M. Neto<sup>b</sup>, F.E. Ciamponi<sup>c</sup>, M.M. Brandão<sup>c</sup>, M. Lazarini<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

<sup>b</sup> Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

<sup>c</sup> Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

**Objetivos:** O estudo de novas vias de sinalização envolvidas com o desenvolvimento da leucemia mielóide aguda (LMA) pode levar à identificação de novos alvos terapêuticos. Nosso grupo de pesquisa identificou o aumento da expressão gênica da Rho GTPase RHOC em LMA, que foi associado a uma pior sobrevida dos pacientes. O objetivo deste trabalho foi investigar as vias de sinalização celular relacionadas à RHOC em LMA

através de bioinformática. **Material e métodos:** Dados clínicos e genômicos de 173 pacientes com LMA foram obtidos a partir de um estudo depositado no repositório cBioPortal for Cancer Genomics: The Cancer Genome Atlas (TCGA). A correlação da expressão gênica de RHOC com outros genes do genoma foi realizada pelo método de *Machine Learning* (pacote caret - R v. 3.6.1). Foi construída a rede de interações da proteína RHOC com as proteínas codificadas pelos 50 genes mais coexpressos utilizando o plug-in do STRING na ferramenta Cytoscape. Além disso, foi realizada a análise de enriquecimento de grupos de genes (GSEA) utilizando a base de dados Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG). **Resultados:** A expressão de RHOC correlacionou positivamente com a expressão dos oncogenes RRAS ( $R = 0,67$ ) e SRC ( $0,61$ ; correlação de Spearman). Análises de *machine learning* comprovaram a correlação de SRC e RRAS com RHOC (alto grau de importância). SRC foi significativamente mais expresso em pacientes com risco citogenético desfavorável em comparação a pacientes com risco favorável neste estudo. A alta expressão de RHOC foi altamente associada a presença de mutações no gene TP53 ( $p = 0,0006$ ). Mutações NPM1, CEBPA e WT1 também foram associadas a expressão de RHOC ( $p < 0,05$ ; teste de Fisher). A rede de interações proteína-proteína indicou evidências de interação direta ou indireta de RHOC com as proteínas SRC, RRAS, PLEKHG2, CYTH1, MTSS1, NFATC1, CAPN2, PLEC e GAS2L1 (escore de confiança médio: 0,40). A análise de enriquecimento de grupos de genes mostrou que a expressão de RHOC está associada com processos biológicos como regulação da actina do citoesqueleto, via de sinalização de Ras, via de sinalização do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), desenvolvimento de LMA, entre outros. **Discussão:** RHOC está correlacionado com os genes RRAS e SRC que estão envolvidos na organização da actina do citoesqueleto; e na migração, transformação celular e atividade pró-oncogênica, respectivamente. A alta expressão de RHOC está associada a presença de mutações em TP53 que confere um pior prognóstico em LMA. Adicionalmente, a análise de GSEA também indicou que RHOC pode participar de vias de sinalização relacionadas a migração celular, angiogênese e câncer. **Conclusão:** Os resultados desta pesquisa indicam que RHOC participa de vias de sinalização celular importantes para a leucemogênese em modelo de LMA. **Financiamento:** FAPESP, CAPES e CNPq.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.230>

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.230>

230

#### A SUBFAMÍLIA RAC DE RHO GTPASES REPRESENTA UM POTENCIAL ALVO TERAPÊUTICO NA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

D.F.V. Ramos<sup>a</sup>, R.I. Mancuso<sup>b</sup>, L.B. Paiva<sup>b</sup>, A. Duarte<sup>b</sup>, K.P. Ferro<sup>b</sup>, B. Contieri<sup>a</sup>, S.T.O. Saad<sup>b</sup>, M. Lazarini<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

<sup>b</sup> Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

**Objetivos:** Rho GTPases são conhecidos reguladores do citoesqueleto. A subfamília Rac de Rho GTPases é composta por Rac1, Rac2, Rac3 e RhoG, cuja expressão está desregulada em algumas neoplasias. O papel destas proteínas na leucemia mieloide aguda (LMA) ainda não foi explorado. O objetivo deste estudo foi avaliar a expressão gênica de Rac1, Rac2, Rac3 e RhoG em pacientes com LMA e os efeitos da inibição de Rac em células mieloides. **Métodos:** A expressão gênica de Rac1, Rac2, Rac3 e RhoG foi investigada por PCR quantitativo em amostras de medula óssea de doadores saudáveis ( $n = 14$ ) e pacientes com síndromes mielodisplásicas (SMD) ( $n = 47$ ), LMA com alterações relacionadas à mielodisplasia (LMA-ARM) ( $n = 15$ ) e de LMA *de novo* ( $n = 43$ ) atendidos no Hemocentro da UNICAMP. Análises de expressão gênica e sobrevida foram realizadas em uma segunda coorte de 173 pacientes com LMA *de novo* (estudo TCGA disponível em [cBioportal.org](http://cBioportal.org)). A inibição de Rac foi realizada *in vitro* com o fármaco EHT-1864. O estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética da UNICAMP e UNIFESP. **Resultados:** A expressão de Rac3 foi aumentada em LMA-ARM ( $P = 0,01$ ; Mann-Whitney test) e apresentou uma tendência de aumento em LMA *de novo*, quando comparada a doadores saudáveis. A expressão de RhoG foi aumentada em pacientes com SMD com menos de 5% de blastos de medula óssea em comparação aos controles sadios ( $p = 0,04$ ). A expressão de Rac1 e Rac2 não diferiu entre os grupos avaliados. Análise de dados do estudo TCGA mostrou redução da expressão de Rac1 em pacientes com LMA de risco citogenético adverso em comparação a pacientes com risco citogenético favorável ou intermediário ( $p < 0,0001$ ; Kruskal Wallis test). A expressão de Rac2 aumentou gradativamente com a piora do risco citogenético ( $p < 0,0001$ ), enquanto a expressão de Rac3 foi menor em pacientes com risco citogenético intermediário ( $p < 0,001$ ). A expressão de RhoG não diferiu entre os grupos de risco citogenético. Interessantemente, o aumento de Rac2 foi um fator independente de pior sobrevida global em LMA ( $HR = 1,8$ ;  $CI = 1,14-2,8$ ;  $P = 0,12$ ; Regressão de Cox, análise multivariada), assim como idade e risco citogenético. A análise de enriquecimento de grupos de genes (GSEA) mostrou que a expressão dos membros da subfamília Rac está associada a vias de sobrevivência, proliferação e ciclo celular em LMA (estudo TCGA). O tratamento com ET-1864 ( $1-30\mu M$ ) em células OCI-AML3, Kasumi1 e KG1 por 24, 48 e 72 horas reduziu a viabilidade das três linhagens, com maior intensidade em OCI-AML3, de maneira dependente de tempo e de dose. O fármaco (a partir de  $10\mu M$ ) também induziu apoptose, formação de vesículas ácidas (aumentadas no processo autofágico), redução da porcentagem de células na fase G1 do ciclo celular e formação de agregados celulares em OCI-AML3. Análises de western blot mostraram diminuição de ciclina A e aumento em LC3II e caspase 3 clivada. **Discussão:** Nossos resultados mostram a desregulação da expressão de membros da subfamília Rac em SMD e LMA e sugerem que a expressão de Rac2 pode ser um biomarcador de prognóstico em LMA, como já foi reportado em tumores sólidos. A inibição farmacológica de Rac mostrou pela primeira vez redução da sobrevivência e proliferação de células leucêmicas, conforme descrito em outros tipos celulares. **Conclusão:** As proteínas da

