

INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO COM MELATONINA SOBRE MECANISMOS CELULARES DE ADAPTAÇÃO REDOX EM CÉLULAS ERITROLEUCÊMICAS K562

FF Torres^a, VS Bernardo^a, ACA Zucão^a, DGH Silva^{a,b}

^a Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brasil

^b Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Três Lagoas, MS, Brasil

O presente trabalho teve como objetivo investigar o possível efeito modulador da melatonina (MEL) – uma indolamina particularmente eficiente no combate ao estresse oxidativo por agir de forma direta contra o mesmo e/ou indireta, atuando na indução da expressão de enzimas antioxidantes – sobre as vias de sinalização redox PI3K/AKT/FOXO3 e KEAP1/NRF2/ARE, em células eritroleucêmicas K562 induzidas a diferenciação eritroide e submetidas a indução de estresse oxidativo, favorecendo a manutenção da homeostase redox celular. O estudo contou com três amostras pseudoreplicadas acompanhadas durante cinco dias, sendo as avaliações realizadas: antes do início (D0), no início (D2) e no final da diferenciação (D4). Nestes dias, a diferenciação eritroide foi avaliada pelo teste de benzidina, a viabilidade celular pelo método de azul de Trypan, os níveis de transcritos dos genes de importantes enzimas antioxidantes por qRT-PCR e as análises univariadas foram realizadas usando *General Linear Models* (GLM) no formato ANOVA two-way seguido de *post hoc* de Bonferroni, considerando $p < 0,05$ como estatisticamente significativo. Além disso, cada amostra foi dividida nos seguintes grupos experimentais: células sem indução de estresse oxidativo e tratamento antioxidante (Referência); células sob indução de estresse com peróxido de hidrogênio ($100 \mu\text{M H}_2\text{O}_2$); células tratadas com 1 nM (C1) e com 1 mM (C2) de MEL; por fim, células tratadas com as mesmas concentrações de MEL associados a indução do estresse (C1 + H_2O_2 e C2 + H_2O_2 , respectivamente). Dentre os principais resultados, observou-se o restabelecimento de níveis fisiológicos de NRF2 em ambas concentrações de MEL, sob indução de estresse, quando comparado ao grupo sob a ação apenas do estressor, sugerindo um efeito citoprotetor. O tratamento C1 relacionou-se com indução da expressão de genes antioxidantes por meio da via NRF2-ARE, quando comparados com suas respectivas referências. Este padrão foi observado no D0 para os genes da CAT, SOD1, PRDX1 e 6; no D2 para CAT, PRDX1 e 6 e no D4 para SOD1, PRDX1 e 6, sugerindo, inclusive, um efeito protetor da MEL em relação a PRDX1, uma vez que os tratamentos com MEL ocasionaram uma expressão semelhante aos níveis fisiológicos. Quanto a C2, esta relacionou-se com a indução da expressão de FOXO3, quando associada ou não a indução de estresse oxidativo por peróxido de hidrogênio; sendo que, no D4, C2 + H_2O_2 mostrou-se relacionada a uma redução de viabilidade celular possivelmente associada a ativação de vias apoptóticas. Dessa forma, os efeitos da administração de MEL em células eritroleucêmicas K562 apresentaram um padrão período e dose-dependentes contra o

estresse oxidativo induzido por H_2O_2 , com ação direta sobre a detoxificação do mesmo e indireta, visto que a via FOXO3 apresentou papel sugestivo de indução de vias apoptóticas, enquanto o fator de transcrição predominantemente responsável pela manutenção da homeostase redox foi o NRF2. Assim, conclui-se que a MEL desempenha papel importante na regulação da homeostase celular, sendo uma alternativa terapêutica promissora para doenças que apresentam um dano oxidativo exacerbado devido ao seu potente efeito redutor.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.042>

ERGOTIONEÍNA COMO TERAPIA ANTIOXIDANTE: MECANISMOS CELULARES DE ADAPTAÇÃO REDOX EM CÉLULAS ERITROLEUCÊMICAS K562

VS Bernardo^a, FF Torres^a, ACA Zucão^a, DGH Silva^{a,b}

^a Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), São José do Rio Preto, SP, Brasil

^b Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Três Lagoas, MS, Brasil

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o papel potencial que a ergotioneína (ERT), um antioxidante natural com uma ampla gama de propriedades citoprotetoras e mitigadoras de doenças, desempenha nos mecanismos de adaptação eritroide ao avaliar os níveis de expressão de vários genes associados às vias de sinalização redox MST1-FoxO3 e Keap1-Nrf2-ARE, utilizando células K562 induzidas à diferenciação eritroide como modelo experimental. Para tanto, foram avaliados a viabilidade celular por azul de Tripan e os níveis de transcritos dos fatores de transcrição FoxO3 e Nrf2, seus moduladores (MST1, KEAP1 e YWHAQ), bem como de importantes antioxidantes (SOD1, CAT, TRX, PRDX1 e PRDX2) envolvidos na adaptação redox por qRT-PCR. O estudo contou com três amostras pseudoreplicadas acompanhadas durante cinco dias de diferenciação celular, com avaliações em três períodos do processo de diferenciação: antes do início (D0), no início (D2) e final da diferenciação (D4); divididas nos seguintes grupos experimentais: células eritroides sem indução de estresse oxidativo e tratamento antioxidante (Referência); células sob indução de estresse com peróxido de hidrogênio ($100 \mu\text{M H}_2\text{O}_2$); células tratadas com 1 nM (C1) e com $100 \mu\text{M}$ (C2) de ERT; por fim, dois conjuntos de células tratados com as mesmas concentrações de ERT associados com a indução do estresse (C1 + H_2O_2 e C2 + H_2O_2 , respectivamente). Análises univariadas foram realizadas utilizando *General Linear Models* (GLM) no formato ANOVA two-ways, seguido de *post hoc* de Bonferroni e, como alternativa multivariada de análise de grau de associação, foi adotada a análise de *General Regression Model* (GRM) com desenho de regressão, ambas considerando $p < 0,05$ como estatisticamente significativo. Dentre os resultados obtidos, destaca-se que o tratamento C1 promoveu a indução de FOXO3 (D0 e 2), enquanto em C2 houve uma

redução dos níveis desse transcrito no início do processo de diferenciação, se mantendo baixa até o final do experimento. C1+ H₂O₂ apresentou os níveis mais altos de transcritos de NRF2, KEAP1 (D0) e YWHAQ (D2 e 4); já o tratamento C2+ H₂O₂ (D2) observou-se aumento de FOXO3 e MST1, com diminuição de YWHAQ e NRF2. As análises multivariadas de grau de associação entre os níveis de transcritos dos genes das enzimas antioxidantes, destacaram que a via Keap1-Nrf2-ARE apresentou maior contribuição com o padrão de expressão dos RNAm da PRDX1, SOD1 e CAT, enquanto a via MST1-FOXO3 parece estar mais associada com os transcritos de PRDX2 e TRX, em células eritroides K562. Estes resultados permitem a proposição de um mecanismo regulatório no qual a ERT modula a resposta adaptativa ao estresse oxidativo em células eritroide de forma período e dose-dependente. Assim, conclui-se que ERT apresentou uma ação citoprotetora em células eritroides K562, através da ativação dos fatores de transcrição FoxO3 e Nrf2, sendo que a via de sinalização redox Nrf2-ARE mostrou-se como a principal envolvida na homeostase redox, enquanto a via MST1-FoxO3 parece estar envolvida tanto na homeostase redox quanto na proliferação e diferenciação eritroide.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.043>

TECNOLOGIAS INOVADORAS PARA O TRATAMENTO DA DOENÇA FALCIFORME

VG Silva^a, VMS Moraes^{a,b,c}, MEP Silva^b, FMB Lavra^a, LAM Silva^a, LEP Pereira^a, DCL Jasmelino^a, DWS Araújo^a, EG Silva^{a,b}, RN Bernado^c

^a Faculdade de Ciências Humanas de Olinda (FACHO), Olinda, PE, Brasil

^b Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco (Hemope), Recife, PE, Brasil

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

Objetivo: Desvelar os benefícios das tecnologias inovadoras de tratamento para a doença falciforme. **Material e método:** Revisão de literatura de natureza descritiva, através da busca nas bases de dados PUBMED e PMC. Os critérios de inclusão foram: Artigos disponibilizados na íntegra, publicados nos últimos seis anos, inglês ou português e com a temática escolhida. Critérios de exclusão: datas duplicadas e assuntos não condizentes com o tema. Descritores: Doença falciforme; Voxelotor; Crizanlizumabe. O estudo resultou em uma amostra total de seis (6) artigos selecionados: cinco (5) PUBMED, (um) 1 PMC. **Resultados:** O Crizanlizumabe, é um anticorpo monoclonal humanizado que bloqueia a interação da P-selectina com seu ligante IgG2 kappa, em altas doses, resultou em uma taxa mais baixa de crises vaso oclusiva relacionada a célula falciforme, uma menor incidência de eventos adversos em relação ao placebo, e a taxa média de crises por ano foi de 1,63 e com o Placebo 2,98, assim como o tempo médio para a primeira crise foi significativamente maior com o Crizanlizumabe do que com o Placebo. L-glutamina foi observado o aumento na concentração intracelular de NAD nas células falciformes,

aumentou de 47,5 para 72,1 nmol/mL e redox NAD de 47,2 para 62,1, contudo, o aumento da hemoglobina foi de Hb 8,5 mg/dL, para 8,7 mg. Já aprovado pela FDA, o Voxelotor, que por sua vez é um modulador de hemoglobina, em estudos pré-clínicos mostrou diminuir a polimerização da HbS de maneira dependente da dose. Desta forma, conclui-se que as novas descobertas para o tratamento da DF e seu principal sintoma mostram-se promissoras. A eficácia do uso do L-glutamina foi comprovada em relação às dores das vaso-oclusão, entretanto, foi insuficiente no aumento da hemoglobina. Por sua vez, o Voxelotor se destacou justamente atuando na hemoglobina, aumentando seu nível e melhorando a deformidade dos glóbulos vermelhos diminuindo a viscosidade do sangue. **Discussão:** As novas terapias medicamentosas encontradas nos artigos estudados mostraram-se bastante efetivas em pacientes com doença falciforme, evidência o benefício do uso do Crizanlizumabe para prevenção das crises vaso oclusivas e defende que este medicamento pode ser uma forma de tratamento definitiva para substituir o uso do hidroxiureia. O FDA aprovou a L-glutamina que é um amino-ácido necessário na produção da nicotinamida adenina, é um cofator nas reações de redução-oxidação no corpo, uma vez que o estresse oxidativo é um fator crítico na doença falciforme. O Voxelotor liga-se reversivelmente à hemoglobina, estabilizando o estado da hemoglobina oxigenada e prevenindo a polimerização da HbS, aumentando a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio. **Conclusão:** As terapias avaliadas neste estudo demonstraram eficácia, cada uma de forma diferente e por este motivo é importante avaliar qual a mais indicada para o paciente pela avaliação clínica e laboratorial. A busca por novas opções de tratamento para pacientes com doença falciforme vem avançando. Um exemplo é a nova molécula, o Inclacumabe, mesmo mecanismo de ação do Crizanlizumabe, está sendo testada em um estudo fase 3 e a Terapia Gênica que é bem promissora. O Crizanlizumabe já está sendo testado no Brasil, contudo, agora está em trâmites na câmara o projeto de Lei 4208/21 que inclui o medicamento na relação de fármacos disponíveis no Sistema Único de Saúde (SUS).

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.044>

ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO: UMA CATÁSTROFE PREVENÍVEL NA DOENÇA FALCIFORME?

BLR Santos^a, FGDS Andrade^b, GLD Santos^c

^a Centro Infantil Boldrini, Campinas, SP, Brasil

^b Faculdade Maurício de Nassau (UNINASSAU), Petrolina, PE, Brasil

^c Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campina Grande, PB, Brasil

Objetivos: A doença falciforme (DF) é resultado de uma mutação, troca do ácido glutâmico pela valina na posição 6 do cromossomo que codifica as cadeias betas da hemoglobina, gerando hemoglobinas anômalas, com polimerização das mesmas, desidratando e hemolisando hemácias, lesando o endotélio, evoluindo com trombo-inflamação e hipóxia