

em menor porcentagem do que em estudos semelhantes. No entanto, a faixa etária e o sexo com maior porcentagem de diagnósticos, assim como os níveis de hemoglobina no momento da realização do hemograma de crianças diagnosticadas com anemia foram similares ao que a literatura apresenta.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.1113>

METABOLOMIC PROFILING OF THE POLYPHENOL QUERCETIN RESPONSE IN LEUKEMIA CELL LINES

MC Alvarez^{a,b}, TB Costa^c, L Tasic^c, STO Saad^{a,b}

^a Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

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

^c Institute of Chemistry, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Epigenetic changes play a crucial role in hematological malignancies and the protein network that regulates these mechanisms offers potential pharmacologic regulation. Flavonoids might exert antitumoral effects through induction of apoptosis and chromatin remodeling. Our previous study showed that Quercetin (Qu) induced apoptosis, partly due to its DNA demethylating activity, through HDAC inhibition and enrichment of H3ac and H4ac in the promoter regions of the genes involved in the apoptosis pathway, leading to their transcription activation (Alvarez, Clinical Epigenetics 2018). The ¹H NMR spectra of the aqueous extract of exponentially growing HL-60 and U937 cell lines untreated and treated with Qu (50 mM, 48h) were obtained and analyzed by Principal Component Analysis (PCA). PCA revealed discrimination between the intracellular metabolome of the cell lines regarding Qu treatment. The subtraction of the mean ¹H NMR spectra of each treated and untreated cell line, as well as the PCA loadings, identified as major discriminators in HL-60 cell line, lactate, alanine, acetate, phosphocholine, taurine, glycine, glutamate and myo-inositol. Lactate was elevated in Qu treated cells whereas the other metabolites were decreased compared to control cells. For the U937 cell line, the major discriminators were the same, with the addition of creatine and the exclusion of lactate. All of them were decreased in treated samples. It could be concluded that Qu induced intracellular lactate accumulation in the HL-60 cell line, contributing to apoptosis induction. Acetate and N-acetyl groups levels were decreased in treated cells, which is consistent with our previous results as Qu treatment induced H3 and H4 acetylation that may induce an increase in acetyl-CoA consumption. In summary, the data presented pointed to metabolic changes measurable by NMR induced by Qu in AMLs cell lines and reflect the direct connection between metabolism and chromatin dynamics.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.1114>

FREQUÊNCIA DA PERDA DO CROMOSSOMO Y EM MEDULA ÓSSEA DE PACIENTES COM DOENÇAS HEMATOLÓGICAS

TTAD Reis, JM Silva, BF Gamba, GO Rodrigues, PRAD Nascimento, BA Topázio, DA Cornélio, LFA Nery

Sabin Medicina Diagnóstica, São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: A perda do cromossomo Y é um fenômeno associado a senescência. No entanto, em caso de leucemias, pode estar relacionada à doença de base. Dessa forma, este estudo tem como objetivo descrever a frequência da perda do cromossomo Y em medula óssea de pacientes por faixa etária e doença hematológica associada. **Material e Métodos:** Foi realizado um estudo retrospectivo transversal dos cariótipos de medula óssea analisadas no setor de Citogenética do Sabin Medicina Diagnóstica de abril de 2017 a junho de 2022. Os critérios de inclusão foram: pacientes com – Y clonal em medula óssea, segundo parâmetros do ISCN 2020; e de exclusão: pacientes com dados clínicos insuficientes. **Resultados:** O grupo amostral deste estudo foi composto por 167 pacientes e a frequência de casos nas faixas etárias determinadas foi de até 18 anos, 0,6%; de 19 a 21 anos, 0,6%; de 22 a 37 anos, 0,6%; de 38 a 49 anos, 1,8%; de 50 a 65 anos, 17,8%; de 66 a 70 anos, 12,6%; de 71 a 80 anos, 30,5%, e em maiores de 80 anos, 36,5%. As doenças hematológicas associadas mais frequentes foram mieloma múltiplo (MM=39,52%), síndrome mielodisplásica (SMD=29,34%) e leucemia mieloide aguda (LMA=8,38%), que juntas totalizam 77,25% dos casos. A LMA representou 100% da prevalência nas três primeiras faixas de idade e MM foi a mais frequente nas demais faixas etárias deste grupo amostral, seguido de SMD para as faixas etárias a partir de 50 anos. **Discussão:** É estabelecido que 25% dos indivíduos saudáveis com mais de 80 anos apresentaram perda do Y em medula óssea, o que corrobora com o fato dessa faixa etária ser a de maior prevalência neste estudo (36,5%). A perda do cromossomo Y é atrelada a um prognóstico adverso em casos de MM. Apesar de a literatura ter poucos dados disponíveis, neste estudo, foi identificado maior frequência de MM como doença hematológica associada a perda de cromossomo Y. A aneuploidia estudada é um achado comum de bom prognóstico em pacientes com SMD, apesar de não ocorrer em indivíduos com menos de 35 anos. Na presente amostragem, observou-se apenas SMD a partir da faixa de 50 a 65 anos, o que corrobora com a literatura. Já no caso de LMA, a perda do cromossomo Y pode apresentar prognóstico variável, dependente de outras alterações citogenéticas/moleculares associadas. **Conclusão:** Tratando-se de doenças mais prevalentes em pessoas mais idosas, como no caso do MM, é difícil determinar quando a perda do Y está relacionada à idade ou à patologia. No caso de maior frequência de perda do Y em pacientes com mais de 80 anos seria necessário um estudo mais robusto para tal distinção. Cabe destacar forte indício de que a perda do cromossomo Y esteja relacionada com evolução clonal nos casos de LMA por representar 100% das doenças hematológicas nas 3 faixas etárias mais jovens neste estudo. Mais estudos com pacientes com perda do cromossomo Y são necessários para uma melhor previsão do

prognóstico, bem como o acompanhamento das doenças hematológicas.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.1115>

TRATAMENTO COM O RESVERATROL REVERTE O FENÓTIPO DE PRIAPISMO EM CAMUNDONGOS TRANSGÊNICOS PARA ANEMIA FALCIFORME

FH Silva^a, CO Splendore^a, FB Calmasini^b, FF Costa^b

^a Universidade São Francisco (USF), Bragança Paulista, SP, Brasil

^b Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução: Homens com anemia falciforme apresentam priapismo que é definido como como ereção peniana prolongada e dolorosa ocasionada ou não por estimulação sexual. Os modelos transgênicos para anemia falciforme Berkeley ou Townes são amplamente estudados porque expressam 100% de HbS em seus eritrócitos circulantes e exibem um fenótipo de priapismo. O desenvolvimento do priapismo é ocasionado pela redução da biodisponibilidade de Óxido Nítrico (NO) endotelial que reduz a expressão da PDE5 na musculatura lisa dos Corpos Cavernosos (CC). Assim, quando um estímulo erétil ocorre in vivo, o GMPc se acumula nas células da musculatura lisa dos corpos cavernosos, tornando a vasculatura peniana incontrolavelmente dilatada, e a ereção peniana persiste (priapismo), pois o GMPc não é metabolizado devido a menor expressão de PDE5 no pênis. Além disso, o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio também está associado com o desenvolvimento do priapismo porque atua reduzindo a biodisponibilidade de NO no pênis. O resveratrol é um produto natural com potente atividade antioxidante encontrado em amendoins, frutas vermelhas e uvas. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito farmacológico do tratamento com o resveratrol nas alterações da função erétil em camundongos transgênicos para anemia falciforme. **Material e Métodos:** Camundongos com anemia falciforme Townes (grupo SCD) e C57BL/6 (grupo controle) foram tratados com o resveratrol (100 mg/kg/dia) ou veículo por duas semanas via gavagem. Os CC foram montados em banhos para órgãos isolados e as respostas relaxantes à Acetilcolina (ACh), nitroprussiato de sódio (SNP) e estimulação elétrica (EFS; relaxamento nitrérgico) foram obtidas em CC pré-contráídos com a fenilefrina (3–10 μ M). **Resultados:** A adição cumulativa de ACh (0,001–10 μ M) produziu relaxamentos dependentes da concentração em CC dos grupos controle e SCD, mas a resposta máxima da ACh foi maior ($p<0,05$) no CC do grupo SCD em comparação com o grupo controle, indicando um fenótipo de priapismo. O tratamento com o resveratrol reverteu o aumento do relaxamento induzido pela ACh no grupo SCD ($n=6$). O relaxamento nitrérgico induzido pela EFS também foi maior ($p<0,05$) nos CC do grupo SCD em comparação com o grupo controle (4 Hz: 30 ± 8 e $80\pm 5\%$, respectivamente; $n=5$) que foi revertido pelo tratamento com resveratrol. O SNP (0,01–10 μ M) produziu relaxamentos

dependentes da concentração em CC dos grupos controle e SCD, mas a resposta máxima foi maior ($p<0,05$) no grupo SCD ($90\pm 1\%$) em comparação com o grupo controle ($65\pm 6\%$). O tratamento com o resveratrol reverteu o aumento do relaxamento induzido pela SNP no grupo SCD ($n=6$). A expressão do RNAm da PDE5 foi menor ($p<0,05$) nos CC do grupo SCD em comparação com o grupo controle ($n=5-6$). As expressões proteicas para 4-HNE (marcador de estresse oxidativo) e 3-nitrotirosina (3-NT; marcador de estresse nitrosativo) foram significativamente maiores ($p<0,05$) nos CC do grupo SCD em comparação com o grupo WT. O tratamento com o resveratrol reduziu a expressão da 4-HNE e 3-NT ($p<0,05$) nos CC do grupo SCD, mas aumentou a expressão da PDE5 ($p<0,05$). No grupo controle, as expressões de PDE5, 4-HNE e 3-NT não foram modificadas pelo tratamento com o resveratrol, assim como os relaxamentos de CC induzidos pela ACh, SNP e EFS. **Conclusão:** O tratamento com o resveratrol reduziu o aumento do relaxamento em CC induzidos pela estimulação da via NO-GMPc devido a normalização da expressão de PDE5 nos CC dos camundongos transgênicos para anemia falciformes, assim como reduziu o aumento do estresse oxidativo e nitrosativo. Portanto, o resveratrol pode constituir uma estratégia terapêutica adicional para prevenir o priapismo na anemia falciforme. **Apoio financeiro:** FAPESP.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.1116>

ESTABELECIMENTO DE UMA PLATAFORMA DE PRODUÇÃO DE NK-CAR PARA TRATAMENTO DE NEOPLASIAS

MC Tirapelle, D Schmidt, S Ebrahimabadi, RN Silvestre, DT Covas, V Picanço-Castro

Centro de Terapia Celular (CTC), Hemocentro de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Nosso grupo tem trabalhado no desenvolvimento de células NK-CAR com construção inovadora para cânceres hematológicos, CD19, e sólidos, GD2 e MAGE-A4 em parceria com o Dr. Hiroshi Shiku. Os vetores CAR para CD19 GD2 co-expressam a molécula GITRL e o MAGE-A4 contém o domínio intracelular do receptor GTR. O objetivo deste estudo é estabelecer a produção de células NK-CAR contra diferentes alvos de tumores hematológicos e sólidos utilizando células NK-92 e NK primárias de sangue periférico de doador saudável. Também buscamos otimizar a expansão de NKs do sangue periférico através do uso de células feeders. Para a produção de células CAR-NK é utilizado vetor lentiviral SEW com o promotor SFFV e para a otimização da transdução de SEW em células NK-92 foram testadas diferentes concentrações de polibreno e BX795. A partir da determinação das melhores condições de transdução, foram geradas células CAR-NK anti-CD19, anti-GD2-GITRL, anti-GD2 e anti-MAGEA4. A eficiência de transdução de cada CAR foi determinada por citometria de fluxo. Paralelamente, foi realizado isolamento de NK proveniente de sangue periférico de doador saudável e cultivo in vitro utilizando meio suplementado com soro AB e IL-2. Três linhagens de K562 foram utilizadas como feeders