

mecanismo de ação inovador, baseado na degradação proteica ao invés de inibição enzimática. Seu desenvolvimento pré-clínico justifica investigações adicionais, visando oferecer uma alternativa terapêutica aos pacientes com AF e talassemia β .

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104166>

ID – 2487

NOVO INIBIDOR SELETIVO DE HISTONA DEACETILASE 1 E 2 INDUZ A PRODUÇÃO DE HEMOGLOBINA FETAL EM CÉLULAS CD34⁺ HUMANAS EM DIFERENCIAÇÃO ERITRÓIDE

VGdF Pastre^a, AR Pavan^b, MD Borges^a,
CD Lanaro^a, DP Leonardo^a,
DMd Albuquerque^a, JL Dos Santos^b, FF Costa^a

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

^b Universidade Estadual de São Paulo, Araraquara,
SP, Brasil

Introdução: A reativação dos genes da γ -globina (HBG1/2) é uma abordagem terapêutica validada para o tratamento da anemia falciforme (AF) e da talassemia β . A hidroxiureia é o único fármaco utilizado para o aumento da Hemoglobina Fetal (HbF), no entanto, desafios relacionados ao seu uso expõe a necessidade da obtenção de novas moléculas indutoras de HbF. As enzimas HDAC 1 e 2 são reguladores epigenéticos e participam ativamente do processo de silenciamento dos genes HBG1/2. A inibição dessas enzimas leva à recuperação da produção de HbF ao promover uma conformação da cromatina menos condensada sobre a região promotora dos genes HBG1/2. **Objetivos:** Avaliar o composto PBFF, um novo inibidor seletivo de HDAC 1 e 2, quanto à sua capacidade de induzir a produção de HbF em células CD34⁺ humanas e o seu impacto na diferenciação eritróide. **Material e métodos:** Células CD34⁺ humanas isoladas de sangue periférico de doadores saudáveis foram submetidas à diferenciação eritróide in vitro na presença do composto PBFF em diferentes concentrações (100 nM – 2,5 μ M). Utilizando citometria de fluxo, foram avaliados os percentuais de células-F (% HbF⁺), a média de intensidade de fluorescência (MFI) de HbF, os marcadores de diferenciação eritróide (% CD71⁺ CD235a⁺) e a viabilidade celular. Ainda, a expressão gênica de HBG1/2, HBB, HDAC1, HDAC2 e HDAC3 foi analisada por qPCR. **Resultados:** O composto PBFF promoveu aumento considerável na % HbF⁺ na dose de 1 μ M (DMSO = 54,45 $\pm$ 3,32% vs. PBFF 1 μ M = 69,75 $\pm$ 2,33%; n = 2), bem como na MFI desse parâmetro (140,5 $\pm$ 21,92 U.A. vs. 247,5 $\pm$ 72,83 U.A.; n = 2). Os marcadores de diferenciação eritróide são afetados negativamente de maneira sutil (84,5 $\pm$ 3,82% vs. 70,0 $\pm$ 4,53%; n = 2), bem como, a viabilidade celular (89,5 $\pm$ 1,27% vs. 83,2 $\pm$ 2,26%; n = 2). As análises de qPCR demonstraram um aumento de, aproximadamente, 3 vezes nos níveis de mRNA de HBG1/2 (0,498 $\pm$ 0,182 U.A. vs. 1,549 $\pm$ 0,07 U.A.; n = 2), enquanto HBB apresentou uma sutil elevação (1,03 $\pm$ 0,121 U.A. vs. 1,548 $\pm$ 0,100 U.A.; n = 2), resultando em incremento da

razão HBG/(HBG+HBB) (0,32 $\pm$ 0,056 vs. 0,5 $\pm$ 0,01; n = 2). O gene HDAC 1 apresentou regulação positiva de 2 vezes em relação ao veículo, enquanto as HDACs 2 e 3 apresentaram regulação positiva menor de 1,6 vezes e 1,3 vezes, respectivamente. **Discussão e conclusão:** Os resultados demonstram o potencial da via de indução de HbF através da inibição seletiva de HDAC1/2. O aumento da % HbF⁺ e do RNAm de HBG1/2 observado ocorre sem alterar a viabilidade celular e com pouco efeito sobre a diferenciação eritróide. A modulação positiva da expressão dos genes das HDACs possivelmente deriva da atividade reduzida dessas enzimas causada pela ação do inibidor PBFF, sendo compatível com a reativação da expressão de HBG1/2 através da via epigenética. A inibição seletiva de HDAC1/2 parece induzir de forma robusta a produção de HbF em progenitores eritróides humanos em cultura in vitro, sem impedir o desenvolvimento da eritropoiese e afetando sutilmente a viabilidade celular. Os resultados obtidos apontam o inibidor PBFF como um candidato potencial para o desenvolvimento de novas terapias farmacológicas no tratamento da AF e da talassemia β .

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104167>

ID - 867

NOVOS ANÁLOGOS DE DEFERASIROX COMO AGENTES QUELANTES PARA O TRATAMENTO DE SOBRECARGA DE FERRO

MD Borges^a, JLB Prates^b, VGF Pastre^a,
AR Pavan^b, DP Leonardo^a,
DM de Albuquerque^a, C Lanaro^a, FH da Silva^c,
JL dos Santos^b, FF Costa^a

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

^b Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Araraquara, SP, Brasil

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

Introdução: A sobrecarga de ferro é uma complicação comum em indivíduos que recebem transfusões sanguíneas frequentes ou apresentam distúrbios genéticos do metabolismo do ferro, visto que não há forma natural da sua excreção. A terapia com quelante torna-se essencial e, embora três agentes estejam disponíveis, seu uso clínico é limitado pela necessidade de doses elevadas e pelos efeitos adversos. Terapias combinadas são mais eficazes que monoterapias, mas limitações farmacocinéticas e farmacodinâmicas evidenciam a necessidade de alternativas mais eficientes para serem somadas as já em uso. **Objetivos:** Assim, avaliamos novos análogos do deferassirox (DFX) quanto à capacidade de quelar ferro livre e intracelular e seus efeitos em camundongos com sobrecarga de ferro. **Material e métodos:** A eficácia dos compostos foi avaliada por meio da fluorescência da calceína, que diminui com a sua ligação ao ferro e é restaurada com a remoção deles pelos quelantes. A capacidade de ligação ao ferro livre foi analisada pela adição de DFX ou de um dos compostos C1 e C4 (0,05–5 μ M) a uma solução contendo calceína e

sulfato ferroso de diamônio. A recuperação da fluorescência foi monitorada por 2 horas. Para avaliação da quelação intracelular, células H9c2 foram carregadas com citrato férrico de amônio por 24 horas, incubadas com calceína-AM por 30 minutos e tratadas com os quelantes. A fluorescência foi medida por 2 minutos. No experimento in vivo, camundongos C57BL/6 machos foram alimentados com dieta 0,2% de ferroceno até a 18ª semana e tratados por gavagem com veículo, DFX, C1 ou C4. Os níveis séricos de ferritina foram quantificados (ELISA) e a deposição de ferro no fígado, baço, coração e aorta foi avaliada por coloração Azul de Prússia. A análise foi feita no software ImageJ para avaliar a área com deposição de ferro. **Resultados:** Em concentrações elevadas, C1 demonstrou quelação rápida, comparável ao DFX, atingindo pico em 10 minutos. C4 apresentou atividade mais lenta, com aumento contínuo após 20 minutos. Ambos mostraram boa permeabilidade celular e removeram o ferro das células H9c2. Todos os quelantes atingiram platô em até 15 segundos, sugerindo rápida internalização e ação imediata. Na concentração de 1 μ M, C1 atingiu 118% da atividade do DFX, e C4 alcançou 108%. Após confirmação da atividade in vitro, os compostos foram analisados quanto à capacidade de reduzir níveis sistêmicos e teciduais de ferro em modelo animal. Resultados preliminares após 2 semanas mostraram tendência à redução da ferritina sérica no grupo tratado com C4 em comparação ao controle não tratado (20752 ± 221 vs. 27664 ± 4244 ng/ml). A análise histológica revelou tendência semelhante de redução do conteúdo de ferro hepático com C4 (78.8 ± 14.2 vs. 64.5 ± 4.2 μ m²) e do ferro esplênico com DFX ($32.2 \pm 8,7$ vs. 24.3 ± 3.6 μ m²). Os demais tratamentos e órgãos não foram afetados. **Discussão e Conclusão:** Os análogos de DFX mostraram-se eficazes com agentes quelantes. DFX e C1 atuaram mais rapidamente que C4 em solução, mas C1 e C4 foram mais eficientes na remoção de ferro intracelular. Apesar da curta duração do tratamento, C4 apresentou tendência à redução da ferritina e da deposição hepática, sugerindo eficácia in vivo. Estudos prolongados estão em andamento para melhor elucidar a ação de C1 e C4.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104168>

ID – 626

O EIXO SERPINA1E–HEMOGLOBINA COMO POTENCIAL MODULADOR DA RETINOPATIA FALCIFORME: EVIDÊNCIAS EM MODELO MURINO HUMANIZADO PARA DOENÇA FALCIFORME

ACL Camargo ^a, ARC Monte ^a, JNP de Castro ^a, JD Acacio ^a, FF Costa ^b, MB Melo ^a

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

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

Introdução: A retinopatia falciforme (RF) é uma complicação oftalmológica relevante da doença falciforme (DF),

caracterizada por vaso-oclusão na microvasculatura retiniana, isquemia, degeneração tecidual e neovascularização patológica, podendo evoluir para descolamento de retina e perda visual em até 20% dos pacientes. Estudos sugerem que o gene *Serpina1e* e o complexo de hemoglobinas participam de vias associadas à angiogênese, estresse oxidativo e hipóxia, estando potencialmente envolvidos na fisiopatologia da RF. **Objetivos:** Neste estudo, avaliamos alterações funcionais, estruturais e transcriptômicas na retina de camundongos HbSS-Townes, modelo murino humanizado para DF. **Material e métodos:** Fêmeas HbSS-Townes e C57BL/6J (n=10/grupo) foram submetidas a eletrorretinograma (ERG), tomografia de coerência óptica (TCO) e hemograma completo. O globo ocular foi coletado e a retina isolada para análises histológicas (hematoxilina-eosina), morfológicas (imunohistoquímica), transcriptômicas (RNA-seq) e validação gênica (RT-qPCR). A análise de genes diferencialmente expressos (GDE) foi realizada com DESeq2 (RStudio), seguida por análise de componentes principais (PCA) e heatmap (ClustVis). A análise de interação proteína-proteína e enriquecimento funcional foi conduzida com as ferramentas STRING e ShinyGO, respectivamente. **Resultados:** O grupo HbSS-Townes apresentou sinais hematológicos típicos da DF (anemia, hemólise, esplenomegalia) e disfunção visual no ERG, com redução nas amplitudes das ondas a e b. A morfologia retiniana revelou degeneração da camada nuclear interna e aumento da densidade vascular na camada de células ganglionares, sem alterações estruturais detectáveis na TCO. A expressão de marcadores de angiogênese e hipóxia (*Vegf* e *Hif2*) foi significativamente aumentada nos animais HbSS-Townes, tanto por imunomarcagem quanto por expressão gênica *Vegf* (p=0,0051) e *Hif2* (p=0,0387), indicando um microambiente retiniano hipóxico e pró-angiogênico. A análise de RNA-seq identificou 260 genes diferencialmente expressos (139 up e 121 down). A PCA e o heatmap revelaram perfis transcriptômicos nitidamente distintos entre os grupos, com assinaturas gênicas majoritariamente exclusivas. Dentre os genes mais relevantes, observou-se a regulação negativa de *Serpina1e* (FC=-1,69; p < 0,0001), *Hba-a2* (FC=-2,23; p < 0,0001) e *Hbb-bs* (FC=-3,13; p=0,10), com validação por RT-qPCR. **Discussão e Conclusão:** Esses genes estão relacionados a processos de resposta ao estresse, regulação inflamatória e manutenção da integridade vascular. A menor expressão de *Serpina1e* sugere redução da sinalização via receptores ativados por protease, com possível desregulação inflamatória e vascular. A queda na expressão dos genes do complexo de hemoglobina pode estar relacionada à intensificação da hipóxia local. Em conjunto, os dados sugerem o eixo *Serpina1e*–hemoglobina como potencial modulador da fisiopatologia da RF, com papel relevante na desregulação vascular e na progressão do dano retiniano. Nossos resultados contribuem para a compreensão das manifestações oculares na DF e indicam novas perspectivas para intervenções terapêuticas direcionadas.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104169>