

following the manufacturer's instructions. **Results:** Our findings reveal that the variant genotypes of rs4671393, rs1427407, rs11886868, and rs9399137 were significantly associated with higher HbF levels. Linear regression models revealed that all minor alleles of the four polymorphisms were associated with increased HbF levels. Among the BCL11A variants, rs1427407 exhibited the strongest effect ($p < 0.001$) and explained 7.7% of the variance in HbF levels. However, the HBS1L-MYB variant rs9399137 demonstrated the most substantial effect ($p < 0.001$), accounting for 14.9% of HbF variance, indicating a stronger regulatory influence on HbF levels. A genetic risk score (GRS) was constructed by summing the number of risk alleles (low HbF levels) present across the four SNPs evaluated. A multiple linear regression model including age and gender as covariates was statistically significant ($p < 0.001$), explaining approximately 11.5% of the variance in HbF levels. The GRS was significantly associated with HbF levels, indicating that a higher GRS was associated with lower HbF levels. These findings suggest that the cumulative effect of risk variants contributes to reduced HbF levels and may increase the risk of clinical complications. **Discussion and conclusion:** BCL11A and HBS1L-MYB polymorphisms are well-established modulators of HbF levels, and the variants analyzed here are located in regulatory regions, which likely explain their influence on HbF expression. The GRS may serve as a valuable tool for risk stratification, potentially guiding early interventions for patients lacking HbF-boosting alleles. Overall, this study underscores the clinical significance of HbF-related genetic variants for personalized management in SCA.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104094>

ID - 1105

A NOVEL BASE-EDITING STRATEGY FOR THERAPEUTIC FETAL HEMOGLOBIN REACTIVATION IN SICKLE CELL DISEASE

DG De Carvalho, PA Schuroff, LA Pereira, AB Diniz, GA Lima, KG Oliveira, KT Maio, PKM Martin, DC Torres, R Weinlich

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brazil

Introduction: Sickle cell disease (SCD) is a common monogenic disorder caused by a point mutation in the HBB gene, leading to the formation of sickle hemoglobin (HbS). Under low oxygen, HbS polymerizes, distorting red blood cells and triggering hemolysis, inflammation, and vaso-occlusion. Although allogeneic hematopoietic stem cell transplantation offers a cure, its use is limited by donor compatibility and transplant risks. Gene editing strategies that reactivate fetal hemoglobin (HbF) have emerged as promising alternatives. Among them, adenine base editors (ABEs) enable precise A-to-G conversions without inducing double-stranded breaks, lowering genotoxic risks. **Objectives:** This project focuses on developing an ex vivo ABE-based approach to upregulate HbF in human hematopoietic stem and progenitor cells (HSPCs),

mimicking naturally occurring non-deletional hereditary persistence of fetal hemoglobin (HPFH). **Material and methods:** Target sites include the HBG1/2 promoter region (−113 to −198) and the +55 and +58 erythroid enhancers of BCL11A. **Results:** We have identified HBG-123 and HBG-175 as top candidates, based on editing efficiency and HbF induction (via NGS and F-cell analysis) in CD34⁺ HSPCs. Editing efficiencies averaged 66.8% and 49.4%, resulting in HbF levels of 23.3% and 41.2%, respectively, with maintained erythroid differentiation and minimal indel formation (<1%). Further optimizations—adjusting gRNA:ABE ratios, electroporation timing, and using engineered Cas9/TadA with custom UTRs—boosted editing efficiency and HbF expression without impairing HSPC clonogenicity. Functional evaluation in single-cell colony assays with stromal co-culture, which enhances erythroid output and hemoglobinization compared to methylcellulose, enabled parallel assessment of editing and HbF expression by HPLC. Results showed strong correlation between A-to-G conversion and HbF for HBG-175 ($r=0.9$), while HBG-123 clones, though highly edited (~90%), showed more variability and lower HbF. **Discussion and conclusion:** Together, these findings establish a scalable and efficient base editing platform for HbF induction in HSPCs. We are currently performing in vivo validation and already started the development of a GMP-compliant production process. Implementing this technology in Brazil, where SCD is highly prevalent, will support local capacity-building and broaden access to advanced gene-editing therapies.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104095>

ID - 2608

ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL ISQUÊMICO E DÉFICIT COGNITIVO NA DOENÇA FALCIFORME

MJF RAMOS-REIS, LÁB FARIA, JF ZAMBIANCO, TM ROCHA, SR PIRES, MS FIGUEIREDO

Escola Paulista de Medicina (EPM), Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O declínio cognitivo (DC) tem sido relatado em pacientes com doença falciforme (DF) em crianças e adultos. A elevada frequência de manifestações cerebrovasculares na DF é considerada, em parte, como causa do DC. No entanto, ainda existe pouca informação sobre DC em adultos, embora ele comprometa as funções diárias e a aderência ao tratamento. **Objetivos:** Avaliar adultos com DF e antecedente de acidente vascular cerebral isquêmico (AVC) e sua possível correlação com o DC. **Material e métodos:** Trata-se de estudo observacional e transversal, onde foram incluídos pacientes com idade 18 anos que concordaram em participar da pesquisa. Os dados demográficos e clínicos foram coletados a partir da análise dos prontuários. Avaliação do DC foi realizada por método subjetivo. Para testar a associação entre variáveis categóricas foi utilizado o Teste Exato de Fisher e na comparação de variáveis contínuas o Teste de Wilcoxon-

Mann-Whitney. **Resultados:** Foram avaliados 19 pacientes, mediana de idade de 24 anos (IQR: 20 e 44 anos), sendo 57,9% do sexo masculino. O genótipo dominante foi anemia falciforme (SS) (89,5%). Quanto à escolaridade, 42,1% completaram o ensino médio e 26,3% não completaram o ensino fundamental. Onze pacientes (58%) apresentaram 2 AVCs, totalizando 44 eventos: 32% destes ocorreram entre 0-5 anos e 32% entre 6-10 anos. Quanto à idade do primeiro AVC, este ocorreu antes dos 10 anos em 14 (73,6%) indivíduos. Foram observados diversos graus e quantidades de problemas cognitivos como memória, afasia, atenção e as funções executivas o que prejudicam às atividades diárias. Quinze (78,9%) dos 19 pacientes apresentaram DC. Sendo que, dos 14 que tiveram o primeiro AVC até os 10 anos, 13 (92,9%) apresentaram DC. Em comparação, o DC foi observado em apenas 2 (40%) de 5 pacientes cujo primeiro AVC ocorreu após os 10 anos. Assim, observou-se forte associação entre o primeiro AVC em idade precoce e DC ($p=0,037$), com chance de desenvolver DC de 19,5x maior nestes pacientes em relação àqueles que tiveram o evento tardiamente. Não foi encontrada evidência de associação entre tempo de escolaridade formal e presença de DC ($p=0,426$). **Discussão e conclusão:** A concentração dos episódios de AVC ocorreu entre 0 e 10 anos de idade chegando a 64% da amostra. Pacientes que tiveram o primeiro AVC nessa faixa etária apresentaram maior frequência de DC. Esse dado vai ao encontro de estudo de Mualen e cols que afirmam que crianças, por estarem em formação neural, ao ter tido o primeiro AVC em tenra idade podem ter sequelas maiores e mais severas do que um adulto, por vezes, irreversíveis. Não foi possível comprovar que faltas escolares relacionadas a internações fosse um preditor de DC como Silva e Cerqueira relatam. A constatação de forte associação do primeiro AVC com DC reforça a necessidade da realização de rastreio eficaz (doppler transcraniano) dos eventos de AVC para que o futuro adulto consiga manter sua rotina diária com autonomia.

Referências:

1. Mualen R, Morales-Quezada L, Farraj RH, Shance S, Bernshtein DH, Cohen S, et al. Econeurobiology and brain development in children: key factors affecting development, behavioral outcomes, and school interventions. *Front Public Health*. 2024;12:1376075.
2. Silva MP. Desafios da inclusão escolar de crianças e adolescentes com DF em Gov. Valadares MG Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2023.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104096>

ID - 1750

ANÁLISE DE LINFÓCITOS T SENESCENTES EM PACIENTES COM DOENÇA FALCIFORME

G Hirose ^a, FA Rós ^a, KT Maio ^a, SCF Couto ^{a,b}, V Rocha ^{a,b,c}

^a Laboratório Investigação Médica em Patogênese e Terapia dirigida em Onco-Imuno-Hematologia (LIM-

31) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, SP, Brasil

^b Fundação Pró-Sangue – Hemocentro de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

^c Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O acúmulo de células imunes senescentes (CISs) é um processo naturalmente observado durante o envelhecimento. CISs são caracterizadas de forma geral como células não proliferativas, e que exibem alterações fenotípicas, metabólicas e funcionais. No entanto, vários estudos relataram um acúmulo precoce de CISs, particularmente linfócitos T senescentes (Tsen), em pacientes afetados por doenças associadas à inflamação crônica, como câncer, artrite reumatoide e infecção por HIV. Nesse contexto, a doença falciforme (DF) se destaca enquanto doença hereditária de natureza pró-inflamatória crônica. Em pacientes falciformes, um ciclo de eventos que incluem a falcização das hemácias, hemólise, estresse oxidativo, ativação endotelial e imune, vaso-oclusão e isquemia e reperfusão leva à instalação de um estado inflamatório crônico de caráter cíclico. Apesar de alguns estudos demonstrarem encurtamento telomérico de células mononucleares do sangue periférico (PBMcs) de pacientes com DF, o perfil de senescência linfocitária nesses indivíduos permanece mal caracterizado. **Objetivos:** Por isso, esse estudo avaliou a presença de células Tsen CD4+ e CD8+ entre PBMcs de pacientes com DF ($n=23$; mediana de idade: 31 anos) tratados com hidroxiureia, regime de transfusão crônica ou uma combinação dos dois, e de doadores de sangue saudáveis (CTL, grupo controle) ($n=14$; mediana de idade: 38 anos). **Material e métodos:** As células senescentes foram definidas segundo seu perfil imunofenotípico que reúne os principais marcadores de superfície associados à senescência de células T: CD27, CD28, CD57 e KLRG1. Inicialmente, foram consideradas Tsen as células com imunofenotipo CD3+CD4+ ou CD3+CD8+ somado a CD27-CD28-CD57+KLRG1+. Adicionalmente, foi analisada a presença da enzima β -galactosidase, cuja atividade é associada à senescência celular (SA- β -Gal, do inglês senescence-associated β -galactosidase), também por citometria de fluxo. **Resultados:** Resultados preliminares mostraram que pacientes com DF apresentam menor porcentagem de células T CD3+ ($25,73\% \pm 8,865$) em comparação aos CTL ($44,73\% \pm 7,901$) e menor proporção de células Tsen CD4+ ($1,191\% \pm 2,254$) e Tsen CD8+ ($12,77\% \pm 8,079$) em relação ao CTL (CD4+ $3,83\% \pm 5,42$; CD8+ $16,91\% \pm 11,49$). Curiosamente, foi observada uma maior porcentagem de células T CD4+ e CD8+ SA- β -Gal+ em pacientes com DF ($16,09\% \pm 8,993$ e $25,19\% \pm 13,61$, respectivamente) quando comparado aos CTL ($12,94\% \pm 4,396$ e $21,87\% \pm 4,602$, respectivamente). **Discussão e conclusão:** Esses achados sugerem que a DF, ou seus regimes de tratamento, podem alterar a dinâmica normal de populações de células Tsen em comparação aos indivíduos saudáveis. Contudo, é essencial aumentar o tamanho amostral dos grupos de pacientes e doadores saudáveis para permitir a estratificação por idade e protocolos de tratamento dos pacientes, possibilitando uma compreensão mais clara e abrangente do fenômeno biológico observado. FAPESP (2024/08708-7).

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104097>