

evitar complicações que possam comprometer o quadro de saúde e qualidade de vida.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104196>

ID - 1647

TISSUE IRON AND INFLAMMATORY STRESS MAY IMPAIR ERYTHROID MATURATION AND CONTRIBUTE TO ANEMIA IN SICKLE CELL DISEASE

PL Brito, ÉFG Azevedo, LSF Gushiken, FC Leonardo, N Conran, FF Costa

Centro de Hematologia e Hemoterapia da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

Introduction: Sickle cell disease (SCD) is a hereditary hemoglobinopathy typified by chronic hemolytic anemia, recurrent vaso-occlusive crises, and progressive multi-organ damage. In patients, iron overload and hemosiderosis typically results from frequent blood transfusions. However, tissue iron accumulation is observed in SCD model mice, suggesting that intrinsic mechanisms may contribute to iron dysregulation in SCD, in addition to transfusion therapy. Inflammatory signaling may drive iron sequestration in macrophages, restricting availability for erythropoiesis and contributing to erythroid maturation arrest. **Objectives:** Assess in vivo erythroid lineage development and iron tissue distribution in SCD mice. **Material and methods:** Bone marrow and spleen cells were collected from homozygous Townes SCD mice (HbSS) and hemizygous control mice (HbAS) for analysis of erythroid cell populations by flow cytometry. For this, cells were gated based on forward and side scatter (FSC/SSC) properties and stained with antibodies against glycophorin A (TER119) and transferrin receptor (CD71) to define early progenitors, differentiating erythroblast and late erythroid subsets. Pro erythroblasts (ProE) and differentiating erythroblasts (EryA, EryB, and EryC) were identified based on their distinct FSC/SSC profiles and expression pattern of TER119/CD71. Reticulocyte counts in peripheral blood samples were determined by flow cytometry using anti-CD71 and thiazole orange dye. Blood counts were assessed using an automated hematology analyzer. Hemosiderin was quantitated in liver sections stained with Prussian blue dye. Serum IL-6 was measured by ELISA. **Results:** HbSS mice displayed elevated leucocyte and platelet counts, and increased IL-6 levels, consistent with systemic inflammation. In addition, reticulocytes were significantly increased in HbSS mice, indicating anemia and erythropoietic stress. Flow cytometry analysis of the bone marrow revealed expansion of early erythroid progenitor populations (TER119-CD71+), including ProE, and precursors (Ter119+CD71+), suggesting a strong compensatory erythropoietic drive. Although SCD mice exhibited an increased frequency of early erythroblasts (EryA), they showed a significant reduction in late-stage erythroblasts (EryC), compared to HbAS control mice. Data indicate that erythroid precursors in the bone marrow of SCD may fail to fully mature or function properly, consistent with

features of ineffective erythropoiesis (IE). Given that chronic anemia and bone marrow dysfunction often lead to compensatory extramedullary erythropoiesis, a hallmark of IE, we further analyzed the erythroid cell population in the spleen. In SCD mice, we observed an increase in the early and differentiating erythroid subsets, EryA and EryB, accompanied by a reduction in mature EryC. This skewed maturation profile in the spleen further reflects ongoing compensatory extramedullary erythropoiesis and supports the presence of IE in SCD. Histological analysis of liver sections showed increased hemosiderin depositions of SCD mice, suggesting abnormal iron storage in parenchymal tissues. This tissue iron retention often results from sustained erythrophagocytosis and altered iron recycling due to inflammation and hemolysis. **Discussion and conclusion:** Our findings suggest that ineffective erythropoiesis in SCD mice, associated with systemic inflammation and increased hepatic iron deposition, may contribute to the worsening of chronic anemia and the pathophysiological progression of SCD. #Grant: 2024/10726-3, FAPESP.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104197>

ID – 2429

TRANSDUÇÃO DE CÉLULAS CD34+ SAUDÁVEIS UTILIZANDO OS VETORES LENTI-VP64 E LENTI-VP64+BCL11A PARA INDUÇÃO DE HEMOGLOBINA FETAL COMO ESTRATÉGIA DE TRATAMENTO DA DOENÇA FALCIFORME UTILIZANDO TERAPIA GÊNICA

FA Rós^a, SCF Couto^b, G Hirose^a, T Matoso^a, ELMM Matsumura^{a,c}, RR Almeida^{a,c}, V Picanço-Castro^d, V Rocha^{a,b,e}

^a Laboratório Investigação Médica em Patogênese e Terapia dirigida em Onco-Imuno-Hematologia (LIM31) 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 Laboratório de Imunologia, INCOR, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, SP, Brasil

^d Hemocentro de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brasil

^e Instituto D'Or de Ensino e Pesquisa, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A terapia gênica para tratamento da Doença Falciforme (DF) tornou-se uma realidade após aprovação de dois produtos comerciais, pelas agências reguladoras dos EUA (FDA) e União Européia (EMA). Entretanto, essas aprovações revelaram um novo obstáculo para o acesso dos pacientes - o elevado custo. Estimado em \$ 3.1 milhões para o Lovotibeglogene autotemcel (Lyfgenia, bluebird bio, Inc, EUA), o produto é inacessível para a maioria dos pacientes, sobretudo em países de média e baixa renda, nos quais a DF é mais prevalente. No Brasil, onde os produtos ainda não estão aprovados, a

realidade não é diferente. A disponibilidade desse tratamento, potencialmente curativo, parece depender de iniciativas nacionais que desenvolvam produtos de terapia gênica com custo reduzido. **Objetivos:** Com isso, esse projeto desenvolveu dois vetores lentivirais (Lenti-VP64 e Lenti-VP64+BCL11A) para reativar a expressão do gene endógeno da gama-globina utilizando um ativador transcricional acrescido ou não de um mecanismo de modificação pós-transcricional. Ambos os vetores possuem EGFP como gene repórter. **Material e métodos:** Foram realizadas a produção das partículas lentivirais e a padronização da transdução de células-tronco e progenitores hematopoiéticos (CD34+) do sangue mobilizado de doadores saudáveis (DS) utilizando 8 diferentes condições de transdução ($n=3$) e cinco diferentes multiplicidades de infecção (MOI) ($n=4$). **Resultados:** Resultados demonstraram a viabilidade de produção dos dois vetores em altos títulos, utilizando células HEK293T. A transdução de células CD34+ de DS apenas com os vetores (MOI10) resultou em $5,49\% \pm 1,04$ de CD34+GFP+ após 48 horas para o Lenti-VP64 e $7,4\% \pm 1,75$ para o Lenti-VP64+BCL11A. O uso dos vetores em poços tratados com retronectina elevou a porcentagem de CD34+GFP+ para $19,3\% \pm 7,28$ com o Lenti-VP64 e $21,0\% \pm 8,29$ com o Lenti-VP64+BCL11A. A retronectina associada ao sulfato de protamina não se mostrou diferente da condição anterior com $20,3\% \pm 8,49$ de CD34+GFP+ com o Lenti-VP64 e $20,3\% \pm 7,72$ com o Lenti-VP64+BCL11A. A adição do Poloxamer Synperonic F108 aos vetores e ao sulfato de protamina apresentou a maior porcentagem de células CD34+GFP+ observada para o Lenti-VP64 e o Lenti-VP64+BCL11A, com $33,20\% \pm 3,55$ e $36,8\% \pm 5,12$, respectivamente. A adição da retronectina à condição anterior não resultou em melhoria na taxa de transdução. Em seguida, foram testados os MOI de 2,5; 5; 10; 20 e 40 de cada vetor em células CD34+ de DS ($n=4$). O MOI de 2,5 resultou em $35,45\% \pm 7,03$ para o Lenti-VP64 e $42,7\% \pm 13,65$ o Lenti-VP64+BCL11A. O MOI de 5 elevou a porcentagem de CD34+GFP+ para $54,45\% \pm 10,81$ com o Lenti-VP64 e $54,4\% \pm 10,92$ com o Lenti-VP64+BCL11A. Utilizando o MOI 10 foram obtidas $62,2\% \pm 8,64$ e $64,25\% \pm 8,92$ CD34+GFP+ com os Lenti-VP64 e o Lenti-VP64+BCL11A, respectivamente. Os MOI de 20 e 40 não resultaram em aumento na taxa de transdução quando comparado ao MOI 10. Não foi observada uma intensa redução de viabilidade celular em nenhuma das condições. **Discussão e conclusão:** Em conclusão, os resultados demonstram que os vetores Lenti-VP64 e Lenti-VP64+BCL11A são capazes de transduzir células CD34+ de DS. A transdução utilizando sulfato de protamina e poloxamer associado aos vetores foi a mais eficiente. O MOI 10 foi capaz de gerar altas porcentagem de células GFP+ e será utilizado nas etapas seguintes do projeto, nas quais analisaremos a capacidade dos transgenes de aumentar a expressão de HbF em células de DS e células de pacientes com DF. FAPESP (2022/07503-7), CTC (2013/08135-2) e CAPES.

ID - 3250

TRATAMENTO DA ANEMIA HEMOLÍTICA NO BRASIL: ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA DAS INTERNAÇÕES DE 2014 A 2024

RN Ruschel^a, AFB de Oliveira^a, E Capovilla^a, LF Proença^a, MS Gonçalves^a, MY de Castro^a, MZ Vianna^a, BS Cimirro^a, JWDO Romanov^b

^a Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC-RS), Porto Alegre, RS, Brasil

^b Hospital São Lucas da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUC-RS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: A anemia hemolítica é caracterizada pela hemólise prematura dos eritrócitos. A hemólise pode ocorrer tanto intravascular, quanto extravascular, os mecanismos incluem defeitos intrínsecos nas hemácias e fatores extrínsecos. Trata-se de um grupo heterogêneo de doenças cujo tratamento deve ser individualizado conforme as características de cada paciente. **Objetivos:** Analisar a epidemiologia das internações para o tratamento da anemia hemolítica no Brasil entre 2014 e 2024. **Material e métodos:** Estudo descritivo, retrospectivo e quantitativo com base nos dados secundários fornecidos pelo Sistema de Informações Hospitalares (SIH), do Departamento de informática do SUS (DATASUS). Neste estudo, foram incluídos dados referentes às internações para o tratamento da anemia hemolítica. **Discussão e conclusão:** No período analisado foram registradas 158.198 internações para o tratamento da anemia hemolítica. Em relação ao caráter das internações 90,52% ($n=143.213$) foram em regime de urgência e 9,47% ($n=14.985$) foram eletivas. O ano de 2024 concentrou a maioria das internações ($n=17.227$; 10,88%), representando um aumento de 34,23% em relação a 2014 ($n=12.833$). A média de crescimento anual das internações foi de 3,83%. O ano de 2020 ($n=11.544$) registrou a maior queda em relação ao ano anterior, com 26,91% menos internações que em 2019 ($n=15.793$), possivelmente devido à pandemia de Covid-19. O Sudeste ($n=76.538$; 48,38%) apresentou o maior número internações, seguido pelo Nordeste ($n=46.793$; 29,57%), pelo Centro-Oeste ($n=12.949$; 8,18%), pelo Sul ($n=11.784$; 7,44%) e pelo Norte ($n=10.134$; 6,40%). Em relação a taxa de mortalidade, o Norte registrou a maior taxa (2,62%), seguido do Sul (2,52%), do do Nordeste (1,95%), do Sudeste (1,85%), e do Centro-Oeste (1,68%). A taxa de mortalidade média do país, no período, foi de 1,97%. A permanência média foi de 6,1 dias. As regiões Sudeste (6,2 dias), Nordeste (6,1 dias), Norte (6 dias), Centro-Oeste (5,9 dias) permaneceram próximas da média, apenas o Sul (5,2 dias) distanciou-se da média nacional. O Sul registrou o maior valor médio de permanência (R\$580,38), seguido do Sudeste (R\$528,95), Centro-Oeste (R\$495,35), Nordeste (R\$456,56) e Norte (R\$452,16). As internações para tratamento da anemia hemolítica ocorreram