

ID - 29

AVALIAÇÃO DO PERFIL DOS SUBTIPOS DE CÉLULAS NATURAL KILLER ESTIMULADAS COM INTERLEUCINAS EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA

TH Luizete, SO Rodrigues, SCSV Tanaka,
MM Daflon, RA Olivo, H Moraes-Souza,
ACDM Carneiro, FB de Vito

Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM),
Uberaba, MG, Brasil

Introdução: As células natural killer (NK) estão diretamente ligadas ao combate às células tumorais, podendo ser classificadas de acordo com a expressão de CD56. As NKs conhecidas como CD56dim possuem uma baixa expressão de CD56 e contêm maior concentração de grânulos citotóxicos, além de ser predominante (90%) na circulação do sangue periférico. Já as NKs CD56bright, tem alta expressão de CD56, são equivalentes a cerca de 10% da população de células NKs e têm como principal função a produção de citocinas. **Objetivos:** Quantificar, em pacientes com LMC, o número de células NK e os seus subtipos em níveis basais e após estímulo com IL-2 e IL-15, comparando entre as fases da doença. **Material e métodos:** Células mononucleadas do sangue periférico (PBMCs) de pacientes com LMC foram separadas por meio do gradiente de densidade e mantidas em cultura sem estímulo, com estímulo de IL-2 (1000U) e estímulo com IL-15 (1000U), em triplicatas a 37°C por 72h, em meio RPMI. Após o período de incubação, as células foram marcadas com anti-CD3 e anti-CD56 e as células NK foram identificadas como CD3-CD56+. Foram adquiridos 1000 eventos em citômetro de fluxo e avaliado o percentual de células que expressavam baixa e alta expressão de CD56. **Resultados:** Não foi observada diferença significativa no número de células NK totais em relação à presença ou não dos estímulos. Entretanto, em células estimuladas seja com IL-2 ou IL-15 observou-se uma maior quantidade de células NKbright e uma menor quantidade de células NKdim, comparado aos níveis basais. Em relação às fases da doença, houve um maior número de células NKbright nos pacientes em fase de transformação do grupo após estímulo IL-2 ($p=0,0004$) comparado ao estado crônico, porém sem diferença no número de células NKdim. Já em células estimuladas com IL-15, houve um aumento tanto de NKbright ($p=0,0249$), quanto de NKdim ($p=0,0252$) em paciente na fase de transformação comparados àqueles em fase crônica. **Discussão e conclusão:** Os dados indicam que a estimulação com IL-2 e IL-15 não alterou o número total de células NK, mas promoveu aumento da subpopulação NKbright e redução da NKdim. Esse perfil sugere uma ativação diferencial induzida pelas interleucinas, com possível mudança funcional das células NK. Pacientes na fase de transformação apresentaram maior frequência de células NKbright após estímulo com IL-2, enquanto o estímulo com IL-15 promoveu aumento tanto de NKbright quanto de NKdim em comparação com pacientes em fase crônica. Esses achados apontam para um perfil imunológico mais ativado em fases avançadas da LMC, especialmente sob estímulo com IL-15, o que pode ter relevância para estratégias terapêuticas

baseadas em imunomodulação. Os resultados demonstraram que, embora IL-2 e IL-15 não alterem o número total de células NK em pacientes com LMC, ambas as interleucinas modulam o perfil fenotípico dessas células, promovendo aumento da subpopulação NKbright. A IL-2 mostrou efeito mais seletivo, enquanto a IL-15 induziu ativação mais ampla, especialmente em pacientes na fase de transformação da doença. **Financiamento:** UFTM, FAPEMIG e CNPq.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104401>

ID - 564

BARREIRAS DE ACESSO E PADRÕES DE TRATAMENTO EM NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS CROMOSSOMO PHILADELPHIA NEGATIVAS (PH-NMP): INSIGHTS DE UMA PESQUISA COM MÉDICOS BRASILEIROS

CM Barbosa Jr^a, CA Souza^b, MJ Junior^b,
R Dalfeor^c, M Guaraná^d, C Solza^a

^a Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE),
Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio
de Janeiro, RJ, Brasil

^b Departamento de Tecnologias da Informação e
Educação em Saúde, Universidade do Estado do Rio
de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^c Centro de Tratamento Oncológico (CENTRON), Rio
de Janeiro, RJ, Brasil

^d Hospital Universitário Gaffrée e Guinle (HUGG),
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
(UNIRIO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: O manejo eficaz das neoplasias mieloproliferativas cromossomo Philadelphia negativas (Ph- NMPs) — policitemia vera (PV), trombocitemia essencial (TE) e mielofibrose (MF) — exige diagnóstico preciso e terapias personalizadas. Compreender as práticas clínicas reais é crucial para identificar lacunas no acesso a diagnósticos e tratamentos, especialmente em ambientes com recursos limitados. **Objetivos:** Realizar uma pesquisa entre hematologistas brasileiros avaliando suas práticas atuais e potenciais desafios no manejo de pacientes com Ph- NMPs. **Material e métodos:** De março a julho de 2025, um questionário anônimo, digital, com 31 perguntas, foi distribuído entre hematologistas por todo o Brasil. O questionário avaliou o perfil dos médicos e médicas, procedimentos diagnósticos e decisões terapêuticas relacionadas a Ph-NMPs. Os dados foram coletados utilizando a plataforma REDCap. **Resultados:** Recebemos 128 respostas ao longo dos 5 meses. Entre os participantes, 41% tinham mais de 15 anos de experiência na hematologia, 15% atendiam mais de 30 pacientes com Ph- NMPs por mês e 81% eram da Região Sudeste do Brasil. Destes, 21% trabalhavam em uma unidade pública, 21% em uma unidade privada e 58% em ambas. A maioria (69%) não tinha ambulatório específico para pacientes com Ph- MPN em seu centro e 21% não tinham acesso a um hematopatologista para enviar amostras de medula óssea. Enquanto quase todos tinham acesso a testes para pesquisa

da mutação em JAK2, 27% não tinham acesso a exames para pesquisa de CALR e MPL, enquanto 47% possuíam apenas no ambiente privado. O sequenciamento de nova geração (NGS) não estava disponível para 60% dos profissionais. Apesar de quase todos possuírem acesso ao exame de cariótipo, quase 30% não o solicitam no diagnóstico. Apenas 12,5% usam o escore MPN SAF para avaliar a carga de sintomas de seus pacientes. Em relação a MF secundária, a minoria (22%) utiliza o escore MYSEC para estratificação de risco. Quando questionados acerca do manejo de trombose venosa profunda em pacientes com Ph- NMPs, houve grande discordância entre as respostas, com a maioria preferindo anticoagulação contínua (30%) ou mudando a conduta de acordo com a estratificação de risco (30%). Para o tratamento da MF, os inibidores de JAK2 estão disponíveis quase exclusivamente em ambientes privados (67%). Para pacientes com MF de alto risco, 79% dos entrevistados consideraram o transplante alogênico de medula óssea como uma opção de tratamento. Em relação aos desafios no manejo das Ph- NMPs, 82% citaram a solicitação de exames moleculares e genéticos como a principal dificuldade, enquanto 71% identificaram o acesso a terapias mais recentes. **Discussão e conclusão:** Este é o primeiro levantamento brasileiro sobre o manejo de pacientes com Ph- NMPs. Ele destaca dificuldades no acesso a diagnóstico e tratamento, particularmente no sistema público de saúde. Além disso, destaca a subutilização de questionários de sintomas na avaliação dos pacientes, assim como discordância de condutas em alguns cenários clínicos, como por exemplo na anticoagulação de pacientes com Ph- NMPs. Os dados ainda estão sendo coletados, com a expectativa de números mais robustos para análises futuras. Essas informações podem nos ajudar a compreender não apenas nossas práticas como médicos brasileiros, mas também possíveis lacunas de conhecimento e os principais problemas de acesso.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104402>

ID - 1123

BCR-ABL1 KNOCKDOWN IN LEUKEMIC CELLS USING A HYBRID NANOPARTICLE-BASED siRNA DELIVERY STRATEGY

MM Vernaschi^a, F Pittella^b,
TB Creczynski-Pasa^a

^a Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC),
Florianópolis, Brazil

^b Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de
Fora, Brazil

Introduction: Chronic myeloid leukemia (CML) is a myeloproliferative neoplasm characterized by the presence of the mutant BCR-ABL1 gene, which encodes a constitutively active tyrosine kinase that drives uncontrolled cell proliferation. Despite the efficacy of tyrosine kinase inhibitors (TKI), the development of resistance remains a major therapeutic challenge. Therefore, there is a growing interest in alternative strategies to enhance treatment success in CML. In this context, small interfering RNA (siRNA) have garnered attention due to their ability to induce gene knockdown selectively.

However, efficient delivery systems are essential to ensure that siRNA reach target cells intact. Considering these factors, hybrid nanoparticles (HNP) emerge as a potential platform for siRNA encapsulation and delivery, given their high biocompatibility and versatility. **Objectives:** This study aimed to induce knockdown of the BCR-ABL1 gene in K562 cells using nanoencapsulated siRNA, and to evaluate both the delivery efficiency to target cells and the safety profile of the HNP used as delivery vehicle. **Material and methods:** HNP were synthesized via self-assembly from the stoichiometric mixing of two buffer solutions containing CaCl₂, TRIS-HCl (pH 7.4), HEPES (pH 7.4), Na₃PO₄, polyethylene glycol, and siRNA. Particle morphology was assessed by dynamic light scattering (DLS) and transmission electron microscopy (TEM). siRNA delivery was evaluated by fluorescence microscopy in K562 (CML), HS-5 (bone marrow stroma), and HUVEC (vascular endothelium) cell lines using the BLOCK-iT™ Alexa Fluor® Red Fluorescent Control kit. The cytotoxicity of empty nanoparticles (Mock HNP) was assessed in the same cell lines using the CellTiter 96® Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay after 24, 48, and 72 hours of incubation. Additionally, a novel siRNA sequence targeting BCR-ABL1 was designed and encapsulated, and its gene silencing efficacy was evaluated in K562 cells via RT-qPCR after 24 and 48 hours of incubation. **Results:** The synthesized HNP had an average diameter of 54.4 nm and appeared spherical under TEM. Fluorescence microscopy confirmed that HNP successfully delivered the nucleotides into target cells. Mock HNP exhibited low cytotoxicity, with a decrease in cell viability observed only at higher concentrations, above 1200 nM, after 48 and 72 hours in HUVEC and HS-5 cells. In K562 cells, no significant reduction in viability was observed at any concentration or time point tested. Finally, RT-qPCR analysis showed that the designed siRNA, at a concentration of 200 nM, reduced BCR-ABL1 expression by 48% after 24 hours and by 56% after 48 hours of incubation. **Discussion and conclusion:** The results demonstrate that the synthesized HNPs exhibit suitable morphology, low cytotoxicity, and efficient siRNA delivery to target cells, including those relevant to the CML microenvironment. Moreover, the novel siRNA sequence effectively silenced the target gene in leukemic cells that comprise a liquid tumor type. These findings support the conclusion that the synthesized HNP proved to be a safe and effective system for delivering siRNA targeting BCR-ABL1, leading to significant gene silencing in CML cells. These results highlight the potential of this approach for RNA-based therapies, especially in overcoming resistance to TKI.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104403>

ID - 2192

BICITOPENIA E COMPLICAÇÕES HEMORRÁGICAS EM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA (LMC) E TRAUMATISMO CRANIOENCEFÁLICO

RA Martini, RAT Takaes, JMTD Souza,
CZP Ferreira, IDB Bini, MV Galvan,
MBB Stricker, CAd Souza, MAF Chaves,
MC Capelin