

necessidade de recoletas. Os resultados obtidos estão alinhados aos achados de Javed et al. (2023), que, em estudo com 1.061 aspirados de medula óssea para citogenética, observaram taxas de falha de até 20% em contextos onco-hematológicos, reforçando que a qualidade e adequação da amostra são fatores críticos para o êxito da análise. A seleção criteriosa do material, considerando as características da amostra, a hipótese diagnóstica e as condições de transporte e processamento, pode aumentar expressivamente a taxa de sucesso das culturas citogenéticas, melhorando a acurácia diagnóstica e a tomada de decisão clínica.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105175>

ID - 2634

IMPACTO DA FORMAÇÃO DE REDES EXTRACELULARES DE NEUTRÓFILOS (NETS) NO PERFIL CLÍNICO-LABORATORIAL DE PACIENTES COM MIELOMA MÚLTIPLO

DFV Ramos^a, ASS Duarte^b, SSC Sampaio^a, STO Saad^b, FV Pericole^b, M Lazarini^a

^a Departamento de Oncologia Clínica e Experimental, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

^b Centro de Hematologia, Universidade de Campinas (Unicamp), Campinas, SP, Brasil

Introdução: As redes extracelulares de neutrófilos (NETs) são estruturas que neutralizam patógenos para prevenir infecções. No entanto, também estão envolvidas como mediadoras de processos inflamatórios não infecciosos, como o câncer. Evidências sugerem que distúrbios clonais de plasmócitos surgem em um contexto de inflamação crônica, levando à disfunção imunológica. Porém, a presença de NETs em mieloma múltiplo (MM) não está esclarecida. **Objetivo:** Quantificar a formação de NETs em MM e relacioná-la com achados clínicos e laboratoriais. **Material e método:** Foram incluídos 13 pacientes recém-diagnosticados com MM (idade mediana de 64 anos; 7H/6M) e 7 com gamopatia monoclonal de significado indeterminado (MGUS) (64 anos; 4H/3M). Onze doadores saudáveis (HD) (50 anos; 2H/9M) participaram como controles. Pacientes com MM foram classificados de acordo com o Sistema Internacional de Estadiamento (ISS). Os neutrófilos foram isolados de sangue periférico por gradiente de densidade. A pureza celular foi avaliada por citometria de fluxo com os marcadores CD66b, CD3/CD19 e CD14, variando entre 85% e 98%. A formação de NETs *in vitro* foi induzida ou não com PMA por 3 horas. NETs foram identificadas por microscopia confocal usando marcador nuclear (Hoechst) e anticorpos contra histona e elastase e quantificados de forma cega com base na morfologia celular. Aglomerados de NETs foram contados separadamente. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Institucional. **Resultados:** Pacientes com MM apresentaram maior porcentagem de NETs (mediana 36,1; intervalo 3,6–100) em comparação aos HD (3,2; 0–15; $p=0,0003$). Pacientes com MGUS também apresentaram

aumento na formação de NETs comparado aos controles (27,8; 11,3–31,0; $p=0,006$). A porcentagem de aglomerados de NETs foi maior nos pacientes com MM em relação aos pacientes com MGUS ou aos controles (MM: 3,3; 0–15,4; MGUS: 0; 0–2,8; HD: 0; 0–5; $p=0,013$). Pacientes com MM em estágio ISS-I apresentaram menor formação de NETs (10,7; 3,6–45,5; $n=4$) do que os pacientes em estágio ISS-III (40,0; 16,7–100; $n=9$; $p=0,047$). A porcentagem de NETs correlacionou positivamente com a infiltração de plasmócitos na medula óssea ($r=0,57$; $p=0,044$), com os níveis de $\beta 2$ -microglobulina ($r=0,73$; $p=0,006$), e negativamente com os níveis de albumina ($r=-0,64$; $p=0,020$) e hemoglobina ($r=-0,68$; $p=0,012$) em MM. Três concentrações de PMA (10 η M, 25 η M, 50 η M) foram inicialmente testadas em amostras de HD para indução de NETs, sendo a dose mais alta escolhida para os experimentos subsequentes. A estimulação com PMA aumentou significativamente a formação de NETs em todos os grupos, em comparação com as amostras não estimuladas ($p < 0,05$), sem diferença entre os grupos. Três pacientes com MM (1 ISS-I, 2 ISS-III) foram reavaliados após receberem terapia de indução com VTd, todos alcançando resposta parcial muito boa e aumento na porcentagem de NETs (mediana 16,7 ao diagnóstico vs. 96,9 pós-tratamento; $p=0,011$). **Discussão e conclusão:** Nossos achados indicam aumento na formação de NETs em distúrbios de células plasmáticas. Houve aumento em aglomerados de NETs em MM em comparação a MGUS e HD. A porcentagem de NETs foi associada à carga tumoral, incluindo infiltração de plasmócitos e estadiamento ISS. O aumento de NETs aqui observado deve ser decorrente do microambiente inflamatório da medula óssea, característico de distúrbios clonais de células plasmáticas, especialmente em mieloma. O aumento de NETs após a indução sugere efeito da quimioterapia na atividade dos neutrófilos e/ou dano celular. **Financiamento:** CAPES, CNPq e FAPESP.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105176>

ID - 2925

IMPACTO TRANSCRIPTÔMICO DO SILENCIAMENTO DE RHOA OU RHOC EM CÉLULAS DE LMA

MCC Ramalho^a, SS Mosna^a, AS Duarte^b, STO Saad^b, M Lazarini^a

^a Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

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

Introdução: As RHO GTPases RHOA e RHOC são proteínas essenciais envolvidas na regulação do citoesqueleto e motilidade celular, influenciando processos como migração, adesão e controle do ciclo celular. A expressão desregulada dessas proteínas têm sido associada à proliferação e metástase em diversos cânceres, incluindo neoplasias hematológicas. Embora altamente homólogas, RHOA e RHOC desempenham funções distintas em células hematopoéticas, evidenciando

a especificidade destas proteínas. **Objetivo:** Investigar as funções específicas de RHOA ou RHOC em células de leucemia mieloide aguda OCI-AML 3 através de análise do transcriptoma. **Material e método:** A ferramenta de silenciamento gênico baseada em lentivírus (shRNA) foi utilizada para silenciar as células OCI-AML3 para RHOA ou RHOC por meio de um lentivírus específico. Células transduzidas com um lentivírus controle (shCTRL) foram utilizadas para comparação. A análise global de expressão gênica (RNA-seq) foi realizada nas linhagens celulares silenciadas para explorar as vias de sinalização associadas a esses genes. As análises bioinformáticas geraram uma lista de genes diferencialmente expressos (DEGs) definidos como estatisticamente significativos em $p < 0,05$ ($FDR \leq 0,05$). **Resultados:** O silenciamento de RHOA resultou em 165 genes diferencialmente expressos (100 regulados positivamente e 65 negativamente), enquanto o silenciamento de RHOC levou à alteração de 48 genes (15 regulados positivamente e 33 negativamente). Ao todo, 14 genes foram encontrados desregulados em comum nas duas condições. O perfil transcriptômico indicou a modulação de mecanismos adaptativos para a manutenção da sobrevivência das células leucêmicas frente ao estresse provocado pelo silenciamento destas proteínas. A análise de enriquecimento funcional revelou que RHOA e RHOC modulam vias associadas à proliferação celular, metabolismo, estresse oxidativo, e inflamação. A regulação diferencial de genes associados à reorganização do citoesqueleto evidencia o papel central de RHOA e RHOC em células mieloides. Entre os genes diferencialmente expressos, destaca-se FMNL1, um regulador fundamental da morfogênese celular e da polimerização da actina, que interage com GTPases da família RHO e integra redes regulatórias relacionadas a processos críticos na leucemia. **Discussão e conclusão:** Nossos dados indicam que RHOA e RHOC desempenham funções distintas por meio da regulação de redes gênicas específicas em células mieloides. O silenciamento dessas proteínas ativa mecanismos adaptativos para manutenção da sobrevivência celular, evidenciando sua influência em células leucêmicas. Esses achados ampliam o entendimento dos papéis específicos de RHOA e RHOC na leucemia mieloide aguda e contribuem para a elucidação dos mecanismos moleculares envolvidos na patogênese da doença.

Referências: de Castro Sampaio SS, Ramalho MCC, Souza CS, Rodrigues BA, Mendonça GRS, Lazarini M. RHO subfamily of small GTPases in the development and function of hematopoietic cells. *J Cell Physiol*. 2025;240:e31469.

Eckenstaler R, Hauke M, Benndorf RA. A current overview of RhoA, RhoB, and RhoC functions in vascular biology and pathology. *Biochem Pharmacol*. 2022;206:115321.

Favaro P, Traina F, Machado-Neto JA, et al. FMNL1 promotes proliferation and migration of leukemia cells. *J Leukoc Biol*. 2013;94:503-12.

Haga RB, Ridley AJ. Rho GTPases: Regulation and roles in cancer cell biology. *Small GTPases*. 2016;7:207-21

ID - 1848

IMUNOMODULAÇÃO COM B-GLUCANAS INFLUENCIA A EXPRESSÃO DE QUIMIOCINAS PLASMÁTICAS APÓS PRIMOVACINAÇÃO PARA COVID-19

BF Pegatin, MA Golim, AMM Braz, FR Rocha, PVO Falbo, J Olbrich-Neto, RS Ferreira Júnior

Faculdade de Medicina de Botucatu, Botucatu, SP, Brasil

Introdução: Diferentes estratégias visam contribuir para o aumento da eficácia das vacinas, incluindo o uso de imunomoduladores como β -glucanas. Estas biomoléculas naturais são polissacarídeos derivados da parede celular de leveduras ou bactérias, capazes de promover imunidade treinada (TRIM, Trained Immunity), mecanismo que ativa as células imunes inatas induzindo uma resposta imune secundária mais vigorosa e eficaz. **Objetivo:** Avaliar a capacidade imunomoduladora de β -glucanas oralmente administradas na produção de quimiocinas após primovacinação para COVID-19 com o imunizante ChAdOx-1 nCoV-19. **Material e método:** Foram avaliados 28 homens (não vacinados/naïve para SARS-CoV-2), os quais foram divididos em dois grupos conforme suplemento administrado por 14 dias consecutivos (com início 7 dias antes da primeira dose da vacina), sendo os grupos: glucana ($n=16$) e controle ($n=12$). Foram coletadas amostras de sangue periférico em três timepoints: pré-vacinação (PV) e 30 dias após cada dose de vacina, primeira dose (1D) e segunda dose (2D). Foram quantificados os níveis plasmáticos das quimiocinas IL-8, RANTES, MIG, MCP-1 e IP-10 utilizando CBA Human Chemokine Kit® (BD) por citometria de fluxo. **Resultados:** Nas análises comparativas entre os grupos não foram observadas diferenças significativas, contudo na avaliação pareada dos timepoints do mesmo indivíduo, observou-se, no grupo glucana, aumento significativo de IP-10 ($p=0,0216$) e RANTES ($p=0,0202$) após 1D e, de MIG após 2D ($p=0,0386$). Já IL-8 teve diminuição após 2D ($p=0,0413$). No grupo controle a redução de IL-8 foi vista já em 1D ($p=0,004883$) comparada a PV. As demais variáveis não diferiram significativamente. **Discussão e conclusão:** Quimiocinas atuam modulando as respostas imune inata/adaptativa, e seu equilíbrio é essencial para o estabelecimento de imunidade protetora. IP-10, elevada apenas no grupo glucana, é sintetizada por monócitos, está diretamente ligada a linfócitos T CD4⁺ e relacionada a forma como as células da resposta imune inata ativam células da resposta imune adaptativa, bem como a si mesmas (retroativação), levando a produção de outras citocinas inflamatórias e de células T de memória de longa duração, desejáveis na vacinação. Nesse contexto, acredita-se que a suplementação com β -glucana prepare o sistema imunológico para o recebimento da vacina, propiciando imunomodulação celular, como monócitos e células T, induzindo maior na produção de quimiocinas, e possivelmente, memória celular direcionada e de longa duração.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105177>

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105178>