

Library Online), com os marcadores booleanos “Duffy” and “Plasmodium vivax”. O período de busca compreendeu os anos de 2017 a 2022 e o idioma de seleção foi o inglês. A plataforma PRISMA foi utilizada para construção da revisão. Inicialmente 916 artigos foram retornados e, após os filtros de deleção e inclusão, restaram 17 publicações para avaliação. **Resultados:** Após leitura completa e análise dos artigos, foi observado que 7 autores encontraram indivíduos fenótipo Duffy -negativo resistentes à malária, 7 apresentaram dados de pacientes fenótipo Duffy -negativos infectados, 1 autor encontrou Duffy -negativos sem presença de infecção, outros 2 autores relacionaram os fenótipos Duffy com a modulação da resposta imune pelo ambiente com a contribuição das frequências do sistema ABO. As publicações abrangeram uma diversidade de nações, com maior ênfase no continente Africano. **Discussão:** Geralmente indivíduos com fenótipo Duffy -negativo apresentam resistência à malária, porém, alguns estudos selecionados nesta revisão mostraram que as hipóteses vão além da negatividade de Duffy. Indivíduos Duffy-negativos não possuem imunidade total à infecção pelo *P. vivax*, mas esta característica se mostrou um elemento chave na defesa contra a doença. Se a proteína Duffy não é expressa, ocorre dificuldade na invasão dos eritrócitos, reduzindo a possibilidade de infecção. Em outro estudo, concluiu-se que existem relações entre as variantes Duffy e proteínas plasmáticas, que podem interferir nos sintomas clínicos da malária causada pelo *P. vivax*. A presente revisão demonstrou que alguns autores apresentaram opiniões divergentes, tendo em vista que estudos recentes apontaram um crescente número de indivíduos Duffy -negativos infectados pelo *P. vivax*. Existem hipóteses de adaptação do parasito em relação à suscetibilidade, uma vez que um dos estudos avaliados mostrou alta prevalência de *P. vivax* em indivíduos Duffy -negativos. É importante salientar que, além das questões fenotípicas, existem características genéticas e ambientais capazes de influenciar a relação Duffy -malária. **Conclusão:** Conclui-se por meio das publicações que não é clara qual mutação/alteração passou a permitir a infecção de indivíduos fenótipo Duffy -negativo pelo *P. vivax*, sendo necessários mais estudos sobre o tema. Um ponto a ser considerado em futuras pesquisas são os sintomas associados às pessoas Duffy -negativas, visto que as mesmas podem ser assintomáticas ou possuírem sinais clínicos mais brandos.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.2146>

CHARACTERIZATION OF A 3D IN VITRO TUMOR AND STROMAL SPHEROID MODEL FOR EVALUATING THE SPATIAL DISTRIBUTION OF STROMAL AND TUMOR CELLS AND THE INFILTRATION OF IMMUNE CELLS IN THE TUMOR MICROENVIRONMENT OF PANCREATIC DUCTAL ADENOCARCINOMA

SEC Silva ^{a,b}, CCOM Bonaldo ^b, PVB Palma ^b, SR Caruso ^b, MD Orellana ^b, PLP Xavier ^a, RA Panepucci ^{a,b}

^a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^b Hemocentro de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brazil

PDA, the most frequent and aggressive subtype of pancreatic cancer, has a stroma-rich TME (80% of tumor mass). The characteristically hypoxic TME orchestrates an extensive metabolic reprogramming in immune, stromal and tumor cells, inducing epithelial-mesenchymal transition (EMT), promoting migration to regions better perfused and establishing physical and functional barriers that limit infiltration and affect the distribution and function of immune cells, resulting in a typically immuno-excluded profile associated with resistance to immunotherapies. Here, we sought to establish a 3D spheroid model of PDA's TME to dynamically evaluate spatial distribution of stromal and tumor cells, to phenotypically characterize the distribution of infiltrating immune cells and the contribution of hypoxia to these aspects. To this end, spheroids were generated with fluorescently-labeled cells from PDA (CAPAN-1) and stromal (HS-5) lines. The spatial distribution was evaluated at different times by automated quantitative microscopy (24h, 48h and 72h) or flow cytometry (72h). Fluorescently-labeled blood mononuclear cells (PBMCs) from healthy donors, activated or not with Ionomycin and PMA, were plated together with unlabeled tumor and stromal cells to incorporate into forming spheroids, or after their formation (24h post-plating) for infiltration evaluation. After 48h, the spheroids were enzymatically dissociated and T-cells were immunophenotyped by flow cytometry with CD4, CD8 and CD25 antibodies. The Image-iT Green Hypoxia reagent was used to fluorescently label the cells in the spheroid core hypoxic compartment. After 24h of plating, tumor and stromal cells were well distributed in the formed spheroid; however, after 48h and 72h, tumor cells migrated to spheroid periphery. In agreement, cytometry revealed higher proportion of tumor cells occupied the normoxic compartment, while the hypoxic compartment was enriched for stromal cells. Immunophenotyping showed an enrichment of CD4+ cells (70-90%) in relation to CD8+ cells (10-30%) in the hypoxic compartment in all experimental conditions. Of note, the CD8+ cells percentage in the hypoxic region was higher in conditions in which PBMCs were activated (20-30%), compared to non-activated (10%). In turn, normoxic regions had similar proportions of both populations (50% of each) in conditions with activated PBMCs, while with non-activated PBMCs a higher CD4+ cells (70%) proportion was observed. For activated PBMCs, in both conditions, we found higher CD25+ cells percentage among the CD4+ and CD8+ populations in the hypoxic compartment (90%), compared to normoxic compartment (60%). However, for PBMCs infiltrating spheroids already formed, there was a greater activation of lymphocytes, resulting in the presence of CD4+CD25^{High} cells, with a supposedly regulatory profile (Tregs), enriched especially in the hypoxic compartment (9%). We successfully developed an experimental approach that allowed us to quantitatively and qualitatively characterize how the spatial distribution of tumor, stromal, and immune cells are affected by the hypoxia in the TME of a PDA model. Our in vitro approach may help to systematize the evaluation of new therapeutic approaches.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.2147>