

(LLA), no entanto, ainda há um desafio para tratar a LMA: a CRS. Como resposta à expansão dos blastos, que estimulam a secreção de citocinas anti-inflamatórias, a CRS é limitante da resposta imune à terapia com CAR-T cell, pois tais alterações metabólicas apoiam o crescimento e a sobrevivência das células leucêmicas. Uma alternativa viável para melhorar a eficácia dessa imunoterapia seria encontrar um epítipo específico da leucemia, para reduzir ao máximo os efeitos citotóxicos do tratamento em questão.

Conclusão: O desenho e os ensaios de imunoterapia são emergentes contra a LMA, tendo em vista a complexidade e necessidade de contenção da doença. A terapia celular com CAR-T cell vem demonstrando avanços, apesar dos estudos estarem em estágios iniciais. Dessa forma, deve-se dar prosseguimento a novos estudos, para aumentar a eficácia e reduzir a toxicidade ainda presente no tratamento com CAR-T cell.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.707>

706

OBTENÇÃO DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOIÉTICAS A PARTIR DE CÉLULAS-TRONCO PLURIPOTENTES INDUZIDAS (IPSC)

G.L.S. Martins^{a,b}, M.S. Oliveira^{a,b,c}, B.D. Paredes^{a,d}, B.S.F. Souza^{a,b,d}

^a Centro de Biotecnologia e Terapia Celular (CBTC), Hospital São Rafael, Salvador, BA, Brasil

^b Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, BA, Brasil

^c Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP), Salvador, BA, Brasil

^d Instituto D'OR Pesquisa e Ensino, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A anemia falciforme (AF) é uma doença de herança mendeliana de alta prevalência no Brasil. Contudo, ainda não existem tratamentos eficazes para ela, emergindo a necessidade do estudo de novas terapias. Todavia, a obtenção de grandes quantidades de eritrócitos tem dificultado o progresso de pesquisas nessa área. Uma alternativa a isso seria desenvolvimento de eritrócitos a partir de iPSC.

Objetivo: Estabelecer um protocolo de diferenciação de iPSC obtidas de pacientes com AF e doador saudável, para geração de células progenitoras hematopoiéticas.

Método: Duas linhagens de iPSC foram produzidas previamente: EB8C6 (paciente com AF) e EB4C24 (doador saudável). Elas tiveram sua pluripotência validada por marcação anti-TRA-1-60-APC na Citometria de fluxo e, por fim, foram expandidas. Quando a confluência dos poços chegou a 80%, duas diferentes técnicas de diferenciação se sucederam. A primeira delas foi a *Hanging Drop*, na qual as células ficaram em suspensão, vertidas em gotas na tampa de uma placa de Petri. Isso foi realizado com o objetivo de formar corpos embrioides (CE), o próximo estágio da diferenciação hematopoiética. Outra técnica utilizada para geração dessas mesmas estruturas foi empregando placas de 96 poços de fundo em U não aderente. Assim sendo, as iPSC foram colocadas em suspensão

nessas placas e ela foi então centrifugada. Os CE formados por ambos os protocolos foram dissociados e analisados através da expressão de marcadores de células progenitoras hematopoiéticas (CD34 e CD45) na Citometria de fluxo.

Resultados: A pluripotência das iPSC foi confirmada por Citometria de fluxo. A linhagem EB8C6 foi positiva em 97,6% das células analisadas e a linhagem EB4C24 em 80,1%, o anti-corpo utilizado foi o anti-TRA-1-60-APC, principal marcador de pluripotência. Com isso, os CE foram gerados, pela técnica *Hanging Drop*, apenas a linhagem EB8C6 e, pela técnica utilizando a placa de 96 poços de fundo em U não aderente, as linhagens EB8C6 e EB4C24. Assim, foi realizada uma Citometria de fluxo com os anticorpos anti-CD45-APC e anti-CD34-PE, principais marcadores de progenitores hematopoiéticos. Os CE formados do clone EB8C6 através da placa em U não aderente tiveram marcação CD34+e CD45+ em 17% das células analisadas. Os CE da EB4C24, contudo, tiveram marcação CD34+ e CD45+ em 36,4% das células. Através da técnica *Hanging Drop* para a formação de CE, a linhagem EB8C6 foi analisada e apresentou marcação dupla CD34+/CD45+ em 38,9% das células.

Discussão: Esses resultados podem indicar uma formação mais efetiva de CE CD34+/CD45+ através da técnica *Hanging Drop*. Pois, o mesmo tipo celular (EB8C6), que gerou CE pelas duas técnicas analisadas, demonstrou ser mais duplo positivo através da *Hanging Drop*, com 38,9% CD34+/CD45+ e apenas 17% CD34+/CD45+ através da placa em U não aderente.

Conclusão: Por meio desse projeto foi possível estabelecer um protocolo para a diferenciação de iPSC em células progenitoras hematopoiéticas, através da formação de corpos embrioides, tanto pela técnica de *Hanging Drop*, quanto pela técnica da placa em U não aderente. Mais experimentos, no entanto, precisam ser realizados para validar o protocolo e assim possibilitar a formação de hemácias que podem ser usadas para os mais diversos fins terapêuticos, assim como para o teste de drogas para a AF.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.708>

707

OPTIMIZATION OF A PROCESS FOR HIGH-YIELD LENTIVIRAL VECTOR PRODUCTION APPLIED TO CAR-T CELL GENERATION

D.M.C. Fantacini^a, S.C.G. Lima^a, H. Brand^a, L.C. Batista^a, R. Cunha^{b,c}, D.T. Covas^d, L.E.B. Souza^a

^a Centro de Terapia Celular (CTC), Laboratório de Transferência Gênica, Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^b Centro de Terapia Celular (CTC), Advanced Cellular Therapy Laboratory, Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^c Department of Medical Images, Hematology, and Medical Oncology, Bone Marrow Transplantation and Cellular Therapy Unit, Faculdade de Medicina