

FREQUÊNCIA ALÉLICA DE HLA POR NGS DOS DOADORES VOLUNTÁRIOS DE MEDULA ÓSSEA CADASTRADOS NO LABORATÓRIO DE HLA DO HEMOCENTRO DE RIBEIRÃO PRETO

VT Santos, NHS Deghaide, GV Martins,
MS Domeneghetti, APB Correa, RN Entz,
ACM Roque, GL Sartori

Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto
(FUNDHERP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Objetivos: Atualmente, temos em média 5.624.450 registros de doadores cadastrados no Redome (REDOME – Registro Nacional de Doadores Voluntários de Medula Óssea) com interesse em se tornarem doadores de medula óssea. Logo, realizou-se estudo observacional longitudinal retrospectivo de dados fornecidos pela plataforma de análise de NGS: TSV, de 2021 até a presente data para identificar a frequência alélica dos doadores cadastrados pela Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto junto ao Laboratório de HLA. **Materiais e métodos:** Utilizou-se a base dados da plataforma do software de análise de NGS (Next Generation Sequencing) Type Stream Visual (TSV), com dados obtidos dos resultados da tipificação HLA de cadastro de doadores voluntários de medula óssea no Hemocentro de Ribeirão Preto-SP, de junho de 2021 a julho de 2023. Os grupos alélicos foram tipificados molecularmente em alta resolução para aos alelos HLA Classe I (locus A, B e C) e II (locus DRB1, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1). Foram utilizados filtros do TSV e planilhas excel para identificação da frequência de todos os alelos presentes nos cadastros. **Resultados:** O estudo abrangiu doadores voluntários de medula óssea cadastrados na Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto-SP, de Junho de 2021 a Julho de 2023. Com auxílio do Software TSV, foi possível identificar quais alelos são mais frequentes para classe I e classe II destes doadores, assim como perceber a presença de alelos não frequentes. Os alelos mais encontrados para classe I – foram: A*02:01, A*01:01, A*03:01, A*24:02. B*07:02, B*08:01, B*14:02, B*15:01. C*04:01, C*06:02, C*03:04, C*02:02. Para classe II – obtivemos: DPA1*01:03, DPA1*02:01, DPA1*02:02. DPB1*01:01, DPB1*03:01, DPB1*04:01. DQA1* 01:02, DQA1*02:01, DQA1*01:01. DQB1*03:03, DQB1*02:02, DQB1*03:02. DRB1*07:01, DRB1*03:01, DRB1*01:01. Foram encontradas tipificações não frequentes para Classe I: A*01:156, A*02:872, A*03:351. B*07:120, B*08:188, B*15:146, B*18:145, B*35:386. C*02:168, C*03:407, C*06:289, C*07:985. Como em Classe II: DQB1*03:296, DQB1*03:393, DQB1*05:234. DRB1*03:124, DRB1*03:181, DRB1*11:261. **Discussão:** As características apresentadas quanto as frequências alélicas em HLA vem se tornando similar entre as populações. Assim como as frequências alélicas, a presença ou ausência de alguns alelos específicos se associam aos cadastros de doadores voluntários de medula óssea (Pimthanotai et al., 2001; Luo et al., 2002; Piancatelli et al., 2004; Ayed et al., 2004). Ferreira (2007), identificou doadores voluntários mais frequentes para HLA-A*02:01 em estudo realizado no Maranhão, onde também apresentou maior frequência no locus DRB1*07:01. De acordo com Guimarães (2015) em outro estudo similar de frequência alélica: A*02, A*24, A*03, A*01, B*07, DRB1*07 e DRB1*01 fazem parte dos grupos mais frequentes cadastrados no REDOME. No estado de São Paulo (Campagnuolo, D. G., Cita, R. F., & Colombo, T. E.

2018) demonstram também a prevalência de alelos mais frequentes em doadores, sendo A*24, A*03, DQB1*03 e DRB1*01 em voluntários cadastrados para doação de medula óssea. **Conclusão:** A implantação da metodologia de tipificação de HLA por alta resolução (NGS) demonstrou uma melhoria na avaliação do perfil dos cadastros de doadores voluntários de medula óssea, tornando-se possível uma avaliação imunológica mais precisa dos doadores voluntários aos receptores. Os resultados obtidos neste estudo somam-se aos já existentes, demonstrando a miscelânea da população do Brasil e polimorfismo genético do Sistema HLA.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.990>

AValiação DO PROCESSO DE OBTENÇÃO DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOIÉTICAS DE SANGUE PERIFÉRICO EM UM SERVIÇO DE HEMOTERAPIA DO RIO DE JANEIRO

RFM Fernandes^a, SCM Pereira^a, IJF Motta^a,
AG Vizzoni^b

^a Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI/FIOCRUZ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: O uso de Células Progenitoras Hematopoiéticas de Sangue Periférico (CPHSP) tem sido associado a uma recuperação mais rápida de neutrófilos e plaquetas e a uma maior probabilidade geral de sobrevida global e livre de doença do que o transplante de medula óssea. Na coleta de CPHSP, a saída de células-tronco no sangue periférico é estimulada com regimes de mobilização que incluem, de forma padrão, o Fator estimulador de Colônias de Granulócitos (G-CSF) com ou sem quimioterapia e o uso de um antagonista do Receptor de Quimiocinas 4 (CXCR4), como Plerixafor para pobres mobilizadores. **Objetivo:** Avaliar a Eficácia Global (EG) da coleta de células progenitoras hematopoiéticas periféricas autólogas em 3 diferentes separadoras celular no serviço de Hemoterapia do INCA e identificar preditores de uma coleta bem-sucedida (número de células coletadas CD34+ $\geq 2 \times 10^6$ /kg). **Materiais e métodos:** Foram analisadas e revisadas as coletas de CPHSP autólogas entre 2012 e 2020. Os dados foram analisados pelo software SPSS® 22. Foram descritas as frequências simples das variáveis categóricas sociodemográficas. As variáveis contínuas foram descritas através das medidas-resumo de acordo com cada variável como: média, mediana, desvio-padrão e Intervalo-Interquartilico (IQR). **Resultados:** A amostra foi constituída de 414 pacientes, onde foram realizados 848 procedimentos de coleta, dos quais 361 (42,6%) foram realizados na máquina de aférese Haemonetics®, 301 (35,5%) na COBE® Espectra e 186 (21,9%) na Optia Spectra®. A idade dos participantes variou entre 2 e 76 anos, sendo a média das mulheres de 43,7 anos e dos homens de 42,7 anos, com maior prevalência de indivíduos do sexo masculino (62,8%). Os diagnósticos mais frequentes foram: Mieloma Múltiplo (38,6%), Linfoma de Hodgkin (30,4%) e Linfoma não Hodgkin (26,2%). A maioria dos pacientes (80,2%) foram mobilizados com G-CSF isolado, 15,7% usaram G-CSF com Plerixafor e 4,1% fizeram

uso de G-CSF com quimioterapia. A eficácia global do procedimento de coleta de CPHSP por aférese foi de 64,9%. Foi observado que 92 pacientes (22,2%) não atingiram o limiar de 2×10^6 /kg células na 1ª coleta. **Discussão:** A eficácia da coleta de CPHSP por aférese depende de fatores físicos e biológicos. Os fatores físicos estão associados a particularidades do sistema de coleta como raio e rotação, gradiente de densidade dos elementos sanguíneos e, o volume de sangue processado. Já os fatores biológicos são disponibilidade de células CD34+ pré-coleta no sangue periférico e, o movimento das mesmas entre os espaços intra e extravascular. Reconhecidamente, o fator mais importante para sucesso da coleta de CPHSP é o CD34+ pré-coleta. De forma similar a diversos estudos encontramos que o CD34+ pré-aférese se relaciona de forma positiva com o CD34+coletado. **Conclusão:** A necessidade de estratégias de mobilização mais eficazes em pacientes difíceis de mobilizar, reduzir recursos e custos de regimes de mobilização e reduzir o medo do paciente pela dor e a inconveniência de regimes de vários dias, está no cerne dos estudos atuais para entender e direcionar os mecanismos de mobilização e, conseqüentemente, realizar a melhor coleta de CPHSP possível com toxicidade tolerável e, em um único dia, deixando os dias subsequentes para eventuais complementações.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.991>

EMPOWERING CAR-T CELL THERAPY: GITRL COSTIMULATION FOR ENHANCED ANTITUMOR RESPONSE AND IMMUNOSUPPRESSION RESISTANCE IN SOLID TUMORS

IP Furtado^a, RM Silveira^a, R Rossetti^a,
DMC Fantacini^{a,b}, SCG Lima^a, L Tsyrenov^c,
H Shiku^c, LEB Souza^a, DT Covas^a

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

^b Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brazil

^c Mie University, Tsu, Japan

The treatment of solid tumors with CAR-T cells is challenging due to the complex tumor microenvironment that impairs infiltration and persistence of injected cells. Thus, enhancing persistence and resistance to exhaustion of CAR-T cells is desirable to maximize therapeutic efficacy. GITR, a T cell costimulatory molecule, plays a crucial role in modulating T cell activation and function. When engaged by its ligand GITRL, GITR signaling promotes T cell proliferation, cytokine production, and survival, leading to enhanced effector functions. Additionally, GITR activation can counteract the suppressive effects of Tregs, promoting a more robust and effective immune response. Hence, our hypothesis is that coexpressing a CAR against the tumor antigen GD2 with GITRL will enhance antineoplastic effects and may reduce local immunosuppression and T cell exhaustion. To test our hypothesis, we generated two lentiviral vectors to express CAR anti-GD2 and another one coexpressing GITRL. After that, we produced lentiviral particles to transduce human primary T cells and flow

cytometry was used to verify the transduction efficiency. After transduction, CAR-T cell proliferation was monitored for 8 days. To assess the functional activity of the CAR-T cells, we performed a coculture assay with T98G Glioblastoma cells (GD2+) and the HCT-166 colon cancer cells (GD2-) using two Effector-to-Target cell (E:T) ratios. Both tumor cell lines were previously engineered to express luciferase to enable cell killing analysis through bioluminescence quantification. After coculture, T cells were recovered, stained with antibodies against four activation/exhaustion markers (PD-1, CTLA-4, TIM-3, LAG-3) and analyzed by flow cytometry. The T cell transduction resulted in 33% of CAR+ cells transduced with CAR.GD2 lentiviral particles and 42% with CAR.GD2/GITRL. Moreover, 8 days after transduction, the T cell proliferation ratio increased in 18 fold and 21 fold to CAR-T.GD2 and CAR-T.GD2/GITRL, respectively. In coculture assays, we observed that both CAR-T cells demonstrated a potent cytotoxic activity, with around 90% of T98G cell lysis, while sparing HCT-116 cancer cells, demonstrating GD2-restricted cytotoxic activity. The analysis of exhaustion markers expression profiles revealed an increase in all four markers observed in CAR-T.GD2 cells. Indeed, when comparing the double-positive cell populations for the most expressed markers (PD-1 and LAG-3), we identified a higher concentration of CAR-T.GD2 cells expressing both markers simultaneously (38%) than CAR-T.GD2/GITRL (13%). These data suggest that the inclusion of the GITRL domain in the CAR-T cell construct may enhance T cell resistance to exhaustion and contribute to functional activity. Therefore, the potential results of this project will foster the development of a new advanced cellular immunotherapy strategy for the treatment of GD2+ neoplasms. These findings could also be applied to enhance the cytotoxic activity and persistence for other CAR constructs.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.992>

COMPARAÇÃO ENTRE O TRANSPLANTE ALOGÊNICO DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS DE MEDULA ÓSSEA APARENTADO E NÃO APARENTADO - UM ESTUDO ECOLÓGICO

PV Villar^a, PCSJ Moreira^a, GF Tosta^b,
JUS Paixão^a, CSMC Silva^a, JMMM Pinheiro^a,
WV Lopes^a, JVFA Cordeiro^c, KG Frigotto^c,
VRGA Valviesse^c

^a Universidade do Grande Rio Professor José de
Souza Herdy (UNIGRANRIO), Rio de Janeiro, RJ,
Brasil

^b Universidade de Santa Cruz do Sul (UNISC), Santa
Cruz do Sul, RS, Brasil

^c Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
(UNIRIO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução/objetivos: O transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH) de Medula Óssea (MO) é utilizado no tratamento de várias doenças sanguíneas, malignas e não malignas, hereditárias ou adquiridas. No TCTH alogênico, as células-tronco vêm de um doador, idealmente um familiar