

anticorpos, o que pode resultar em imunodeficiência. Embora as RAs apresentadas tenham sido reincidentes e graves nos estudos avaliados, todas são manejáveis para garantir a segurança do paciente. Ademais, algumas RAs como náuseas, vômitos, diarreia e dor abdominal, embora observadas nos estudos com o tisagenlecleucel, apresentaram baixa incidência quando comparamos ao observado nos tratamentos convencionais como a quimioterapia e a radioterapia. **Conclusão:** As principais RAs reportadas nos estudos com tisagenlecleucel foram a SLC, neutropenia febril, anemia e hipogamaglobulinemia, sendo as duas primeiras consideradas mais graves. São necessários mais dados em grande escala sobre a segurança do tratamento para melhor quantificação, manejo e prevenção das RAs.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.505>

GRANULOCYTE-COLONY STIMULATING FACTOR (G-CSF) ENHANCES THE MOBILIZATION OF BONE MARROW-DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS IN THE PERIPHERAL BLOOD OF BALB/C MICE

FS Silva ^{a,b}, F Magalhães-Gama ^{b,c}, WLL Neves ^b, NP Garcia ^b, HNS Ibiapina ^b, AM Tarragô ^{b,d}, EB Leon ^a, AG Costa ^{a,b,d}, A Malheiro ^{a,b,d}, ND Araújo ^{a,b}

^a Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil

^b Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, AM, Brazil

^c Instituto René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Belo Horizonte, MG, Brazil

^d Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, Brazil

Introduction: Mesenchymal stem cells (MSCs) have emerged in recent years as beneficial tools for cell therapy and autologous/allogeneic transplantation and their clinical harnessing considers the bone marrow (BM) and peripheral blood (PB). However, this requires a process of endogenous mobilization that offers a non-invasive alternative. Thus, granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) and AMD3100 (Plerixafor®) are well known and clinically approved to stimulate MSCs mobilization, but data on their potential activity in MSCs mobilization are still scarce. **Objective:** Evaluate the influence of G-CSF and AMD3100 stimulation on MSCs mobilization from BM to PB in BALB/c mice. **Material and methods:** For this study, 45 male BALB/c mice aged 3-4 weeks were used. They were divided into 5 groups: PBS+PBS control group (CG, n = 9), PBS +G-CSF group (n = 9), PBS+AMD3100 group (n = 9), G-CSF+PBS group (n = 9) and G-CSF+AMD3100 group (n = 9). Pre-treatment was performed with intraperitoneal (i.p.) injections of phosphate-buffered saline (PBS, 160 µl/i.p.) or G-CSF (200 µg/kg/i.p.) for 4 consecutive days. On day 5 (D5), 24 hours after the last injection of PBS or G-CSF, mice were also injected with PBS or AMD3100 (5 mg/kg/i.p.). After 1 hour, BM and PB samples were subsequently collected. The mobilized CD14+CD73

+CD90+CD105+ MSCs were then evaluated *ex vivo* using Flow Cytometry. Statistical analyzes were performed through GraphPad Prism (v.5) using One-way ANOVA test with Tukey's post-test. **Results and discussion:** Based on this study, it was found that there were no statistically significant differences for MSCs mobilization in the BM in any of the studied groups; however, the PBS+AMD3100 group had the highest rate of MSCs enrichment within the BM. Notably, mice of the G-CSF+PBS group exhibited the highest rate of MSCs mobilization in the PB when compared to the CG (p < 0.0001), while the G-CSF+AMD3100 group showed no statistically significant difference for MSCs mobilization in PB. Furthermore, the mice of the PBS+G-CSF group and the PBS +AMD3100 group did not exhibit a significant increase in MSCs mobilization in the PB. **Conclusion:** With these results, it is verified that the pre-treatment with G-CSF is the most suitable to induce the MSCs mobilization to PB in a dose-dependent manner. Our data demonstrated that AMD3100 proved not to be suitable for MSCs mobilization in both BM and PB. **Funding:** FAPEAM, CAPES and CNPq.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.506>

THE EFFECT OF GRANULOCYTE COLONY-STIMULATING FACTOR (G-CSF) ADMINISTRATION ON CYTOKINE PRODUCTION BY BONE MARROW AND PERIPHERAL BLOOD DERIVED STEM CELLS IN PRIMARY CULTURE

AB Lima ^{a,b}, F Magalhães-Gama ^{b,c}, WLL Neves ^b, NP Garcia ^b, HNS Ibiapina ^b, AM Tarragô ^{b,d}, EB Leon ^a, AG Costa ^{a,b,d}, A Malheiro ^{a,b,d}, ND Araújo ^{a,b}

^a Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil

^b Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, AM, Brazil

^c Instituto René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Belo Horizonte, MG, Brasil

^d Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, Brazil

Introduction: Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) is a growth factor that plays an essential role in the modulation of hematopoiesis through direct effects on proliferation, survival, and mobilization of bone marrow (BM) and peripheral blood (PB) derived stem cells (SCs). **Objective:** Evaluate the influence of G-CSF administration on cytokine production by SCs derived from BM and PB in primary culture. **Material and methods:** SCs were isolated from BM and PB from 27 BALB/c mice pre-treated for 4 consecutive days with intraperitoneal (i.p.) injections of phosphate-buffered saline (PBS) solution (160 µl/i.p.) or G-CSF (200 µg/kg) at 24-hours intervals. On day 5 (D5), mice were also injected with PBS or G-CSF again. SCs were obtained through BM mononuclear cell isolation by Ficoll-Hypaque™ gradient and then stimulated or not with G-CSF in cell culture. Cytokines in the supernatant were

quantified by flow cytometry - Cytometric Bead Array (CBA) using the BD™Mouse TH1/TH2/TH17 Cytokine Kit according to manufacturer's instructions. The cytokines measured were IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ and IL-17. The kinetics of these cytokines were monitored on days 3, 6, 9, 12 and 15 of culture. FCAP array software (v3.0.1) was used to calculate the concentrations of each cytokine and the mean fluorescence intensity. **Results and discussion:** An increase in IL-2 and IL-4 was observed between days 9 and 12 of BM-derived SCs culture in groups stimulated with G-CSF. In the culture of PB-derived SCs, the increase in IL-2 and IL-4 occurred between days 3 and 9 in cultures stimulated with G-CSF. The production of IL-6 occurred between days 3 and 9 of culture, both in BM- and PB-derived SCs cultures and reduced until day 15 of culture. In non-G-CSF-stimulated BM-derived SCs cultures, IL-6 levels are elevated in relation to cultures that received G-CSF as a stimulus, on days 6 and 9. IL-10 increased in BM- and PB-derived SCs cultures stimulated with G-CSF on day 3, reducing its concentration until day 15. The same event was observed in BM-derived SCs cultures for IFN- γ and TNF- α , which, like IL-10, were elevated in BM-derived SCs cultures. In PB, an increase in TNF- α is observed on day 3, decreasing progressively until day 15. IL-17 increased on day 12 of BM-derived SCs culture, remaining stable on different days in both BM- and PB-derived SCs cultures. **Conclusion:** G-CSF can modulate or induce the production of different cytokines by SCs derived from BM and PB, contributing to better regulation of immune responses in pathological and therapeutical different contexts. **Funding:** FAPEAM, CAPES and CNPq.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.507>

ESTRUTURAÇÃO DO CENTRO DE PROCESSAMENTO CELULAR DO HOSPITAL AC CAMARGO CANCER CENTER PARA IMPLANTAÇÃO DA TERAPIA CAR-T.

C Zanella, VO Camandoni, M Lemos, PM Melo,
RC Cezar, ICR Machado

AC Camargo Câncer Center, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A inovadora terapia CAR-T é promissora no tratamento oncológico. No Brasil, os estudos clínicos e CAR-T comercial inicialmente são direcionados para o tratamento de Mieloma Múltiplo e Linfoma difuso de grandes células B. A terapia consiste na coleta autóloga de Linfócitos, modificação genética destas células com o auxílio de um vetor viral que tem a função de alterar o linfócito, produzindo um receptor de superfície capaz de identificar o antígeno específico da doença. **Objetivo:** Compartilhar a experiência do Serviço de Hemoterapia e Terapia Celular na implementação do Projeto CAR-T Cells no AC Camargo Cancer Center. **Metodologia:** O projeto de implementação da terapia CAR-T teve início em 2020 através de auditorias internas e externas, incluindo inspeções realizadas pelas indústrias farmacêuticas, com a finalidade de qualificar o centro para realização da terapia CAR-T. Criamos diferentes fóruns para discussões operacionais e burocráticas. Fez-se necessário a interface entre diferentes áreas da instituição para atender as especificações das indústrias

farmacêuticas. Houve mobilização do Serviço de Hemoterapia e Terapia Celular, Inovação, Pesquisa Clínica, Quimioterapia, Qualidade, Práticas Assistenciais, Processos, Manutenção, Educação Continuada, Infraestrutura, Comercial, Suprimentos, Tecnologia da Informação, Laboratório Clínico e Equipe Multidisciplinar. Essa interação entre diferentes áreas deu-se diante da necessidade de criação de fluxo seguro desde o início da identificação do paciente candidato à terapia, até o manejo pós-infusão. A estruturação do Serviço de Hemoterapia e Terapia celular do AC Camargo Cancer Center envolve desde a fase de identificação do paciente candidato à terapia até o pós-infusão. Entre essas duas fases, está a criação da jornada do paciente com definição de novos protocolos para CAR-T cells, acompanhamento junto à pesquisa desde a fase de projeto até a publicação, parametrização de sistemas informatizados e prontuário eletrônico, reestruturação do plano de ensino para treinamento e reciclagem da equipe, adequação de estrutura física do Centro de Processamento Celular com aquisição de novos equipamentos para recebimento e armazenamento do produto final, além da adequação de documentos que já fazem parte do processo de Terapia Celular convencional. Baseado nas auditorias internas e externas, criamos e iniciamos a execução dos planos de ação definidos nos fóruns, onde cada área de interface possui um representante para acompanhamento do projeto e comunicação da equipe das próximas ações. Fomos em busca de parcerias para congelamento programado de Linfócitos até que tenhamos a entrega da área nova com estrutura física autossuficiente. Hoje nosso centro de processamento celular conta com a estrutura para congelamento mecânico de células para Terapia Celular convencional, uma das fases da produção do CAR-T é a realização do congelamento programado e armazenamento em nitrogênio fase vapor. **Conclusão:** Atualmente estamos em novo ciclo de treinamento teórico com as indústrias farmacêuticas para compreender as diretrizes dos fornecedores e alinhar o processo após reciclagem da documentação, a próxima fase é de um novo ciclo de simulações de todas as fases do processo e acompanhamento do cronograma de obras que possui entrega prevista para novembro de 2022. A expectativa é iniciar as coletas de Linfócitos para produção de CAR-T Cells ainda no segundo semestre de 2022. Iniciar a terapia CAR-T vai além da entrega de um projeto inovador, é oferecer para os pacientes o que há de mais moderno para o tratamento do câncer.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.508>

GENERATION OF T LYMPHOCYTES EXPRESSING ENGINEERED T CELL RECEPTOR TARGETING THE NY-ESO-1 TUMOR ANTIGEN USING A NEW GENETIC CONSTRUCT

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

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

^b Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brazil