

phenotyping. Overcoming limitations of both static microscopy and conventional flow cytometry, opening new avenues for preclinical assessment of stroma-targeting therapies and the development of immunotherapeutics that reprogram the TME. This study was funded by the São Paulo Research Foundation (FAPESP), Brasil, process #2022/12856-6; the Brazilian Federal Agency for Support and Evaluation of Graduate Education (CAPES); and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPQ).

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105168>

ID - 1246

DENDRITIC CELL MATURATION INDUCED BY MAGHEMITE-BASED NANOPARTICLES ASSOCIATED WITH METHYLENE BLUE FOR THE IN VITRO TREATMENT OF BREAST AND OVARIAN CANCER

ALG Araújo^a, BC Araújo^a, GCNB Lôbo^a, CL Filomeno^a, RM Pontes^b, R Camargo^b, DMPA Araújo^a, SN Bão^a

^a Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brazil

^b Hospital da Criança de Brasília José Alencar, Brasília, DF, Brazil

Introduction: Breast cancer, the second most common type, and ovarian cancer, the most lethal among tumors of the female reproductive system, stand out due to their high incidence and mortality rates. The development of new therapeutic strategies supported by nanotechnology has gained prominence owing to the controlled and targeted delivery of drugs. In parallel, the role of the immune system in cancer treatment has driven the advancement of numerous studies in the field of immunotherapy, particularly those focused on eliciting an effective immune response against tumors, such as approaches based on dendritic cell activation and maturation. Previous studies have demonstrated the in vitro efficacy of maghemite nanoparticles associated with methylene blue (MAGCIT-AM) for the treatment of breast and ovarian cancers. **Aim:** Based on these findings, the present study investigated the application of MAGCIT-AM with the aim of promoting an antitumor immune response in vitro for the treatment of breast and ovarian cancers. **Material and methods:** For this work was used two human breast carcinoma cell lines (MDA-MB-231) and one ovarian cancer cell line (A2710), MAGCIT-MB was synthesized through hydrothermal coprecipitation in an alkaline medium at 100°C, surface functionalization was performed using a citric acid solution, by applying the solution aggregation method (0.05 M) to maghemite nanoparticles at a concentration of 90 mg/L. The analysis was performed using flow cytometry (FACSCanto II and FACSCalibur). **Results:** Two human breast carcinoma cell lines (MDA-MB-231 and T-47D) and one ovarian cancer cell line (A2780) were used. MAGCIT-AM exhibited a hydrodynamic diameter of 60.93 nm, a polydispersity index of 0.199, and a zeta potential of -20.9 mV. Analysis of flow cytometry revealed modulation of lipid droplet biogenesis by BODIPY, reduction in mitochondrial

membrane potential by JC-1 dye, and dendritic cell maturation, evidenced by increased expression of specific markers, like CD11c, CD86, HLA-DR, CD25 and CD40. **Discussion and conclusion:** Suggesting that cell death induced by MAGCIT-AM is capable of promoting dendritic cell maturation, thereby reinforcing its potential as a therapeutic strategy for breast and ovarian cancer.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105169>

ID - 892

DIFERENCIAÇÃO ERITROCITÁRIA IN VITRO A PARTIR DE CÉLULAS-TRONCO DE PLURIPOTÊNCIA INDUZIDA UTILIZANDO CORPOS EMBRIOIDES: ESTABELECIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE PROTOCOLO

R Travassos, LRDC Aleixo, JMG Barbalho, T Gonçalves, ACCD Carvalho, K Miranda, THK Brunswick

Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A diferenciação eritrocitária a partir de células-tronco de pluripotência induzida (iPSCs) tem se consolidado como abordagem promissora frente à crescente demanda por sangue e às limitações associadas à dependência de doadores. Diante da escassez global de bolsas e das restrições de armazenamento, a produção de eritrócitos *ex vivo* a partir de iPSCs surge como alternativa viável para aplicações em pesquisa e suprimento experimental. Esse modelo permite gerar eritrócitos sob condições biológicas controladas, favorecendo estudos em hematologia, infecções e modelagem de doenças. Além disso, supera limitações de métodos baseados em células mononucleares de sangue periférico, como baixa enucleação, variabilidade entre amostras e necessidade contínua de doadores. **Objetivo:** Este trabalho visa desenvolver e caracterizar um protocolo eficiente de diferenciação eritroide *in vitro* a partir de iPSCs, utilizando corpos embrioides (EBs) como etapa inicial, com foco na geração de reticulócitos maduros. Os EBs são estruturas tridimensionais formadas em suspensão, derivadas de iPSCs, que mimetizam os estágios iniciais do desenvolvimento embrionário e permitem a diferenciação celular nos três folhetos germinativos: ectoderma, mesoderma e endoderma, o que favorece a indução da linhagem hematopoética. **Material e método:** Foram utilizadas linhagens de iPSCs geradas em nosso laboratório. As células foram cultivadas até 80% de confluência, dissociadas com *enzyme-free* para formar aglomerados de 30–50 células e plaqueadas em meio StemFlex, em placas *ultra-low attachment*, para formação dos EBs, induzidos à diferenciação após 24 horas. O protocolo foi estruturado em três etapas. Na fase 1, os EBs permaneceram em suspensão em meio RPMI com KOSR, BMP4, IWP2, VEGF, Y-27632 e b-FGF, promovendo o comprometimento mesodermal. Na fase 2, foram transferidos para placas aderentes e cultivados com BMP4, VEGF, b-FGF, SCF, IGF-2, heparina, IBMX e SR1, favorecendo a expansão hematopoética. Na fase 3, utilizou-se transferrina, insulina,

nitrito ferroso, 1-tioglicerol, eritropoietina, hidrocortisona, SCF, IL-3 e F68 para indução da diferenciação eritroide e maturação. **Resultados:** Os dados parciais obtidos por citometria de fluxo revelaram, no dia 16 após o início da diferenciação, expressão significativa de CD71, níveis mínimos de CD36 e marcação discreta de CD235a, condizente com estágio intermediário da eritropoiese. Já no dia 23 pós indução, observou-se queda acentuada de CD71 e aumento expressivo de CD235a, indicando progressão para os estágios finais de maturação, com regulação negativa de CD71 e manutenção de CD235a, característica de reticulócitos. **Discussão e conclusão:** Embora os resultados iniciais tenham se mostrado positivos, buscamos, como perspectiva futura, otimizar e consolidar um protocolo reprodutível e com bom rendimento para a geração de reticulócitos maduros, a fim de que possam ser aplicados como modelo em estudos e em abordagens voltadas à limitação de acesso a sangue para fins laboratoriais e clínicos.

Referências:

Cho YK, Kim HK, Kwon SS, et al. In vitro erythrocyte production using human iPSCs: best hematopoietic stem cell sources. *Stem Cell Res Ther.* 2023;14:106.

Hansen M, Varga E, Aarts C, et al. Efficient production of erythroid, megakaryocytic and myeloid cells using iPSC colony differentiation. *Stem Cell Res.* 2018;29:232-44.

Dorn I, Klich K, Arauzo-Bravo MJ, et al. Erythroid differentiation of human iPSCs is independent of donor cell origin. *Haematologica.* 2015;100:32-41.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105170>

ID - 2709

EFEITOS DO SILENCIAMENTO DE RHOB NA PROLIFERAÇÃO DE CÉLULAS MIELOIDES

GRS De Mendonça, CSS Meggiolaro, M Lazarini

Universidade Federal de São Paulo (Unifesp), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: RHOB é uma proteína pertencente à subfamília RHO de GTPases, que controla a dinâmica do citoesqueleto. Apesar da alta homologia com as outras proteínas de sua subfamília (RHOA e RHOC) RHOB tem demonstrado funções únicas, muitas vezes associadas à supressão de diferentes tipos de tumores. Porém, há poucos estudos sobre a função de RHOB em neoplasias hematológicas. **Objetivo:** Neste estudo investigamos o efeito do silenciamento de RHOB na capacidade de proliferação clonal da linhagem celular mieloide OCI-AML3. **Material e método:** Células OCI-AML3 foram silenciadas através de transdução com lentivírus para RHOB (shRHOB) ou lentivírus controle (shCTRL). A efetividade do silenciamento foi verificada por RT-qPCR. A expressão de RHOA e RHOC foi investigada por RT-qPCR e western blot. O crescimento celular foi avaliado através de contagem das células cultivadas sob as mesmas condições por 7 dias. Adicionalmente, avaliou-se a proliferação clonal através de cultivo celular em meio semissólido contendo metilcelulose por

10 dias. As colônias formadas foram contadas sob microscópio invertido. **Resultados:** Houve redução de aproximadamente 60% na expressão gênica de RHOB nas células OCI-AML3 shRHOB em comparação com as células shCTRL. Interessantemente, observamos aumento da expressão gênica e proteica de RHOA e RHOC nas células silenciadas para RHOB. Não houve diferença significativa entre a proliferação de células silenciadas para RHOB e controle (em meio líquido ou em meio semissólido). **Discussão e conclusão:** O aumento da expressão de RHOA e RHOC após o silenciamento de RHOB sugere um possível mecanismo compensatório entre as GTPases da subfamília RHO em células mieloides. Embora RHOB seja descrita como supressora tumoral em diferentes contextos, nossos resultados indicam que sua inibição isolada não impacta de forma significativa a proliferação ou a capacidade clonogênica da linhagem OCI-AML3. É possível que o efeito antitumoral atribuído a RHOB em outros modelos dependa de interações específicas com vias de sinalização ou contextos celulares distintos. **Financiamento:** CAPES, FAPESP.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105171>

ID - 2022

ESTUDO DO PADRÃO DE EXPRESSÃO GÊNICA DE TRPS, P2RXS, ADRA1D E CHRMS EM CÉLULAS NEUROINDUZIDAS DERIVADAS DE MSCS

HAX Borsato, G Pereira, KRD Silva, DCD Almeida

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

Introdução: As células-tronco mesenquimais (CTMs) são células adultas multipotentes com capacidade de diferenciação em linhagens mesodermas. Sob estímulos apropriados as CTMs podem adquirir características neuronais. Nosso grupo de pesquisa desenvolveu um protocolo de neurodiferenciação parcial utilizando altas concentrações de lisado de plaquetas humanas (hPL) para obter-se células com fenótipo neuro-like. Essas células expressam marcadores neuronais e apresentam potencial neuroreparador. No entanto, para melhor caracterização, torna-se essencial investigar a expressão de receptores e canais catiônicos, os quais são fundamentais para a sinalização e função neuronal. **Objetivo:** Investigar o perfil de expressão gênica de receptores e canais catiônicos (TRPs, P2RXs, ADRA, CHRMs) em células neuro-like derivadas de CTMs humanas cultivadas com hPL. **Material e método:** CTMs de medula óssea humana foram isoladas e cultivadas até a terceira passagem (P3), sendo distribuídas em dois grupos: 10% de soro fetal bovino (SFB) ou 10% de lisado de plaquetas humanas concentradas (hPL). Ambas as condições foram avaliadas quanto à morfologia, aderência e imunofenótipo por citometria de fluxo. A capacidade de diferenciação mesodermal foi testada por coloração com Oil Red (adipogênese), Vermelho de Alizarina (osteogênese) e Safranina O (condrogênese). A diferenciação neuronal foi