

P 4339**Otimização do cultivo de células natural Killer**

Letícia Baggio, Álvaro Macedo Laureano, Maria Aparecida Lima da Silva, Alice Dahmer Gonçalves, Annelise Martins Pezzi da Silva, Filipe Sehn, Bruna Amorin, Felipe Valle Fortes Rodrigues, Bruna Zambonato, Lucia Mariano da Rocha Silla
Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA)

Introdução: Células Natural Killer (NK) são leucócitos especializados no combate a neoplasias e a células infectadas por vírus. NK tem função citotóxica, papel imunoregulador e estão relacionadas ao efeito enxerto *versus* leucemia, sem indução de doença do enxerto contra o hospedeiro, sendo consideradas candidatas naturais a serem utilizadas na imunoterapia adoptiva. **Objetivo:** Otimizar a produção de NK, usando diferentes estratégias de purificação de células obtidas de doadores saudáveis e cultivadas em laboratório, pela comparação do número residual de células T após depleção de células CD3⁺ no dia 0 e no sétimo dia de cultivo; análise do perfil imunofenotípico das células e avaliação da atividade citotóxica das células após a terceira semana de cultivo. **Metodologia:** Células do sangue periférico são obtidas de doadores saudáveis e divididas em duas amostras: d0 e d7. A amostra d0 tem as células CD3⁺ removidas/depletadas antes do início do cultivo e a amostra d7 após uma semana de cultivo. Ambas são mantidas sob as mesmas condições de cultivo (RPMI 1640, PEN/STREP 1 %, soro fetal bovino 10 % e GlutaMAX 1 %, a 37°C e 5 % CO₂), por 21 dias, semanalmente estimuladas com células K562.cl9.mbIL-21 (aAPC) previamente irradiadas (2 aAPC:1 NK na primeira semana e 1 aAPC:1 NK nas demais semanas) e a cada troca de meio a adição de 50 UI/mL de meio de interleucina 2. A imunofenotipagem é feita por citometria de fluxo e a avaliação da citotoxicidade por ensaio de liberação de cromo. **Resultados:** A amostra d0 apresentou uma expansão de 177 vezes e a amostra d7 de 124 vezes. A viabilidade celular média da amostra d0 foi de 73,2 % e da amostra d7 de 81,3 %. Quanto ao perfil imunofenotípico, as células da amostra d0 foram 98,1 % CD56⁺/CD3⁻ e da amostra d7 98,7 % CD56⁺/CD3⁻. Quanto a atividade citotóxica, as células NK da amostra d0 lisaram em média 55,5 % dos alvos e a amostra d7 50,2 %. **Considerações finais:** Um número maior de comparações ainda é necessário para determinar qual seria a melhor etapa para purificação das células NK. **Palavras-chaves:** Células natural killer, expansão ex vivo, terapia celular. Projeto 100457