

Objectives: Cytogenetic study is a prerequisite for the therapeutic use of cellular/advanced therapy products required by regulatory agencies (ANVISA). This aims to guarantee the safety and quality of the cells for clinical use, preventing the use of extensive cell manipulations with chromosomal alterations. In this study we evaluated the frequency of cytogenetic abnormalities in samples from advanced therapy services received at the laboratory between March/2015 and January/2023, also analyzing the cellular origin of the samples and the purpose of the test (treatment, research). **Material and methods:** Samples of cells to be used as an advanced therapy product were evaluated by conventional karyotyping, performed according to the standard technique for cultures of adhered and suspension cells, GTW banding and reported according to ISCN standards. **Results:** 167 samples were evaluated, some of them coming from the same individual or cell lineage due to the use of cells in different culture passages. 101 (60.5%) samples were received from our own institution and 66 (39.5%) samples were sent by external services. The evaluated cell type [and tissue origin] were: 95 (56.9%) mesenchymal [30 bone marrow (18.0%), 17 muscle (10.2%), 14 palate periosteum (8.4%), 14 adipocytes (8.4%), 13 umbilical cord (7.8%), 7 tooth pulp (4.2%)], 17 (10.2%) NK cells [umbilical cord blood], 12 (7.2%) chondrocytes [cartilage], 11 (6.6%) cell lineage [7 HEK293-3F6 (4.2%), 3 K562 (1.8%) and 1 OCI-AML2 (0.6%)], 10 (6.0%) iPSC [urine epithelial cells], 8 (4.8%) lymphocytes [peripheral blood], 7 (4.2%) renal cells [kidney], 6 (3.6%) CAR-T [peripheral blood] and 1 (0.6%) fibroblast. The application of cells was primarily designed for treatment [120 (71.9%)]: 39 (23.4%) chondral lesions and osteoarthritis, 37 (22.2%) urinary incontinence, 21 (12.6%) neoplasms hematological, 14 (8.4%) COVID lung injury and 9 (5.4%) cytomegalovirus – post HSCT; and for research [47 (28.1%)]: 19 (11.4%) culture validation and cell expansion, 11 (6.6%) cell authenticity, 10 (6.0%) neurological processes associated with Down syndrome and 7 (4.2%) chronic kidney disease. Among the samples designated for treatment, 87 (72.5%) samples presented a normal karyotype result, 5 (4.2%) normal karyotype with non-clonal alterations, 9 (7.5%) absence of metaphases and 19 (15.8%) karyotype with clonal alterations. Among the clonal alterations detected, 10 (52.6%) cases had trisomies, 7 (36.8%) structural alterations, 1 (5.3%) tetraploidy and 1 (5.3%) loss of the Y chromosome. Among the samples designated for research, all samples that showed complex karyotype 10 (66.7%) were cells originating from a cell lineage for the purpose of evaluating cell authenticity; the others had trisomies 3 (20.0%) and structural alterations 2 (13.3%). **Discussion:** Trisomies are the most frequently seen alteration in cultures from advanced therapy. It is assumed that chromosome gain can lead to selective advantage and clonal expansion. Cell lineages can undergo different genetic alterations throughout their passages, an inherent characteristic of immortalized cells. **Conclusion:** Extensive manipulation of cells and advanced therapy products can contribute to instability, which may increase the risk of cytogenetic alterations and tumorigenic potential, suggesting that products with clonal cytogenetic alterations should be discarded.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.950>

PERFIL DAS COLETAS DE CÉLULAS TRONCO EM NOVO SERVIÇO DE TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA NO RIO DE JANEIRO

J Martins ^a, KB Fonseca ^a, RS Mendes ^b

^a Grupo GSH, Brasil

^b Hospital Casa – Hospital de Câncer, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Objetivos: Avaliar as coletas autólogas realizadas no primeiro ano do serviço de Transplante de Medula Óssea (TMO) do Hospital de Câncer (HC) no Rio de Janeiro traçando um perfil dos pacientes envolvidos. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo por meio de análise de prontuários dos pacientes internados para Transplante Autólogo de Medula Óssea no Hospital no período entre Janeiro de 2022 e Abril de 2023 que coletaram células tronco de sangue periférico mobilizado com GCSF e Plerixafor (somente em caso de falha de mobilização) após contagem mínima de 10 células CD34+/mm³ e colocação de cateter central. As coletas foram realizadas em máquina de fluxo contínuo (Optia®). **Resultados:** O Hospital realizou, no período, um total de 18 coletas em 15 pacientes. Destes, 33% (5) são do sexo masculino e 67% (10) do sexo feminino. Apenas 20% (3) dos pacientes necessitaram de mais de uma coleta para atingir o alvo desejado e 53% (8) utilizaram plerixafor para a mobilização. A doença com maior incidência entre as coletas foi Mieloma Múltiplo (73%) seguida por Linfoma não Hodgkin. A média de dias para a pega foi de 10,8 dias. **Discussão:** A maioria dos pacientes atingiu o alvo recomendado em apenas uma coleta agregando benefícios econômicos e clínicos já que a fase de condicionamento pode ser adiantada e o paciente é menos espoliado com menos sessões. Dos pacientes que necessitaram de nova coleta, um dos motivos foi a dose de GCSF utilizada que se encontrava abaixo de 10 mcg/Kg/dia. **Conclusão:** Os resultados encontrados no primeiro ano do novo setor de TMO do HC são compatíveis com os encontrados na literatura geral e reforçam alguns fatores preditivos positivos para boa coleta como dose de mobilização na faixa de 10 mcg/Kg de GCSF e máquina de fluxo contínuo de última geração assim como fatores preditivos negativos como determinadas doenças e determinados esquemas quimioterápicos que contribuem para mais de uma sessão de coleta necessária para atingir o alvo mínimo. No entanto, a grande maioria dos pacientes atingiu o alvo estabelecido apenas com uma coleta.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.951>

TRANSPLANTES DE CÉLULAS HEMATOPOIÉTICAS DA MEDULA ÓSSEA, SANGUE PERIFÉRICO E CORDÃO UMBILICAL: UMA COMPARAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DOS ÚLTIMOS 5 ANOS NO BRASIL

JA Ferreira, MEBS Canto, ACDB Gomes, FC Rosa, GS Zveibil

Universidade Cidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: Analisar as diferenças epidemiológicas das fontes de TMO, e fomentar mais estudos sobre suas indicações, eficiência e intercorrências. **Materiais e métodos:** Estudo ecológico de série temporal a partir da coleta de dados do Sistema de Informações Hospitalares do SUS (SIH/DATA-SUS). Foram estudados os transplantes CTH da MO, Sangue periférico, e proveniente do Cordão Umbilical e Placentário (SCUP) de 2018 a 2022 no Brasil. O trabalho incluiu a análise das fontes de transplante (alogênico e autólogo), regiões e valor gasto. Utilizou-se o meio de estatísticas descritivas para a análise do estudo. **Resultados:** O total de CTH obtidas de SP e MO nos anos estudados foi de 12.042, o qual foi dividido em: 8.537 do SP, com 73,8% autólogo, 6,2% alogênico e 3.505 transplantes de MO, sendo 53% alogênico aparentado, 27% autólogo, e 20% alogênico não aparentado. Ao comparar as duas fontes em relação às regiões, vemos que o TCTH autólogo de SP obteve a maior quantidade em todas as regiões. Em segundo e terceiro lugar, vem respectivamente o alogênico de SP aparentado e alogênico não aparentado de MO na região Sul (n = 407 e 340), Centro Oeste (n = 52 e 20), e Nordeste (n = 383 e 141). Já na região Sudeste, ocorreu uma inversão dessas duas modalidades. Em seguida às outras fontes variam epidemiologicamente por região, se assemelhando apenas com a SCUP sendo a última fonte escolhida. O valor total gasto através do SP foi de aproximadamente 200 milhões, e o da MO foi de 260 milhões. Em relação aos anos, em 2020 o TCTH alogênico de SP aparentado ultrapassa as quantidades de alogênico de MO aparentado, ficando atrás do autólogo de SP. A obtenção de SCUP pouco variou ao longo dos anos estudados com o total de 23 casos, sendo 17 na região Sudeste e 6 na região Sul. **Discussão:** O SP tem sido utilizado amplamente como fonte de CTH para o TMO, dominando todas as regiões ao longo desses últimos anos. Em relação a segunda opção de fonte, é visto uma mudança epidemiológica nas regiões, como o Sudeste, que com maior quantidade populacional não seguiu as outras regiões ao ter como segunda principal fonte o alogênico de MO ao invés do alogênico de SP aparentado, impelindo discussões das premissas dessa preferência, visto o gasto público da mesma. Outro fato, são os números poucos expressivos de SCUP, já que sua utilização é uma alternativa terapêutica viável e em expansão no Brasil e no restante do mundo, apesar de suas limitações e da necessidade de ampliação das pesquisas nesta área. **Conclusão:** É evidente a necessidade de mais estudos e pesquisas nessa área para que profissionais possam se respaldar na correta escolha de fonte para o TMO, levando em consideração a individualização do tratamento e outros aspectos, como: estado e agressividade da doença, características do receptor e doador, fatores de risco, doença do enxerto-contra-hospedeiro, recidivas e custo total.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.952>

ANTI-CD19 CARs ARMED WITH NK RECEPTOR-DERIVED ACTIVATION DOMAINS DEMONSTRATE TO IMPROVE CAR-NK ANTITUMOR EFFECTOR FUNCTION AND ARE DIFFERENTIALLY ENHANCED BY DASATINIB

MHD Santos^a, JTC Azevedo^b, RN Silvestre^a, RDT Calado^a, DT Covas^a, V Picanç-Castro^a

^a Hemocentro Regional da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil

^b Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Natural Killer (NK) cells represent a cytotoxic group of cells that play important roles in immune surveillance and antitumor activities. They mediate the death of target cells through activating receptors in a Human Leukocyte Antigen (HLA)-unrestricted manner. NK cells can be obtained from a wide variety of allogeneic sources, opening roads for the development of a well-characterized and off-the-shelf product. As a result, these cells have become an attractive source for cancer immunotherapy. The most recent application of NK cells in immunotherapy is through the generation of CAR-NK cells, which are redirected to specific cancer epitopes. The co-stimulatory region of CARs used to generate CAR-NK cells are primarily derived from those developed to activate T-cells, therefore, it may not be well suitable to properly activate NK cells to make them exert their full cytotoxic potential. In this context, we developed new CAR constructs combining in their stimulatory regions molecules that naturally are involved in NK activation and compared with the commonly used 4-1BB-CD3 ζ based CAR, aiming to improve effector functions of CAR-NK cells. It is described the capacity of Tyrosine Kinase Inhibitors (TKI) to improve NK cells cytotoxic function, therefore, in combination with the new CARs, we assessed the treatment of CAR-NK cells with the TKI Dasatinib to enhance CAR-NK effector function in the context of antitumor activity. NK-92 cells were lentivirally transduced with viral particles containing the coding sequences of 4th generation anti-CD19 CARs, named: A (4-1BB-CD3 ζ), B, C and D. Then, the CAR+ cells were FACS-sorted based on the same fluorescence intensity in order to generate populations with equal CAR presence on the cell membrane. Next, cytotoxicity, degranulation and cytokine production were assessed in co-culture assays against CD19-expressing Nalm-6 or Raji (leukemia and lymphoma, respectively) cell lines. For Dasatinib treatment, the CAR-NK cells were incubated for 24 hours with 10nM of the inhibitor or DMSO as control and then the cells were washed and co-culture assays were performed against Nalm-6 and Raji cells. Using flow cytometry based cytotoxicity assay, CAR-NK cells demonstrated higher killing capacity against either Nalm-6 and Raji cells in all different effector:target ratios, compared with non-transduced NK-92 cells. This