

were evaluated by flow cytometry. Frequency was evaluated on Treg expressing CD3, CD4, CD25, CD45RA, and FOXP3. Serum samples were assessed for TNF-, IFN-, IFN-, CCL2, CCL3, IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-17, IL-21, IL-31, IL-33 by multiplex assay. **Results:** Most participants were female (78%) with a median age (range) of 32 (16–59) years. Skin fibrosis assessed by mRSS improved from median (range) 27 (11–41) at baseline to 18 (9–32) at 12-months and 16 (6–31) at 24-months after AHSCT. Forced vital capacity and DLCO percentages remained stable after AHSCT. The frequency of naive Tregs (CD45RA+FoxP3^{high}CD4+) decreased at 3 and 24-months post-transplantation compared to baseline ($p < 0.05$). However, there was a significant increase in their frequency at 36- and 42-months compared to 3-months after AHSCT ($p < 0.05$). When comparing the levels serum cytokines, there was a decrease in IFN- levels at 12-months ($p < 0.05$) and CCL-2 and IL-8 decreased at 24-months ($p < 0.05$). Serum levels of TNF- α , IL-13, IL-31, and IL-33 remained unchanged after transplantation in SSc patients. Of all serum cytokines analyzed, only the anti-inflammatory molecule IL-10 showed an increase at 12 ($p < 0.05$) and 24 ($p < 0.01$) months compared to baseline; there was also an increase from 12- to 24-months ($p < 0.01$). **Conclusion:** The results showed an increase in naive regulatory T cells, indicating the generation of new regulatory cells. Notably, serum levels of key proinflammatory cytokines such as IFN- γ , CCL-2, and IL-8 showed significant reductions post-transplantation, while serum levels of IL-10, a crucial immunoregulatory cytokine, significantly increased. This suggests that AHSCT can modulate the inflammatory milieu and improve immunoregulatory mechanisms, contributing to the clinical improvements observed in these patients.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.1709>

GENERATION OF DENDRITIC CELLS EXPRESSING CAR FROM INDUCED PLURIPOTENT CELLS: AN ALTERNATIVE ADVANCED CELL THERAPY FOR CANCER?

Paula-Do ^{a,b}, Luana-Correia ^{a,b}, Samuel-Campanelli ^c, Ana-Carolina ^a, Vanderson-Rocha ^{a,c}, Théo-Gremen ^{a,c}, Rodrigo-Nalio ^{a,d}

^a Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (ICB-USP), São Paulo, SP, Brazil

^c Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

^d Instituto D'Or de Ensino e Pesquisa, São Paulo, SP, Brazil

Objective: Immunotherapy based on T cells expressing Chimeric Antigen Receptor (CAR-T) has been shown to be a very promising strategy to treat hematologic tumors. However, the same results are not reported for solid tumors. Therefore, other immune cells have been explored to receive CARs. Dendritic Cells (DC) are a heterogeneous population specialized in

the antigen presentation, with great migratory capacity, being good candidates to receive CAR. Due to their scarcity in peripheral blood and low proliferative potential, an “off-the-shelf” source such as induced pluripotent cells (iPSCs) is needed to enable their use in cell therapy. Thus, our aim is to develop iPSC-DCs expressing CAR as an alternative or supporting therapy for solid tumors. **Methodology:** To insert the CAR plasmid into the iPSC we use the non-viral piggyBac transposon system by electroporation. To differentiation of iPSC into dendritic cells we are using the differentiation media X-vivo 15 media supplemented with glutanine, sodium pyruvate, non-essential aminoacids and 2-mercaptoethanol and different combination of cytokines among the days of differentiation including BMP4, SCF, VEGF, GM-CSF and IL-4. We are characterizing the generated cells by flow cytometry and our ongoing assays include to perform functional tests of migration ability, cytokine production and iPSC-DC potential to stimulate T cells in vitro. Next, we will perform iPSC-CAR-DCs injections in NSG tumor bearing mice to evaluate its in vivo antitumoral activity. **Results:** We transfect iPSC with GFP or CAR and obtained a population with 95% of purity expression with stable CAR and GFP expression. **Discussion:** Although 5 days after electroporation we obtained only 2% of CAR efficiency and 6% of GFP expression, two subsequent cell sorting isolation of CAR and GFP positive iPSCs population resulted in 95% of purity expression with stable CAR and GFP expression after more than 35-days. Distinct iPSC-CAR clones have been selected for expansion aiming to validate CAR stability during distinct differentiations' protocols. Culture of iPSCs followed classical established step-by-step phases: embryoid bodies obtention at day 1–2; hematopoietic Stem-like cells at day 10–16; and the first immune myeloid-like cells at day 13–18. Subsequently, using a combination of GM-CSF plus IL-4 in the differentiation media after around of 30-days of differentiation, we obtained differentiated cells with a typical myeloid immune cell morphology, including few macrophage-like cells, with big cytoplasmatic vacuoles, and numerous cells with dendrite projections close to DC morphology. Also, by multicolor flow cytometry we noted cells expressing HLA-DR+CD1c-CD141+XCR1+ phenotype suggestive of cDC1-like cells. **Conclusion:** We could differentiate the iPSC into cDC1-like cells and their functionality it's been tested. We produced iPSC expressing CAR and GFP by electroporation, in the next step we are going to differentiate these cells into DCs to produce cDC1-like cells expressing CAR.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.1710>

A IMPORTANCIA DA AVALIAÇÃO NUTRICIONAL PRÉ-HOSPITALAR DO PACIENTE CANDIDATO AO TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO-HEMATOPOIÉTICAS

GB Kabke, N Rohsmann

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: O Transplante de Células Tronco-Hematopoiéticas (TCTH) é uma modalidade terapêutica utilizada para

tratar diversas doenças hematológicas benignas e malignas. Muitos pacientes que serão submetidos a TCTH apresentam risco nutricional ou já estão desnutridos durante a admissão hospitalar. A alteração do estado nutricional, na fase pré-TCTH, é um fator prognóstico negativo, interferindo no tempo de enxertia e na resposta ao tratamento proposto. Muitos pacientes apresentam risco nutricional prévio ao TCTH, devido a doença de base e aos tratamentos previamente expostos. Durante a internação é comum a indicação de Terapias Nutricionais (TN) como suplementos orais, Nutrição Enteral (NE) e Nutrição Parenteral (NP). Nesta perspectiva, as orientações nutricionais auxiliam no enfrentamento dos efeitos adversos e prepara o paciente para as possíveis intercorrências durante e após o TCTH. **Objetivo:** Relatar a experiência de nutricionistas no atendimento nutricional ambulatorial no pré TCTH, que atuam em um serviço de Hematologia de um Hospital Universitário do Rio Grande do Sul. **Método:** Trata-se de um relato de experiência das nutricionistas que atuam no serviço de hematologia em um hospital no sul do País. **Discussão:** O TCTH é um dos tratamentos disponíveis para as doenças hematológicas, e consiste em um período de condicionamento com altas doses de quimioterapia seguido da infusão de células tronco hematopoiéticas. Neste centro é realizado atendimento nutricional ambulatorial prévio ao TCTH cujo objetivo principal é conhecer a história clínica do paciente e para que o mesmo possa ser orientado quanto aos possíveis efeitos adversos que podem ocorrer durante e após o TCTH que geram impacto em seu estado nutricional. Na prática clínica, nota-se a importância desta avaliação prévia, pois permite ao profissional nutricionista um planejamento mais assertivo quanto a terapia nutricional baseada no estado nutricional anterior à internação, assim como para o paciente que toma conhecimento de forma precedente no que se refere às rotinas da unidade quanto a nutrição. Além disso, o paciente é orientado em relação aos riscos, os efeitos adversos, que geram impacto no estado nutricional e as TN empregadas durante o TCTH (uso de suplementos orais, NE e/ou NPT). **Conclusão:** Considerando os efeitos do TCTH, principalmente as complicações gastrointestinais, que afetam tanto a ingestão alimentar quanto o estado nutricional, nota-se a importância da avaliação nutricional prévia à internação, tanto para o profissional nutricionista, quanto para o paciente que toma conhecimento dos procedimentos do TCTH e as possíveis intercorrências. Por se tratar de um procedimento de alta complexidade, é essencial que o paciente seja previamente orientado sobre todo o processo e riscos que envolvem a sua realização.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.1711>

AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS QUALITATIVOS DE PRODUTOS DE AFÉRESE CRIOPRESERVADOS UTILIZADOS EM TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE MIELOMA MÚLTIPLO

TL Pereira, GC Silva, ASCP Campos, HDS Dutra, R Schaffel, A Maiolino

Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

A criopreservação de células progenitoras hematopoiéticas consiste em uma estratégia que é/foi muito utilizada principalmente no transplante autólogo. Porém, a falta de consenso na padronização dos processos resulta em diferentes protocolos de acordo com as validações internas, tendo como principais variáveis: concentração dos agentes crioprotetores, concentração das células nucleadas e a utilização de diferentes soluções. Além disso, aspectos como tempo de tratamento e custos operacionais precisam ser pensados para fins de otimização dos recursos, de tal maneira que o transplante a fresco (com infusão 48h após a coleta) também é uma realidade. **Objetivo:** O presente trabalho analisou dados retroativos de amostras criopreservadas de pacientes tratados para Mieloma Múltiplo (MM), visando analisar criticamente aspectos referentes ao manejo do produto. **Material e métodos:** Analisou-se um banco de dados a partir de informações retroativas de pacientes de MM que realizaram transplante autólogo com produto criopreservado entre os anos de 2000 a 2020; e pacientes que realizaram transplante a fresco a partir de 2022. Foram analisadas diferentes variáveis, incluindo: aspectos clínicos e sociais, diferentes soluções crioprotetoras (meio 199, meio RPMI 1640, solução de HES + albumina, e HES 6%), viabilidade (por trypan e 7-AAD), análise de ensaios de proliferação celular (CFU-GM – por soft Agar e/ou metilcelulose) e quantificação de células mononucleares por microscopia óptica. Os resultados encontrados foram analisados estatisticamente usando o software GraphPad Prisma. **Resultados:** Foram analisadas 401 amostras de pacientes, nos quais 225 eram no sexo masculino com idade média de 53,18 (27–71) anos e 176 do sexo feminino com idade média de 55,78 (32–70) anos. As médias de viabilidade analisadas por azul de trypan nos produtos criopreservados em cada uma das soluções foi de: 85,65% (60,59–98,76) para meio 199; 84,86% (46,80–98,80) para RPMI; 83,09% (70,40–92,76) para HES + albumina; e 87,92% (75,60–95,09) para HES a 6%. Não sendo detectável diferença estatisticamente significativa entre essas variáveis (teste ANOVA; $p = 0,1509$). Quando é observada a diferença entre as médias de viabilidade pré e pós descongelamento, observa-se a variação de 14,10 no meio 199; 14,42 no meio RPMI; 16 no meio HES + albumina e 12,17 no meio HES 6% ($p = 0,0858$; Kruskal-Wallis test). Com relação a capacidade proliferativa dos produtos pós descongelamento por tipo de solução, a média dos valores foram de: 301,2 (13–5710) para o meio 199; 211,7 (4–5625) para o RPMI; 122,8 (26–393) para HES + albumina e 555,5 (13–2421) para o meio HES, mostrando uma diferença estatisticamente significativa para o meio HES 6% ($p < 0,0001$; one-way ANOVA). Para todas as condições de congelamento testadas o tempo de pega permaneceu com a média em 11 (7–19) dias. **Discussão:** É necessário que cada instituição avalie o tempo de armazenamento das bolsas, visando os custos de manutenção *versus* a utilização e qualidade do produto. Outro aspecto a ser considerado é a viabilidade do produto descongelado, que deverá ser reavaliada por citometria de fluxo, uma técnica mais sensível e que evidenciará a morte celular de acordo com as subpopulações. **Conclusão:** Apesar de não serem observadas alterações na viabilidade por trypan nas amostras congeladas com diferentes soluções, observou-se que produtos criopreservados com HES 6% apresentaram menor variação quanto ao seu referencial pré-criopreservação. Com isso, percebe-se que a