

não ativados; (II) TCR: Linfócitos ativados via TCR por anticorpos anti-CD3/CD28; e (III) ALT: Linfócitos ativados alternativamente por um coquetel de citocinas (IL-2, IL-7 e IL-15). Os grupos foram transduzidos com um vetor lentiviral codificante para GFP e a eficiência foi avaliada por citometria de fluxo (CF), com base no percentual de células GFP+. A capacidade pró-inflamatória foi comparada pela análise dos marcadores CD25 e CD69 por CF, além da dosagem de IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  por ELISA. Para avaliar a influência destes protocolos sobre o sistema imunológico inato, foi realizada cocultura indireta de monócitos com o sobrenadante dos linfócitos, e a secreção de IL-6 e TNF- $\alpha$  monocíticas foi quantificada por ELISA. **Resultados:** A ativação alternativa de linfócitos viabilizou a transdução lentiviral enquanto manteve menor efeito pró-inflamatório, sem aumento dos marcadores CD69 e CD25 ou das citocinas IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ . Em contraste, a ativação via TCR induziu estado efetor, com elevação significativa dos parâmetros analisados. Além disso, as altas concentrações de citocinas secretadas pelo grupo TCR induziram a ativação de monócitos, o que desencadeou a liberação de IL-6 e TNF- $\alpha$ , um perfil compatível com a CRS. Já a ativação alternativa não induziu estimulação monocitária, indicando menor propensão ao desenvolvimento da síndrome. **Discussão e conclusão:** A terapia com células CAR-T é eficaz, mas limitada por efeitos adversos. Neste estudo, mostramos que a ativação de linfócitos T por sinais homeostáticos permite transdução eficiente sem induzir secreção excessiva de citocinas pró-inflamatórias. Ao contrário do estímulo via TCR, essa abordagem não estimula o sistema imunológico inato, sugerindo uma estratégia mais segura para lidar com os efeitos adversos desta imunoterapia.

#### Referências:

- Bailey SR, et al. Blood Cancer Discov. 2022;3(2):136-53.  
Cavalieri S, et al. Blood. 2003;102(2):497-505.  
Taylor HE, et al. Cell Rep. 2020;31(12):107810.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105481>

ID - 900

#### AVALIAÇÃO DO TEMPO MÁXIMO DE LEITURA DA VIABILIDADE CELULAR POR CITOMETRIA DE FLUXO EM AMOSTRAS CRIOPRESERVADAS PARA TRANSPLANTE AUTÓLOGO

JPR Motta<sup>a</sup>, LOL Silva<sup>b</sup>, LJ Narahashi<sup>b</sup>, COS Meira<sup>b</sup>, LCMS Porto<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Universidade do Estado do Rio de Janeiro, São Gonçalo, RJ, Brasil

<sup>b</sup> Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

**Introdução:** A viabilidade celular é um parâmetro crítico na liberação de produtos de terapia celular. Após o descongelamento, é comum o uso de 7-aminoactinomicina D (7AAD) para marcação e análise por citometria de fluxo. No entanto, em ambientes clínicos ou laboratoriais, atrasos operacionais podem ocorrer entre a marcação e a leitura. Ainda que a marcação com 7AAD seja considerada estável por curtos

períodos, o impacto do tempo decorrido na viabilidade observada após o descongelamento precisa ser claramente determinado para garantir resultados confiáveis. **Objetivos:** Determinar o tempo máximo entre a marcação com 7AAD e a leitura da viabilidade celular que não comprometa significativamente os resultados obtidos no tempo zero, em amostras criopreservadas com DMSO 5% destinadas a transplante autólogo. **Material e Métodos:** Foram analisadas 15 amostras de aférese criopreservadas com DMSO 5% e armazenadas a -80 °C. Após o descongelamento e lavagem para remoção do crioprotetor, as células foram marcadas com 7AAD e armazenadas entre 2-8°C até os diferentes tempo de leitura. A viabilidade celular foi avaliada por citometria de fluxo nos tempos de 0, 1, 2, 3, 4 e 24 horas após a marcação. As análises estatísticas incluíram ANOVA de medidas repetidas com correção de G-Geisser e pós teste de Bonferroni. Diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ . Foi adotado critério técnico de aceitabilidade de até 5% de variação em relação à leitura de 0 h. **Resultados:** A média de viabilidade celular observada no tempo 0 h foi de 93,7%. Ao longo das primeiras 4 horas após a marcação, observou-se variação inferior a 5%, com médias entre 91,6% e 94,1%, sem diferenças estatisticamente significativas em relação ao tempo inicial ( $p > 0,05$ ). Aos 24 h, a viabilidade caiu significativamente para 88,2% ( $p < 0,01$  vs. 0 h), superando o limite técnico de aceitabilidade. Os dados indicam que a leitura da viabilidade com 7AAD pode ser realizada com segurança por até 4 horas após a marcação, sem prejuízo à confiabilidade do resultado. **Discussão e conclusão:** A viabilidade celular de amostras criopreservadas avaliadas com 7AAD permanece estável por até 4 horas após a marcação, sem diferenças estatisticamente significativas em relação ao tempo zero e dentro do critério técnico de variação aceitável. Após 24 horas, observa-se queda significativa da viabilidade, indicando que o processamento da leitura deve ocorrer preferencialmente nas primeiras 4 horas após a marcação para assegurar a fidelidade do resultado.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105482>

ID - 2795

#### AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ADVERSOS IMEDIATOS RELACIONADOS À INFUSÃO DE DIFERENTES FONTES DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOÉTICAS.

E Silva, FS Fernandes, SR Caruso, TR Fernandes, HT Kawase, MD Orellana, F Traina, GC De Santis

Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brasil

**Introdução:** O transplante de células progenitoras hematopoéticas (CPH) é uma abordagem terapêutica essencial no tratamento de diversas doenças hematológicas. As principais fontes de CPH são o sangue periférico mobilizado (SP), a medula óssea (MO) e o sangue de cordão umbilical, cada uma com indicações e características próprias que podem influenciar a ocorrência de efeitos adversos durante a infusão.