

mediator secretion by ELISA (OptEIA Kit; BD Biosciences); (vi) evaluation of the fungicidal effect by CFU assay. **Results:** Thus, we generated GXMR-CAR variants containing CD28, CD137, or iCOS as costimulatory domains, and CD19-CAR. So far, preliminary data demonstrated the cytotoxic activity of CD19-CAR modified T cells against Raji-Luc cell line, after incubation for 24 hours RLU determination. CD19-CAR T cells in the presence of Raji cell line showed a significant increase in the production of IFN- γ or IL-2, compared to the unmodified T cells. The expression of cellular exhaustion markers was also investigated, and both PD-1 and TIM-3 had increased expression in CD19-CAR T cells. In addition, T cells modified with GXMR-CAR variants were co-cultivated with *C. gattii* or *C. neoformans* yeasts for 24-hours. *Cryptococcus* burden was determined through the CFU assay, and GXMR-CD137-CAR T cells promoted a significant reduction in the *C. neoformans* burden, compared to unmodified T cells. **Discussion and conclusion:** Notably, additional experiments are required to validate these findings. The next steps, GXMR-CAR variants and CD19-CAR will be co-expressed by human T cells verifying the effect on *in vitro* control of *C. neoformans* and *C. gattii* infection, as well as the ability to reduce the expansion of neoplastic B cells. Finally, modified T cells co-expressing GXMR-CAR and CD19-CAR will be used in the therapy of NSG mice previously infected with *Cryptococcus* spp. or infused with neoplastic B cell line. **Financial support:** CAPES - PROEX; CNPQ (process 167848/2023-2); FAPESP (process number: 2024/00300-9).

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105489>

ID - 3020

CINÉTICA DA VIABILIDADE E INTEGRIDADE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS HUMANAS APÓS 10 ANOS DE CRIOPRESERVAÇÃO: IMPLICAÇÕES CLÍNICAS E OTIMIZAÇÃO DO PREPARO PRÉ-INFUSIONAL

TS Melo, BV Ramos, CA Ayoub

Centro de Criogenia Brasil, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A criopreservação de células-tronco hematopoéticas (CTH) viáveis é fundamental para o sucesso de terapias celulares e transplantes. O dimetilsulfóxido (DMSO) é o agente crioprotetor mais utilizado, porém sua toxicidade residual após o descongelamento pode comprometer tanto a viabilidade quanto a integridade fenotípica das células, incluindo a expressão do marcador CD34+. Embora as preocupações geralmente se limitem aos aspectos clínicos, pouco se discute o impacto direto do DMSO a nível celular, assim como a cinética da morte celular ao longo do tempo pós-descongelamento. **Objetivos:** Diante disto, o presente projeto teve como objetivo avaliar as condições de lavagem de CTH humanas criopreservadas por 10 anos, testando protocolos que mimetizam práticas clínicas, a fim de avaliar a cinética da viabilidade e integridade celular, além de estabelecer recomendações para o limite temporal seguro de infusão, contribuindo para a padronização dos procedimentos nos centros de transplante. **Material e métodos:** Foram utilizadas amostras de CTH criopreservadas por 10 anos, descongeladas em banho-maria a

37°C e distribuídas em três grupos: lavagem com solução salina 0,9% + 5% albumina humana (Grupo A); lavagem com Voluven 6% (Grupo B); e controle sem lavagem, com DMSO residual (Grupo C). As células dos grupos A e B foram centrifugadas a 300g por 10 minutos e ressuspensas na solução de lavagem. A viabilidade foi avaliada aos 0, 2 e 4 horas após descongelamento por contagem em azul de tripano (Countess II). A integridade celular foi analisada qualitativamente por coloração fluorescente com calceína AM e iodeto de propídio. Após 4 horas, realizou-se citometria de fluxo para avaliar viabilidade via 7-AAD e expressão percentual do marcador CD34+. **Resultados:** No tempo zero, a viabilidade foi similar entre os grupos: DMSO 85,8% ($\pm$ 2,6), Voluven 87,3% ($\pm$ 2,5) e NaCl + albumina 90% ($\pm$ 2,9). Após 2 horas, o grupo sem lavagem sofreu queda significativa de 32,8%, com viabilidade de 53,0%, enquanto os grupos lavados apresentaram perdas menores: 6,1% para Voluven (81,2%) e 9,25% para NaCl + albumina (80,75%). Aos 4 horas, o grupo DMSO apresentou perda total de 71,6%, com viabilidade reduzida a 14,2% ($\pm$ 3,0), e os grupos lavados mantiveram viabilidades superiores a 75% (Voluven 75,5% $\pm$ 2,8 e NaCl + albumina 77,8% $\pm$ 3,0). Apesar de ambas as soluções terem mantido a viabilidade, observou-se melhor preservação no grupo lavado com NaCl + 5% albumina. As imagens por imunofluorescência corroboram os resultados quantitativos, mostrando maior proporção de células vivas nos grupos lavados e predomínio de células mortas no grupo controle. A citometria de fluxo confirmou baixa viabilidade (12,9%) e redução acentuada da expressão de CD34 (2,79%) no grupo sem lavagem, indicando comprometimento fenotípico severo, enquanto os grupos lavados mantiveram maior integridade celular e expressão de CD34+. **Discussão e conclusão:** A toxicidade do DMSO residual após o descongelamento compromete progressivamente a viabilidade e a integridade fenotípica das CTH, especialmente na ausência de lavagem. A remoção do DMSO com soluções como NaCl + albumina ou Voluven preserva as células por até 4 horas, ampliando a janela segura para infusão. Com a adoção dessas práticas, espera-se otimizar os resultados clínicos e ampliar o sucesso das terapias com células-tronco hematopoéticas. Este estudo reforça a importância da padronização dos protocolos pré-infusionais para garantir eficácia e segurança nos transplantes, promovendo abordagens terapêuticas mais seguras e eficazes.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105490>

ID - 3293

CISTITE HEMORRÁGICA POR ADENOVÍRUS DE DIFÍCIL MANEJO NO PÓS-TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS HAPLOIDÊNTICO

CM Melo ^a, ML Puls ^b, CB Prato ^a, TAS Pereira ^a,
IM De Melo ^a, MCM De Almeida Macedo ^c,
RL Da Silva ^c

^a Hospital São Camilo Pompeia, São Paulo, SP, Brasil

^b Hospital São Camilo Pompeia, Hospital Sírio-Libanês, Hospital 9 de Julho, São Paulo, SP, Brasil