

ANÁLISE IN VIVO DA AÇÃO DO SECRETOMA DE CÉLULAS TRONCO MESENQUIMAIS NA REGULAÇÃO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE ANTICORPOS

ALV Rocha, PL Silva, SSA Nishio, CA Carnetta, PC Frizarini, MPT Moraes, E Bianchi, E Deffune

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

Apesar do uso promissor com células tronco mesenquimal (CTM) e secretoma, não há indicativos de experimentos *in vivo* que reforcem a hipótese de que o secretoma de CTM modula a produção de anticorpos e eventualmente poderia ser usado na terapêutica de anemia hemolítica autoimune (AHAI). No geral, a terapia com secretoma tem um alto potencial para tratar várias doenças e condições degenerativas, mas no campo das AHAIs não são encontrados ensaios. Para avaliar a possível atuação do secretoma de CTM murino, inicialmente foi expandida a células em cultura (entre primeira e quarta passagem) procedendo a caracterização imunofenotípica por citometria de fluxo usando painel de marcadores negativos e positivos e posteriormente procedido *wash out* para se obter o secretoma livre de soro fetal bovino (SFB). Foram semeadas $2,8 \times 10^6$ células em frascos T75 cm² e após a verificação de confluência a 70%, foi adicionado o meio de cultura DMEM-F12 sem SFB, mantido por 48 horas. O secretoma foi coletado e submetido à dupla centrifugação, sendo uma de baixa rotação para eliminação de *debris* e a ultracentrifugação a 100.000g durante 60 minutos, sendo logo após aliquoteado e congelado a -80°C até o momento do uso. Seis camundongos Balb-C, isogênicos foram imunizados em D0 com uma suspensão de hemácias a 5% por via intraperitoneal (IP), em D+7 iniciou-se o protocolo de dois animais controle CTRL (recebem somente o antígeno), outros dois receberam suspensão de hemácias e secretoma por via intravenosa (MCEV) e outros dois suspensão de hemácias e secretoma por via intraperitoneal (MCIP). O Protocolo foi repetido mais 3x até D+45, quando foi procedida a esplenectomia e a coleta de sangue para a titulação de anticorpos. Os testes foram realizados com o soro do animal em técnica em tubo sem uso de artifícios. Observou-se que o título do soro do animal controle foi 128, enquanto daquele que recebeu MCEV 128 e do MCIP 64 apontando para uma provável ação inibitória do secretoma no processo de aloimunização. Ao analisar os aspectos histológicos do baço dos animais sacrificados, não foram observadas alterações que sustentem esta queda de título. Em corte histológico do baço houve em todas amostras a identificação de uma polpa branca hiperplásica com centro germinativo extremamente proeminente, presença de macrófago de corpos tingidos, metaplasia mieloide (presença de grande quantidade de megacariócitos exuberantes), presença de hemossiderina sendo polpa vermelha e cápsulas, normais. Houve a identificação sorológica de modulação do título de anticorpos séricos com uso de secretoma aplicado por via IP. Este resultado não foi identificado quando a via de aplicação venosa. Os aspectos histológicos do baço não corroboram com a hipótese de que houve um *feedback* negativo diminuindo a resposta imune. Ensaios adicionais com mais animais e

colorações imuno-histoquímicas deverão ser realizados na sequência do trabalho.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.526>

HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION IN THE BRAZILIAN SUPPLEMENTARY HEALTH SYSTEM: A RETROSPECTIVE COHORT ANALYSIS

VAM Funke^a, DN Oliveira^b, NGT Queiroz-Hazarbassanov^b, V Silva^b, J Schmidt-Filho^c

^a Complexo Hospital de Clínicas (CHC), Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brazil

^b Novartis Biociências, São Paulo, SP, Brazil

^c AC Camargo Câncer Center, São Paulo, SP, Brazil

Objective: To analyze resource usage and costs of patients who underwent Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT) in the Brazilian Supplementary Health System (SHS). **Methods:** Data from a longitudinal retrospective dynamic cohort study (from January/2014 to December/2019) were analyzed. The population consisted of SHS patients who underwent HSCT (regardless of being autologous, allogeneic related or unrelated), and were beneficiaries of one of the 15 main health maintenance organizations that use Orizon billing system (25% of total Brazilian private market). The follow-up period ranged from six months prior to HSCT, to identify the total costs of hospitalization and preparatory exams for the procedure, up to one year after HSCT, or until censored/death. **Results:** 1,265 HSCT procedures were analyzed (1,132 patients). Sex and age were missing data in 40% of the patients' records, however from the data that were possible to collect, 33.0% were males, and 42.75% were between 30 and 70 years old. The most common causes for transplant were Multiple Myeloma (ICD-10 C90.0) and Acute Myeloid Leukemia (C92.0). During the six months that precede transplant, each patient cost an average of BRL 303,500 (total cohort cost of BRL 383.6 million, 55% of this total consisting of hospitalization expenses). During hospitalization for HSCT procedure, 41.2% of patients were admitted to the ICU, with a median length of stay of 21 days. Total hospitalization costs for transplant in this cohort was BRL 503.4 million (average of BRL 398,000 per patient). Additionally, 4.24% of patients presented an immediate adverse event after HSCT. Graft-Failure (T86.0) was the most common event (26,19%). Of the 1,132 patients followed, 26% had new admissions within one month after transplant; Acute Myeloid Leukemia and Multiple Myeloma relapse were the most common causes for re-hospitalization, followed by other transplanted organs and tissues (Z94.8), Acute Lymphoblastic Leukemia (C91.0), unspecified medical care (Z51.9), Cytomegalovirus unspecified disease (B25.9) and unspecified fever (R50.9). The highest costs after discharge from transplant were associated to hospitalizations (BRL 231 million in total, average of BRL 67,300 per hospitalization). **Conclusion:** HSCT is a growing procedure in the SHS in Brazil, and is associated with high costs, especially those with

repeated hospitalizations, either caused by diseases that were the primary cause for HSCT indication or by infections after the procedure. The comprehension on HSCT-related costs in Brazilian SHS setting can help to define actions oriented to a improve patients' quality of life and treatment strategies, thus achieving better patients' outcomes. This study was sponsored by Novartis Pharmaceuticals Corporation. Dr. Funke and Dr. Schmidt-Filho have participated on this study for the sole purpose of scientific exchange and report no conflicts of interest.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.527>

AVALIAÇÃO FUNCIONAL DE LINFÓCITOS T EM PACIENTES PORTADORES DE MIELOMA MÚLTIPLO PARA REPROGRAMAÇÃO GÊNICA E INSERÇÃO DE RECEPTORES DO TIPO CAR

IAP Lemos, VJ Silva, TGM Oliveira, SCF Couto, GA Martinez, FS Seguro, JAM Barbutto, OC Marques, V Rocha, RN Ramos

Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, SP, Brazil

Introduction: T lymphocytes are able to recognize tumor antigens and control neoplasms. However, a series of functional alterations, such as immuno-senescence and exhaustion may affect an effective antitumor response. Multiple myeloma (MM) is a neoplasia characterized by an infiltration of neoplastic B cells in the bone marrow. The prevalent median age group in MM patients is 65 years old; therefore, patients are mainly experiencing an immunosenescent process that may potentially affect the functional status of T lymphocytes. Considering that autologous CAR-T cells (Chimeric Antigen Receptors) treatment for MM showed an overall rate of response of about 30%, we hypothesize that patients' derived T lymphocytes may potentially present a dysfunctional profiling and generating inefficient CAR-T products. Thus, we aim to investigate the molecular landscape of T lymphocytes from patients with MM using multiparametric flow cytometry and functional assays. **Methods:** Healthy donors (HD) (n = 20) and MM patients' (n = 30) peripheral blood will be collected with written consent agreement. T lymphocytes from both groups will be obtained by ficoll gradient and further evaluated according to distinct functional assays. Cells will be submitted to distinct protocols of activation such as: anti-CD3/CD28 microbeads; variable concentrations of IL-2 and IL-7 cytokines; and PMA/ionomycin stimulation. After stimulated, we will investigate surface molecules associated to exhaustion and senescence: CTLA-4 CD160, CD244, PD1, CD62L, TIM3 and LAG3; transcription factors: GATA-3, FOXP3 and T-bet; and intracellular cytokine/factors production: perforin, granzyme-B, TNF-alpha and IFN-gamma using flow cytometry. In addition, migration assays will be performed by cultivating T cells in trans well system in the presence of CXCL9 and CXCL10 chemokines. Moreover, we will evaluate differences in the activity of enzymes related to cell metabolism: EC2.7.1.1, EC 1.1.1.49, EC 2.7, and EC 2.7.1.40. **Results:**

Preliminary set-up experiments revealed that T cells from HD individuals respond to the distinct stimulators by up-regulating all markers of activation. In addition, T cells cultivated in the presence high dose of IL-2 for five days showed an important rate of mortality. **Conclusion:** Experiments using T lymphocytes from MM patients are ongoing and will delineate the molecular and functional status of these cells in the course of the disease.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.528>

EXPERIÊNCIA DE UM SERVIÇO PÚBLICO DE PORTO ALEGRE-RS COM OS PRIMEIROS PACIENTES SUBMETIDOS AO TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS

PR Menegotto, T Soares, A Santin, D Eckert, I Hackner, K Fassina, KT Morsch, L Lindenmeyer, M Capra

Hospital Nossa Senhora da Conceição (HNSC), Grupo Hospitalar Conceição (GHC), Porto Alegre, RS, Brasil

Objetivo: O transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH) é uma modalidade de tratamento para diversas doenças hematológicas. O Hospital Nossa Senhora da Conceição (HNSC) possui atendimento 100% SUS e uma longa tradição no atendimento de patologias onco-hematológicas. No entanto, apenas em dezembro de 2021 foi iniciado o programa de TCTH. Esse estudo busca caracterizar os pacientes que realizaram o TCTH autólogo no HNSC até o momento. **Material e métodos:** Estudo descritivo que apresenta os dados dos primeiros pacientes submetidos ao TCTH, avaliados de acordo com os instrumentos padrões utilizados na unidade de hematologia do HNSC. **Resultados:** Desde dezembro de 2021, já foram realizados oito TCTH autólogos. Todos os pacientes foram previamente avaliados e acompanhados pela equipe multidisciplinar composta por médico especialista em transplante, enfermeira, farmacêutica, fisioterapeuta, nutricionista, odontóloga, psicóloga e assistente social, além da equipe da hemoterapia, responsável pela coleta e armazenamento das células tronco hematopoiéticas (CTH). Todos os pacientes tinham diagnóstico de mieloma múltiplo, sendo que a média de idade foi de 61 anos (43-70 anos). Apenas um paciente foi avaliado como desnutrido leve e todos os demais foram avaliados como eutróficos segundo ASGPPP. A média de IMC foi de 29.77 kg/m². Na avaliação de força muscular, realizada por dinamometria, a média para mulheres (n = 2) foi de 19 KgF para membro dominante e para homens (n = 6) foi de 37,5 KgF para membro dominante (valor de normalidade por idade de 27,05 KgF para mulheres e 47,9 KgF para homens), sendo todos os pacientes com dominância no membro direito. Destes oito pacientes, apenas um não apresentava nenhuma comorbidade, enquanto os demais apresentavam pelo menos uma doença prévia, sendo a mais prevalente a hipertensão arterial sistêmica (n = 5). Todos os pacientes apresentaram ECOG 1 ou 2 no pré-transplante. A mobilização se deu de forma ambulatorial/domiciliar com filgrastima 15 mcg/kg por cinco dias e a coleta de CTH foi