

TRANSPLANTES DE MEDULA ÓSSEA E TERAPIA CELULAR

TRANSPLANTES DE MEDULA ÓSSEA E TERAPIA CELULAR

AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE DECAIMENTO
NÃO CONTROLADO DE TEMPERATURA PARA
CRIOPRESERVAÇÃO DE PRODUTOS DE
TERAPIA CELULAR EM FREEZER -80°C

A Frizzo, BD Benites, FB Pereira, AG Aguiari,
SSA Martins, SCR Alves

*Centro de Hematologia e Hemoterapia
(Hemocentro), Universidade Estadual de Campinas
(UNICAMP), Campinas, SP, Brasil*

Objetivo: O método padrão de criopreservação de produtos de terapia celular utilizado no laboratório é com taxa de decaimento controlado de temperatura em congelador programável (Cryomed). No entanto, dada a importância de se validar um método alternativo de congelamento para uso contingencial, este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia da criopreservação de Produtos de Terapia Celular em freezer -80°C. **Materiais e métodos:** 10 bolsas de Células Progenitoras Hematopoéticas (HPC) foram coletadas por aférese e processadas de acordo com protocolos institucionais previamente validados. Para fins de comparação, testes de viabilidade por citometria de fluxo, também seguindo os protocolos padronizados da instituição, foram realizados nas amostras imediatamente após a coleta e repetidos pós-processamento e pós-descongelamento. Foram incluídas neste estudo somente coletas com viabilidade de células CD34+ pré-processamento $\geq 90\%$. Foi estabelecido como critério de aceitação a viabilidades das células CD34+ pós-descongelamento $\geq 70\%$ em todas as amostras testadas. Após o processamento e adição da solução crioprotetora, o produto final de cada coleta foi subdividido em no mínimo duas bolsas de congelamento. O sensor de um data logger utilizado para monitorar o decaimento da temperatura foi inserido na canister de uma unidade a ser congelada, que foi alocada diretamente no freezer -80°C. O freezer permaneceu fechado até que a temperatura indicada atingisse -76°C. As demais unidades da mesma coleta foram submetidas ao congelamento controlado em Cryomed. Posteriormente, os dados do Data Logger foram recuperados e gráficos com curvas de decaimento de temperatura foram impressos. No primeiro dia útil seguinte ao congelamento, um segmento do item submetido ao congelamento no freezer -80°C e um segmento de um item congelado no Cryomed, provenientes da mesma coleta, foram encaminhados para teste de viabilidade das células CD34+ por citometria de fluxo. **Resultados:** A viabilidade média das células CD34+ pós-processamento das coletas incluídas no estudo foi de 99,93%. A viabilidade pós-descongelamento de todas as amostras analisadas estiveram acima de 70%. A viabilidade média das células CD34+ pós-descongelamento submetidas ao congelamento padrão foi de 96,87% (93,1–99,5), enquanto para as células alocadas em freezer -80°C foi de 98,11% (95,7–100), não havendo diferença significativa entre os valores ($p = 0,11$). **Discussão:** Conforme resultados apresentados, evidenciou-se a integridade das células de interesse antes de serem submetidas aos processos de criopreservação

e também após o descongelamento, tanto daquelas submetidas ao congelamento padrão de rotina quanto das submetidas ao congelamento não controlado em freezer -80°C, demonstrando que o método alternativo proposto não impacta na qualidade do produto. **Conclusão:** O procedimento foi considerado eficaz para a criopreservação de produtos de terapia celular como alternativa ao congelamento em congelador programável, com garantia da segurança do produto para uso terapêutico.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.1645>

O USO DE CÉLULAS-TRONCO: UMA ANÁLISE
DOS PROCESSOS ÉTICOS ENVOLVIDOS

RB Nemitz

*Universidade Nove De Julho (UNINOVE), São
Bernardo do Campo, SP, Brasil*

Objetivos: As Células-Tronco (CT) são células não especializadas com capacidade de se multiplicar e diferenciar em diversos tipos celulares, sendo objeto de estudos para compreender seu potencial terapêutico em condições degenerativas. No Brasil, a legislação de Biossegurança regula rigorosamente o uso de CT em pesquisa acadêmica, devido às complexidades éticas, políticas e socioculturais que cercam a definição do momento em que um embrião humano adquire status moral. Este estudo visa explorar as principais questões éticas que permeiam a pesquisa com células-tronco no contexto nacional. **Material e métodos:** Trata-se de uma revisão sistemática sobre a relação ética do uso de CT no Brasil, pela coleta de dados nas plataformas PubMed e Scielo. Foram incluídos artigos publicados nos últimos 5 anos, em língua portuguesa e inglesa. Foram escolhidos 15 artigos que se adequaram ao proposto nesse estudo. **Resultados:** A utilização de CT está ligada à medicina regenerativa devido à sua capacidade de diferenciação celular, potencial de enxerto e capacidade de modulação imunológica. No entanto, a controvérsia central na utilização dessas células reside na definição do momento em que um embrião humano alcança status de ser vivo. Existem perspectivas que argumentam que um embrião só pode ser considerado vivo enquanto estiver no útero. Por outro lado, há correntes que defendem a atribuição de status de indivíduo ao embrião desde sua formação, rejeitando a ideia de que a manipulação das CT possa desumanizar o embrião. A ausência de um consenso nessa questão gera obstáculos para o desenvolvimento de estudos em diversas áreas. Como resposta a isso, foi estabelecida a Lei de Biossegurança no Brasil, visando regulamentar as práticas relacionadas a esses estudos. Essa lei, regulamentada pela Lei nº 11.105/2005, estabelece normas e diretrizes para o uso seguro e ético de Organismos Geneticamente Modificados (OGMs) e de CT em pesquisas e aplicações na saúde. Esta legislação concilia o avanço da ciência com a proteção ambiental e a saúde pública. **Discussão:** O uso de CT na medicina regenerativa é centrado na definição do status ético e moral do embrião humano. Questões fundamentais incluem se o embrião deve ser considerado um ser vivo desde sua concepção ou apenas quando implantado no útero materno. Essa

controvérsia reflete preocupações éticas profundas sobre a manipulação e utilização das células-tronco, com diferentes correntes de pensamento argumentando sobre os direitos e a dignidade do embrião. A falta de consenso impacta significativamente o progresso científico e o desenvolvimento de novas terapias baseadas em células-tronco, especialmente no contexto das regulamentações biotecnológicas como a Lei de Biossegurança no Brasil. **Conclusão:** Portanto, a lei 11.105/2005 representa um marco regulatório crucial para orientar o uso ético e seguro de CT e OGMs em pesquisa e aplicações médicas. Ao promover normas claras e éticas, essa legislação busca conciliar avanços científicos com considerações éticas e sociais complexas, garantindo o desenvolvimento responsável da biotecnologia. No entanto, a discussão contínua sobre o status moral do embrião humano continua a ser um desafio, exigindo um equilíbrio entre inovação científica e respeito aos valores éticos.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.1646>

UTILIZAÇÃO DE PLASMA FRESCO COMO ALTERNATIVA EM CONDIÇÕES DE HEMÓLISE ELEVADA DE MEDULA ÓSSEA NÃO APARENTADA

FB Bher, ADC Souza, AF Silva, PTR Almeida

Instituto Pasquini de Hemoterapia e Hematologia S/ S Ltda, Curitiba, PR, Brasil

Introdução: A coleta de Células Progenitoras Hematopoiéticas da Medula Óssea (CPH-MO) resulta em grandes volumes, visando alcançar uma contagem ideal de células para transplante. Entretanto, diversos fatores podem contribuir para a hemólise do produto coletado, e o descarte desse material não é uma opção viável. **Objetivo:** Descrever a substituição do sobrenadante hemolisado de CPH-MO por plasma fresco congelado, com o objetivo de manter a viabilidade celular durante o processamento e criopreservação, garantindo que as células permaneçam viáveis até o momento do transplante. **Material e métodos:** Inicialmente, foi adicionado à bolsa o Hidroxietilamido (HES) 450/0,7%–6% para a deseritrocitação, e o produto decantou por 90 minutos em cabine de segurança biológica. Após esse período, não foi possível visualizar a separação das hemácias, e uma alíquota do sobrenadante foi analisada pelo equipamento Architect-Plus 400 Abbott, utilizando metodologia colorimétrica. Devido à necessidade de encontrar uma alternativa para corrigir o problema, novas etapas foram incorporadas ao processamento. A CPH-MO foi distribuída em três bolsas, que foram centrifugadas por 10 minutos a 4200 rpm a 10°C. O sobrenadante hemolisado foi removido e as células foram transferidas para uma única bolsa, utilizando o sistema de conexão estéril. Em seguida, o produto foi ressuspensionado com plasma fresco (AB) proveniente de doação de sangue total, previamente descongelado. Após esse processo, adicionou-se HES-6% e o produto foi submetido a uma nova decantação. As hemácias foram retiradas e o buffy-coat foi centrifugado para desplasmatização e posterior criopreservação. **Resultados:** A CPH-MO foi recebida no Centro de Processamento Celular um dia após a coleta, com a

temperatura da caixa de transporte indicando 6.1°C. O volume inicial do produto era de 811 mL, apresentando $3,9 \times 10^8$ de Células Nucleadas Totais por quilograma (CNT/Kg), 304 mL de eritrócitos e viabilidade celular de 94,8%. O sobrenadante analisado resultou em uma graduação de 4 cruces de hemólise. Após a deseritrocitação e desplasmatização, apresentou volume final de 118 mL, com número de células recuperadas de $3,3 \times 10^8$ CNT/Kg (taxa de recuperação de 84%), 11 mL de eritrócitos residuais e a viabilidade celular de 93%. O procedimento transcorreu em 12 horas. **Discussão:** A hemólise pode comprometer a viabilidade e a função celular, e causar reações adversas durante e após o transplante, o que motivou a realização do procedimento relatado. O método de coleta, o tempo e a temperatura de transporte, podem comprometer a qualidade da CPH-MO. Os mesmos fatores estavam adequados no momento do recebimento, assim como a inspeção visual, que não apresentou desvios. A hemólise foi observada apenas após a decantação, o que resultou no aumento do tempo necessário para o processamento e o risco às células. A partir do processo descrito, o produto alcançou um volume adequado para criopreservação. **Conclusão:** O uso de plasma fresco demonstrou ser uma prática satisfatória para a substituição do sobrenadante hemolisado. Esta abordagem contribuiu eficazmente no processamento da CPH-MO, viabilizando-a para o transplante e evitando intercorrências durante e após a infusão.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.1647>

ANÁLISE DA PEGA NEUTROFÍLICA ENTRE TRANSPLANTE À FRESCO E CRIOPRESERVADO DE MEDULA ÓSSEA

FB Bher^a, ADC Souza^a, AF Silva^a, BC Bulka^b, CO Ribeiro^c, C Bonfim^{d,e}, PTR Almeida^{a,b}

^a Instituto Pasquini de Hemoterapia e Hematologia S/S Ltda, Curitiba, PR, Brasil

^b Hemobanco – Instituto Paranaense de Hemoterapia e Hematologia Ltda., Curitiba, PR, Brasil

^c Hospital Nossa Senhora das Graças, Curitiba, PR, Brasil

^d Hospital Pequeno Príncipe, Curitiba, PR, Brasil

^e Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

Introdução: O transplante de Células-Progenitoras Hematopoiéticas de Medula Óssea (CPH-MO) comumente são infundidas à fresco. A criopreservação pode ser uma alternativa para garantir um transplante viável no momento mais apropriado, como observado durante a pandemia da COVID-19. **Objetivo:** Comparar dois métodos de infusão de CPH-MO para transplante e analisar a enxertia neutrofílica entre grupos de pacientes adultos e pediátricos, correlacionando com o número de células infundidas. **Material e método:** Pesquisa retrospectiva de 2019 a 2023, que incluiu pacientes pediátricos (≤ 17 anos de idade) e adultos (≥ 18 anos), com pega do enxerto neutrofílico, que infundiram CPH-MO à fresco e criopreservadas em dois hospitais oncohematológicos no Sul do Brasil. A