

(TCTH) e seu papel no desenvolvimento de complicações trombóticas são desconhecidas. Com o quimerismo completo do doador no enxerto, o teste genético no sangue periférico torna-se falso negativo e não é mais informativo sobre a condição do paciente. O presente trabalho discorre sobre um caso de paciente cujo resultado da pesquisa do fator V de Leiden no pós-TCTH foi negativo. **Material e métodos:** Relatamos o caso de uma paciente assistida em hospital universitário público do interior do Rio Grande do Sul e revisão de literatura em bibliotecas eletrônicas com os dados sobre “Factor V Leiden and allogeneic bone marrow transplantation”. **Resultados:** Feminino, 20 anos, com diagnóstico de LLA-B em 2017, com recidiva medular isolada 42 meses após o diagnóstico e recidiva em sistema nervoso central isolada 18 meses após a recidiva medular. Foi submetida a TCTH haploidêntico, com doador progenitor masculino, após condicionamento com CY-TBI. A paciente era portadora de heterozigose para mutação H1299R do Fator V de Leiden previamente ao TCTH, detectado em exame de PCR, e já havia apresentado dois episódios de trombose venosa, uma delas em vigência de anticoagulação. A mais grave delas, um tromboembolismo pulmonar. Durante o TCTH, a paciente permaneceu anticoagulada e não teve tromboes. No acompanhamento um ano após TCTH, apresentou quimerismo completo e DRM negativa. Realizado novo PCR para pesquisa da mutação do fator V de Leiden um ano após a enxertia e essa foi negativa. Atualmente a paciente permanece em vigência de anticoagulação plena. A interpretação de resultados de testes genéticos em DNA após TCTH deve ser realizada com cuidado. Isso porque, a análise molecular é realizada no material proveniente do enxerto e no caso de um quimerismo completo de doador, o resultado reflete o status deste. No caso da mutação do Fator V de Leiden, esse dado se tornou conhecido através da análise molecular realizada em tecido hepático de pacientes transplantados que possuíam a mutação previamente ao transplante, que mostrou a persistência de um genótipo mutado do fator V de Leiden de origem nos receptores que passaram a ter o resultado sérico negativo. Dessa forma, o fenótipo hematopoiético não influencia a produção hepática do fator V mutado, e o paciente uma vez portador da mutação, sempre permanecerá com o diagnóstico a despeito da detecção molecular sérica negativa. **Conclusão:** As mutações do fator V Leiden podem ser facilmente avaliados pelo uso de técnicas de PCR baseadas em DNA, desde que esses DNA seja de origem do receptor. A quimera completa produz um resultado falso-negativo quando esses testes genéticos são realizados após o TCTH e é necessário cuidado na interpretação dos resultados. Em nossa paciente, com quimerismo completo, o resultado negativo não é mais informativo sobre o real status da trombofilia da paciente.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.1723>

AValiação de ensaios clonogênicos realizados em produtos de aférese criopreservados para uso em transplante autólogo

GC Silva ^{a,b}, TL Pereira ^{a,b}, ASCP Campos ^{a,b}, HDS Dutra ^{a,b}, R Schaffel ^{a,b}, A Maiolino ^{a,b}

^a Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

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

Objetivo: Realizou-se um estudo retrospectivo com amostras de pacientes para avaliar o desempenho do Ensaio Clonogênico (EC) em produtos pré e pós criopreservação e a capacidade de reprodução de resultados a depender das condições analíticas e método de plaqueamento. **Materiais e métodos:** Analisou-se um banco de dados de 399 amostras de homens (n = 279) e mulheres (n = 120), entre 2013 e 2019, que tinham como doença de base: Mieloma Múltiplo (n = 69), Linfoma de Hodgkin (n = 35), Linfoma Não Hodgkin (n = 16), os quais foram submetidos à mobilização de CPH, leucáfese, criopreservação e posterior realização de TCPH. Analisaram-se amostras das etapas: pré criopreservação (n = 173), pós criopreservação (n = 174), repetição de amostras pós criopreservação (n = 45) e controle de reinfusão (n = 6). Compararam-se amostras de até 3 aféreses e até 3 mobilizações. O EC foi realizado por cultura de células do produto de leucáfese, em meio de cultura semi-sólido contendo Meio Iscove's modificado, ágar 1,8%, soro fetal bovino e meio condicionado de linhagem 5637, como fonte de fator de crescimento. Plaqueia-se 2000 células CD34+ no teste pré crio e 4000 células no pós crio. Houve incubação em estufa de 5% CO₂, a 37°C por 14 dias. Colônias com mais de 50 células foram quantificadas em microscópio invertido. A quantificação de células CD34+ se deu pelo protocolo ISHAGE. Os dados foram avaliados no GraphPad Prism versão 5. **Resultados:** Analisaram-se as medianas das razões entre valores de CD34/CFU-GM de amostras pré e pós crio e eventuais repetições. A mediana das amostras pré crio foi de 35 (5–2143) e em amostras pós crio foi de 102 (1.970–19.171), mostrando que houve significativa perda da capacidade proliferativa (p < 0,0001; Mann-Whitney U). A mediana da RCD34/CFU-GM das amostras pós crio e repetição, não foi significativamente diferente (p = 0,7614; t-test). Ensaio que tiveram RCD34/CFU-GM fora do valor esperado foram repetidos e apenas 20% destes mostram diferença entre os resultados. Comparando-se a RCD34/CFU-GM dos produtos pós crio nas aféreses realizadas, estes também se reproduzem (p = 0,2159; t-test). Ao relacionar o número de dias até a pega do enxerto com a RCD34/CFU-GM observou-se que não há correlação significativa entre esses índices (p = 0,9338; t-test). **Discussão:** O EC para CFU-GM (Unidade Formadora de Colônia para Granulócitos e Macrófagos), quantifica e qualifica as CPH e integra o grupo de exames que os

centros de processamento celular realizam para avaliar a qualidade dos seus produtos, antes de realizar o TCPH. Apesar de seus resultados apresentarem grandes variações, o EC pode expressar prejuízos decorrentes da criopreservação celular, como o que ocorre ao compararmos amostras pré e pós criopreservação. Os resultados mostram que valores outliers podem representar características intrínsecas do paciente, reforçando que os valores não derivam de erros técnicos inerentes ao processo. A ausência de diferença significativa da RCD34/CFU-GM entre os resultados das aféreses, também reforça a ideia anterior. Apesar disso, observou-se que o EC não pode ser considerado como um preditor de pega do enxerto, pois pacientes que tiveram razão mais alta do que outros, não apresentaram diferença na quantidade de dias até a pega. **Conclusão:** O EC, apesar de ser reprodutível, sejam repetições ou aféreses realizadas, não pode ser visto como um preditor de pega do enxerto. Porém, é seguro para avaliar a capacidade proliferativa de produtos de TCPH.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.1724>

GRAFT FAILURE AFTER DENGUE FEVER INFECTION AND PSEUDO-THROMBOTIC MICROANGIOPATHY DUE TO SEVERE VITAMIN B12 DEFICIENCY IN A HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION: A CASE REPORT

RMS Soares^a, MMA Duarte^a, JA Abdon^a, RFP Mendes^a, PDR Carvalho^a, CCB Silva^b, MDS Montenegro^b, FSB Ferreira^b

^a Hospital DF Star, Rede D'Or, Brasília, DF, Brazil

^b Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brazil

Introduction: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is an effective treatment for malignant hematopoietic diseases and the only curative option for Myelofibrosis (MF). Although most patients achieve rapid and stable hematopoietic recovery after allo-HSCT, graft failure remains a life-threatening complication and etiology is complex and usually multifactorial. Graft failure, including graft rejection and poor graft function, is defined as the failure to surpass a threshold Absolute Neutrophil Count (ANC) of $0.5 \times 10^9/L$ after allo-HSCT. **Case report:** We report a 69-year-old male recipient of HLA-matched female sibling donor HSCT due to a high-risk primary MF, with reduced-intensity conditioning and GVHD prophylaxis consisting of post-transplantation cyclophosphamide and cyclosporine. Engraftment occurred on D+17, full donor chimerism was achieved and immunosuppression was tapered and suspended on D+78. One week later, the patient presented at the emergency room with fever, retro-orbital and lower limb pain and was diagnosed with severe dengue fever and pancytopenia required blood transfusion and other supportive treatment such as epoetin alfa, granulocyte colony-stimulating factor and thrombopoietin receptor agonist, leading to full cytopenia recovery. At that time, chimerism analysis was 94% and bone marrow reevaluation revealed a grade 2 fibrosis with multilineage dysplasia. On D+162, a sudden worsening of all hematological parameters, appearance

of schistocytes in peripheral blood, increase in lactic dehydrogenase, reduction in haptoglobin and normal reticulocyte count, in the absence of infections and negative antiglobulin testing, raised the fear of thrombotic microangiopathy but low level of measured vitamin B12 level and partial improvement after supplementation raised the hypothesis of pseudo-microangiopathy. Unfortunately chimerism confirmed graft failure only showing host autologous hematopoiesis. **Conclusion:** Graft failure and poor graft function can result in significant morbidity and mortality after allo HSCT. These two entities are discriminated in terms of donor chimerism. Use of toxic drugs, presence of GVHD, vitamin deficiency and viral infections must be assessed before the diagnosis. Erythropoietin, growth factor support or thrombopoietin receptor agonists may be useful. Also CD34+ stem cell infusion without conditioning regimen may be useful for poor graft function and a second allogeneic stem cell transplantation may be feasible after GF in first allo HSCT.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.1725>

POTENCIALIZAÇÃO DA FUNÇÃO ANTITUMORAL DE CÉLULAS NK DE PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA TRIPLO-NEGATIVO VIA MODULAÇÃO EPIGENÉTICA

D Delechiave, EVO Araújo, AF Gusmão, MPC Piccin, TS Medina

A.C.Camargo Cancer Center, São Paulo, SP, Brazil

O câncer de mama é líder em número de diagnósticos, sendo 2,3 milhões de casos registrados pela OMS em 2022. Dentre eles, 20% são do subtipotriplo-negativo, com pior prognóstico e maior infiltrado imune. As células Natural Killers (NK) são particularmente exuberantes no microambiente tumoral das pacientes com câncer de mama triplo-negativo (TNBC), porém adquirem fenótipo disfuncional à medida em que são expostas ao TME imunossupressor. Uma alternativa para resgatar a funcionalidade dessas células é por meio da utilização de inibidores de immune checkpoints (ICI). Contudo, em casos de exaustão terminal, as células NK não são revigoradas adequadamente com esses ICI. Como um amplo comprometimento epigenético é observado em cenários de exaustão terminal das células NK, tem-se postulado que o resgate da funcionalidade dessas células somente é possível via modulação epigenética. Amparados pelos nossos dados preliminares, propusemos que a inibição seletiva de CBP/p300 pode ser uma estratégia promissora para revigorar células NK terminalmente exaustas em TNBC. Logo, nosso objetivo é avaliar o impacto modulatório de CBP/p300 na função antitumoral de células NK do TME de pacientes com TNBC. Em sangue periférico de doadores saudáveis, temos analisado a modulação de células NK isoladas com a inibição de CBP/p300. As células mononucleadas do sangue periférico foram coletadas e usadas para isolar as células NK, que foram estimuladas e expandidas in vitro na presença ou não do inibidor específico de CBP/p300. A etapa de estimulação consiste no cultivo das células NK na presença das citocinas recombinantes IL-12, IL-15 e IL-18 tratadas ou não com o inibidor