

712

TRATAMENTO DE LESÕES OSTEOCONDRAIS DO JOELHO ATRAVÉS DA ENGENHARIA TECIDUAL: TRANSPLANTE ALOGÊNICO DE CONDRÓCITOS EMBEBIDOS EM GEL DE PLAQUETAS VERSUS HIDROGEL DE ALGINATO

R.A.C. Bittencourt^a, J.A.R. Fracasso^b

^a Departamento de Cirurgia e Ortopedia, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

^b Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Paulista (UNIP), Assis, SP, Brasil

Introdução: A engenharia de tecidos juntamente com IAC tem colaborado em grande parte na regeneração de lesões na cartilagem articular, principalmente no que diz respeito à produção de suportes ou “scaffolds” tri-dimensionais para a cultura de condrócitos pré-implante. Recentemente, uma variedade de suportes ou scaffolds como hidrogel e polímeros sintéticos, têm sido investigadas para a expansão dos condrócitos “in vitro” para o reparo da cartilagem lesada, pois condrócitos quando cultivados em monocamada, passam a sintetizar componentes da matriz da cartilagem fibrosa. Tais suportes incluem polímeros naturais: gel de colágeno tipo I e II, esponjas de Tratamento de lesões osteocondrais da cartilagem articular do joelho através da engenharia tecidual: transplante alogênico de condrócitos embebidos em gel de plaquetas versus gel de alginato 72 colágeno tipo II, gel de fibrina, hidrogel de alginato e polímeros sintéticos como ácido polilático e ácido poliglicólico. **Objetivos:** A proposta do presente trabalho foi tratar lesões osteocondrais da cartilagem articular do joelho implantando condrócitos embebidos em gel de plaquetas versus hidrogel de alginato utilizando como modelo experimental coelhos. **Método:** Amostras de cartilagem articular foram cultivadas em hidrogel de alginato ou gel de plaquetas obtido a partir do Plasma Rico em Plaquetas (PRP) de coelhos durante uma semana para posteriormente serem implantados. Defeitos osteocondrais de 2.0 mm de diâmetro por 4.0 mm de profundidade foram criados cirurgicamente em ambos côndilos femorais (n=36). Subdividiram-se os grupos de animais em grupo tratado que recebeu gel de plaquetas/condrócitos (GPC) e controle que recebeu somente o gel de plaquetas (GP) e grupo tratado que recebeu Hidrogel de Alginato/Condrócitos (HAC) e controle que recebeu somente o Hidrogel de Alginato (HA). Compararam-se macroscopicamente e histologicamente todos os tipos de defeitos após 30, 60 e 90 dias de evolução. **Resultados:** A avaliação macroscópica dos defeitos preenchidos com GPC ou GP apresentou na maioria dos casos, uma superfície brilhante, lisa e em continuidade com a cartilagem adjacente, quando comparados aos defeitos preenchidos com HAC e HA. Histologicamente os defeitos preenchidos com GPC apresentaram (50%), GP (33%), HAC (33,3%) e HA (16,7%) de tecido cartilaginoso no momento de 30 dias de evolução; com GPC apresentou (66,7%), GP (66,7%), HAC (66,7%) e HA (16,7%) de tecido cartilaginoso no momento de 60 dias de evolução; e com GPC apresentaram (83,3%), GP (66,7%), HAC (50%) e HA (33,3%) de tecido cartilaginoso no momento

de 90 dias de evolução. **Conclusão:** O uso do GPC ou GP demonstrou ser mais eficiente no reparo de lesões osteocondrais quando comparado ao HAC e HA.

Palavras-chaves: Joelho; Implante alogênico; Cartilagem articular; Lesão osteocondral; Hidrogel de alginato; Gel de plaqueta.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.714>

713

USO DO ENSAIO CLONOGÊNICO DE PROGENITORES HEMATOPOÉTICOS CRIOPRESERVADOS E SUA RELAÇÃO COM O ENSAIO DE VIABILIDADE DE CÉLULAS CD34+ POR 7-AAD



C.A. Monteiro, A.S.C.P. Campos, G.C. Silva, R.M. Melo, F.L. Costa, T.L. Pereira, T.S. Lima, A. Maiolino, R. Schaffel, H.D.S. Dutra

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

Objetivos: O ensaio clonogênico quantifica e qualifica Células Progenitoras Hematopoiéticas (CPH) de produtos celulares usados no Transplante de Células Progenitoras Hematopoiéticas (TCPH). A formação de colônias neste ensaio avalia a capacidade proliferativa das células progenitoras, porém este é um ensaio que sofre influência de vários fatores, e ainda não há uma padronização interinstitucional. A viabilidade das células CD34+ por ensaio em citometria de fluxo com 7-AAD é um teste de mais fácil e rápida aplicação, porém a correlação dos resultados gerados pelo uso destes ensaios precisa ser melhor investigada. O objetivo deste trabalho foi avaliar a correlação entre o ensaio de viabilidade com 7-AAD por citometria de fluxo e resultado de CFU-GM em células descongeladas para TCPH. **Material e métodos:** Realizou-se um levantamento de resultados de 45 amostras de pacientes submetidos ao esquema de mobilização de CPH, para posterior realização de TCPH autólogo. Destes, 10 pacientes tinham como doença de base Linfoma de Hodgkin ou Linfoma Não Hodgkin e 35 tinham Mieloma Múltiplo. Comparou-se amostras de até duas aféreses, de produtos pré e pós criopreservação. O ensaio de viabilidade das células CD34+ descongeladas foi realizado por citometria de fluxo através da análise da expressão do marcador 7AAD. O ensaio clonogênico foi feito em duas camadas: a camada base – que contém meio de cultura celular, soro fetal bovino e ágar, e a camada celular – que além destes componentes, recebe a adição do meio condicionado da linhagem 5637, como fonte de fatores de crescimento hematopoiéticos. Foram plaqueadas 2000 células CD34+ no teste pré congelamento e 4000 células CD34+ para amostras descongeladas. As culturas foram mantidas em estufa a 37°C, com 5% CO₂ durante 14 dias. Colônias com mais de 50 células foram quantificadas em microscópio invertido. Para estabelecer a relação entre células CD34+ e CFU-GM, utilizamos a quantificação de células CD34 recomendada pela ISHAGE. Os dados foram analisados pelo GraphPadPrism versão 5. **Resultados:** Quando comparado o percentual de células CD34+ em amostras pré congelamento com os resultados de CFU-GM por 105 células, observou-se uma correlação direta

– R Spearman de 0,63 ($p < 0,0001$). A mediana da taxa de viabilidade de células CD34+ pós descongelamento foi de 60,36% (3,85–98,11) e a de recuperação de CFU-GM foi de 35,53% (7,6–181,6). Na comparação entre a taxa de viabilidade das células CD34+ pós descongelamento e a taxa de recuperação de CFU tal correlação não foi evidenciada – R Spearman -0,1698 ($p = 0,3449$). Análise pelo teste t pareado não evidenciou relação estatisticamente significativa ($p = 0,7341$) entre esses dois parâmetros no descongelamento. **Discussão:** Não há consenso de que a análise de viabilidade de células CD34+ pós descongelamento seja garantia de capacidade proliferativa destas células. Segundo nosso estudo, limitado pela casuística, o teste de viabilidade de células CD34 pós descongelamento não pode ser substitutivo para o ensaio de proliferação celular em produtos descongelados. **Conclusão:** A correlação positiva entre a taxa de células CD34 e CFU foi confirmada em amostras de produtos de aférese pré congelamento, entretanto, a taxa de viabilidade das células CD34 não apresentou correlação com a taxa de recuperação de CFU em amostras de produtos de aférese pós congelamento.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.715>

714

VALIDAÇÃO DO PROCESSAMENTO DAS CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOÉTICAS DO SANGUE PERIFÉRICO PARA TRANSPLANTE AUTÓLOGO



K.L. Prata, A.P.C. Funes, J.R. Luz, L.A. Costa, M.D.S.B.S. Furtado, M.C. Martins, N.G. Cruz, P.R.M.P. Pederzoli, R.K. Andrade, M.R.I.S. Libânio, A.R. Belisário

Fundação Hemominas, Centro de Tecidos Biológicos de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: A RDC 214/2018 determina que “as ações da Garantia da Qualidade devem assegurar a validação dos processos críticos do Centro de Processamento Celular (CPC) e o monitoramento dos parâmetros críticos estabelecidos e aprovados pelo respectivo processo de Validação”. No nosso CPC, optamos pela validação concorrente da técnica de processamento de células progenitoras hematopoéticas do sangue periférico (CPH-SP), em conjunto com o início das nossas atividades em 05/2014. Após a validação, monitoramos os parâmetros críticos do processo por meio de indicadores específicos e estamos avaliando a transição desse monitoramento para o plano mestre de validação. **Objetivo:** Foi avaliar se os parâmetros críticos definidos no protocolo de validação do processamento de CPH-SP foram alcançados garantindo conformidade ao procedimento realizado na rotina do CPC. **Material e métodos:** Foi realizada análise retrospectiva dos dados dos produtos criopreservados e armazenados pelo CPC entre 05/14 e 12/19. Os parâmetros iniciais foram definidos conforme dados de outros CPC e contemplaram: 1) celularidade em cada bolsa contendo CPH-SP após adição da solução crioprotetora $\leq 500 \times 10^6$ /mL em 90% dos casos; 2) tempo de adição da solução crioprotetora entre 5–10 minutos em $\geq 75\%$ dos casos; 3) tempo entre a adição da solução crioprotetora e

o início da criopreservação ≤ 30 minutos em 80% dos casos e ≤ 40 minutos em 95% dos casos; 4) avaliação da recuperação de células nucleadas por meio da quantificação da perda celular no plasma $\leq 5\%$ em 100% das bolsas; 5) teste microbiológico negativo em 90% das amostras pré e pós-processamento; 6) tempo de enxertia de neutrófilos ≤ 15 dias. **Resultados:** Foram recebidas para processamento 944 bolsas. Dessas, 312 foram processadas em pool e 632 isoladamente o que resultou em 788 processamentos visando a criopreservação de CPH-SP para uso autólogo. Os resultados obtidos foram: 1) celularidade em cada bolsa contendo CPH-SP após adição da solução crioprotetora $\leq 500 \times 10^6$ /mL em 714 (90,6%) procedimentos; 2) tempo de adição da solução crioprotetora entre 5–10 minutos em 771 (97,8%) procedimentos sendo 710 (90,1%) entre 7–10 minutos; 3) tempo entre a adição da solução crioprotetora e o início da criopreservação ≤ 30 minutos em 773 (98,1%) e ≤ 40 minutos em 786 (99,8%) dos procedimentos; 4) avaliação da recuperação de células nucleadas por meio da quantificação da perda celular no plasma $\leq 5\%$ em 781 (100% do total de dados recuperados) sendo 465 (59,5%) $\leq 1\%$; 260 (33,3%) > 1 e $\leq 2\%$; 41 (5,3%) > 2 e $\leq 3\%$; 14 (1,8%) > 2 e $\leq 4,1\%$ dos procedimentos; 5) teste microbiológico negativo em 767 (97,3%) das amostras pré e pós-processamento; 6) tempo de enxertia de neutrófilos ≤ 15 dias ($n=473$) em 462 (97,7%) transplantes, sendo 430 (90,9%) ≤ 12 dias; 32 (6,8%) > 12 e ≤ 15 dias; 8 (1,7%) > 15 e ≤ 20 dias; 3 (0,6%) > 21 dias. **Discussão:** Os parâmetros considerados críticos para o processamento de CPH-SP foram alcançados, indicando que os procedimentos realizados no CPC estão em conformidade com a legislação e com o praticado por outros CPC. A literatura sobre o objeto de estudo é escassa, sendo importante o compartilhamento desse tipo de informação entre os serviços para comparação e padronização. **Conclusão:** Os critérios de aceitação da validação foram alcançados e os dados apresentados são consistentes, robustos e reprodutíveis.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.716>

HEMATOLOGIA LABORATORIAL

715

ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE POR CRIOAGLUTININAS: RELATO DE CASO



G. Zattera, M.A.F. Chaves, C.A.S. Souza, L. Cichoski, V. Hoinatz, J.T. Schiavini, M.F. Barros, J. Plewka

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, PR, Brazil

Objetivos: Investigar alterações laboratoriais em um caso clínico de anemia hemolítica autoimune por crioaglutininas. **Metodologia:** Os dados referentes ao relato de caso foram coletados por meio do prontuário eletrônico Tasy®, e dizem respeito ao período de internação e acompanhamento do paciente. **Relato de caso:** Paciente do sexo masculino, 56 anos, residente no interior do Paraná, ex-tabagista e ex-etilista pesado, buscou atendimento médico por quadro de artralgia migratória de membros inferiores de forte intensidade associada a edema local, com histórico de Fenômeno de