

these cells and help to develop protocols for scaling up its production for future therapies. **Conclusion:** Our studies reveal UM171 to be a potent molecule to expand HSPC in patients with telomeropathies. Further experiments are required to confirm these results besides the assessment of the engraftment potential of the expanded cells in a murine model.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.517>

PERSPECTIVAS INOVADORAS NA ABORDAGEM NA DOENÇA DO OLHO SECO (DOS) E O INTERFACEAMENTO COM BANCOS DE SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL HUMANO

CA Carnetta^a, ALV Rocha^a, PL Silva^a,
MA Risso^b, A Luzo^b, MCA Paula^b, MA Golim^a,
E Deffune^a

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

^b Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Os bancos de sangue de cordão umbilical e placentário (BSCUP), os laboratórios de processamento de medula óssea/sangue periférico para transplante e os centros de tecnologia celular, passaram a receber a denominação comum de Centros de Processamento Celular – CPC. O país tem BSCUP 14 unidades públicas e 19 de natureza privada, totalizando 33 BSCUP. Uma análise retrospectiva dos relatórios da ANVISA identifica que em 2003 foram coletadas 26 unidades, com desqualificação de 15,38% delas, o crescimento da coleta foi exponencial e dez anos depois, em 2013, foram coletadas 13.995 unidades (5,82% de desqualificação). Em 2020, houve uma diminuição expressiva de coletas, reflexo da pandemia de COVID-19: 4.918 unidades (desqualificação de 12,69%). Este tipo de produtividade compromete a viabilidade financeira destes serviços, e encontrar formas de otimizar bolsas desqualificadas por volume ou quantidade de células para demais finalidades é uma vertente de gestão que deve ser estabelecida. O objetivo deste projeto foi a coleta de segmentos de cordão umbilical das unidades já previamente validadas pelos BSCUP para extração de células tronco, caracterização imunofenotípica e produção de meio condicionado isento de soro fetal bovino. A obtenção do meio condicionado (MC) da cultura de células tronco. Tem crescido cada vez mais o interesse pelo uso dos fatores de crescimento, citocinas e moléculas sinalizadoras livres no MC além das vesículas extracelulares, que se tornaram relevantes, tanto para diagnóstico como para terapêutica, inclusive para aplicações oftalmológicas. Neste campo, identificamos a DOS que impacta profundamente a qualidade de vida das pessoas. Há 15 anos o Laboratório de Biologia Celular tem desenvolvido o soro autólogo, para atendimento dos pacientes refratários aos tratamentos convencionais e farmacológicos disponíveis, em especial aqueles pacientes submetidos ao Transplante de Medula Óssea e que desenvolveram DOS2ário a doença de enxerto versus hospedeiro. No entanto, existem pacientes com impossibilidade de acesso venoso ou com sorologias reagentes para doenças infecciosas que são impedidos de

utilizar o produto. Diante disto, optou-se por produzir o MC de células tronco de cordão umbilical de parturientes jovens e sem comorbidades para obtenção do secretoma das células para avaliação terapêutica na DOS. Um segmento do cordão umbilical foi retirado e processado seguido de plaqueamento e expansão para posterior identificação de adesão ao plástico, caracterização imunofenotípica por citometria de fluxo utilizando marcadores como CD11b, CD13, CD14, CD34, CD31, CD36, CD45, CD73, CD90, CD 105, CD106 e HLA-DR. Todas as amostras tiveram adesão ao plástico com aspecto fibroblastóides e perfil imunofenotípico corroborado com o determinado pela SITC. Para a obtenção de MC foram semeadas CTM_{cup} até 70% de confluência e foram submetidas ao wash out, recebendo meio de cultura DMEM-F12 aditivado por 48 horas. Após isto, foi coletado 60mL do secretoma das células para o experimento específicos *in vitro*.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.518>

THE POLYOMAVIRUS HEMORRHAGIC CYSTITIS TREATMENT PUZZLE: A SUCCESS CASE AFTER HEMATOPOIETIC CELL TRANSPLANTATION

ALM Rodrigues^a, AA Zanette^a,
AC Rheinheimer^a, JR Dereti^b, LA Lanzoni^a

^a Hospital Erastinho, Curitiba, PR, Brazil

^b Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brazil

Background: BK virus (BKV)-hemorrhagic cystitis (HC) is a well-known complication of hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), and contributes to significant morbidity. We report on and discuss the management of a patient with BK viremia, whose post-HSCT course was complicated by severe BKV-HC, combined with grade IV skin and gut graft vs host disease (GVHD). **Case:** A 15 year-old boy diagnosed with leukemia underwent an HSCT with his mother as the haploidentical donor. Graft source was bone marrow, with TNC/kg 4.4×10^8 /kg. Neutrophil engraftment was achieved at day +16; chimerism demonstrated 100% donor cells. Myeloablative conditioning consisted of cyclophosphamide (Cy) 50 mg/kg x 2 days (days -5 to -4) and total body irradiation 12 Gy on days -3 to -1. GVHD prophylaxis consisted of post-transplant Cy on days +3 and +4 along with mycophenolate mofetil x 30 days and cyclosporin. His transplant course was complicated by cytomegalovirus (CMV) infection and grade II skin GVHD. He was discharged on day +20 and readmitted on day +39 with grade IV skin GVHD and transferred to the intensive care unit. Immunosuppressive medications (Ruxolitinib with IV methylprednisolone) were started, and his symptoms started to improve. However, he developed severe lower urinary tract symptoms and hematuria with frequent passage of clots on Day +65. A diagnosis of grade III hemorrhagic cystitis (HC) was made. Quantitative PCR from serum (600 copies/mL) as well as from urine came positive for BK polyomavirus, Cidofovir was started and immunosuppression reduced. Continuous bladder irrigation was initiated without significant improvement. On day +86, a cystoscopy was done for clot

evacuation. As he was unstable on day+105 a transvesical catheterization was performed, with opening of the bladder, matured to the skin, with compression of the mucosa by surgical compresses for bleeding control, which was removed after 48 hours. D+113 persisted with active bleeding, requiring re-approach, and a 3 way Foley catheter was inserted. He received daily hyperbaric sessions for 2 months. Progressive improvement of hematuria was seen, and a bladder ultrasound was performed for control, on day+123, with a slightly distended bladder, without signs of bleeding. On day+147, the cystostomy was closed and no new episodes of bleeding occurred. The patient was discharged from the ICU after 4 months, and all viral PCRs were negative, chronic GVHD was well controlled with reduced immunosuppression and absence of hematuria. Patient is alive with sustained donor engraftment and excellent hematopoietic function at 10 months post-HSCT. **Conclusions:** Treatment of BKV associated HC is currently controversial. This case highlights the importance of balancing immunosuppression and infection treatment post-HSCT. It must be emphasized that at present no standard guidelines are drafted regarding treatment of BK virus related HC.

Table 1: Grading of hemorrhagic cystitis.

Grading Criteria
I Microscopic haematuria on more than 2 consecutive days.
II Macroscopic haematuria.
III Macroscopic haematuria with clots.
IV Macroscopic haematuria with clots and impaired renal functions secondary to urinary tract obstruction.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.519>

OBTENÇÃO DE MEIO CONDICIONADO DE CÉLULAS-TRONCO DO CORDÃO UMBILICAL HUMANO: INOVAÇÃO INCREMENTAL PARA ABORDAGEM DA SÍNDROME DO OLHO SECO

CA Carnetta^a, ALV Rocha^a, PL Silva^a,
A Prudenciatti^a, MA Rizzo^b, A Luzo^b,
A Shiguematsu^a, E Deffune^a

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

^b Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

A obtenção do meio de cultura condicionado de células-tronco (MCCT) corresponde a coleta do secretoma das CT durante o processo de cultura. MCCT é um meio com fatores de crescimento, citocinas e moléculas sinalizadoras livres e vesículas extracelulares, que progressivamente se tornam relevante, tanto para diagnóstico como para terapêutica. Neste campo, identificamos a Síndrome do Olho Seco (SOS) que impacta profundamente a qualidade de vida das pessoas. O Laboratório de Biologia Celular tem desenvolvido como produto para esses pacientes o autocolírio de soro de sangue, porém existem pacientes com impossibilidade de acesso venoso, ou com sorologias reagentes para doenças infecciosas que são impedidos de utilizar o produto. Diante disto, o projeto teve por objetivo produzir o MC a partir do cultivo de

células-tronco obtidas de cordão umbilical (CTMcup) com intuito de se obter o secretoma das células para avaliação terapêutica na SOS. As células CTMcup foram descongeladas do banco de células do laboratório, plaqueadas e expandidas para caracterização imunofenotípica por citometria de fluxo com marcadores específicos. As células foram semeadas em meio específico até que atingiram 70% de confluência, momento em que sofreram wash out, uma etapa de lavagem para a retirada do soro fetal bovino (SFB) e receberam o meio DMEM-F12 aditivado xeno free por 48 horas. Após esse período, o secretoma foi coletado, centrifugado e armazenado. Para a cultura das células-tronco do limbo (CTL), células obtidas da região transicional da córnea e esclera, foi feito um coating de fibrina a partir de hormônios derivados de plaquetas humanas em uma placa de 6 wells para a expansão celular. Assim, as CTL foram descongeladas e plaqueadas nos poços. O primeiro poço foi denominado controle e os poços 2 e 3 sofreram estresse osmótico para a simulação da SOS com meio hiperosmolar (MH) (420 mOsm/L) por 48 horas. Posteriormente, a técnica wound healing foi aplicada, fazendo uma lesão nos três poços. Após a lesão, P1 recebeu o meio padrão, P2 recebeu o meio hiperosmolar e P3 recebeu o tratamento, sendo 50% de MC CTMcup e 50% MH. As áreas das feridas foram monitoradas em seis momentos: T0, T+6, T+12, T+24, T+48 e T+72 horas com o software ImageJ. Foi determinada a viabilidade celular dos três poços, sendo que P3 teve maior viabilidade do que os outros poços. Houve uma tentativa de fechamento da ferida de forma insatisfatória nos poços P1 e P2 sendo que em P3 fechou quase 100% a ferida, evidenciando que o meio condicionado influenciou na regeneração celular e tem potencial para terapia em pacientes com SOS.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.520>

COLETA DE CD34+ PARA TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA

SC Longatti^a, RW Silva^b, VS Baltieri^b,
MA Stefano^b, TLS Silva^a, ACS Silva^a, J Lisboa^a,
F Mendonça^a, CES Ferreira^a

^a Universidade Católica de Brasília (UCB), Brasília, DF, Brasil

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

Objetivo: Discutir a literatura atual sobre a separação de células CD34+ do sangue por meio do processo de aférese como forma de enriquecer o material a ser transplantado para o paciente. **Métodos:** A revisão foi realizada no PubMed em artigos científicos com temas relacionados à coleta e quantificação de CD34, por citometria de fluxo, publicados entre 2017 e 2022. **Resultados:** Nos últimos anos, foi possível observar um aumento significativo no uso de coletas de HSC de sangue periférico para transplante de medula óssea, onde a contagem de células CD34+ é o principal critério para avaliação da qualidade de uma coleta de células tronco hematopoiéticas. Um transplante de células CD34+ pode reconstituir a hematopoiese de forma eficaz e com integridade celular, sendo que o resultado é similar naqueles que receberam o transplante de células frescas e armazenadas. A