

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

recuperação da hematopoiese ocorre em 8-10 dias se não for utilizado metotrexano. **Discussão:** Diante da análise realizada por meio dos artigos, é possível entender que o TMO é muito utilizado em países desenvolvidos devido ao seu alto custo, tendo sido estimado em custar aproximadamente 200.000 dólares americanos. Em um recente estudo de Anasetti et al não identificou diferenças na sobrevida entre ambos os tipos de transplante, mas indica que doações de sangue periférico têm maior chance de desenvolver rejeição e as de medula óssea têm maior chance de desenvolver doença do enxerto contra hospedeiro. Em uma análise de 189 pacientes que receberam doação de células tronco de sangue periférico, Remberger et al. concluíram que o valor ideal para o transplante é de 6 a 7×10^6 CD34+ células/kg. Outro estudo, concluiu que doses de células maiores que 5×10^6 estavam associadas com melhores resultados e menor probabilidade de falha no transplante. Avaliando a relação entre a quantidade de leucócitos, células mononucleares e células CD34+ e a contagem de células progenitoras de sangue periférico numa única aférese, concluiu que 10 células CD34+ circulantes por mm^3 de sangue garante o mínimo de 0.5×10^6 células CD34+ por quilo coletadas no mesmo dia. A mobilização das células da medula para o sangue periférico pode ser estimulada por meio de citocinas ou quimioterapia. Um estudo mostrou que pacientes iniciaram a mobilização das células CD34 com plerixafor 16 horas antes da aférese tiveram melhores resultados que os que iniciaram 11 horas antes. De modo geral, é recomendado o uso de fator estimulante de colônias de granulócitos, ou G-CSF, pois foi evidenciado que após o tratamento com G-CSF, 1-2% das células mononucleares são CD34+. A quimioterapia é recomendada no caso de pacientes que precisam concomitantemente de uma diminuição na carga tumoral ou que necessitam de quantidades maiores de células tronco hematopoiéticas. **Conclusão:** A importância do transplante de células tronco hematopoiéticas retiradas do sangue periférico foi um avanço de grande importância no tratamento de diversas doenças hematológicas. Não apenas apresenta menor comorbidade ao doador, mas também apresenta excelentes resultados. A escolha de utilizar citocinas ou quimioterapia para mobilizar as células da medula depende do estado do paciente, da doença de base e do tratamento sendo realizado no momento. Apesar de existirem alguns estudos, um valor ideal de células CD34+ ainda não foi bem estabelecido e mais pesquisas devem ser feitas nessa área.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.521>

ANÁLISE DO ENSAIO DE VIABILIDADE E PROLIFERAÇÃO CELULAR DE CÉLULAS CD34+ EM PRODUTOS DE AFÉRESE INFUNDIDOS PÓS-REFRIGERAÇÃO DE 48H

ASCP Campos, TL Pereira, GC Silva, TPEG Lopes, TS Lima, TL Pereira, HDS Dutra, A Maiolino, R Schaffel

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

Objetivo: A infusão de Células Progenitoras Hematopoiéticas (CPH) não criopreservadas tem sido proposta como uma

alternativa rápida, econômica e com menos efeitos colaterais adversos, porém, a manutenção da viabilidade e capacidade proliferativa dessas células sob refrigeração precisa ser avaliada durante o tempo. Para isso, ensaios de viabilidade das células CD34+ e formação de CFU-GM (colônias de granulócitos e monócitos) têm sido realizados. Nesse estudo, nosso objetivo foi comparar os dados de viabilidade celular e resultado de CFU-GM em produtos de aférese refrigerados por 48h com o referencial recém coletado (fresco). **Material e métodos:** Foram avaliadas amostras refrigeradas por 48h de 7 pacientes previamente submetidos ao esquema de mobilização de CPH, para posterior realização de transplante de CPH autólogo. Comparamos as amostras de produtos refrigerados por 48h com seus referenciais a fresco. As amostras refrigeradas por 48h foram mantidas na concentração de 1×10^8 células/mL, e foram também anticoaguladas com heparina sódica na proporção de 20 UI/mL de produto total. O ensaio de viabilidade das células CD34+ refrigeradas foi realizado por citometria de fluxo, através da análise da expressão do marcador 7AAD. O ensaio clonogênico foi feito sobre duas camadas: a camada base, que contém meio Iscove's modificado, soro fetal bovino e ágar 1,8%, e a camada celular, que além destes componentes, são adicionados o meio condicionado da linhagem 5637, como fonte de fatores de crescimento hematopoiéticos. Foram plaqueadas 2000 células CD34+ no teste de refrigeração. 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 ISH-AGE. Os dados foram analisados de forma pareada (Teste t) pelo GraphPad Prism versão 5. **Resultados:** A mediana de idade dos pacientes foi de 59 anos. Nos produtos refrigerados a mediana de CD34+ $\times 10^6/\text{kg}$ foi de 4,42 células (0,5 – 11,72) e o percentual de células mononucleadas nos produtos de aférese foi de 85,5% (79 – 92). Nos ensaios de viabilidade, as amostras recém coletadas não apresentaram diferença quando comparadas com os produtos refrigerados por 48h ($p=0,1180$). A relação CD34/CFU-GM entre amostras frescas e refrigeradas por 48h não teve diferença estatística significativa ($p=0,5046$). **Discussão:** Nossos dados mostraram que tanto a viabilidade quanto a capacidade proliferativa não foram afetadas pelo intervalo de 48h sob refrigeração, nas condições testadas. Novos ensaios precisam ser realizados a fim de comprovar todos os parâmetros de validação. **Conclusão:** É sabido que várias condições, como a concentração celular e os processos de anticoagulação, interferem na qualidade final do produto processado. Sendo assim, cada laboratório deve estabelecer a melhor estratégia a ser adotada de modo a garantir segurança em cada etapa do processo.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.522>

MICROANGIOPATIA TROMBÓTICA PÓS-TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE MEDULA ÓSSEA: UM RELATO DE CASO

DMS Ferreira, BG Silva, BM Ferraz, MIS Perdiz, NA Leite, AM Almeida, DMS Alencar, DD Dutra