

repeated hospitalizations, either caused by diseases that were the primary cause for HSCT indication or by infections after the procedure. The comprehension on HSCT-related costs in Brazilian SHS setting can help to define actions oriented to a improve patients' quality of life and treatment strategies, thus achieving better patients' outcomes. This study was sponsored by Novartis Pharmaceuticals Corporation. Dr. Funke and Dr. Schmidt-Filho have participated on this study for the sole purpose of scientific exchange and report no conflicts of interest.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.527>

AVALIAÇÃO FUNCIONAL DE LINFÓCITOS T EM PACIENTES PORTADORES DE MIELOMA MÚLTIPLO PARA REPROGRAMAÇÃO GÊNICA E INSERÇÃO DE RECEPTORES DO TIPO CAR

IAP Lemos, VJ Silva, TGM Oliveira, SCF Couto, GA Martinez, FS Seguro, JAM Barbutto, OC Marques, V Rocha, RN Ramos

Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, SP, Brazil

Introduction: T lymphocytes are able to recognize tumor antigens and control neoplasms. However, a series of functional alterations, such as immuno-senescence and exhaustion may affect an effective antitumor response. Multiple myeloma (MM) is a neoplasia characterized by an infiltration of neoplastic B cells in the bone marrow. The prevalent median age group in MM patients is 65 years old; therefore, patients are mainly experiencing an immunosenescent process that may potentially affect the functional status of T lymphocytes. Considering that autologous CAR-T cells (Chimeric Antigen Receptors) treatment for MM showed an overall rate of response of about 30%, we hypothesize that patients' derived T lymphocytes may potentially present a dysfunctional profiling and generating inefficient CAR-T products. Thus, we aim to investigate the molecular landscape of T lymphocytes from patients with MM using multiparametric flow cytometry and functional assays. **Methods:** Healthy donors (HD) (n = 20) and MM patients' (n = 30) peripheral blood will be collected with written consent agreement. T lymphocytes from both groups will be obtained by ficoll gradient and further evaluated according to distinct functional assays. Cells will be submitted to distinct protocols of activation such as: anti-CD3/CD28 microbeads; variable concentrations of IL-2 and IL-7 cytokines; and PMA/ionomycin stimulation. After stimulated, we will investigate surface molecules associated to exhaustion and senescence: CTLA-4 CD160, CD244, PD1, CD62L, TIM3 and LAG3; transcription factors: GATA-3, FOXP3 and T-bet; and intracellular cytokine/factors production: perforin, granzyme-B, TNF-alpha and IFN-gamma using flow cytometry. In addition, migration assays will be performed by cultivating T cells in trans well system in the presence of CXCL9 and CXCL10 chemokines. Moreover, we will evaluate differences in the activity of enzymes related to cell metabolism: EC2.7.1.1, EC 1.1.1.49, EC 2.7, and EC 2.7.1.40. **Results:**

Preliminary set-up experiments revealed that T cells from HD individuals respond to the distinct stimulators by up-regulating all markers of activation. In addition, T cells cultivated in the presence high dose of IL-2 for five days showed an important rate of mortality. **Conclusion:** Experiments using T lymphocytes from MM patients are ongoing and will delineate the molecular and functional status of these cells in the course of the disease.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.528>

EXPERIÊNCIA DE UM SERVIÇO PÚBLICO DE PORTO ALEGRE-RS COM OS PRIMEIROS PACIENTES SUBMETIDOS AO TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS

PR Menegotto, T Soares, A Santin, D Eckert, I Hackner, K Fassina, KT Morsch, L Lindenmeyer, M Capra

Hospital Nossa Senhora da Conceição (HNSC), Grupo Hospitalar Conceição (GHC), Porto Alegre, RS, Brasil

Objetivo: O transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH) é uma modalidade de tratamento para diversas doenças hematológicas. O Hospital Nossa Senhora da Conceição (HNSC) possui atendimento 100% SUS e uma longa tradição no atendimento de patologias onco-hematológicas. No entanto, apenas em dezembro de 2021 foi iniciado o programa de TCTH. Esse estudo busca caracterizar os pacientes que realizaram o TCTH autólogo no HNSC até o momento. **Material e métodos:** Estudo descritivo que apresenta os dados dos primeiros pacientes submetidos ao TCTH, avaliados de acordo com os instrumentos padrões utilizados na unidade de hematologia do HNSC. **Resultados:** Desde dezembro de 2021, já foram realizados oito TCTH autólogos. Todos os pacientes foram previamente avaliados e acompanhados pela equipe multidisciplinar composta por médico especialista em transplante, enfermeira, farmacêutica, fisioterapeuta, nutricionista, odontóloga, psicóloga e assistente social, além da equipe da hemoterapia, responsável pela coleta e armazenamento das células tronco hematopoiéticas (CTH). Todos os pacientes tinham diagnóstico de mieloma múltiplo, sendo que a média de idade foi de 61 anos (43-70 anos). Apenas um paciente foi avaliado como desnutrido leve e todos os demais foram avaliados como eutróficos segundo ASGPPP. A média de IMC foi de 29.77 kg/m². Na avaliação de força muscular, realizada por dinamometria, a média para mulheres (n = 2) foi de 19 KgF para membro dominante e para homens (n = 6) foi de 37,5 KgF para membro dominante (valor de normalidade por idade de 27,05 KgF para mulheres e 47,9 KgF para homens), sendo todos os pacientes com dominância no membro direito. Destes oito pacientes, apenas um não apresentava nenhuma comorbidade, enquanto os demais apresentavam pelo menos uma doença prévia, sendo a mais prevalente a hipertensão arterial sistêmica (n = 5). Todos os pacientes apresentaram ECOG 1 ou 2 no pré-transplante. A mobilização se deu de forma ambulatorial/domiciliar com filgrastima 15 mcg/kg por cinco dias e a coleta de CTH foi

realizada com o equipamento de aférese Spectra Optia. Cinco desses pacientes alcançaram o alvo de 2×10^6 CD34+ células/kg em apenas um dia de coleta, sendo que a média infundida de células CD34+ foi $3,5 \times 10^6$ /kg ($2,4 - 5,6 \times 10^6$ /kg). Três pacientes utilizaram o protocolo de condicionamento com Melfalano 200 mg/m², enquanto o restante utilizou 140 mg/m², devido à idade. A infusão a fresco ocorreu dentro 48h da coleta das CTH em cinco dos oito pacientes. O tempo médio de internação foi de 16,5 dias e a pega da medula ocorreu em 10,1 dias, em média. As complicações mais frequentes decorrentes do procedimento foram a mucosite (grau 1, n = 2; grau 2, n = 4; grau 3, n = 1; CTCAE v5.0), neutropenia febril (grau 3, n = 8; CTCAE v5.0) e diarreia (grau 1, n = 5, grau 2, n = 3; CTCAE v5.0). Um paciente apresentou choque séptico, sendo transferido à unidade de terapia intensiva, com recuperação e retorno à unidade de internação em 4 dias. **Discussão:** Os dados dos primeiros oito pacientes que realizaram TCTH autólogo até o momento demonstram que o procedimento foi bem sucedido, com resultados similares aos demonstrados na literatura. **Conclusão:** O protocolo de TCTH autólogo utilizado no HNSC apresenta bons resultados, com baixa morbidade e sem nenhum caso de morte relacionada, auxiliando pacientes com mieloma múltiplo usuários do SUS.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.529>

USO DE MEIO CONDICIONADO DE CÉLULA TRONCO NA PRODUÇÃO DE ANTICORPOS MONOCLONAIS

JM Azanha, SSA Nishio, PL Silva, ALV Rocha, CA Carnetta, TS Pinto, MA Golim, E Deffune

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

O uso de meio condicionado, secretoma, de células tronco tem se consolidado como uma ferramenta promissora e eficaz para uma gama importante de aplicações. A produção de anticorpos monoclonais murino baseado na tecnologia hibridoma, utiliza na fase inicial, camadas de células alimentadoras, as denominadas *feeders cells* como adjuvante na produção de um meio promotor da cicatrização da membrana celular e promotora de crescimento dos híbridos recém-criados. A limitação deste tipo de técnica, tem sido cada vez mais, o número de animais de baixa idade (15-20 dias) de vida, sacrificados para se obter o timo. Diante disto, e do alto custo de meios xeno-free no mercado, este projeto se propôs a avaliar a contribuição de meio condicionado obtido de células tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo murino (MC-CT_{tam}) na efetividade da fusão celular comparando com método clássico (*feeder cells*). A obtenção do MC-CT_{tam} foi realizada a partir da obtenção de fragmento de tecido adiposo (1 g) da prega inguinal de camundongos Balb-C (3 animais). A amostra de tecido foi digerida por colagenase tipo I e procedido o plaqueamento e cultura na presença de DMEM-F12 aditivado. As células foram expandidas até se obter 2×10^7 células/mL entre segunda e quarta passagens. As CTM foram caracterizadas por citometria de fluxo utilizando FACS Calibur e software Cell Quest Pro com painel de CD11b, CD45, CD34, CD73 e CD90.

Foi procedida a diferenciação em trilhaagem (adipocítica, osteogênica e condrogênica) para comprovação do perfil de CTM. Após a caracterização, CTM_{tam} foram expandidas em cultura, tendo sido realizado wash out para remoção de resquícios de vermelho fenol e de soro fetal bovino. Após isto, 2×10^7 células foram plaqueadas em frascos T-25 cm² e mantidos em condições ótimas de cultura por 48 horas, a partir do qual o MC-CTM_{tam} foi coletado e submetido à dupla centrifugação: baixa rotação e ultra centrifugação a 100.00 g. As *feeders cells* controle (timócitos de camundongos recém-nascidos) foram obtidos após timectomia e dissociação mecânica do timo. Após 48 horas da fusão celular, os protocolos foram executados com cada um dos aditivos e observado o aspecto da cultura e a identificação de híbridos secretores de imunoglobulinas. No protocolo clássico (controle) foram gerados 1300 híbridos com uma eficiência de fusão de 33, 61% e naquele usando MCCT_{tam} outras 1400 células com uma taxa de 69,71% O meio condicionado obtido de células tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo murino (MC-CT_{tam}) se mostrou efetivo como aditivo de fusão celular quando comparado com método clássico (*feeder cells*). O MC-CT_{tam} deve despontar como produto de base tecnológica, como substituto de células do timo de camundongos recém-nascidos.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.530>

COLÍRIO DE SORO AUTÓLOGO E OS NOVOS HORIZONTES DA TERAPIA

ALV Rocha, PL Silva, CA Carnetta, PC Frizarini, AM Prudenciatti, AI Shiguematsu, E Deffune

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

A Síndrome do Olho Seco é uma doença multifatorial das lágrimas e da superfície ocular que resulta em desconforto, distúrbios visuais e instabilidade do filme lacrimal e pode ter grande impacto negativo na qualidade de vida dos pacientes. A abordagem terapêutica com soro autólogo tem sido preconizada desde 1986, deste modo, com respaldo em nota técnica sobre produção de colírio liberada pela Anvisa, o reconhecimento da terapia no Conselho Federal de Medicina, foi realizado estudo de logística de implantação de negócio e viabilização da terapia com soro autólogo para a produção de alta qualidade em parceria com startup já estabelecida. A primeira etapa para validação de mercado para a terapia consistiu em um mapeamento de mercado para implantação de Mínimo Produto Viável (MVP) já validado por pesquisa científica, produtos com atividade biológica para a saúde humana. Foram identificados 177 serviços/clínicas/consultórios de oftalmologia na região de Botucatu, sendo que 90 clínicas/profissionais entrevistados, 27 estabeleceram contrato para futura prestação de serviços, correspondendo a 30% dos visitados e 15,2% do total de clínicas. O paciente com indicação para uso da terapia é orientado pelo médico oftalmologista que preenche o Formulário de Solicitação (carta de intenção) e protocolo de utilização do colírio de soro autólogo com as devidas exigências da análise sorológica para doenças transmissíveis pelo sangue (Hepatites B e C, HIV, HTLV/II e