

^a Hemocentro de Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brasil

No contexto da terapia celular, o uso de células estromais mesenquimais multipotentes (MSC) se dá em grande parte pela sua propriedade imunomodulatória. Neste processo, as MSC liberam fatores solúveis que gerenciam a citotoxicidade e proliferação das células do sistema imunológico melhorando o prognóstico de doenças inflamatórias. Entre os principais fatores está a prostaglandina E2 (PGE2), um eicosanoide sintetizado após a estimulação das MSC com a citocina inflamatória TNF- α e o aumento de expressão nas células de ciclo-oxigenase 2 (COX-2). Baseado nisto, propõe-se que moléculas que mimetizam a ação da citocina inflamatória poderiam ser selecionadas como novos moduladores de COX-2 e otimizariam funcionalmente as MSC na terapia. Diante desta hipótese, o objetivo deste trabalho foi realizar um ensaio de qPCR em larga escala para seleção destas novas moléculas. Para o desenvolvimento da abordagem, foi selecionada uma linhagem primária de MSC isolada de cordão umbilical (UC-MSC) com expressão gênica e proteica de COX-2 aumentadas após o tratamento com 100 ng/mL de TNF- α por 72 horas. No ensaio, a cultura de células recebeu os seguintes tratamentos: controle positivo de modulação de COX-2, TNF- α 100 ng/mL; controle negativo, o solvente da coleção de moléculas, DMSO, a 0,5% e, por fim, 715 moléculas, adicionadas poço a poço, com concentração de 50 μ M. O período de tratamento foi de 72 horas e, posteriormente, as placas de cultivo seguiram para extração automatizada de RNA total e síntese de cDNA. Para a reação de qPCR, o gene alvo foi PTGS2 (COX-2) e o endógeno, B2M. O método de análise dos dados foi $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Foram feitas duas triagens. As moléculas selecionadas seguiram para ensaio de validação, no qual, a UC-MSC foi tratada com diferentes concentrações da molécula (50 a 0,8 μ M) em diluição seriada fator 2. Após período de 72 horas, a proteína total foi extraída de cada tratamento e avaliada por Western Blot (WB) para expressão de COX-2. Os resultados demonstraram que em decorrência de efeitos citotóxicos e baixo rendimento, de 715 tratamentos, 590 foram analisados no qPCR. A triagem primária selecionou 53 alvos e a secundária, duas moléculas: o produto natural indirubina (PubChem: 46386581) e o anti-inflamatório piroxicam (PubChem: 46386918). Resultados preliminares da etapa de validação por WB de um isômero de indirubina (Sigma-Aldrich - PHL89716) mostram que as concentrações 12,5 e 6,2 μ M apresentam bandas mais intensas de COX-2 (volume relativo de banda: 0,159 e 0,111, respectivamente) em comparação ao tratamento com solvente DMSO (volume relativo de banda: 0,082). Para o piroxicam (PubChem: 46386918), a expressão positiva para COX-2 foi observada nas concentrações de 50 a 12,5 μ M. Não foram analisados os volumes de banda. A conclusão até o momento, é que o ensaio de qPCR em larga escala baseado no eixo TNF- α - COX-2 permitiu a seleção de duas moléculas candidatas a moduladores de COX-2. Para os próximos passos pretende-se repetir a validação por WB, determinar EC50 com base na quantificação de PGE2 em meio condicionado pelas células após o tratamento com diferentes concentrações das moléculas selecionadas e, por fim, elaborar uma abordagem

in vitro para avaliar a funcionalidade de UC-MSC previamente tratadas. **Financiamento:** CTC-FAPESP:(2013/08135-2); INCTC-CNPq (465539/2014-9); CAPES (88882.378939/2019-1); FUNDHERP).

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.548>

AMD3100 PROMOTES A RAPID AND EFFICIENT MOBILIZATION OF BONE MARROW-DERIVED HEMATOPOIETIC STEM CELLS IN THE BLOODSTREAM OF BALB/C MICE

MS Barros ^{a,b}, F Magalhães-Gama ^{b,c}, WLL Neves ^b, NP Garcia ^b, HNS Ibiapina ^d, AM Tarragô ^{b,d}, EB Leon ^a, AG Costa ^{a,b,d,e}, A Malheiro ^{a,b,d}, ND Araújo ^{a,b}

^a Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil

^b Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM), Manaus, AM, Brazil

^c Instituto René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Belo Horizonte, MG, Brazil

^d Universidade do Estado do Amazonas (UEA), Manaus, Brazil

^e Escola de Enfermagem de Manaus (EEM), Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brazil

Introduction: Hematopoietic stem cells (HSCs) are the basis of bone marrow (BM) transplantation. Its clinical success depends on the efficient HSCs mobilization from BM to peripheral blood (PB) for leukapheresis and clinical harnessing. Although granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) is the “gold standard” to stimulate the HSCs trafficking to PB, AMD3100 has emerged as a well-tolerated pharmacological strategy without significant toxicity. **Objective:** Evaluate the influence of AMD3100 and G-CSF on HSCs mobilization in BM to PB in BALB/c mice. **Material and methods:** Forty-five BALB/c mice were distributed into 5 groups to receive pre-treatment with intraperitoneal (i.p.) injection of phosphate-buffered saline (PBS) solution (160 μ l/i.p.) or G-CSF (200 μ g/kg/i.p.) for 4 consecutive days. On day 5 (D5), mice were also injected with PBS or AMD3100 (5 mg/kg/i.p.). These mice were then grouped into PBS+PBS control group (CG, n=9) PBS+G-CSF group (n=9), PBS+AMD3100 group (n=9), G-CSF+PBS group (n=9) and G-CSF+AMD3100 group (n=9). After 1 hour, BM and PB samples were subsequently collected. The mobilized CD45⁺ CD34⁺ HSCs were assessed ex vivo using Flow Cytometry. Statistical analyses were performed through GraphPad Prism (v.5) using the One-way ANOVA test with Tukey's post-test. **Results and discussion:** Mice of the PBS+AMD3100 group exhibited significant HSCs enrichment into the BM and mobilization to PB when compared to CG and to the PBS+G-CSF group ($p=0.0002$). Furthermore, it was observed that mice of the G-CSF+PBS group also exhibited a higher frequency of HSCs in BM and PB compared to CG and to the PBS+G-CSF group ($p=0.0002$). Interestingly, mice of the G-CSF+PBS group had a significant increase of HSCs in BM when compared to

CG and to the PBS+G-CSF group ($p=0.0002$). In contrast, mice of the G-CSF+AMD3100 group had the highest rate of HSCs mobilization in PB when compared to CG and to the PBS+G-CSF group ($p=0.0002$). The pre-treatment with G-CSF for 4 consecutive days or just a single dose of AMD3100 on D5 induced a higher enrichment of HSCs in BM and PB. However, the combination of pre-treatment with G-CSF with a single dose of AMD3100 on D5 just induced the highest mobilization of HSCs in PB. **Conclusion:** These data demonstrate that AMD3100 induces more rapid and robust mobilization of CD34+ HSCs in the BM and PB, unlike G-CSF, which acts in a dose-dependent manner. **Funding:** FAPEAM, CAPES and CNPq.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.549>

TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE MEDULA ÓSSEA COM PRODUTO CRIOPRESERVADO VERSUS NÃO CRIOPRESERVADO EM PACIENTES PORTADORES DE MIELOMA MÚLTIPLO

CFM Silva, CV Mendonça, GM Cuquetto, ASCP Campos, TA Barros, R Schaffel

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

Objetivos: Comparar aspectos relacionados ao transplante de medula óssea autólogo (TMOa) com e sem criopreservação do produto em pacientes portadores de mieloma múltiplo (MM) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho. **Materiais e métodos:** Foi realizada análise retrospectiva com pacientes submetidos a TMOa entre os anos de 2020 e 2022 no serviço de transplante de medula óssea do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho. Os desfechos primários avaliados foram pegadas neutrofílica e plaquetária e tempo total de internação. Como desfechos secundários avaliados necessidade de suporte transfusional, número de hemocomponentes transfundidos, tempo de neutropenia, custo e falha de pega do enxerto. Todos os pacientes foram mobilizados com G-CSF subcutâneo na dose de 10 mcg/kg/dia e o regime de condicionamento proposto com melfalan 200 mg/m² (que poderia ter sua dose modificada de acordo com a idade e comorbidades). A quantificação de células CD34+ foi realizada por citometria de fluxo no quarto dia da mobilização e, quando contagem acima de 9 células CD34+/mm³, a aferese para coleta era realizada no dia seguinte. Foram excluídos os pacientes com falha de mobilização. A criopreservação seguiu protocolos institucionais para o congelamento e utilizou DMSO no produto, enquanto o produto não criopreservado permaneceu refrigerado a 4°C até a infusão, por até 48 horas. **Resultados:** Foram avaliados 11 pacientes submetidos a TMOa com produto criopreservado e 8 com produto refrigerado. Não houve falha de pega do enxerto, bem como diferença significativa entre os tempos de pegadas neutrofílica (mediana de 10,5 dias vs 12 dias) ou plaquetária (mediana de 11 dias para ambos). Em relação ao tempo de internação, foi superior no grupo submetido à criopreservação (mediana de 26 dias contra 20,5 dias) ao levarmos em conta as duas internações necessárias: uma

para mobilização e coleta e outra para infusão e pega, elevando também os custos do transplante nesse grupo. Quanto ao suporte transfusional, foi semelhante nos dois grupos com mediana de um concentrado de hemácias e uma aférese de plaquetas em ambos. Tempo de neutropenia foi inferior no grupo criopreservado (6 dias vs 4 dias). **Discussão:** O TMOa faz parte do tratamento padrão dos pacientes portadores de MM elegíveis. Mesmo com advento de novas drogas, estudos recentes seguem demonstrando maior sobrevida livre de progressão em pacientes submetidos ao procedimento. Na literatura há trabalhos que comprovam ser viável e factível a utilização de produtos não criopreservados, reduzindo custos, possibilitando maior número de centros a realizarem transplante, poupando a exposição do paciente ao DMSO e com resultados comparáveis à modalidade tradicional. Nossa pequena série de casos vai ao encontro desses achados. Os pacientes submetidos ao transplante não criopreservado não apresentaram atraso na enxertia neutrofílica ou plaquetária, não houve falha de pega do enxerto e permaneceram menos tempo internados, reduzindo gastos e possibilitando maior rotatividade de leitos. **Conclusão:** Para serviços com alta demanda de pacientes com indicação do procedimento e recursos financeiros limitados, o TMOa não criopreservado para portadores de MM se mostrou uma estratégia acertada, sem riscos ou prejuízo para os desfechos avaliados.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.550>

USO TERAPÊUTICO DE CÉLULAS T-CAR EM CÂNCERES HEMATOLÓGICOS

MEFS Lima^a, BR Larrazábal^b, GJB Albertim^a

^a UNISÃO MIGUEL (USM), Recife, PE, Brasil

^b Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES/UNITA), Caruaru, PE, Brasil

Objetivos: Analisar nas produções científicas, nacionais e internacionais, como o uso terapêutico das células T-CAR é aplicado em cânceres hematológicos. **Material e métodos:** Trata-se de um estudo do tipo descritivo, qualitativo de revisão de literatura. Os trabalhos para revisão foram coletados eletronicamente através dos sites: NBCI, PUBMED, SCIELO, INCA com publicação no período de 2015 a 2022 nos idiomas: inglês e português, foram utilizados os descritores da forma a seguir: Imunoterapia, células T-CAR, oncohematologia, transferência celular adotiva, *immunotherapy*, CAR T cells e *adoptive cell transfer*. A elaboração desta revisão de literatura partiu do seguinte questionamento: como o uso de células T-CAR em cânceres hematológicos tem obtido resultados positivos/promissores? A revisão de literatura visa reunir informações do tema estudado e organizá-los de forma ordenada como método de estudo para auxiliar a aprendizagem profunda sobre o tema desejado. **Resultados:** Foram selecionados dez estudos como resultados da pesquisa. Os resultados são promissores em pacientes com doenças malignas nas células B e linfoma de células B, a partir disso, foi realizado um levantamento dos diversos estudos que usam a engenharia genética dos CARs específicos e que abordam pesquisas para obter resultados em outras neoplasias hematológicas e