

# Avaliação da criopreservação das CTHs de sangue de cordão umbilical e placentário após a introdução da trealose, como crioprotetor utilizando lipossomas como veículo

Motta, J. P. R.<sup>1,2</sup>, Lira, C. C. P.<sup>1</sup>, Bouzas, L. F.<sup>1</sup>, Paraguassú-Braga, F. H.<sup>1</sup>, Porto, L. C.<sup>2</sup>

1- Banco de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário (BSCUP), Centro de Transplante de Medula Óssea (CEMO), Instituto Nacional de Câncer (INCA), Rio de Janeiro, Brasil.

2- Laboratório de Histocompatibilidade e criopreservação da Universidade do Estado do Rio de Janeiro

## INTRODUÇÃO

Um dos grandes problemas durante e logo após a infusão de células-tronco hematopoiéticas (CTHs) criopreservadas é a toxicidade relacionada à presença do dimetilsulfóxido (DMSO). Alguns estudos têm mencionado complicações relacionadas à infusão do DMSO em pacientes. Protocolos de congelamento visando à diminuição e/ou retirada do DMSO no produto a ser infundido sempre foi um campo em expansão. Pesquisas utilizando outros crioprotetores, como a trealose, vêm sendo realizadas, porém a trealose não confere uma ótima criopreservação por ser somente um crioprotetor extracelular. Uma abordagem para introdução da trealose no citoplasma seria a utilização de lipossomas como veículo.

## OBJETIVO

Avaliar a criopreservação das CTHs de sangue de cordão umbilical após a introdução da trealose nas células, utilizando lipossomas como veículo

## MATERIAIS E MÉTODOS

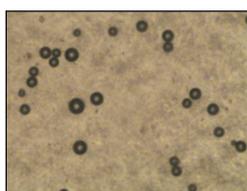
SCUP foi processado e submetido à criopreservação programada em soluções contendo diferentes concentrações de DMSO (10%, 2,5%), assim como as combinações de DMSO (2,5%) com a trealose (60mmol/L) intracelular (lipossoma) e/ou extracelular e soluções ausentes de DMSO, armazenados por uma semana em nitrogênio líquido e analisados quanto: quantidade de CTHs CD45+/CD34+ e viabilidade por citometria de fluxo com 7-Amino-Actinomicina-D (7AAD), os resultados pós-congelamento foram comparados entre si, e com o controle (DMSO 10%).

## RESULTADOS

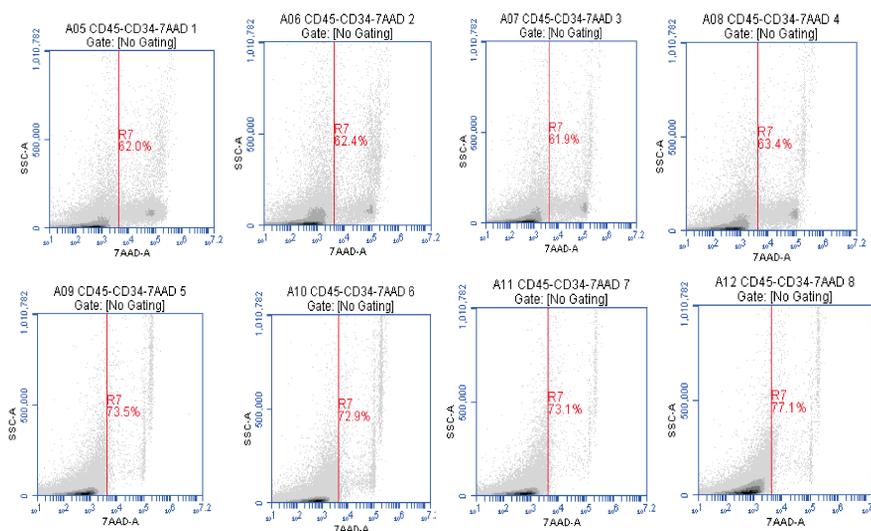
Utilizando a sonda molecular 7AAD como marcador fluorescente de integridade celular, foi observado um aumento na viabilidade celular de 1,23 vezes na solução que continha trealose intra e extracelular, 1,17 vezes tanto na solução trealose intracelular como na solução de 2,5%DMSO mais trealose intra e extracelular, 1,18 vezes na solução 2,5%DMSO mais trealose intracelular, 1,02 vezes na solução de 2,5%DMSO mais trealose extracelular, todos esses resultados comparando com o controle de 10% DMSO. Em relação à quantificação das células CD45/CD34+ os resultados obtidos não foram fidedignos, isso pode ter ocorrido por uma possível alteração do lipossoma à membrana celular.

Análise da integridade celular pelo marcador fluorescente 7AAD

Soluções crioprotetoras	% de viabilidade
10% DMSO	62,4
2,5% DMSO	61,8
2,5% DMSO + trealose extracelular	63,4
2,5% DMSO + trealose intracelular	73,5
2,5% DMSO + trealose intra e extracelular	73
Trealose intracelular	73,18
Trealose intra e extracelular	77,05



LIPOSSOMA DE TREALOSE  
figura 1 – 4x e figura 2 – 10x



Dotplot das soluções de criopreservação

## CONCLUSÃO

Para se obter uma criopreservação adequada utilizando a trealose como crioprotetor é necessária à presença desse dissacarídeo no meio intra e extracelular. Esse estudo, preliminar, precisa ser repetido e acrescido de ensaios funcionais.