



# ENGENHARIA BIOMÉDICA:

---

Desenvolvimento e inovação

*Alana Maria Cerqueira de Oliveira* (Organizadora)

**Atena**  
Editora  
Ano 2022



# ENGENHARIA BIOMÉDICA:

---

Desenvolvimento e inovação

*Alana Maria Cerqueira de Oliveira* (Organizadora)

  
Atena  
Editora  
Ano 2022

**Editora chefe**

Profª Drª Antonella Carvalho de  
Oliveira

**Editora executiva**

Natalia Oliveira

**Assistente editorial**

Flávia Roberta Barão

**Bibliotecária**

Janaina Ramos

**Projeto gráfico**

Bruno Oliveira

Camila Alves de Cremo

Luiza Alves Batista

Natália Sandrini de Azevedo

**Imagens da capa**

iStock

**Edição de arte**

Luiza Alves Batista

2022 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2022 Os autores

Copyright da edição © 2022 Atena

Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena

Editora pelos autores.

Open access publication by Atena Editora



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

**Conselho Editorial****Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto

Profª Drª Alana Maria Cerqueira de Oliveira – Instituto Federal do Acre

Profª Drª Ana Grasielle Dionísio Corrêa – Universidade Presbiteriana Mackenzie

Profª Drª Ana Paula Florêncio Aires – Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás

Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná

Prof. Dr. Cleiseano Emanuel da Silva Paniagua – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás

Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará

Prof<sup>o</sup> Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Prof. Dr. Juliano Bitencourt Campos – Universidade do Extremo Sul Catarinense

Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande

Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Marco Aurélio Kistemann Junior – Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Miguel Adriano Inácio – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais

Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba

Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte

Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Sidney Gonçalo de Lima – Universidade Federal do Piauí

Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

## Engenharia biomédica: desenvolvimento e inovação

**Diagramação:** Camila Alves de Cremo  
**Correção:** Flávia Roberta Barão  
**Indexação:** Amanda Kelly da Costa Veiga  
**Revisão:** Os autores  
**Organizadora:** Alana Maria Cerqueira de Oliveira

### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

E57 Engenharia biomédica: desenvolvimento e inovação /  
Organizadora Alana Maria Cerqueira de Oliveira. –  
Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

Formato: PDF  
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader  
Modo de acesso: World Wide Web  
Inclui bibliografia  
ISBN 978-65-258-0722-5  
DOI: <https://doi.org/10.22533/at.ed.225220911>

1. Engenharia biomédica. I. Oliveira, Alana Maria  
Cerqueira de (Organizadora). II. Título.

CDD 610.28

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

**Atena Editora**

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

contato@atenaeditora.com.br

## DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

## DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, *desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

A Obra “Engenharia Biomédica: Desenvolvimento e inovação” publicada no formato e-book, traz ao leitor quatro artigos que abordam diferentes perspectivas de relevada importância na área de Engenharia Biomédica.

A obra como o próprio nome sugere, engloba o desenvolvimento e a inovação de tecnologias necessárias para a atuação da Biomedicina. As pesquisas nestas áreas são de elevada relevância devido a necessidade de ferramentas para pesquisas voltadas para saúde, focando em soluções tanto para o diagnóstico como prevenção de doenças.

O Foco principal desta obra é atualização sobre o tipo de pesquisa que se vem fazendo atualmente na área, discussão e divulgação científica, englobando as diferentes áreas afins.

Atualmente é evidente o avanço científico nesta área, o que aumenta a importância e a necessidade de atualização e consolidação de conceitos, técnicas, procedimentos e temas.

As pesquisas científicas produzidas no Brasil e no Uruguai, estão divulgadas na forma de artigos originais e de revisões abrangendo os diferentes campos dentro da área de Engenharia Biomédica e áreas afim como: Biologia Celular, Informática Biomédica, Biotecnologia, Patologia, Imunologia. Produzindo assim uma obra multidisciplinar e transversal que vai desde a pesquisa básica a aplicação prática.

A obra foi elaborada primordialmente com foco nos profissionais, pesquisadores e estudantes da área de Engenharia Biomédica e suas interfaces ou áreas afins. Entretanto, é uma leitura interessante para todos aqueles que de alguma forma se interessam pela área.

Cada capítulo foi elaborado com o propósito de transmitir a informação científica de maneira clara e efetiva, em português, linguagem acessível, concisa e didática, atraindo a atenção do leitor, independente se seu interesse é acadêmico ou profissional.

Os capítulos desta obra explanam sobre: Processamento e criopreservação de sangue de cordão umbilical, ferramenta open source para criação de ontologia, espectroscopia e ferramenta de auxílio à terapêuticas.

O livro “Engenharia biomédica: Desenvolvimento e inovação”, traz publicações atuais e a Atena Editora traz uma plataforma que oferece uma estrutura adequada, propicia e confiável para a divulgação científica de diversas áreas de pesquisa.

Uma ótima leitura a todos(as)!

Alana Maria Cerqueira de Oliveira

<b>CAPÍTULO 1 .....</b>	<b>1</b>
MÉTODOS IDEAIS PARA COLETA, PROCESSAMENTO E CRIOPRESERVAÇÃO DE SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL	
Thiago Minami Sheguti	
Arnaldo Rodrigues dos Santos Junior	
 <a href="https://doi.org/10.22533/at.ed.2252209111">https://doi.org/10.22533/at.ed.2252209111</a>	
<b>CAPÍTULO 2 .....</b>	<b>11</b>
<i>PROTÉGÉ 5.5.0 FERRAMENTA OPENSOURCE PARA CRIAÇÃO DE ONTOLOGIA</i>	
Henderson M. Sanches	
Paulo P. Dutra	
 <a href="https://doi.org/10.22533/at.ed.2252209112">https://doi.org/10.22533/at.ed.2252209112</a>	
<b>CAPÍTULO 3 .....</b>	<b>21</b>
A ESPECTROSCOPIA RAMAN NA AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA DA UNHA	
Juscélia Maria de Moura Feitosa Veras	
Lennara de Siqueira Coêlho	
Juliana Macedo Magalhães	
Fernanda Cláudia Miranda Amorim	
Jadilson Rodrigues Mendes	
Carolinne Kilcia Carvalho Sena Damasceno	
 <a href="https://doi.org/10.22533/at.ed.2252209113">https://doi.org/10.22533/at.ed.2252209113</a>	
<b>CAPÍTULO 4 .....</b>	<b>25</b>
FERRAMENTA DE AUXÍLIO À TERAPEUTAS PARA TRATAMENTO DE FOBIAS ESPECÍFICAS UTILIZANDO DESSENSIBILIZAÇÃO SISTEMÁTICA COM APOIO DE REALIDADE AUMENTADA	
Alessandra Bauab Azar	
Edgard Lamounier Junior	
José Ederaldo Lopes	
 <a href="https://doi.org/10.22533/at.ed.2252209114">https://doi.org/10.22533/at.ed.2252209114</a>	
<b>SOBRE A ORGANIZADORA .....</b>	<b>38</b>
<b>ÍNDICE REMISSIVO .....</b>	<b>39</b>

## MÉTODOS IDEAIS PARA COLETA, PROCESSAMENTO E CRIOPRESERVAÇÃO DE SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL

*Data de submissão: 06/10/2022*

*Data de aceite: 01/11/2022*

### **Thiago Minami Sheguti**

Universidade Federal do ABC  
São Paulo – SP  
<http://lattes.cnpq.br/8932382876110042>

### **Arnaldo Rodrigues dos Santos Junior**

Centro de Ciências Naturais e Humanas  
(CCNH), Universidade Federal do ABC,  
São Bernardo do Campo – SP  
<http://lattes.cnpq.br/6900410067408108>

**RESUMO:** As células tronco hematopoéticas (CTH) são células com capacidade de autorrenovação e de se diferenciarem em células do sistema sanguíneo e imune, podendo ser utilizadas concomitantemente no tratamento de diversas doenças. Uma rica fonte de células tronco hematopoéticas é o sangue do cordão umbilical (SCU), que pode ser obtido na hora do nascimento e então armazenado. Diversos protocolos foram desenvolvidos para o processamento deste tipo de material. O objetivo do presente estudo foi descrever os métodos de coleta, processamento e criopreservação do SCU, com finalidade de facilitar a compreensão e importância do método utilizado em bancos de sangue de cordão umbilical. As fontes

de dados utilizados foram uma revisão bibliográfica sobre o tema, utilizando-se como base de dados o MedLine, PubMed e Scielo. Foram analisados os diferentes métodos de processamento de SCU, desde a coleta, processamento celular e criopreservação das CTH, descrevendo os testes pertinentes para garantir a qualidade celular para uso após a criopreservação. Diversos fatores impactam de forma significativa o número de células nucleadas finais e a qualidade das amostras de SCU, a seleção da metodologia de processamento celular resulta na recuperação pós processamento. Os resultados das duas metodologias (manual e automatizado) foram eficazes, porém a técnica automatizada, além de diminuir o tempo de processamento celular, a recuperação de células CD34+ foi superior quando comparados pela metodologia manual.

**PALAVRAS-CHAVE:** Banco de sangue de cordão umbilical, Células tronco hematopoéticas, criopreservação, processamento celular.

# IDEAL METHODS FOR COLLECTION, PROCESSING AND CRYOPRESERVATION OF UMBILICAL CORD BLOOD

**ABSTRACT:** Hematopoietic stem cells (HSC) are cells with the ability to self-renew and differentiate into cells of the blood and immune system and can be used concomitantly in the treatment of various diseases. Umbilical cord blood (UCB) is an abundant source of HSC, which is obtained at birth and then stored. Several protocols have been developed for processing this type of material. The objective of the present study was to describe the methods of collection, processing and cryopreservation of UCB, in order to facilitate the understanding and importance of the method used in umbilical cord blood banks. The data sources used were a literature review on the subject, using MedLine, PubMed and Scielo as databases. The different UCB processing methods were analyzed, from the collection, cell processing and cryopreservation of HSC, describing the relevant tests to ensure cell quality for use after cryopreservation. Several factors significantly impact the number of final nucleated cells and the quality of UCB samples, the selection of cell processing methodology results in post processing recovery. The results of both methodologies (manual and automated) were effective, but the automated technique, in addition to reducing cell processing time, the recovery of CD34+ cells was superior when compared with the manual methodology.

**KEYWORDS:** Umbilical cord blood banks, hematopoietic stem cells, cryopreservation, cell processing.

## 1 | INTRODUÇÃO

As células-tronco hematopoéticas (CTH) ficam sediadas na medula óssea (MO), sendo esta, a principal fonte para transplantes autólogos. BROXMEYERS e colaboradores, demonstraram evidências de que, o sangue de cordão umbilical (SCU) seria uma fonte promissora de CTH, identificando em seu trabalho, a concentração e a viabilidade celular das amostras desde a coleta até o armazenamento final (BROXMEYER, et. al, 1989). As CTH são identificadas principalmente pela expressão de glicoproteínas de superfície CD34, que são conjuntos de epítomos localizados na superfície celular (KAPOOR, et. al, 2019). As CTH derivadas do SCU apresentam diversas vantagens frente à MO, dentre elas, a coleta e o processamento simplificado e rápido, que é feito logo após o nascimento do recém-nascido, sendo indolor e baixo risco de infecção (ALATYYAT, et. al, 2020).

O primeiro transplante de CTH derivados do SCU foi realizado em outubro de 1988 em uma criança com anemia de Fanconi, usando as células coletadas do irmão HLA compatíveis, no hospital Saint-Kouis, em Paris, França (GLUCKMAN, et. al. 1989; BROXMEYER, et. al. 2011). Desde então, as evidências no uso do SCU como fonte de CTH tornou-se clara, uma vez que foi observado que a capacidade proliferativa das CTH no SCU é superior à das células da MO (GLUCKMAN, 2001).

As CTH do SCU podem ser utilizadas para o tratamento de diversas doenças, mais comumente para o transplante no tratamento de doenças malignas como, leucemia e linfoma, quanto doenças não malignas, como deficiências imunológicas, anemia aplástica

grave, distúrbios congênitos como talassemia, anemia falciforme e hemoglobinopatias. Na linha de pesquisas, em que podemos citar o autismo, doenças autoimunes, paralisia cerebral, doenças neurodegenerativas, medicina regenerativa e traumatismo craniano. Com isso, é comum o surgimento de bancos de coleta e criopreservação de SCU, tanto privados quanto públicos (MARTIN, et. al. 2014, ALATYYAT, et. al, 2020).

De acordo com o Centro Internacional de Pesquisa de Transplante de Sangue e Medula (*Center for International Blood and Marrow Transplant Research*), estima-se que 500 pacientes receberam o transplante de SCU em 2018 e que, aproximadamente até 2017, foram realizados 8600 transplantes apenas nos EUA (KINDWALL-KELLER, et. al. 2020). As CTH derivados do SCU têm aplicação específica para o próprio recém-nascido e podem ser armazenadas, por meio da criopreservação para uso futuro, como alternativa no tratamento de doenças malignas e benignas em crianças e adultos. A amostra coletada poderá ser usada para transplante em alguns dias após o processamento e criopreservação, como também há a possibilidade da utilização do material mesmo após anos do seu armazenamento (BROXMEYER, et al. 2011; RUBINSTEIN, et al. 2006). Essas células poderiam eventualmente ser usadas em gêmeos idênticos ou em outros indivíduos com antígeno leucocitário humano adequado (HLA). Sua aplicação a pacientes incompatíveis simultaneamente com imunossupressores também pode ser possível (ARAUJO et al., 2005; SILVA JUNIOR et al. 2009).

A redução do volume coletado até sua criopreservação impacta na diminuição de células nucleadas e progenitores, porém necessárias para o sucesso do transplante do SCU, o método eficaz de processamento é importante reduzir os glóbulos vermelhos, facilitando o armazenamento de amostras processadas, ajuda a superar as preocupações de incompatibilidade ABO ou Rh do receptor e maior viabilidade celular. O rendimento médio de células nucleadas durante o processamento, é inversamente proporcional com número total de células, ou seja, coletas com a concentração de células nucleadas maior, menor será sua recuperação. As diferentes metodologias de processamento de SCU adotadas pelos bancos de sangue de cordão umbilical, sejam elas de forma automatizada ou por método manual, acometem na recuperação celular e volume final do produto (BABIC, et. al, 2020; ALATYYAT, et. al, 2020; NAING, et. al, 2014)

## 2 | MÉTODOS

Foi feito uma revisão bibliográfica no MedLine, PubMed e Scielo. Foram selecionadas algumas referências com importância histórica, sendo as demais avaliadas de acordo com o desenho do estudo, citando preferencialmente os ensaios controlados com grande número de pacientes, observando-se o impacto do periódico.

## 3 | COLETA DO SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL

A coleta é realizada por coletadores treinados e licenciados, após as mães fornecerem o consentimento informado e preencherem o questionário do doador (HARE,

et. al, 2021).

Após o parto, o cordão umbilical é pinçado o mais próximo possível do recém-nascido, com cautela para que não ocorra tração. Depois de seccionado, um apinça é mantida clampeada prendendo o fluxo do segmento que leva à placenta. Para facilitar o fluxo de sangue e coleta da amostra, em seguida, a placenta é suspensa.

O tempo da coleta leva em média 10 minutos e consiste em um volume de aproximadamente de 80 a 100 mL de SCU, em bolsa com citrato de sódio. As unidades de SCU são armazenadas em recipientes limpos dentro da sala de coleta, são monitoradas a temperaturas das amostras até o momento do processamento celular, para proteger o conteúdo das mudanças na temperatura durante o transporte, os recipientes contêm blocos de gel estabilizadoras e a temperatura é monitorada durante todo o percurso, a temperatura é mantida entre 15 e 30 C durante o período de armazenamento e transporte (ALATYYAT, et. al, 2020; HARE, et. al, 2021).

### 3.1 Processamento celular

A eficácia do processamento celular resulta em boa recuperação de células nucleadas e progenitoras, os importantes fatores de qualidade inclui a viabilidade celular, número total de células nucleadas e número final de células CD34+ e CD45+ (ALATYYAT, et. al, 2020). Atualmente o processamento celular, consiste em 3 metodologias, sendo: método manual, semiautomatizado e automatizado. fig. 01 (TAKAHASHI, et. al, 2006). Bolsas de SCU podem ser centrifugadas depois da adição de HES, técnica inicialmente descrita por Rubinstein e colaboradores, o volume de HES utilizado é igual a 20% do volume do SCU (RUBINSTEIN, et. al, 1995; HARE, et. al, 2021). Esse método foi implantado em vários bancos de sangue de cordão umbilical e corresponde a maioria de unidades de SCU em redução de volume transplantadas no mundo até o momento, o mecanismo de ação consiste na forte sedimentação do sangue, ocasionando rouleaux de hmácias, facilitando a separação da massa eritrocitária, buff coat e plasma (TAKAHASHI, et. al, 2006; ALATYYAT, et. al, 2020; SOLVES, et. al, 2008).

No entanto o método com o uso de HES, requer um controle cuidadoso para a formação da massa eritrocitária e o plasma, exigindo alto nível de habilidade do operador, para obter boa recuperação de células nucleadas ao longo do procedimento (YASUTAKE, et. al, 2001). O método manual pode consistir na adição de gradiente de densidade (Ficoll, Percoll, Polygeline) durante a centrifugação, os eritrócitos e granulócitos de alta densidade sedimentam para o fundo, enquanto as plaquetas e monócitos sedimentam lentamente, bem como os linfócitos de menor densidade, são retidos na interface entre o plasma e o gradiente de densidade, onde podem posteriormente ser coletados para separação das CTH (ALATYYAT, et. al, 2020).

O método semiautomatizado, consiste basicamente no sistema Top and Botton, esse sistema é mais rápido que o sistema manual, e consiste na transferência do SCU para uma bolsa tripla e centrifugada à alta rotação, para que ocorra a separação celular (SOLVES, et. al, 2009). A extração de hemácias ocorre na bolsa inferior, enquanto que o

plasma na parte superior, e a camada leucocitária é mantida na bolsa central (ARMITAGE, et. al, 1999).

O método automatizado compreende no processamento celular com sistema fechado, diminuindo a possibilidade de contaminação, além disso possibilita uma maior recuperação de células mononucleares, detalharemos 3 equipamentos automatizados, sendo AutoXpress platform (AXP), SEPAX e PrepaCyte-CB (ALATYYAT, et. al, 2020).

### *3.1.1 AutoXpress platform (AXP)*

A plataforma AXP consiste no dispositivo controlado por microprocessador, estação de acoplamento da caçapa, conjunto de bolsas descartáveis estéreis (Kit de processamento) e software de suporte XpresssTRAK™. O SCU é transferido para o kit de processamento AXP e centrifugado na caçapa em alta e baixa rotação. Durante a rotação de alta velocidade, as células se separam em camadas de acordo com a densidade e durante a centrifugação de baixa rotação, o aparelho transfere a massa eritrocitária para a bolsa de hemácias, as células mononucleares para a bolsa de congelamento e retém o plasma na bolsa principal. O volume de células mononucleares na bolsa de congelamento é selecionada através da uma balança analítica integrada na caçapa da AXP (LI, J. et. al, 2007).

### *3.1.2 SEPAX*

A técnica de processamento pelo método SEPAX, pode-se utilizar o HES como sedimentante de hemácias ou não. A bolsa de SCU é conectada ao Kit Sepax, e este acoplado ao sistema de processamento celular e o produto final é recuperado em uma bolsa, pronta para a criopreservação. O sistema da SEPAX consiste um microprocessador que envolve os seguintes passos, o SCU é transferido para a câmara de separação e centrifugado, os componentes separados são coletados sequencialmente, com o buffy-coat diretamente em sua bolsa de criopreservação, a duração do procedimento é de aproximadamente 35 minutos (LAPIERRE, et. al, 2007). O protocolo da SEPAX comumente utilizado, inclui a utilização de HES como sedimentante de hemácias, isso permite maior recuperação de células CD34+, total de células nucleadas e depleção de hemácias, quando comparados ao sistema AXP, que não utiliza o sedimentante HES em seu protocolo(ALATYYAT, et. al, 2020).

### *3.1.3 PrepaCyte-CB*

O processamento pelo prepaCyte-CB, como outros métodos automatizados, consiste no processamento celular de sistema fechado, diminuindo a possibilidade de contaminação. O sistema consiste em um reagente de uma etapa que facilita a agregação de glóbulos vermelhos e a rápida sedimentação com a fração de CTH deixada no sobrenadante.

## **3.2 Criopreservação**

As unidades de SCU pós-processamento sofrem progressiva perda de viabilidade

celular quando acondicionadas em temperatura ambiente ou refrigeradas em temperatura de 2 a 8°C. A alternativa adotada para evitar esta progressiva perda é a criopreservação do material (HOLBRO, et. al. 2014). Porém, nesse processo, as células são submetidas a dois tipos de lesões: a desidratação e o dano mecânico (DE SANTIS, et. al. 2009).

O resfriamento acelerado, possibilita a formação de cristais de gelo intracelular, ocasionando ruptura na membrana (dano mecânico), por outro lado, durante o congelamento lento, pode ocorrer a formação de cristais de gelo extracelular, podendo resultar na desidratação celular devido à osmose (TIEKSTRA, et al. 2014). Para minimizar os danos acometidos durante a criopreservação, é essencial o uso de um crioprotetor e estratégias de decaimento de temperatura. Os protocolos normalmente citam o uso de equipamentos com taxa de resfriamento controlado, com decaimento de aproximadamente 1°C/min e o armazenamento das amostras a uma temperatura inferior à -196°C obtém melhores resultados quando comparados a temperatura de -79°C (HOLBRO, et al. 2014; DE SANTIS, et. al, 2009). As amostras quando mantidas a essas temperaturas adequadas de armazenamento, mantém a integridade celular por anos, pois bloqueiam as atividades enzimáticas das células, impossibilitando a diminuição drástica de viabilidade celular após o congelamento, estas por sua vez, ficam estáveis (BROXMEYER, et al. 2009). Apesar de outras técnicas de armazenamento, como a dessecação tenham sido exploradas, a criopreservação continua sendo o meio mais confiável e convencional para o armazenamento de longo prazo de células e tecidos (JAHAN, et. al, 2021).

O Dimetilsulfóxido (DMSO) é um dos crioprotetores utilizados para a criopreservação de CTH, nas proporções de 5 a 10% (POPE, et al. 2015). A função deste crioprotetor é muito complexa, o seu efeito se deve à ruptura das moléculas de água livre, o que leva a redução de formação de cristais de gelo intracelular, aumento do ponto de vitrificação e diminuição da temperatura do ponto de congelamento (DE SANTIS, et. al, 2009). O DMSO apresenta efeitos tóxicos durante o processamento do SCU, incluindo a rápida penetração através da membrana celular, o que motivou o preparo de protocolos que visam a adição lenta e tão logo, seja seu processo de criopreservação (HOLBRO, et al. 2014; DE SANTIS, et. al, 2009). Durante o processamento do SCU ocorre também a diminuição do volume eritrocitário, tal fator confere a diminuição da quantidade inserida do crioprotetor e aumento da concentração de células progenitoras hematopoiéticas, beneficiando as células da intoxicação para uma posterior infusão (NAVARRETE, et al. 2009).

## 4 | MÉTODO DE ANÁLISE

As amostras devem ser analisadas pré e pós o processamento celular, dentre os testes pertinentes são, conforme resolução da diretoria colegiada – RDC n°508, de 27 de maio de 2021, contagem de células nucleares (WBC), células tronco hematopoiéticas (CD34+), ensaio de células progenitoras, recuperação celular durante o processamento celular e viabilidade celular. A amostra de SCU é analisada através de equipamentos hematológicos para contagem diferencial de células, como WBC e glóbulos vermelhos,

importantes indicadores para analisar a recuperação celular e concentração de células nucleadas (BABIC, et. al, 2020, ANVISA 2021).

A enumeração de células CD34+ é realizada predominantemente por técnica de citometria de fluxo, baseados em diretrizes publicadas pela *International Society for Hematotherapy and Graft Engineering* (ISHAGE), foi uma tentativa significativa de padronização do ensaio CD34+. Essas diretrizes consistem no método de plataforma dupla, onde a porcentagem de CD34+ é realizado por citometria de fluxo e a contagem de leucócitos por um analisador hematológico automatizado (BROCKLEBANK, et. al, 2009). Embora a importância da quantificação de células CD34+ por citometria de fluxo, por ser avaliado a dose de células por kg do paciente durante o transplante, com melhores resultados em receptores de doses mais altas. A análise de células CD34+ continua não sendo homogêneo entre resultados interlaboratoriais, além disso, foi demonstrado que o marcador de células tronco CD34+ detecta fração muito pequena, a maioria das quais são células progenitoras que não têm papel na enxertia do paciente (HUSSEIN, et. al, 2019).

O ensaio clonogênico (UFC) por ser o único ensaio *in vitro* que avalia a função biológica das CTH, poucos estudos documentaram a influência da dose de UFC no enxerto após o transplante de SCU, porém no processo de criopreservação e descongelamento podem impactar significativamente na qualidade da unidade que o paciente recebe, sendo assim, a avaliação de UFC pós descongelamento parecem ser garantidos, sendo um grande aliado à análise de viabilidade celular, inclusive pela análise de coloração com 7 aminoactinomicina – D (7AAD) por citometria de fluxo, que avalia a capacidade funcional das CTH em desenvolver unidades formadoras de colônia granulócito/macrófago (UFC-GM) (HUSSEIN, et. al, 2019; DESOUTTER, et. al, 2019)

## 5 | DISCUSSÃO

Diversos fatores impactam de forma significativa o número de células nucleadas finais e a qualidade das amostras de SCU, podemos citar como exemplo, as características do doador, fatores biológicos materno, metodologia da coleta, tempo desde a coleta até o processamento celular e redução do volume final, segundo BABIC e colaboradores, a seleção de metodologia de processamento pode resultar significativamente na recuperação celular pós processamento.

Os resultados foram aceitáveis em ambos os métodos (automatizado e manual), porém o processamento celular com o equipamento SEPAX e sem uso do HES, observou um rendimento de células nucleadas notoriamente superior, quando comparados da forma manual com uso de HES. A recuperação de células nucleadas não pode ser confiável para avaliação de recuperação de células tronco hematopoéticas, devido que estas células fazem parte de células mononucleares, e a recuperação de leucócitos abrange também o grupo de células granulares.

Durante o processamento automatizado, a recuperação de células CD34+ é superior quando comparados à recuperação de células nucleadas, esse dado é mais relevante, uma vez que as células nucleadas não têm significado clínico no transplante de SCU. Contudo,

durante o processamento de forma manual, a recuperação de células CD34+, foi inferior quando comparados à recuperação de células nucleadas, mostrando a importância da quantificação das células tronco hematopoéticas para a análise da qualidade da amostra criopreservada.

## REFERÊNCIAS

ALATYYAT, S. M. et al. **Umbilical cord stem cells: Background, processing, and applications.** *Tissue & cell*, v. 65, n. 101351, p. 101351, 2020.

ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução da diretoria colegiada- RDC no 508**, de 27 de maio de 2021. Disponível em:< <http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao/>> Acessado em: 20 set. 2022.

ARAUJO, J.D.; ARAUJO FILHO, J.D.; CIORLIN, E.; RUIZ, M.A.; RUIZ, L.P.; GRECO, O.T., LAGO, M.R.; ARDITO, R.V. **Terapia celular no tratamento da isquemia crítica dos membros inferiores.** *J. Vasc. Bras.*, vol. 4, 357-365, 2005.

ARMITAGE, S. et al. **Cord blood banking: volume reduction of cord blood units using a semi-automated closed system.** *Bone marrow transplantation*, v. 23, n. 5, p. 505–509, 1999.

BABIC, A. et al. **Analysis of outcomes of single-unit cord blood transplantation with umbilical cord blood units processed with two different red blood cell sedimentation reagents.** *Transfusion*, v. 61, n. 6, p. 1856–1866, 2021.

BROCKLEBANK, A. M.; SPARROW, R. L. **Enumeration of CD34+ cells in cord blood: a variation on a single-platform flow cytometric method based on the ISHAGE gating strategy.** *Cytometry*, v. 46, n. 4, p. 254–261, 2001.

BROXMEYER, H. E.; DOUGLAS, G. W.; HANGOC, G.; COOPER, S.; BARD, J.; ENGLISH, D.; ARNY, M.; THOMAS, L.; BOYSE, E. A. **Human umbilical cord blood as a potencial source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells.** *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 86, n. 10, p. 3828 – 3832, 1989.

BROXMEYER, H. E.; LEE, M.R.; HANGOC, G.; COOPER, S.; PRASAIN, N.; KIM, Y. J.; MALLET, C.; YE, Z.; WITTING, S.; CORNETTA, K.; CHENG, L.; YODER, M. C. **Hematopoietic stem/progenitor cells, generation of induced pluripotent stem cells, and isolation of endothelial progenitors from 21-to 23.5-year cryopreserved cord blood.** *Blood*, v. 117, p. 4773 – 4777, 2011.

DESOUTTER, J. et al. **Cryopreservation and thawing of hematopoietic stem cell CD34-induced apoptosis through caspase pathway activation: Key role of granulocytes.** *Cytotherapy*, v. 21, n. 6, p. 612–618, 2019.

GLUCKMAN, E. **Hematopoietic stem-cell transplants using umbilical cord blood.** *New England Journal of Medicine*, vol. 344, n. 24, p. 1860 – 1861, 2001.

GLUCKMAN, E.; BROXMEYER, H. E.; AUERBACH, A. D.; FRIEDMAN, H. S.; DOUGLAS G. W.; DEVERGIE, A.; ESPEROU, H.; THIERRY, D.; SOCIE, G.; LEHN, P.; COOPER, S.; ENGLISH, D.; KURTZBERG, J.; BARD, J.; BOYSE, E. A. **Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling.** *New England Journal of Medicine*, vol. 321, n. 17, p. 1174 – 1178, 1989.

HARE, J. et al. **Optimal umbilical cord blood collection, processing and cryopreservation methods for sustained public cord blood banking.** *Cytotherapy*, v. 23, n. 11, p. 1029–1035, 2021.

HOLBRO, A.; GRAF, L.; TOPALIDOU, M.; BUCHER, C.; PASSWEG, J. R.; TSAKIRIS, D. A.; **Cryopreserved stem cell products containing dimethyl sulfoxide lead to activation of the coagulation system without any impact on engraftment.** *Transfusion*, vol. 54, n. 6, p. 1508 – 1514, 2014.

HUSSEIN, E. et al. **Evaluation of post-thaw CFU-GM: clinical utility and role in quality assessment of umbilical cord blood in patients receiving single unit transplant.** *Transfusion*, v. 60, n. 1, p. 144–154, 2020.

JAHAN, S. et al. **Current and future perspectives for the cryopreservation of cord blood stem cells.** *Transfusion medicine reviews*, v. 35, n. 2, p. 95–102, 2021.

KAPOOR, S.; SHENOY, S. P.; BOSE, B. **CD34 cells in somatic, regenerative and cancer stem cells: Developmental biology, cell therapy, and omics big data perspective.** *Journal of cellular biochemistry*, v. 121, n. 5–6, p. 3058–3069, 2020.

KINDWALL-KELLER, T. L.; BALLEEN, K.K. **Umbilical cord blood: the promise and the uncertainty.** *Stem Cells Translational Medicine*, p. 1 – 10, 2020.

LAPIERRE, V. et al. **Cord blood volume reduction using an automated system (Sepax) vs. a semi-automated system (Optipress II) and a manual method (hydroxyethyl starch sedimentation) for routine cord blood banking: a comparative study.** *Cytotherapy*, v. 9, n. 2, p. 165–169, 2007.

LI, J. et al. **Validation study of mononuclear cell recovery using the AXP™AutoXpress™ Platform.** *Biology of blood and marrow transplantation: journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*, v. 13, n. 2, p. 43, 2007.

MARTIN, A.; BADELL, M. **Umbilical cord blood banking. Postgraduate obstetrics and gynecology,** vol. 34, n. 15, 2014.

NAING, M. W. et al. **Improving umbilical cord blood processing to increase total nucleated cell count yield and reduce cord input wastage by managing the consequences of input variation.** *Cytotherapy*, v. 17, n. 1, p. 58–67, 2015.

NAVARRETE, C.; CONTRERAS, M. **Cord blood banking: A historical perspective.** *British journal of haematology*, vol. 147, n. 2, p. 236 – 245, 2009.

POPE, B.; HOKIN, B.; GRANT, R. **Effect of umbilical cord blood prefreeze variables on postthaw viability: Postthaw viability of UCB.** *Transfusion*, vol. 55, n. 3, p. 629 – 635, 2015.

RUBINSTEIN, P. **Why cord blood?** *Human immunology*, vol. 67, n. 6, p. 398 – 404, 2006.

SANTIS, G. C.; PRATA, K. L. **Criopreservação de células-progenitoras hematopoiéticas**. Medicina (Ribeirão Preto), vol. 42, n. 1, p. 36 – 47, 2009.

SILVA JUNIOR, F. C.; ODONGO, F. C. A.; DULLEY, F. L. **Células-tronco hematopoéticas: utilidades e perspectivas**. Revista brasileira de hematologia e hemoterapia, v. 31, supl. 1, p. 53 – 58, 2009.

SOLVES, P. et al. **Influence of volume reduction and cryopreservation methodologies on quality of thawed umbilical cord blood units for transplantation**. Cryobiology, v. 56, n. 2, p. 152–158, 2008.

TAKAHASHI, T. A. et al. **Multi-laboratory evaluation of procedures for reducing the volume of cord blood: influence on cell recoveries**. Cytotherapy, v. 8, n. 3, p. 254–264, 2006.

TIEKSTRA, M. J. D.; SETROIKROMO, A. C.; KRAAN, M.; GKOU MASSI, E.; EGGEN, J. W. **Optimization of the freezing process for hematopoietic progenitor cells: effect of precooling, initial dimethyl sulfoxide concentration, freezing program, and storage in vapor-phase or liquid nitrogen on in vitro white blood cell quality**. Transfusion, vol. 54, n. 12, p. 3155 – 3163, 2014.

YASUTAKE, M. et al. **Stem cell collection filter system for human placental/umbilical cord blood processing: A new filter system for cord blood processing**. Vox sanguinis, v. 80, n. 2, p. 101–105, 2001.

## FIGURAS E TABELAS

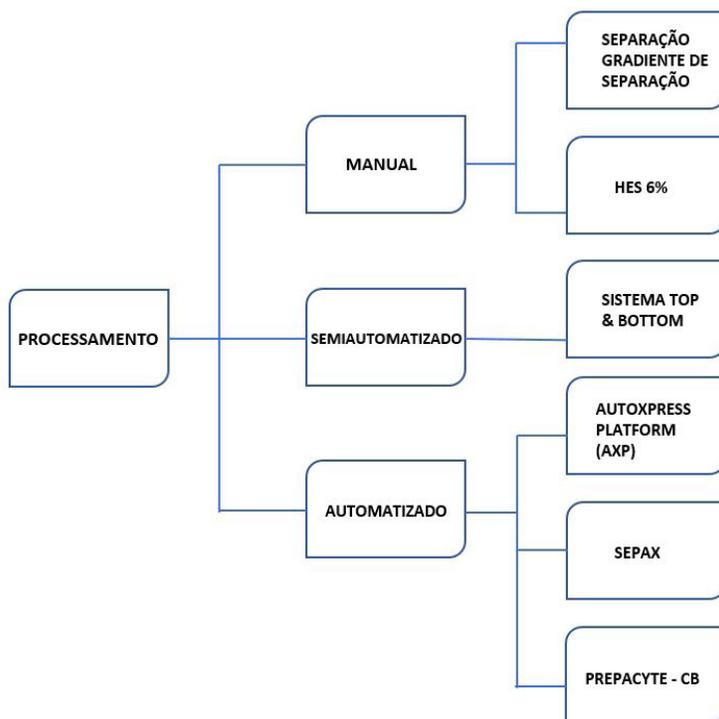


Fig. 01 Métodos de processamento celular de SCU

**A**

Análise espectral Raman 21

**B**

Banco de sangue de cordão umbilical 1

Bioquímica 21, 22, 23, 24

Buffy-coat 5

**C**

Capacidade de autorrenovação 1

Células CD34+ 1, 4, 5, 7, 8

Células do sistema sanguíneo 1

Células nucleadas 1, 3, 4, 5, 7, 8

Células tronco hematopoiéticas 1, 6

Citometria de fluxo 7

Correções de *Bugs* 12, 17

Criopreservação 1, 3, 5, 6, 7, 10

CTH 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7

**D**

Dessensibilização sistemática 25, 26, 29

Diagnóstico biomédico 22

Dimetilsulfóxido 6

DMSO 6

**E**

ER 21, 22, 23, 24

Eritrócitos 4

Espalhamento elástico de fótons 22

Espectroscopia Raman 21, 22, 24

Exposições *in vivo* 25, 27, 28

**F**

Ferramenta *opensource* 11, 12

Ficoll 4

Fobias específicas 25, 26, 27, 28, 29, 33, 35, 37

**G**

Granulócitos 4

**H**

Hemácias 4, 5

**I**

Impressão digital molecular 22

**M**

Massa eritrocitária 4, 5

Medo 26, 27

Medula óssea 2

Método SEPAX 5

MO 2

Modelos de domínio e aplicações 12

Monócitos 4

**O**

Ontologias 11, 12, 17, 18, 19, 20

**P**

Percoll 4

Plaquetas 4

Plasma 4, 5

Plataforma AXP 5

Plataforma em formato livre 25

Polygeline 4, 5

PrepaCyte-CB 5

Processamento celular 1, 4, 5, 6, 7, 10

Profissionais da saúde 25

*Protégé* 5.5.0 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18

Psicólogos 25

**Q**

Questionário avaliativo 25, 34

**R**

Realidade aumentada 25, 27

**S**

Sangue do cordão umbilical 1

SCU 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10

**T**

TCC 24, 25, 26

Técnica óptica 22, 23

Terapia cognitivo-comportamental 25, 26

Transplantes autólogos 2

Transtorno de ansiedade 26

**U**

Unha 21, 22, 23, 24

**V**

Viabilidade celular 2, 3, 4, 5, 6, 7

Vibrações moleculares 21, 23

**W**

*Web Ontology Language* 11



# ENGENHARIA BIOMÉDICA:

Desenvolvimento e inovação

---

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br) 

[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br) 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

[www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br) 



# ENGENHARIA BIOMÉDICA:

Desenvolvimento e inovação

---

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br) 

[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br) 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

[www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br) 