

**Universidade Federal de Juiz de Fora
Programa de Pós-Graduação em Saúde
Núcleo de Hematologia e Transplante de Medula Óssea**

Victor Quinet de Andrade Bastos

**A ativação endotelial nos pacientes submetidos à quimioterapia em alta dose
para transplante de medula óssea**

**Juiz de Fora
2018**

Victor Quinet de Andrade Bastos

**A ativação endotelial nos pacientes submetidos à quimioterapia em alta dose
para transplante de medula óssea**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde, Área de Concentração Saúde Brasileira, Núcleo de Hematologia e Transplante de Medula Óssea.

Orientador: Prof. Dr. Abrahão Elias Hallack Neto

**Juiz de Fora
2018**

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Bastos, Victor Quinet de Andrade.

A ativação endotelial nos pacientes submetidos à quimioterapia em alta dose para transplante de medula óssea / Victor Quinet de Andrade Bastos. – 2018.

62 f.

Orientador: Abrahão Elias Hallack Neto

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Saúde Brasileira, 2018.

1. Transplante de Medula Óssea. 2. Lesão Endotelial. 3. Necessidade Transfusional de Plaquetas. 4. Rendimento Plaquetário. 5. Acometimento Vascular. I. Hallack Neto, Abrahão Elias, orient. II. Título.

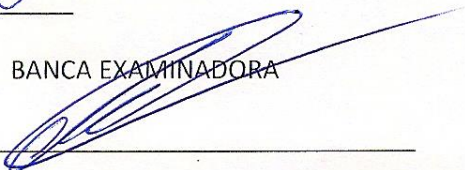
Victor Quinet de Andrade Bastos

A ativação endotelial nos pacientes submetidos à quimioterapia em alta dose para transplante de medula óssea

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde, Área de Concentração Saúde Brasileira, Núcleo de Hematologia e Transplante de Medula Óssea.

Aprovada em: 05 / 09 / 18

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Abrahão Elias Hallack Neto – Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora


Prof. Dr. Erich Vinicius de Paula

Universidade Estadual de Campinas


Profa. Dra. Mariza Aparecida Mota

Universidade Federal de Juiz de Fora

A Ana e Caique, claro.

AGRADECIMENTOS

Agradeço de forma especial ao meu Pai, Ricardo, e à minha Mãe, Suzana, que dignamente me apresentaram à importância da família e ao caminho da honestidade e persistência.

Ao meu irmão Lucas, amigo, obrigado pela paciência e prontidão.

Ao meu amor, Ana Clara, por sua incansável boa vontade em me ajudar, compartilhando meus ideais e incentivando-me a prosseguir, insistindo para que eu avançasse cada vez mais um pouquinho. Enfim, por estar incessantemente ao meu lado. Amo você!

Ao Prof. Abrahão, o meu reconhecimento pela oportunidade de realizar este trabalho ao lado de alguém que transpira sabedoria; meu respeito e admiração pela sua serenidade, amizade, e pelo seu Dom no ensino da Ciência, inibindo sempre a vaidade em prol da simplicidade e eficiência. Obrigado pelos incentivos e oportunidade de convívio.

A realização de um projeto de pesquisa como este só foi possível com o apoio de vários colaboradores. Aos membros da equipe de transplante de medula óssea (TMO-HU-UFJF), em especial aos amigos Kelli, Flavio, Gisele, Patrícia, Cristina e Paula, que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma, o meu reconhecimento e gratidão.

Ao Programa de Pós-graduação em Saúde da UFJF obrigado pela solicitude e suporte administrativo.

Aos amigos, por só quererem o meu bem e me valorizarem tanto como pessoa. Obrigado pela amizade!

“Faltam seis dias para a Primavera, está tendo uma contagem comunitária na aldeia mais próxima daqui. Acho que está chegando a hora do sossego, e que muita alegria vai pintar por aí. Acho que uma palavra é muito mais bonita do que uma carabina, mas não sei se vem ao caso. Nenhuma palavra quer ferir outras palavras: nem desoxirribonucleico, nem montanha, nem canção. Todos esses conceitos têm os seus sinónimos simplificados, veja só, ácido desoxirribonucleico e ADN são exatamente a mesma coisa, e o resto das palavras você acha. É tudo uma questão de amor e prisma, por favor não abra os canhões. Quando Amelia Earhart morreu continuava casada com Putnam—suspeito que ela deve ter visto rostos incríveis nas estrelas. Que coisa mais linda esse ácido despenteado, caramba. Olhei com mais atenção o desenho da estrutura e descobri: a raça humana é toda brilho.”

(Matilde Campilho)

RESUMO

Introdução: o dano endotelial microvascular é um processo bem reconhecido como complicação do transplante de células tronco hematopoiéticas, os mecanismos dessa desordem ainda são pouco conhecidos. Diante desse cenário objetiva-se avaliar a relação entre marcadores inflamatórios e outros fatores que influenciam no consumo de plaquetas e o rendimento transfusional plaquetário, bem como a presença de eventos trombo embólicos e/ou vasculares em pacientes submetidos a condicionamento com quimioterapia em altas doses para transplante de células tronco hematopoiéticas. **Método:** análise prospectiva de pacientes, onde foram incluídos 25 pacientes que foram submetidos ao transplante de células tronco hematopoiéticas autólogo e alogênico. Os pacientes foram avaliados em relação a radioterapia previa, contagem de células CD 34 +, período de neutropenia, índice de massa corpórea, ferritina, Proteína C reativa relacionando esses fatores ao número de transfusões de plaquetas, refratariedade plaquetária e eventos vasculares como síndrome da obstrução sinusoidal e síndrome da enxertia. **Resultado:** das variáveis estudadas, apenas o IMC > 25 Kg/m², apresentou um valor estatisticamente significativo ($p = 0,003$) em relação a menor necessidade transfusional de concentrado de plaquetas. Para a refratariedade plaquetária e/ou eventos vasculares nenhuma das variáveis foi estatisticamente significativa. **Conclusão:** pacientes com índice de massa corporal elevado apresentam menor necessidade transfusional de plaquetas. As condições encontradas nos três casos de refratariedade plaquetária e nos dois casos de eventos vasculares apresentam características semelhantes as descritas na literatura. Estudos relacionados à ativação endotelial e seus efeitos sobre o organismo devem ser estimulados.

Palavras-chave: Transplante de Medula Óssea. Lesão Endotelial. Necessidade Transfusional de Plaquetas. Rendimento Plaquetário. Acometimento Vascular.

ABSTRACT

Introduction: the objective of this Study is to evaluate the relationship between inflammatory markers and other factors that influence platelet consumption and platelet transfusion increment, as well as the presence of thromboembolic events in patients submitted to high-dose chemotherapy regimens for Bone Marrow Transplantation. Method: prospective analysis of patients, including 25 patients who underwent autologous and allogenic Bone Marrow Transplantation. The patients were evaluated in relation to previous radiotherapy, CD34+ cell count, period of neutropenia, body mass index, ferritin, C-reactive protein, relating these factors to the number of platelet transfusions, platelet refractoriness and vascular events such as sinusoidal obstruction syndrome and Engraftment Syndrome. Results: only body mass index $> 25 \text{ Kg/m}^2$ of the studied variables presented a statistically significant value ($p = 0.003$) in relation to the lower rates of platelet transfusion. For platelet refractoriness and/or vascular events none of the variables was statistically significant. Conclusion: the conditions found in the three cases of platelet refractoriness and in the two cases of vascular events have characteristics similar to those described in the literature. We agree with preexisting data reported in the literature, where patients with high BMI have lower need of platelets transfusion.

Keywords: Bone Marrow Transplantation. Endothelial Lesion. Platelet refractoriness. Vascular Involvement.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	13
2.1	OBJETIVO GERAL.....	13
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
3	REVISÃO LITERATURA	14
3.1	TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS.....	14
3.1.1	Células CD34 + pré-condicionamento	15
3.1.2	Condicionamento	16
3.1.2.1	Quimioterapia (QT).....	16
3.1.2.2	Radioterapia	18
3.2	A CÉLULA ENDOTELIAL	18
3.3	INFLAMAÇÃO	21
3.4	PLAQUETAS.....	24
3.5	NECESSIDADE TRANSFUSIONAL DE PLAQUETAS NO AMBIENTE DO TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA:	25
3.6	DOSE POR EPISÓDIO TRANSFUSIONAL DE PLAQUETAS.....	26
3.7	REFRATARIEDADE PLAQUETÁRIA	27
3.8	EVENTOS VASCULARES	28
3.8.1	Síndrome da obstrução sinusoidal	29
3.8.2	Síndrome da enxertia	29
4	MÉTODO	31
4.1	PACIENTES.....	31
4.2	COLETA DE AMOSTRAS	32
4.3	PARÂMETROS CLÍNICOS E LABORATORIAIS	32
4.4	POLÍTICA TRANSFUSIONAL	33
4.5	CÁLCULO DO INCREMENTO PLAQUETÁRIO	33
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
6	CONCLUSÃO	36
	REFERÊNCIAS	37
	APÊNDICES	43

ANEXOS60

1 INTRODUÇÃO

O endotélio tem uma superfície de 400 m² e um peso de aproximadamente 1,5 kg, contendo mais de 1,2 trilhões de células endoteliais. Estudos recentes vem demonstrando que as células do endotélio são bem mais que apenas revestimentos de vasos, estas células possuem a capacidade de controlar o tônus da musculatura lisa via óxido nítrico (ON), manter diferentes concentrações de pró coagulantes dependendo da necessidade funcional e exercer papel imunológico através da interação com leucócitos circulantes. Em média 99% das células endoteliais se encontram adormecidas na íntima dos vasos e menos de 1 % são detectadas em voluntários saudáveis (WOYWODT et al., 2004).

O endotélio é reconhecido como um órgão com grande atividade metabólica e endócrina, capaz de reagir a estímulos. Quando fisiologicamente ativado perde sua função de barreira permitindo a passagem de solutos e certos elementos pela linha endotelial, dependendo da extensão do dano a disfunção endotelial pode ser localizada ou sistêmica. Quando a função endotelial é perturbada, por exemplo, em casos de alteração do fluxo laminar ou quadros inflamatórios a superfície endotelial rapidamente se converte de um estado não trombótico para um estado pró-coagulante, essa mudança se deve a desregulação dos fatores anticoagulantes assim como ativação de mediadores pró trombóticos (BARAC; CAMPIA; PANZA, 2007; PADRÓ et al., 1997).

Durante o Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas (TCTH), células endoteliais podem ser ativadas e lesadas por quimioterápicos contidos no regime de condicionamento, citocinas produzidas pelas células que sofreram injúria, endotoxinas bacterianas translocadas através do trato gastrointestinal lesado e pelo complexo processo da reação enxerto versus hospedeiro (PALOMO et al., 2010).

A noção de que eventos durante o TCTH afetam as células endoteliais não é nova. Desordem endotelial associada ao transplante está correlacionada a um grupo de complicações como doença microangiopática

trombótica, síndrome da obstrução sinusoidal (SOS) e doença do enxerto contra hospedeiro (DECH) (PALOMO et al., 2010).

Tem-se demonstrado a interação de diversos mecanismos na associação entre obesidade, síndrome metabólica, lesão endotelial e ativação plaquetária. O tecido adiposo secreta citocinas pró inflamatórias como: Interleucina- 6 (IL-6) e Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF-a) (KOCA, 2017), afetando tanto a função endotelial como o metabolismo da glicose, levantando a hipótese de que pacientes com peso acima do desejável estariam sob maior risco vascular e/ou trombótico, diante da quimioterapia em alta dose (AVOGARO; DE KREUTZENBERG, 2005; SAMOCHA-BONET et al., 2008).

A transfusão de plaquetas está associada a uma maior morbidade, relacionada a reações transfusionais, aloimunização e infecções virais associadas a transfusão. Os custos do procedimento, controle das complicações relacionadas a transfusão adicionam maior alocação de recursos ao transplante e finalmente casos de trombocitopenia prolongada, expõe os pacientes a um maior risco de hemorragia (TAY et al., 2016).

Um maior conhecimento das variantes clínicas relacionadas a recuperação plaquetária, é importante campo a ser explorado devido ao impacto na rotina clínica dos centros transplantadores. Fatores associados a uma recuperação prolongada incluem; uso de radiação e seus efeitos tóxicos na célula tronco e medula óssea, uma contagem elevada de células mononucleares no receptor, febre e a presença de SOS. As variáveis relacionadas ao menor tempo de plaquetopenia são a contagem de CD 34+ e a recuperação precoce da contagem dos neutrófilos (BERNSTEIN et al., 1998).

A utilização de marcadores de lesão endotelial na prática clínica ainda está pouco disponível. Elevações modestas no número de células endoteliais circulantes em pacientes com tumores de sítios diversos já foram descritas e documentadas, podendo refletir apoptose endotelial durante a angiogênese tumoral, o que enfatiza a necessidade de maiores avaliações desses marcadores na prática clínica (NIKITENKO; BOSHOFF, 2006).

Nesse cenário objetiva-se avaliar a relação entre marcadores inflamatórios relacionados ao dano endotelial e outros fatores que influenciam no consumo de plaquetas e o rendimento transfusional, bem como a presença

de eventos trombo embólicos em pacientes submetidos a condicionamento com quimioterapia em doses elevadas no transplante de medula óssea.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliação de forma indireta da ativação endotelial em pacientes submetidos à quimioterapia de alta dose para transplante de medula óssea.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Relacionar a necessidade de transfusão e o rendimento transfusional de plaquetas com fatores clínicos e laboratoriais;
- Avaliar a presença de lesão vascular e fenômenos tromboembólicos junto aos fatores clínicos e laboratoriais.

3 REVISÃO LITERATURA

3.1 TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS

O TCTH é uma modalidade terapêutica utilizada para uma série de doenças onco-hematológicas, imunológicas e metabólicas, na maioria das vezes como resgate daqueles que falharam o tratamento convencional, ou tem grande probabilidade de recidiva (HARDY; IKPEAZU, 1989; PIERONI et al., 2007).

Nas últimas duas décadas o TCTH tem se desenvolvido como terapêutica graças a avanços científicos e tecnológicos no setor. Novos esquemas de condicionamentos de baixa intensidade explicam o aumento considerável no uso da terapêutica com células tronco em pacientes idosos e aqueles com comorbidade (INAMOTO; LEE, 2017; LENNARD; JACKSON, 2001).

Os protocolos de condicionamento geralmente possuem uma combinação de drogas, que por não apresentarem especificidade, geram maior risco de toxicidade (PERZ et al., 2007), tendo como consequência a mieloablação, com períodos variados de pancitopenia, cujo efeitos podem ser amenizados com suporte clínico transfusional. A terapia transfusional se baseia principalmente na profilaxia e tratamento de manifestações hemorrágicas e dos sintomas da anemia (COVAS et al., 2007).

O regime de condicionamento consiste em altas doses de agentes quimioterápicos associados ou não a radioterapia local ou sistêmica e a escolha do protocolo ocorre de acordo com a doença de base do paciente. A finalidade do condicionamento é erradicar as células malignas no receptor, induzir uma imunossupressão que permita a enxertia das células progenitoras hematopoiéticas infundidas (TOYONAGA; MAK, 1987).

No transplante autólogo o paciente recebe suas próprias células, no entanto a quimioterapia utilizada apresenta maior toxicidade e intensidade que os esquemas mais usuais. No transplante alogênico, o paciente recebe células da medula óssea de outro indivíduo e deste modo necessita de terapia imunossupressora

após o procedimento para prevenção de complicações imune mediadas como a rejeição. Nos dois cenários os esquemas de quimioterapia e irradiação levam a um protocolo de condicionamento que gera morte celular e acometimento de órgão e tecidos (VION et al., 2015).

Quadro 1 – Modalidades de Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas

Tipo de transplante	Fonte de células progenitoras	Doador
Autólogo	Medula Óssea / Sangue Periférico	Próprio Paciente
Singênico	Medula Óssea / Sangue Periférico	Irmão gêmeo Idêntico
Alogênico	Medula Óssea / Sangue Periférico / Sangue de Cordão Umbilical	Relacionado (irmão ou outro familiar) Não relacionado: Qualquer pessoa

Fonte: CASTRO JÚNIOR; GREGIANIN; BRUNETTO, 2001

Aqueles que passaram por um TCTH se deparam com complicações futuras que limitam sua independência, com uso de medicações por período prolongado ou por toda a vida, reduzindo a qualidade de vida e diminuindo sua sobrevida. A expectativa de vida entre os submetidos ao transplante no período 5 anos após o procedimento é 30% menor comparado a população geral, sendo as principais causas de morte; a recidiva da doença, infecções, neoplasias secundárias, doenças cardíacas e pulmonares (INAMOTO; LEE, 2017).

Assim, dados clínicos e pré-clínicos sugerem que a injúria ao endotélio vascular pode contribuir tanto para a iniciação quanto a propagação de complicações relacionadas ao transplante (COOKE; JANNIN; HO, 2008).

1. Células CD34 + pré-condicionamento

O antígeno CD34 é uma glicoproteína presente na superfície das células progenitoras hematopoéticas, fibroblastos, tecido nervoso e células endoteliais. A quantificação do antígeno CD 34 por citometria de fluxo, é

utilizado para quantificar a presença de células-tronco no sangue e ou na medula óssea (BACAL, 2001).

Os avanços nas técnicas de mobilização e coleta de células progenitoras, tem reduzido a mortalidade relacionada ao TCTH, além de proporcionar a inclusão de novos pacientes a modalidade do transplante, como aqueles que apresentam alguma comorbidade ou idade avançada, fazendo assim que a terapia de condicionamento seja melhor tolerada. Entretanto, a alta incidência e mortalidade da infecção por Citomegalovírus (CMV) e de outras infecções oportunistas no TCTH de células CD34+ selecionadas, mostra que as células imunocompetentes, presentes no enxerto, a partir das células tronco hematopoiéticas (CTH), são essenciais para a imunidade anti-infecciosa nos primeiros 100 dias pós-transplante (JILLELLA; USTUN, 2004).

Estudos demonstram que para uma enxertia de sucesso o número de células CD 34+ é fator primordial, sendo uma dose de $3,5-5 \times 10^6$ células /kg/peso o valor ótimo. A infusão de células CD 34+ $>$ ou $= 5 \times 10^6$ /kg apesar de estar relacionada a uma menor necessidade de suporte hemoterápico, eleva o risco para algumas complicações vasculares e/ou trombóticas (ASHIHARA et al., 2002; JILLELLA; USTUN, 2004).

2. Condicionamento

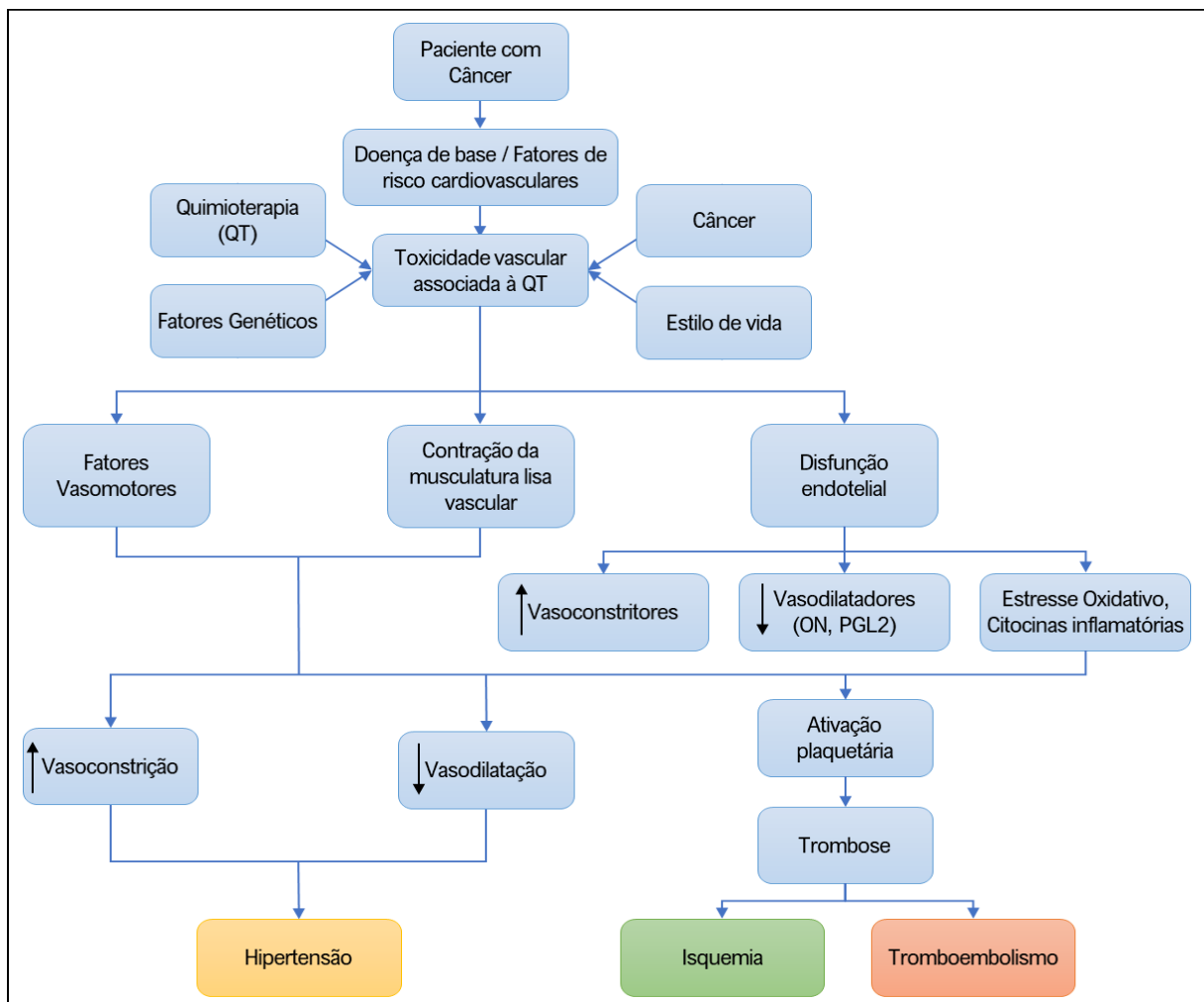
3.1.1.1 Quimioterapia (QT)

Tem como objetivos a destruição total de todas as células malignas, através da administração da mais alta dose de QT possível, simples ou combinada, agindo por diferentes mecanismos. Procura-se assim evitar que a sobrevivência de uma única célula maligna possa gerar outra linhagem progênica capaz de desenvolver novo tumor (LACERDA, 2001)

A toxicidade vascular relacionada a quimioterapia frequentemente se relaciona a disfunção endotelial, com a perda dos efeitos vasodilatadores e perda do efeito reparador e anti-inflamatório vascular (Figura1). Concomitantemente os efeitos

pró coagulantes do câncer em adição ao aumento da atividade plaquetária são exacerbados pela diminuição do ON disponível (CAMERON; TOUYZ; LANG, 2016). Para efeito de nota, em ratos os níveis de células endoteliais circulantes (CEC) se eleva imediatamente após a infusão de Ciclofosfamida ou Metrotrexato, antes da supressão do sistema imune, sugerindo que estas drogas apresentam efeito direto e relação com o dano vascular e das células endoteliais. Efeito semelhante também é relatado com o uso do Busulfano (VION et al., 2015).

Figura 1 – Diagrama representando fatores que possivelmente estão associados a toxicidade vascular relacionada a Quimioterapia.



Legenda: ON – óxido nítrico; PGI2 – prostaciclina

Fonte: CAMERON; TOUYZ; LANG, 2016

A ciclofosfamida é agente alquilante relacionado a complicações vasculares, incluindo hipertensão arterial, infarto agudo do miocárdio, fenômeno de Raynaud e SOS. O Fator de Crescimento do Endotélio Vascular (VEGF) desempenha importante papel regulador no desenvolvimento vascular fisiológico, sua concentração circulante está reduzida com a administração de ciclofosfamida, e está se associa a casos de pneumonia intersticial e fibrose pulmonar, com biopsia pulmonares evidenciando monócitos e neutrófilos aderidos ao endotélio lesado com acúmulo de plaquetas nas lesões endoteliais (VION et al., 2015).

3.1.1.2 Radioterapia

A radioterapia tem demonstrado relação com a lesão endotelial tanto in vivo como in vitro. Uma irradiação de 4_Gy (cl clinicamente relevante) in vitro, leva a apoptose tanto micro quanto macro vascular. Em cultura de células humanas derivadas de cordão umbilical, a irradiação causa elevação do apoptose celular e do estado inflamatório comprometendo a resposta do endotélio a seus agentes (CAMERON; TOUYZ; LANG, 2016).

3.2 A CÉLULA ENDOTELIAL

A célula endotelial tem forma de polígono e é alongada, disposta em monocamadas envolvendo o sistema vascular formando complexos juncionais com células vizinhas (COTRAN et al., 2000). A integridade estrutural e funcional das células endoteliais é fundamental a manutenção da homeostasia da parede vascular. Mantem a interface sangue tecido não trombogênicas, modulam o fluxo sanguíneo, o metabolismo hormonal, modifica lipoproteínas durante o transporte na parede arterial, regula a permeabilidade vascular, a transmigração leucocitária, são termorreguladoras e umidificadoras, mantem o tônus vascular, regulam a proliferação celular, a angiogênese e o crescimento de outros tipos de células (AIRD, 2007).

A incubação de células endoteliais com mediadores inflamatórios e/ou produtos bacterianos induz atividade pró-adesiva e pró-coagulante, tornando-as ativadas. Quando lesadas as células endoteliais apresentam alterações reversíveis em resposta ao estímulo ambiental. A estimulação endotelial é uma resposta reversível e rápida e independe da síntese de novas proteínas, enquanto a ativação endotelial está relacionada a síntese de novas proteínas ou de alterações pré-existentes. Esta resposta é induzida por citocinas inflamatórias como Interleucina 1 (IL-1), fator de necrose tumoral (TNF), moléculas do complexo de histocompatibilidade classe II (MHC II) e Interferon Gama (IFN- γ). Com vida média de um ano a célula endotelial permanece em estado quiescente até ser estimulada (AIRD, 2007).

Células endoteliais (CE) formam a fina camada dos vasos sanguíneos e promovem uma barreira entre a parede vascular e o sangue. Ao ser ativada por estímulos tanto físico quanto químicos derivados da circulação, as CE fazem a regulação da homeostase, permeabilidade e tônus vascular assim como respostas imunes e inflamatórias. Células do endotélio são fundamentais na angiogênese e vasculogênese. Suas funções parácrinas e endócrinas regulam a força vascular. Quando ativadas por estímulos provocados por células adjacentes ou pelo sangue, apresentam um aumento na expressão de moléculas de adesão e de características pró coagulante alterando também a permeabilidade vascular (VION et al., 2015).

O nível plasmático de diversos mediadores pró-coagulantes foram relacionados a lesão endotelial, sugerindo que esses mediadores podem representar marcadores de disfunção endotelial. Ativação endotelial é um termo distinto de injúria endotelial visto que na ativação inicia-se um rearranjo morfológico induzindo novas funções sem que haja a perda da integridade endotelial. Uma disfunção das células endoteliais associada a injúria endotelial irreversível pode ser ocasionada por quadros persistentes de ativação endotelial (WOYWODT et al., 2004).

A ativação endotelial é um fenômeno dividido em dois estágios, primeiramente ocorre à estimulação e logo após a ativação, que se divide em dois momentos; A ativação tipo I que ocorre após a estimulação e libera moléculas de adesão e antitrombóticas como: p-selectina, trombina, heparina,

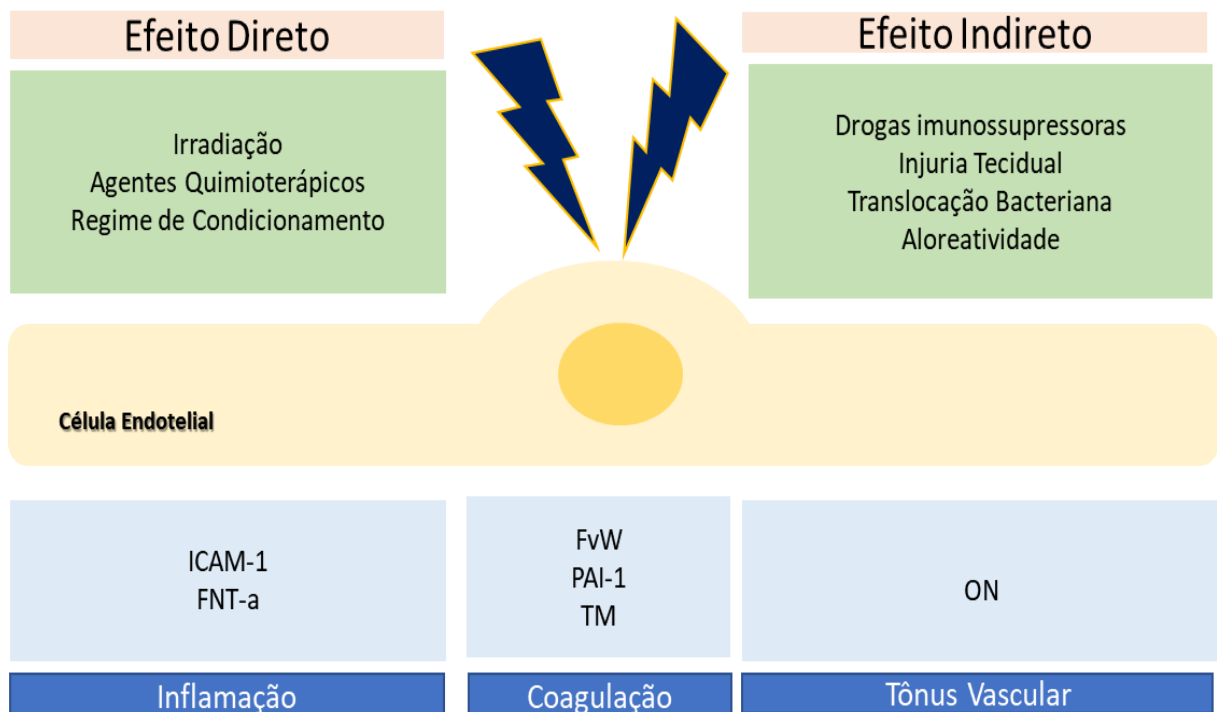
antitrombina III e trombomodulina (TM). Neste momento ocorre uma retração do endotélio nas vênulas e pequenas veias (ZHANG et al., 2010).

A ativação tipo II, é uma resposta tardia e depende da ativação e da transcrição gênica para a síntese de proteínas, expressando E-selectina, Fator de Von Willebrand (FVW), Interleucina-8 (IL-8) e Fator de ativação plaquetária (PAF) (ZHANG et al., 2010).

Evidências de lesão endotelial em pacientes submetidos a TCTH se relacionam primeiramente a própria doença, seja linfoma, mieloma ou leucemia. Níveis circulantes de FVW e TM, duas proteínas produzidas pelas CE estão aumentadas em pacientes submetidos ao TCTH antes do próprio procedimento quando comparadas com pacientes controles de endotélio saudável (AIRD, 2007; COOKE; JANNIN; HO, 2008).

O nível de FVW circulante e a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) estão aumentados em pacientes submetidos ao TCTH, até 3 semanas após o transplante autólogo ou alogênico (Figura 2), embora este aumento não esteja associado a um pior desfecho. Após o TCTH níveis de TM encontram-se elevados assim como o Inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1) uma das mais importantes proteínas antifibrinolíticas, produzida pelas CE (AIRD, 2007; COOKE; JANNIN; HO, 2008).

Figura 2 – Efeito direto e indireto do transplante de células tronco hematopoiéticas nas células endoteliais



Legenda: ICAM-1, molécula de adesão intercelular-1; FNT-a, fator de necrose tumoral alfa; FvW, fator de von Willebrand; PAI-1, Inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1; TM, trombomodulina; ON, óxido nítrico.

Fonte: CAMERON; TOUYZ; LANG, 2016

3.3 INFLAMAÇÃO

A inflamação é uma sequência ordenada de eventos modulada para a manutenção da homeostase de órgãos e tecidos. A liberação de mediadores e a expressão de receptores são essenciais na restauração tecidual (FEUERSTEIN; LIBBY; MANN, 2003; ROMANO, 2008).

As citocinas pró-inflamatórias compreendem um grande grupo de mediadores, cujos principais representantes são TNF-a, IFN-g, a Interleucina 1 (IL-1), a Interleucina 2 (IL-2), a Interleucina 6 (IL-6) e a Interleucina 8 (IL-8), responsáveis pelo desencadeamento da febre (pirógenos endógenos) e de muitas outras reações inflamatórias agudas e crônicas, incluindo o choque séptico e a falência múltipla de órgãos (VOLTARELLI, 1994). Lesões teciduais, provocadas pelo regime de condicionamento, e mediadores liberados nas reações febris provocam aumento dos níveis de citocinas, sensibilizando o endotélio vascular à ação de um segundo tipo de agressão, desencadeada por drogas imunossupressoras, agentes infecciosos e reações alo-reativas, resultando em um processo inflamatório sistêmico (CAMERON; TOUYZ; LANG, 2016).

Sendo a inflamação parte de uma resposta imune secundária a um quadro infeccioso ou de injúria tecidual, este evento gera mudança na configuração vascular e conseqüente aumento da permeabilidade às células do sistema imune. Enquanto nos parece claro que a célula endotelial contribui

para o complexo processo da resposta inflamatória, o papel do sistema homeostático, em particular as plaquetas, na mediação da resposta imune começou a ser elucidado recentemente. Plaquetas contribuem com o processo inflamatório a partir da secreção de diversas proteínas e citocinas ativadoras, mas elas também apresentam um papel físico importante, ao facilitar a ligação de células imunes como os neutrófilos e ao participar da formação de armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs) (GRANDL; WOLFRUM, 2018).

Ferritina é uma proteína solúvel em água que armazena ferro, a avaliação da ferritina é importante não apenas para estratificação de risco de doenças relacionadas ao acúmulo de ferro, mas também a doenças caracterizadas por processos infecciosos e inflamatórios além de dano e reparação tecidual (ALAM et al., 2014).

É composta de 24 subunidades polipeptídicas as subunidades H e L que formam uma esfera na qual o ferro é sequestrado. A ferritina sérica é mais comumente utilizada para estimar as reservas de ferro corporal, valores baixos de ferritina são indicativos de ferropenia, enquanto valores aumentados podem representar reservas aumentadas de ferro no organismo ou inflamação em pacientes com reservas normais (COHEN et al., 2010).

O TNF- α e a IL-1 são citocinas pró inflamatórias que estimulam a cadeia H da ferritina, sendo uma via relacionada a inflamação que pode impactar na regulação da ferritina (TORTI; TORTI, 2002).

No período pré-transplante de medula óssea o excesso do ferro no metabolismo está associado a desfechos desfavoráveis no receptor, como aumento do risco de infecções e mortalidade, sendo a associação de acúmulo de ferro e SOS bem documentada na literatura, independente do regime de condicionamento utilizar dose total ou intensidade reduzida (ALTÈS et al., 2002; ARTZ et al., 2016; MARADEI et al., 2009).

O excesso de ferro rapidamente satura a transferrina (proteína transportadora do ferro) disponível e eleva os níveis de ferro sérico, não ligados a transferrina. O regime de condicionamento contribui para o aumento do ferro não ligado a transferrina, em parte pela inibição da eritropoiese, a maior via de utilização do ferro, assim como o ferro armazenado é liberado pelo fígado como resultado da lesão tecidual secundária a quimioterapia. Este mecanismo de lesão endotelial hepática associada aos níveis elevados de ferro plasmáticos

após o condicionamento são mediadores do desenvolvimento de SOS em pacientes com sobrecarga de ferro (PULLARKAT, 2010).

Soma-se ao papel vital do ferro no corpo humano, a função de ser um importante elemento ao desenvolvimento de microrganismos patogênicos. (SCHAIBLE; KAUFMANN, 2004). Níveis elevados de ferro podem não apenas promoverem o crescimento da microbiota como também aumentarem diretamente a suscetibilidade a infecções por inibirem a função do sistema imune (PULLARKAT, 2010).

Proteína C reativa (PCR) é uma proteína de fase aguda, produzida pelos hepatócitos, quando estimulados por citocinas como: IL-6, IL-1, TNF- α durante a resposta a um estímulo. A PCR é um marcador objetivo de inflamação (KOLB-BACHOFEN, 1991).

Durante um evento inflamatório ou infeccioso os níveis de PCR se elevam rapidamente nas primeiras 6 a 8 horas com um pico após 48 horas. A PCR se liga as fosfolipinas expressas na superfície de células lesadas, assim como em polissacarídeos presentes em bactérias, parasitas e fungos. Esta ligação ativa a via clássica da cascata do complemento e modula a atividade de células fagocíticas, evidenciando o papel da PCR na opsonização. Após a resolução do processo infeccioso ou inflamatórios níveis de PCR tendem a cair, fazendo esta dosagem importante na monitorização de atividade de doença (YOUNG; GLEESON; CRIPPS, 1991).

O Tecido adiposo usualmente secreta adipocinas inflamatórias, como por exemplo a Leptina, IL-6, TNF- α , Proteína de Quimioatração de Monócitos 1 (MCP-1) e a Resistina (AVOGARO; DE KREUTZENBERG, 2005; GOMES et al., 2010). A obesidade, está relacionada a quadros inflamatórios crônicos, o tecido adiposo, produz e libera uma variedade de fatores pró-inflamatórios e anti-inflamatórias como os descritos a cima. Uma correlação entre valores de IL-6 circulantes e obesidade tem sido descritos, sendo um terço do total da concentração da IL-6 originaria do tecido adiposo (SAMOCHA-BONET et al., 2008).

A IL-6 atua como uma citocina pró-inflamatória e uma miocina anti-inflamatória, também se apresenta como uma mediadora da trombocitose e hiperativação plaquetária, tendo sido descrita em casos de doença inflamatória intestinal como uma das causas de elevação de risco para trombose

(BAATOUT, 1996). A IL-6 durante a inflamação do colón, amplia a contagem plaquetária, secundária a um aumento de estímulo na produção. O seu nível sérico encontra-se significativamente elevado em pacientes com trombocitose reativa. Ainda não se sabe, se o efeito trombopoietico da IL-6 é causado pela estimulação direta dos progenitores hematopoiéticos ou mediada indiretamente (MERTENS; VAN GAAL, 2002).

A trombopoietina (TPO) é a reguladora primária da proliferação e diferenciação dos progenitores dos megacariócitos, segundo dados reportados recentemente, a concomitante elevação da IL-6 e dos níveis plasmáticos de TPO é acompanhada do aumento da contagem plaquetária em pacientes com doenças inflamatórias e tumores sólidos (MERTENS; VAN GAAL, 2002; SAMOCHA-BONET et al., 2008).

3.4 PLAQUETAS

Plaquetas são células anucleadas de forma discoide, 3 –5 microm de diâmetro e 0 - 5 microm em profundidade, e circulam em níveis entre 150-400 x plaquetas/l. Em locais de injúria vascular, plaquetas mudam seu formato, se aderem ao local e formam um plug plaquetário, secretando citocinas essenciais para o reparo do dano (KEMPTON et al., 2005), desta forma elas se tornam indispensáveis na manutenção da integridade vascular. A trombocitopenia pode levar a episódios de sangramento, que variam de petéquias até hemorragias intracranianas e morte. A vida média das plaquetas é de aproximadamente 10 dias e são necessários aproximadamente 70×10^9 plaquetas /l dia para a manutenção da integridade vascular. (HANSON; SLICHTER, 1985), esta necessidade leva a uma menor média de sobrevida plaquetária em pacientes trombocitopênicos (FRITZ et al., 1986).

As plaquetas apresentam íntima relação com o endotélio ao manterem e proverem uma função de suporte, mantendo a integridade dos vasos em situações de injúria, estudos em animais demonstraram que a trombocitopenia está associada com o afinamento do endotélio nas paredes dos vasos (BLAJCHMAN et al., 1981) e com a persistência da trombocitopenia

ocorre um espaçamento entre as células endoteliais adjacentes. Este afinamento e fenestração do endotélio gera um aumento no consumo plaquetário, devida a prevenção de sangramento e perda celular através das fenestrações (NACHMAN; RAFII, 2008).

Transfusões plaquetárias são necessárias para prevenção complicações hemorrágicas após terapias mieloablativas e no TCTH. A ineficiência em se obter um nível adequado de plaquetas circulantes afeta de forma adversa a sobrevida (BERNSTEIN et al., 1998).

3.5 NECESSIDADE TRANSFUSIONAL DE PLAQUETAS NO AMBIENTE DO TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA:

Pacientes submetidos ao TCTH são propensos a uma maior necessidade transfusional relacionado ao procedimento em si, isso se deve ao desenvolvimento de pancitopenia e devido ao dano sustentado a órgãos e tecidos (GAJEWSKI et al., 2008).

Uma contagem plaquetária menor que 10.000/l está associado a um aumento da mortalidade. No entanto, é comum nos centros transplantadores estipular um valor limite, para se iniciar a transfusão plaquetária e o valor de 10.000/l é o mais utilizado. A transfusão profilática de plaquetas além de desnecessária pode acarretar prejuízos ao paciente, entre os hemocomponentes a transfusão plaquetária é aquela mais relacionada a risco de infecções e complicações não infecciosas.

A pratica de transfusão profilática de plaquetas teve início com a publicação de um estudo observacional de pacientes com leucemia aguda em 1960 onde foi observado um aumento no número de dias de sangramento em pacientes trombocitopênicos. Mais recentemente um estudo com 3.000 adultos trombocitopênicos com doença hematológica, não demonstrou correlação entre plaquetopenia e sangramento e outro estudo também com pacientes submetidos ao TCTH mostrou que a maior parte dos eventos hemorrágicos ocorreram com plaquetas > 20.000/l. O sangramento no paciente submetido a TCTH é provavelmente de caráter multifatorial refletindo a atividade de

comorbidades associadas ao transplante como: mucosite, cistite hemorrágica, DECH, SOS, e sangramento alveolar difuso. Sendo assim a transfusão deve ser indicada se considerando a situação clínica do paciente (GAJEWSKI et al., 2008; SCHIFFER et al., 2018).

3.6 DOSE POR EPISÓDIO TRANSFUSIONAL DE PLAQUETAS.

Uma unidade de plaqueta randômica eleva a contagem plaquetária em um adulto em até 8.000 mm³, em crianças 0.1–0.2 unidades/kg é esperado uma elevação de até 50.000mm³ (SENSEBÉ et al., 2005).

Em pacientes hematológicos com trombocitopenia, a transfusão de concentrado de plaquetas (CP) ainda é vital ao suporte clínico. A dose 0,5-1 U/10 kg é a mais utilizada e permanece como a dose padrão, no entanto a dose ideal para profilaxia permanece em debate. Estudos comparando diferentes doses de plaquetas, evidenciaram que uma dose maior de unidades de CP/10 kg tem relevância ao diminuir o intervalo entre transfusões e melhorar o incremento plaquetário (NOROL et al., 1998; SENSEBÉ et al., 2005). A dose de plaquetas pode ser calculada de maneira mais detalhada ou precisa, identificando-se o incremento plaquetário desejado (IP) e levando-se em conta a volemia sanguínea (VS) e o sequestro esplênico estimado (aproximadamente 33%), utilizando-se para isso a fórmula a seguir:

$$\text{Dose (x10}^9\text{)} = \text{IP} \times \text{VS} / \text{F} \quad (1)$$

Onde:

- IP – Incremento plaquetário desejado (x10⁹ /L)
- VS – Volemia sanguínea (L)
- F – Fator de correção (0,67)

O tempo de infusão da dose de CP deve ser de aproximadamente 30 min em pacientes adultos ou pediátricos, não excedendo a velocidade de infusão de 20-30mL/kg/hora (ARYA; WANDER; GUPTA, 2011).

3.7 REFRATARIEDADE PLAQUETÁRIA

A refratariedade plaquetária é resultante da menor sobrevivência plaquetária secundária a causas imunológicas ou não imunológicas. Pacientes onco-hematológicos recebem transfusão plaquetária devido a um quadro intenso e persistente de trombocitopenia, esta particularidade leva a um aumento da demanda por CP, que pode ser tornar crítico caso haja desenvolvimento de refratariedade a este hemocomponente (SCHIFFER, 2001)

Um incremento transfusional plaquetário baixo, pode em até 80% das vezes, estar relacionado a causas não imunológicas relacionadas ao hospedeiro como: febre, sepse, esplenomegalia, coagulação intravascular disseminada doença do enxerto versus hospedeiro, SOS, plaquetopenia induzida por drogas (sulfa, penicilina, heparina, vancomicina, anfotericina...) e sangramento (HOD; SCHWARTZ, 2008).

Existem evidências que o DECH afeta significativamente a recuperação da trombopoese após o transplante. Células endoteliais também são afetadas pela doença do enxerto versus hospedeiro, cultura de células endoteliais demonstraram capacidade de expressar o antígeno plaquetário humano 1 (HPA-1) e HPA-5. O endotélio deve, no entanto, ser um alvo específico para a incompatibilidade HPA e anticorpos plaquetários, causando maior chance de sangramento devido à refratariedade nos casos de transfusão plaquetária, podendo até inibir a trombopoese. Como já foi demonstrado em casos de auto e aloanticorpos se ligando a megacariócitos e consequentemente levando a amegacariose (LEITNER et al., 2003).

Normalmente a refratariedade plaquetária é suspeitada no momento em que o exame de rotina, realizado 18-24h pós transfusão evidencia um incremento insatisfatório. Alguns autores preconizam que o momento da

dosagem plaquetária pós transfusão pode ajudar a determinar a causa da refratariedade, sendo a contagem inadequada 1h após a transfusão de CP associada a alo imunização (FERREIRA et al., 2011).

3.8 EVENTOS VASCULARES

Alguns obstáculos a um TCTH de sucesso inclui o desenvolvimento de DECH, infecções oportunistas e outras complicações como a micro angiopatia trombótica associada ao transplante. Os fatores patogênicos associados ao desenvolvimento de um quadro de micro angiopatia são parcialmente entendidos, a lesão endotelial secundária ao regime de condicionamento com altas doses de quimioterapia ou irradiação corporal total, infecção por CMV, o uso de imunomoduladores como a ciclosporina e o possível efeito da doença do enxerto versus hospedeiro (PALOMO et al., 2010).

Além do seu efeito na células endoteliais, quimioterapia, irradiação e tratamento imunossupressor induzem uma variedade de injúrias orgânicas. O tecido lesado libera uma gama de moléculas incluindo as já mencionadas FNT- α , IL-1 permitindo uma renovação das células destruídas e reparo tecidual. Estas mudanças são acompanhadas por um aumento de lipopolisacarídeos secundários a quebra da barreira mucosa. Todos estes eventos são sabidamente relacionados a propriedade pro trombótica das células endoteliais por elevarem a expressão endotelial do PAI-1, FVW, Fator tecidual (FT) e moléculas de adesão como ICAM-1 e molécula de adesão vascular 1 (VCAM-1) (CAMERON; TOUYZ; LANG, 2016).

Existem evidência sugerindo que algumas complicações que surgem precocemente após um TCTH como: SOS e Síndrome da Enxertia, tem sua origem na íntima relação ao dano endotelial local ou sistêmico (PALOMO et al., 2010).

3. Síndrome da obstrução sinusoidal

A SOS é uma complicação grave relacionada ao TCTH, nesta síndrome as células endoteliais sinusoidais são lesadas por metabolitos tóxicos gerados durante o regime de condicionamento. O diagnóstico desta condição é baseado em critérios clínicos, no entanto só se deve pensar no diagnóstico excluindo outras doenças que também causam danos hepático no ambiente do transplante de medula óssea (MOHTY et al., 2015).

Os critérios modificados de Seattle são os mais comumente utilizados para o diagnóstico e consistem em: início dos sintomas até d +20 pós TCTH, bilirrubina aumentada > 2 mg/dL, hepatomegalia dolorosa, elevação do peso corporal em > 2%, sendo necessário ≥ 2 critérios para o diagnóstico (CARRERAS, 2015).

A hipótese proposta para explicar a filologia da SOS durante TCTH é relacionada ao dano e ativação celular do endotélio sinusoidal lesado por fatores como: quimioterapia, radioterapia, citocinas produzidas por tecidos lesados, translocação bacteriana relacionada ao dano dos tecidos do trato gástrico intestinal, medicamentos e o complexo processo de enxerto. Todos estes fatores produzem uma ativação de células endoteliais e caso o dano seja sustentado as células endoteliais mudam de configuração favorecendo o surgimento de fendas na barreira sinusoidal, esta abertura facilita a entrada de células do setor eritrocítico, leucócitos e debris celulares no espaço de Disse abaixo das células endoteliais, dissecando o vaso sanguíneo e levando a uma diminuição do fluxo favorecendo a formação de trombos e obstrução dos sinusoides hepáticos (VOLIN et al., 2016).

4. Síndrome da enxertia

Tal síndrome parece ser mediada por um conjunto de citocinas pró-inflamatórias, algumas delas liberadas pela injúria epitelial e endotelial relacionada a um regime de condicionamento citotóxico, liberando citocinas pró

inflamatórias como a IL-1, TNF- α e interferon gama. Durante a recuperação neutrofílica que ocorre após a quimioterapia ou TCTH, um crescente na produção e proliferação de citocinas, produtos de degradação dos neutrófilos e metabolismo oxidativo, leva a um acometimento local ou sistêmico de tecidos (SPITZER, 2001).

Embora descrita nos anos 90 esta síndrome vem progressivamente sendo reconhecida, para seu diagnóstico segue-se os critérios de Maiolino, caracterizado por: febre asséptica, infiltrados pulmonares e/ou *rash* cutâneo e/ou diarreia 24h antes ou no momento da enxertia (MAIOLINO et al., 2003).

O diagnóstico diferencial da síndrome da enxertia e outras complicações relacionadas ou não ao TCTH, em especial, quadros infecciosos que se desenvolvem no fim do período de neutropenia, pode ser complexo. Isto se torna relevante uma vez que esta síndrome responde de forma dramática a terapia com corticoide, quando estes são administrados precocemente ao início dos sintomas (CARRERAS et al., 2010).

Estudos prévios em paciente adultos identificaram; sangue periférico como fonte de células tronco, número elevado de células CD 34+ infundidas, certas doenças de base como câncer de mama, uso de anfotericina B, aplicação de fator estimulador de colônias granulocitárias (G-CSF) e uma recuperação precoce dos neutrófilos, como fatores de risco associados ao desenvolvimento da síndrome da enxertia (SCHMID et al., 2008).

4 MÉTODO

Foi realizada análise prospectiva de pacientes entre março de 2016 a outubro de 2017, no Serviço de Transplante de Medula do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (HU-UFJF), onde foram estudados tanto o Transplante de Medula Óssea autólogo quanto o alogênico sendo excluídos aqueles que não apresentavam os dados necessários para atingir a avaliação dos objetivos propostos ou que não assinaram o consentimento livre e esclarecido.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HU-UFJF (CEP HU-UFJF), parecer consubstanciado nº 1.466,443 e CAAE: 52091415.0.0000.5133 (Anexo A).

Um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo B) foi elaborado conforme as normas da Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) e entregue aos indivíduos que aceitaram de forma espontânea a participar do estudo. A leitura do TCLE foi realizada com todos os participantes, esclarecendo os objetivos do estudo, todos os seus direitos e sanando dúvidas que porventura houvessem. Após a leitura, foi solicitada a assinatura para os que concordaram em participar do estudo. Uma cópia do documento foi entregue a cada entrevistado e outra ficou arquivada.

Sendo assim, por se tratar de pesquisa que envolve a participação de seres humanos, foram respeitadas as determinações da Resolução nº 466/12 do CNS, de forma a garantir que os preceitos éticos e legais fossem evidenciados em todo o processo de obtenção e análise dos dados. Ressalta-se que o anonimato e o sigilo dos participantes foram garantidos.

4.1 PACIENTES

Foram incluídos pacientes que seriam submetidos ao TCTH autólogo e alogênico, de ambos os sexos e qualquer idade.

Pacientes com aplasia de medula óssea foram excluídos da amostra devido a suas características serem bastante heterogênia em relação ao restante dos pacientes estudados, principalmente quando observados a dependência do suporte transfusional no período pré TCTH.

Os pacientes participantes da pesquisa responderam uma ficha cadastral (Apêndice A) e um instrumento para coleta de informações referentes à situação da saúde (Apêndice B).

Os pacientes foram avaliados em relação a radioterapia prévia, contagem de células CD 34 +, período de neutropenia, índice de massas corpórea (IMC), ferritina e PCR, relacionando esses fatores ao número de transfusões de plaquetas, refratariedade plaquetária e eventos vasculares como SOS e síndrome da enxertia da medula óssea.

4.2 COLETA DE AMOSTRAS

Para avaliar a situação inflamatória prévia a infusão da quimioterapia em alta dose foi colhida: o PCR e ferritina na internação, bem como considerado o peso do início do condicionamento para cálculo do IMC.

Foram coletados de cada participante 4 ml de sangue total obtido por punção venosa periférica em tubo anticoagulado com ácido etilenodiamino tetra acético (EDTA) durante a rotina de coleta do serviço.

A quantificação das células CD34+ foi realizada em plataforma dupla, a citometria foi realizada no citômetro de fluxo *Fluorescence Activated Cell Analyser*, FACSCalibur, Becton Dickinson (BD) e a análise da citometria foi realizado no software de análise Cell Quest, segundo o protocolo ISHAGE (Sociedade Internacional de Hemoterapia e Engenharia de Enxerto).

4.3 PARÂMETROS CLÍNICOS E LABORATORIAIS

Para o diagnóstico de SOS utilizou-se como base os Critérios de Seattle modificados são eles a ocorrência nos primeiros 20 dias após o TCTH

de retenção de fluidos com aumento de no mínimo 2% do peso corporal em combinação com bilirrubina direta > 2 mg/dl e a síndrome da enxertia com base nos critérios de Maiolino, caracterizada por *rash* cutâneo e febre asséptica e infiltrados pulmonares ou diarreia 24h antes ou no momento da enxertia.

A ferritina sérica foi considerada elevada quando maior que 300 ng/ml, o IMC alterado quando maior que 25 kg/m², o PCR quando maior que 2 mg/.

4.4 POLÍTICA TRANSFUSIONAL

Os pacientes receberam plaquetas deleucotizadas e irradiadas, quando a contagem era inferior aos valores de 10.000 a 20.000 plaquetas mm³.

Foram transfundidos por episódio transfusional 1 unidade de concentrado de plaquetas para cada 10 kg de peso do doente quando utilizadas plaquetas randômicas, sendo as coletas de plaquetas de doador único por aférese consideradas equivalentes a 6 unidades de plaquetas randômicas.

4.5 CÁLCULO DO INCREMENTO PLAQUETÁRIO

Para a avaliação da refratariedade plaquetária foi utilizada a fórmula de *correct count increment* (contagem do incremento corrigida – CCI), sendo considerado refratários aqueles pacientes que apresentaram rendimento plaquetário pós-transfusional de 24 horas (CCI-24 – colhida entre 18 e 24 horas após o término da transfusão) menor que 4500 plaquetas por ml em pelo menos duas transfusões, preferencialmente consecutivas (SLICHTER et al., 2005).

$$CCI = \frac{IP \times SC \times 10^{11}}{n} \quad (2)$$

Onde:

- IP = incremento na contagem de plaquetas ($\times 10^9/L$)
(contagem pós-transfusional – contagem pré-transfusional)
- SC = superfície corpórea (m^2)
- n = número de plaquetas transfundidas ($\times 10^{11}/L$)

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados coletados para o estudo foram reunidos para análise descritiva e inferencial, por meio de distribuições de frequências, medianas, mínimo e máximo, média e desvio padrão apresentados por meio de tabelas.

Após o levantamento da necessidade de transfusão em conjunto com a presença de fenômenos tromboembólicos e a refratariedade plaquetária, comparou-se baseado nos valores encontrados a relação com fatores que poderiam estar relacionados a uma maior dependência transfusional e consequente aumento do risco de vida aos pacientes submetidos TCTH. Os fatores analisados foram radioterapia, tipo de transplante (autólogo/allogênico), células CD34 + pré condicionamento, neutropenia febril, dias de neutropenia, IMC, uso de dois ou mais antibióticos, ferritina e PCR. Considerou -se as medianas de episódios transfusionais como método mais correto para obter uma estimativa do consumo de Concentrado de Plaquetas, uma vez que não foi encontrada uma distribuição normal entre os grupos.

As análises foram realizadas no programa estatístico *Statistical Package for Social Science* (SPSS) versão 17.0. Para os valores estatisticamente significativos foi considerado o valor de $p < 0,05$ para a rejeição da hipótese de nulidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e sua discussão estão apresentados no artigo “*Evaluation of platelets transfusion in patients undergoing high dose chemotherapy for bone marrow transplantation*” (Apêndice C). O artigo foi submetido à revista acadêmica: Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia (Anexo C).

6 CONCLUSÃO

- Pacientes com IMC elevado apresentam menor necessidade transfusional quando comparados ao grupo de pacientes com IMC normal.
- O paciente que apresentou síndrome de enxertia recebeu número de células CD 34+ $\geq 5 \times 10^6/\text{kg}$.
- O paciente que evoluiu com SOS apresentava ferritina elevada.

REFERÊNCIAS

- AIRD, W. C. Phenotypic heterogeneity of the endothelium: I. Structure, function, and mechanisms. **Circulation Research**, Baltimore, v. 100, n. 2, p. 158–173, 2007.
- ALAM, F. et al. Elevated levels of ferritin and hs-CRP in type 2 diabetes. **JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association**, Karachi, v. 64, n. 12, p. 1389–1391, 2014.
- ALTÈS, A. et al. Iron overload might increase transplant-related mortality in haematopoietic stem cell transplantation. **Bone Marrow Transplantation**, London, v. 29, n. 12, p. 987–989, 2002.
- ARTZ, A. S. et al. The prognostic value of serum C-reactive protein, ferritin, and albumin prior to allogeneic transplantation for acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. **Haematologica**, Pavia, v. 101, n. 11, p. 1426–1433, 2016.
- ARYA, R. C.; WANDER, G.; GUPTA, P. Blood component therapy: Which, when and how much. **Journal of Anaesthesiology, Clinical Pharmacology**, New Delhi, v. 27, n. 2, p. 278–284, 2011.
- ASHIHARA, E. et al. Infusion of a high number of CD34+ cells provides a rapid hematopoietic recovery and cost savings in autologous peripheral blood stem cell transplantation. **Japanese Journal of Clinical Oncology**, Tokyo, v. 32, n. 4, p. 135–139, 2002.
- AVOGARO, A.; DE KREUTZENBERG, S. V. Mechanisms of endothelial dysfunction in obesity. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 360, n. 1–2, p. 9–26, 2005.
- BAATOUT, S. Interleukin-6 and megakaryocytopoiesis: an update. **Annals of Hematology**, Berlin, v. 73, n. 4, p. 157–162, 1996.
- BARAC, A.; CAMPIA, U.; PANZA, J. A. Methods for evaluating endothelial function in humans. **Hypertension**, Dallas, v. 49, n. 4, p. 748–760, 2007.
- BERNSTEIN, S. H. et al. A multicenter study of platelet recovery and utilization in patients after myeloablative therapy and hematopoietic stem cell transplantation. **Blood**, New York, v. 91, n. 9, p. 3509–3517, 1998.

BLAJCHMAN, M. A. et al. Hemostatic function, survival, and membrane glycoprotein changes in young versus old rabbit platelets. **The Journal of Clinical Investigation**, New Haven, v. 68, n. 5, p. 1289–1294, 1981.

CAMERON, A. C.; TOUYZ, R. M.; LANG, N. N. Vascular Complications of Cancer Chemotherapy. **The Canadian Journal of Cardiology**, Oxford, v. 32, n. 7, p. 852–862, 2016.

CARRERAS, E. et al. Engraftment syndrome after auto-SCT: analysis of diagnostic criteria and risk factors in a large series from a single center. **Bone Marrow Transplantation**, London, v. 45, n. 9, p. 1417–1422, 2010.

CARRERAS, E. How I manage sinusoidal obstruction syndrome after haematopoietic cell transplantation. **British Journal of Haematology**, Oxford, v. 168, n. 4, p. 481–491, 2015.

CASTRO JÚNIOR, C. G.; GREGIANIN, L. J.; BRUNETTO, A. L. Bone marrow transplantation and cord blood transplantation in children. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 77, n. 5, p. 345–360, 2001.

COHEN, L. A. et al. Serum ferritin is derived primarily from macrophages through a nonclassical secretory pathway. **Blood**, New York, v. 116, n. 9, p. 1574–1584, 2010.

COOKE, K. R.; JANNIN, A.; HO, V. The contribution of endothelial activation and injury to end-organ toxicity following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, Charlottesville, v. 14, n. 1 Suppl 1, p. 23–32, 2008.

COTRAN, R. S. et al. **Patologia estrutural e funcional**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

COVAS, D. T. et al. **Hemoterapia: fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2007.

FERREIRA, A. A. et al. Identification of platelet refractoriness in oncohematologic patients. **Clinics**, Sao Paulo, v. 66, n. 1, p. 35–40, 2011.

FEUERSTEIN, G. Z.; LIBBY, P.; MANN, D. L. Inflammation — A new frontier in cardiac disease and therapeutics. In: FEUERSTEIN, G. Z.; LIBBY, P.; MANN, D. L. **Inflammation and Cardiac Diseases**. Basel: Birkhäuser Basel, 2003. p. 1–5. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-0348-8047-3_1>. Acesso em: 12 mar. 2018.

FRITZ, E. et al. Shortened platelet half-life in multiple myeloma. **Blood**, New York, v. 68, n. 2, p. 514–520, 1986.

GAJEWSKI, J. L. et al. A review of transfusion practice before, during, and after hematopoietic progenitor cell transplantation. **Blood**, New York, v. 112, n. 8, p. 3036–3047, 2008.

GOMES, F. et al. Obesity and coronary artery disease: role of vascular inflammation. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 94, n. 2, p. 255–261, 273–279, 260–266, 2010.

GRANDL, G.; WOLFRUM, C. Hemostasis, endothelial stress, inflammation, and the metabolic syndrome. **Seminars in Immunopathology**, Berlin, v. 40, n. 2, p. 215–224, 2018.

HANSON, S. R.; SLICHTER, S. J. Platelet kinetics in patients with bone marrow hypoplasia: evidence for a fixed platelet requirement. **Blood**, New York, v. 66, n. 5, p. 1105–1109, 1985.

HARDY, R. E.; IKPEAZU, E. V. Bone marrow transplantation: a review. **Journal of the National Medical Association**, Washington, v. 81, n. 5, p. 518–523, 1989.

HOD, E.; SCHWARTZ, J. Platelet transfusion refractoriness. **British Journal of Haematology**, Oxford, v. 142, n. 3, p. 348–360, 2008.

INAMOTO, Y.; LEE, S. J. Late effects of blood and marrow transplantation. **Haematologica**, Pavia, v. 102, n. 4, p. 614–625, 2017.

JILLELLA, A. P.; USTUN, C. What is the optimum number of CD34+ peripheral blood stem cells for an autologous transplant? **Stem Cells and Development**, Larchmont, v. 13, n. 6, p. 598–606, 2004.

KEMPTON, C. L. et al. Platelet heterogeneity: variation in coagulation complexes on platelet subpopulations. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, Baltimore, v. 25, n. 4, p. 861–866, 2005.

KOCA, T. T. Does obesity cause chronic inflammation? The association between complete blood parameters with body mass index and fasting glucose. **Pakistan Journal of Medical Sciences**, Karachi, v. 33, n. 1, p. 65–69, 2017.

KOLB-BACHOFEN, V. A review on the biological properties of C-reactive protein. **Immunobiology**, Stuttgart, v. 183, n. 1–2, p. 133–145, 1991.

LEITNER, G. C. et al. Influence of human platelet antigen match on the success of stem cell transplantation after myeloablative conditioning. **Bone Marrow Transplantation**, London, v. 32, n. 8, p. 821–824, 2003.

LENNARD, A. L.; JACKSON, G. H. Stem cell transplantation. **Western Journal of Medicine**, San Francisco, v. 175, n. 1, p. 42–46, 2001.

MAIOLINO, A. et al. Engraftment syndrome following autologous hematopoietic stem cell transplantation: definition of diagnostic criteria. **Bone Marrow Transplantation**, London, v. 31, n. 5, p. 393–397, 2003.

MARADEI, S. C. et al. Serum ferritin as risk factor for sinusoidal obstruction syndrome of the liver in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. **Blood**, New York, v. 114, n. 6, p. 1270–1275, 2009.

MERTENS, I.; VAN GAAL, L. F. Obesity, haemostasis and the fibrinolytic system. **Obesity Reviews**, Oxford, v. 3, n. 2, p. 85–101, maio 2002.

MOHTY, M. et al. Sinusoidal obstruction syndrome/veno-occlusive disease: current situation and perspectives—a position statement from the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). **Bone Marrow Transplantation**, London, v. 50, n. 6, p. 781–789, 2015.

NACHMAN, R. L.; RAFII, S. Platelets, petechiae, and preservation of the vascular wall. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 359, n. 12, p. 1261–1270, 2008.

NIKITENKO, L.; BOSHOFF, C. Endothelial cells and cancer. **Handbook of Experimental Pharmacology**, Berlin, n. 176 Pt 2, p. 307–334, 2006.

NOROL, F. et al. Platelet transfusion: a dose-response study. **Blood**, New York, v. 92, n. 4, p. 1448–1453, 1998.

PADRÓ, T. et al. Comparative analysis of plasminogen activator inhibitor-1 expression in different types of atherosclerotic lesions in coronary arteries from human heart explants. **Cardiovascular Research**, London, v. 36, n. 1, p. 28–36, 1997.

PALOMO, M. et al. Endothelial dysfunction after hematopoietic stem cell transplantation: role of the conditioning regimen and the type of transplantation. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, Charlottesville, v. 16, n. 7, p. 985–993, 2010.

PERZ, J. B. et al. LACE-conditioned autologous stem cell transplantation for relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma: treatment outcome and risk factor analysis in 67 patients from a single centre. **Bone Marrow Transplantation**, London, v. 39, n. 1, p. 41–47, 2007.

PIERONI, F. et al. Transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH) em doenças falciformes. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 29, n. 3, p. 327–330, 2007.

PULLARKAT, V. Iron Overload in Patients Undergoing Hematopoietic Stem Cell Transplantation. **Advances in Hematology**, New York, v. 2010, p. 1–12, 2010. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/ah/2010/345756/>>. Acesso em: 24 mar. 2018.

ROMANO, M. Inflammation resolution: does the bone marrow have a say? *American Journal of Hematology*, New York, v. 83, n. 6, p. 435–436, 2008.

SAMOCHA-BONET, D. et al. Platelet Counts and Platelet Activation Markers in Obese Subjects. **Mediators of Inflammation**, Sylvania, v. 2008, p. 1–6, 2008. Disponível em: <<http://www.hindawi.com/journals/mi/2008/834153/>>. Acesso em: 19 maio 2018.

SCHAIBLE, U. E.; KAUFMANN, S. H. E. Iron and microbial infection. **Nature Reviews. Microbiology**, London, v. 2, n. 12, p. 946–953, 2004.

SCHIFFER, C. A. Management of patients refractory to platelet transfusion. **Leukemia**, London, v. 15, n. 4, p. 683–685, 2001.

SCHIFFER, C. A. et al. Platelet Transfusion for Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update. **Journal of Clinical Oncology**, Alexandria, v. 36, n. 3, p. 283–299, 2018.

SCHMID, I. et al. Incidence, predisposing factors, and outcome of engraftment syndrome in pediatric allogeneic stem cell transplant recipients. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, Charlottesville, v. 14, n. 4, p. 438–444, 2008.

SENSEBÉ, L. et al. The efficiency of transfusing high doses of platelets in hematologic patients with thrombocytopenia: results of a prospective, randomized, open, blinded end point (PROBE) study. **Blood**, New York, v. 105, n. 2, p. 862–864, 2005.

SLICHTER, S. J. et al. Factors affecting posttransfusion platelet increments, platelet refractoriness, and platelet transfusion intervals in thrombocytopenic patients. **Blood**, New York, v. 105, n. 10, p. 4106–4114, 2005.

SPITZER, T. R. Engraftment syndrome following hematopoietic stem cell transplantation. **Bone Marrow Transplantation**, London, v. 27, n. 9, p. 893–898, 2001.

TAY, J. et al. Rationale and design of platelet transfusions in haematopoietic stem cell transplantation: the PATH pilot study. **BMJ Open, London**, v. 6, n. 10, p. e013483, 2016.

TORTI, F. M.; TORTI, S. V. Regulation of ferritin genes and protein. **Blood**, New York, v. 99, n. 10, p. 3505–3516, 2002.

TOYONAGA, B.; MAK, T. W. Genes of the T-Cell Antigen Receptor in Normal and Malignant T Cells. **Annual Review of Immunology**, Palo Alto, v. 5, n. 1, p. 585–620, 1987.

VION, A.-C. et al. Interplay of Inflammation and Endothelial Dysfunction in Bone Marrow Transplantation: Focus on Hepatic Veno-Occlusive Disease. **Seminars in Thrombosis and Hemostasis**, New York, v. 41, n. 6, p. 629–643, 2015.

VOLIN, L. et al. Diagnosis of veno-occlusive disease/sinusoidal obstruction syndrome of the liver: problems of interpretation. **Bone Marrow Transplantation**, London, v. 51, n. 12, p. 1633–1635, 2016.

VOLTARELLI, J. C. Febre e inflamação. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 27, n. 1/2, p. 7–48, 1994.

WOYWODT, A. et al. Counting the cost: markers of endothelial damage in hematopoietic stem cell transplantation. **Bone Marrow Transplantation**, London, v. 34, n. 12, p. 1015–1023, 2004.

YOUNG, B.; GLEESON, M.; CRIPPS, A. W. C-reactive protein: a critical review. **Pathology**, Surry Hills, v. 23, n. 2, p. 118–124, 1991.

ZHANG, J. et al. Biomarkers of endothelial cell activation serve as potential surrogate markers for drug-induced vascular injury. **Toxicologic Pathology**, Thousand Oaks, v. 38, n. 6, p. 856–871, 2010.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Ficha Cadastral dos Participantes

CADASTRO

IDENTIFICAÇÃO	
Nome: _____	Prontuário: _____
Sexo: <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> M	Idade: _____
Escolaridade: _____	Profissão: _____
Endereço: _____	Nº: _____
Bairro: _____	Cidade: _____
Telefone: _____	Acompanhante: _____
Data: ____/____/____	
Altura: _____	Peso: _____

HISTÓRICO	
Etilista: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	Frequência: _____
Tabagista: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	Frequência: _____
Alergias: <input type="checkbox"/> Sim _____	<input type="checkbox"/> Não Qual(is): _____
Outras patologias: _____	
Medicações em uso: _____	

<u>HISTÓRICO DO TRATAMENTO</u>	
Diagnóstico: _____	Data do Diagnóstico: ____/____/____
Histórico de Tratamento: _____	

Radioterapia: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	Quantas sessões realizadas:
Quimioterapia: _____	ciclos realizados
Protocolo Quimioterápico utilizado: _____	
Data Mobilização: _____	Data da Coleta: ____/____/____

APÊNDICE B – Instrumento para Coleta de Dados

INSTRUMENTO DE COLETA DOS DADOS

CARACTERIZAÇÃO DO PACIENTE:

Nome: _____ _____		Idade: _____	Prontuário: _____	Sexo: F <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/>
Nº Cel. Infundidas: _____		Peso: _____		ABO Rh: _____
Diagnóstico Médico: 1. Linfoma de Hodgkin 2. Linfoma Não Hodgkin 3. Leucemias 4. Aplasia de Medula Ossea 5. Mieloma Múltiplo		Tratamento de primeira linha: <input type="checkbox"/> ABVD <input type="checkbox"/> CHOP <input type="checkbox"/> R-CHOP <input type="checkbox"/> Outros: _____		P.S.: <input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 Esc. Karnofsky: _____
Classificação Não-Hodgkin: 1. Linfoma Folicular 2. Difuso de grandes células B 3. Linfoma T periférico não especificado 4. Células T 5. Linfoma do Manto 6. Outros: _____		Tratamento de resgate: <input type="checkbox"/> ICE <input type="checkbox"/> Gencitabina <input type="checkbox"/> DHAP <input type="checkbox"/> Outros		Comorbidades: 1. HAS 2. Diabetes Mellitus 3. Insuf. Renal 4. Hipotireoidismo 5. Dislipdemia 6. Obesidade(IMC> 30) 7. Outros: _____
Classificação Hodgkin: <input type="checkbox"/> Esclerose Nodular Clássico <input type="checkbox"/> Celularidade mista <input type="checkbox"/> Outros			Estadio: <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 Bulky: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Situação do paciente : <input type="checkbox"/> RC <input type="checkbox"/> RP <input type="checkbox"/> Doença em progressão <input type="checkbox"/> Refratário			Radioterapia: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Local: _____	
IPI (Não Hodgkin): _____		IPI (Hodgkin): _____		FLIP: _____
Classificação Leucemias Agudas: 1. Mieloide 2. Linfoide B 3. Linfoide T		LMA: 1. Leucemia Mieloide Aguda com Anormalidades Genéticas: Qual: ____ 2. Leucemia Mieloide Aguda com alterações relacionadas à Mielodisplasia 3. Leucemia Mieloide Aguda relacionada a Quimioterapia ou Radioterapia Prévia 4. Leucemia Mieloide Aguda não Especificadas 5. Outras: _____		
Tratamento LMA: 1. Daunorrubicina: _____ 2. Idarrubicina: _____ Consolidação/Ciclos: _____		Fatores Prognósticos LMA: 1. Anormalidades Cromossômicas: _____ 2. Mutações Genéticas: _____ 3. Status de Leucemia após o Tratamento: RC <input type="checkbox"/> DRM+ <input type="checkbox"/> Doença ativa <input type="checkbox"/>		
Mieloma Múltiplo: 1. IgG <input type="checkbox"/> 2. IgA <input type="checkbox"/> 3. Plasmacitoma <input type="checkbox"/> 4- Outros: _____		Estadiamento: ISS: Estágio I <input type="checkbox"/> Estágio II <input type="checkbox"/> Estágio III <input type="checkbox"/>		DHL: _____ FISH: _____ Citogenética: _____
1. Kappa k <input type="checkbox"/> 2. Lambda l <input type="checkbox"/>				

Tratamento: 1. Thal-Dex <input type="checkbox"/> 2. Bort-Thal-Dex :VTD <input type="checkbox"/> 3. Ciclof-Bort-Dex: CyBord – CVD <input type="checkbox"/> 4. Ciclof-Thal-Dex: CTD <input type="checkbox"/> 5. Outro _____	Critérios de resposta (IMWG 2006): 1. RCs: resposta completa estrita <input type="checkbox"/> 2. RC: resposta completa <input type="checkbox"/> 3. RPMB: resposta parcial muito boa <input type="checkbox"/> 4. RP: resposta parcial <input type="checkbox"/> 5. DE: doença estável <input type="checkbox"/> 6. RM: resposta mínima <input type="checkbox"/> 7. PD: progressão de doença <input type="checkbox"/>
---	---

HISTÓRIA SOCIAL:

Fumante: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	Bebida alcoólica: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	Drogas: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
---	--	--

MOBILIZAÇÃO:

Protocolo de mobilização utilizado: _____	Número de dias de G-CSF: _____	Número de aféreses: _____
		Número de células coletadas: _____

INTERNAÇÃO:

Data da Internação: _____	Data Início da Neutropenia: _____ D: _____
Data Início de G-CSF: _____	Fim neutropenia: _____ D: _____
Febre: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	Presença de infecção: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não
Dias de Febre: _____	Resultado da cultura: _____
Classificação da Febre: <input type="checkbox"/> Origem indeterminada <input type="checkbox"/> Microbiologicamente documentada <input type="checkbox"/> Clinicamente documentada <input type="checkbox"/> Sepsis	
Resistência microbiana: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Qual? _____	Terapêutica antimicrobiana: 1. Cefepime 4. Anfotericina 7. Mero 2. Vancomicina 5. Fluconazol 8. Tazo a 6. Aciclovir 9. Outros _____ 3. Metronidazo l
Documentação da Infecção: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Local: _____	
Escore de SOFA: Momento: 0: _____ I: _____ II: _____ III: _____ IV: _____	
Hemograma: Momento 0: _____ HB: _____ Lg: _____ n: _____ Plq: _____ I: _____ HB: _____ Lg: _____ n: _____ Plq: _____ II: _____ HB: _____ Lg: _____ n: _____ Plq: _____ III: _____ HB: _____ Lg: _____ n: _____ Plq: _____ IV: _____ HB: _____ Lg: _____ n: _____ Plq: _____	
TX de PLQ: Dias: _____ Tipagem ABO Rh das PLQ: _____	

Dados Clínicos Relevantes:		
1. Diarreia	4. Lesão Orifical	7. SVD
2. Vômitos	5. Odinofagia	8. SNG
3. Dor Abdominal	6. Cateter	9. Outras: _____
Peso inicial: _____		Peso Final: _____

USO DE HEMOCOMPONENTES

Concentrado de Hemácias	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5 ou mais
Número de transfusões de plaquetas	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5 ou mais
Recebeu hemoconcentrado sem irradiar	<input type="checkbox"/> Sim	Recebeu hemoconcentrado sem filtrar			
<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não		
Dia de pega plaquetária: _____					

TOXICIDADES

Mucosite	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	Dor	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4
Toxicidade pulmonar	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	Toxicidade Renal	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4
Toxicidade Hematológica	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	Gastrointestinal	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4
Toxicidade Neurológica	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	Alérgica	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4
Medula Óssea	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	Eletrólitos	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4
Cutânea	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	Cabelos	<input type="checkbox"/> 0	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4

ALTA HOSPITALAR E OCORRÊNCIA DE ÓBITO

Alta hospitalar	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Dia da alta: _____	Dias de internação: _____
Óbito durante o tratamento	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Data do óbito: _____	
Causa do óbito: _____				

Relacionado ao tratamento: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não				

APÊNDICE C – Artigo: *Evaluation of platelets transfusion in patients undergoing high dose chemotherapy for bone marrow transplantation*, submetido à revista brasileira de hematologia e hemoterapia

Evaluation of platelets transfusion in patients undergoing high dose chemotherapy for bone marrow transplantation

Victor Quinet de Andrade Bastos^a, Luiz Cláudio Ribeiro^a, Abrahao Elias Hallack Neto^a

^a Universidade Federal, de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil.

Correspondence:

Victor Quinet de Andrade Bastos

Rua Doutor Joao Penido Filho, 339 apt 04, Bom Pastor - Juiz de Fora - Minas Gerais, 36021.600,

Brazil

E-mail: vquinet@gmail.com

Abstract:

Introduction: Microvascular endothelial damage is a well-recognized complication of bone marrow transplantation (BMT), the mechanisms of this disorder are still poorly understood. The objective of this scenario is to evaluate the relationship between inflammatory markers and other factors that influence platelet consumption and platelet transfusion yield, as well as the presence of embolic and / or vascular thrombotic events in patients submitted to high-dose chemotherapy conditioning for Bone marrow transplant.

Method: Prospective analysis of patients, including 25 patients who underwent autologous and allogenic BMT. The patients were evaluated in relation to previous radiotherapy, CD34 + cell count, period of neutropenia, body mass index (BMI), ferritin, reactive C protein (RCP), relating these factors to the number of platelet transfusions, platelet refractoriness and vascular events such as sinusoidal obstruction syndrome (SOS) and bone marrow grafting syndrome.

Results: Only BMI > 25 Kg / m² of the studied variables presented a statistically significant value (p = 0.003) in relation to the lower need for transfusion of platelet concentrate. For platelet refractoriness and / or vascular events none of the variables was statistically significant. The conditions found in the 3 cases of platelet refractoriness and in the 2 cases of vascular events have characteristics like those described in the literature.

Conclusion: Although the cause is unclear, we agree with data reported in the literature that patients with high BMI have a lower need for transfusion of platelets. Small sampling limits our comparisons and significant statistical inference; however, we cannot rule out the relevance of a descriptive analysis of the results, especially if we consider that each patient should be evaluated in an individualized way in clinical practice

Key words: BMT, endothelial lesion, platelet refractoriness, platelets transfusion

Introduction

Recent studies have shown that endothelial cells are much more than just vessel lining, these cells can control vascular smooth muscle tone by nitric oxide (NO), conserve different concentrations of procoagulants depending on the functional requirements and play an immunological role through interaction with circulating leukocytes.¹

When the endothelium is physiologically activated, it loses its barrier function allowing the passage of solutes and certain elements through the endothelial line. Depending on the extent of the damage, endothelial dysfunction may be local or systemic. When endothelial function is disturbed, for instance, in cases of inflammatory conditions the endothelial surface rapidly converts from a non-thrombotic state to a procoagulant state, this change is due to deregulation of anticoagulant factors as well as activation of prothrombotic mediators.^{2,3}

Some authors have demonstrated the interaction of several mechanisms in the association among obesity, metabolic syndrome, endothelial injury and platelet activation. Adipose tissue secretes proinflammatory cytokines such as: Interleukin-6 (IL-6) and Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF-a), affecting both endothelial function and glucose metabolism.^{4,5,6}

During hematopoietic stem cells transplant, endothelial cells can be activated and damaged by chemotherapy contained in the conditioning regimen, cytokines produced by injured cells, bacterial endotoxins translocated through the injured gastrointestinal tract, and by the complex process of graft versus host reaction.⁷

Microvascular endothelial dysfunction is a process recognized as a complication of bone marrow transplantation (BMT), the mechanisms related to this disorder are still poorly understood. Diagnosis of vascular complications in patients undergoing BMT is challenging, since there are so few markers of endothelial lesion available in clinical practice.⁷

Transplant associated endothelial disorder is correlated to a group of complications such as, thrombotic microangiopathy, sinusoidal obstruction syndrome (SOS) and graft-versus-host disease (GVHD).⁷

Thrombocytopenia is frequently seen in the BMT scenario and it often requires platelets transfusions. The role of clinical knowledge related to variants linked to platelet recovery is important and assessment of risk factors associated with prolonged recovery include; use of radiation and its toxic effects on the bone marrow, a high mononuclear cell count in the receptor, fever and the presence of SOS. The variables related to the shortest time of thrombocytopenia are CD34 + counts and the early recovery of neutrophil counts.^{7,8}

In this context, the objectives of this article are to evaluate the relationship between inflammatory markers and other circumstances that influence platelet consumption and platelet transfusion increments, as well as the presence of thromboembolic and/ or vascular events in patients submitted to high-dose chemotherapy-based regimes as conditioning for BMT.

Method

A prospective analysis of patients was performed between March 2016 and October 2017 at the Bone Marrow Transplantation Service of the University Hospital of the Federal University of Juiz de Fora (HU-UFJF), where both autologous and allogeneic bone marrow transplantation were studied, being excluded those who did not present the necessary data to reach the evaluation of the objectives proposed or who did not sign the free and informed consent. This study was approved by the Human Research Ethics Committee of the HU-UFJF (CEP HU-UFJF), with its opinion no. 1,466,443 and CAAE: 52091415.0.0000.5133.

Patients

Were included patients who would be submitted to autologous and allogenic BMT of both sexes and any age, patients with Bone Marrow Aplasia were excluded from the sample due to their characteristics being quite heterogeneous in relation to the rest of the studied patients, especially when observed the dependence of transfusion support in the pre BMT period. Patients were evaluated in relation to previous radiotherapy, CD34+ cell count, period of neutropenia, body mass index (BMI), ferritin, C-reactive protein (CRP), relating these factors to the number of platelet transfusions, platelet refractoriness and events such as SOS and Engraftment Syndrome following hematopoietic stem cell transplantation (HSCT).

Sample collection

To evaluate the inflammatory situation prior to infusion of high dose chemotherapy we collected: the CRP and ferritin at hospitalization, as well as considered the weight at the beginning of conditioning regimen to calculate the BMI. 5 ml of whole blood were collected from each participant in an anticoagulated tube with ethylenediamine tetra acetic acid (EDTA) during the service collection routine.

Quantification of CD34 + cells was performed on a double platform, cytometry was performed on the Fluorescence Activated Cell Analyzer, FACSCalibur, Becton Dickinson (BD) flow cytometer and cytometry analysis was performed on the Cell Quest analysis software according to the ISHAGE protocol (International Society of Hemotherapy and Graft Engineering).

Platelet increment

For the calculation of platelet refractoriness, the CCI formula (correct count increment) was used, and those patients who presented post-transfusion 24-hour platelet yield (ICC-24 - collected between 18 and 24 hours post-transfusion) were considered, refractory less than 4500 platelets per ml in at least two transfusions, preferably consecutive, with compatible ABO platelets.⁹

$$CCI = IP \times SC \times 10^{11} / n$$

At where:

IP = increase in platelet count ($\times 10^9/L$) (post-transfusion count - pre-transfusion count)

SC = body surface (m^2)

n = number of transfused platelets ($\times 10^{11}/L$)

Serum ferritin was considered elevated when greater than 300 ng / mL, BMI altered when greater than 25 kg/m^2 , CRP when greater than 2 mg/mL. For the diagnosis of SOS we used the modified Seattle Criteria: Presence before day 20 after BMT of two or more of the following: Bilirubin ≥ 2 mg /dl, Hepatomegaly, right upper quadrant pain, Ascites or unexplained weight gain of $>2\%$ baseline and the Engraftment Syndrome based on the Maiolino criteria, characterized by cutaneous rash, aseptic fever and pulmonary infiltrates or diarrhea 24 hours before or at the moment of grafting.²²

Patients received irradiated platelets when the counts were less than 10,000 to 20,000 mm^3 platelets. One unit of platelet concentrate per 10 kg of patient weight was transfused per transfusion episode when random platelets were used, and single platelets donor apheresis collections were considered equivalent to 6 units of random platelets.

Data analysis

After the assessment of platelets transfusion need in conjunction with the presence of thromboembolic events and platelet refractoriness, it was compared based on the values found in the relation with factors that could be related to a greater transfusion dependence and consequent increased life risk to the patients submitted to Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT). The factors analyzed were radiotherapy, type of transplant (Autologous / Allogenic), preconditioning CD34 + cells, febrile neutropenia, days of neutropenia, BMI, use of two or more antibiotics, ferritin and RCP. The medians of platelets transfusions per transfusional episodes are considered as the most correct method to obtain an

estimate of the consumption of Platelet Concentrate (PC), since a normal distribution between the groups was not found.

The analyzes were performed in the Statistical Package program for Social Science (SPSS) version 17.0. For the statistically significant values, the value of $p < 0.05$ was considered for the rejection of the null hypothesis

Results

A total of 25 individuals with a median age of 38.8 years (14 to 61 years), 13 (52%) males and 12 (48%) females, 3 patients were excluded because they presented a diagnosis of bone marrow aplasia.

The characteristics of the evaluated patients are shown in Table 1. Of the evaluated variables, only BMI presented a statistically significant relationship ($p = 0.003$) with the number of transfused platelets concentrates, as an altered BMI ($>25 \text{ Kg/m}^2$) an indicative of lower platelets transfusions. For platelet refractoriness and /or vascular events none of the variables was statistically significant.

Table 1 - Demographic, clinical and laboratory characteristics

			%
<i>Sex</i>	Male	13	52
	Female	12	48
<i>Diagnostics</i>	MM	10	40
	HL	9	36
	NHL	4	16
	AML	1	4
	CML	1	4
<i>Radiotherapy</i>	Yes	7	28
	No	18	72
<i>Type of transplant</i>	Autologous	19	76
	Allogenic	6	24
<i>Weight (kg)</i>	Average	76,2 Kg	
<i>High BMI</i>	Yes	16	64
	No	9	36
<i>Vascular Events</i>	Yes	2	8
	No	23	92
<i>High Ferritin</i>	Yes	9	36
	No	16	64
<i>High RCP</i>	Yes	19	76
	No	6	24
<i>Platelet transfusion</i>	Yes	19	76
	No	6	24
<i>Unsatisfactory 24h ICC</i>	Yes	3	12
	No	22	88

MM - Multiple Myeloma; LH - Hodgkin's Lymphoma; LNH - Non-Hodgkin's lymphoma; AML - Acute Myeloid Leukemia; LMC - Chronic Myeloid Leukemia; BMI - Body Mass Index; RCP - Reactive C Protein; CCI - Corrected Increment Count
Source: Prepared by the Author

Although there is a lower transfusion of platelets in patients with high BMI (Table 2), the median of platelet concentrates per transfusion episodes of patients with normal BMI and those with high BMI was not statistically significant ($p = 0.137$). (Graph 1)

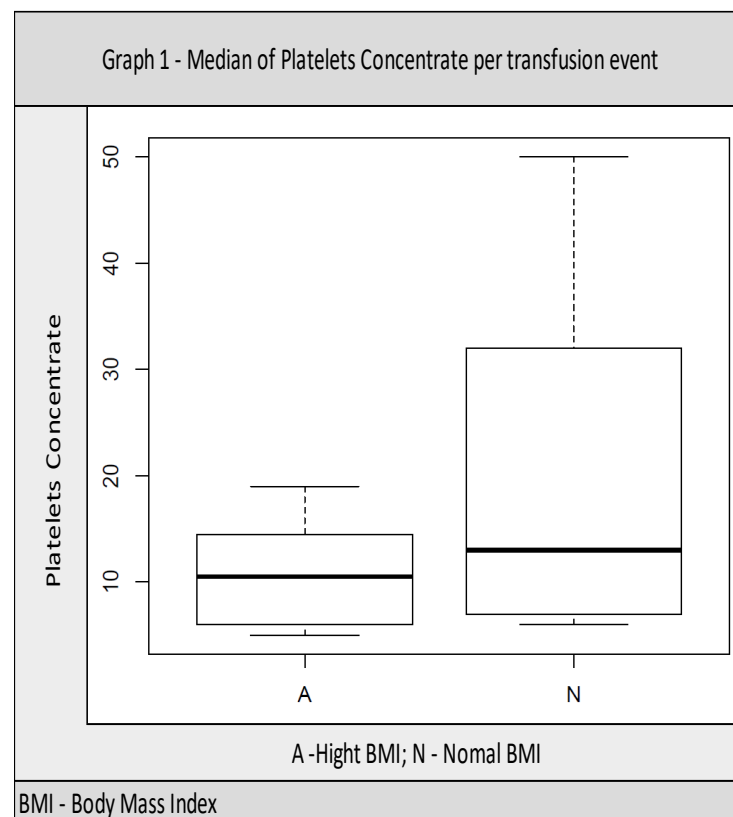
Table 2 - Lower rates of platelets transfusion in patients with increased BMI.

Characteristics	BMI (Kg/m ²)				
	< 18,4	18,5 a 24,9	25 a 29,999	30 a 34,9	35 a 39,9
Age	38	35,8 ± 9,9	37,7 ± 10,1	38 ± 10,9	51,33 ± 15,1
Weight (kg)	46	71,3 ± 5,6	73,28 ± 12,1	90,3 ± 17,9	88,5 ± 8,4
Duration of Neutropenia	13	10,71 ± 2,1	8,9 ± 1,8	9,25 ± 0,9	7,33 ± 0,6
Days with Fever	1	5 ± 3,2	1,4 ± 1,5	4,5 ± 2,5	2,66 ± 2,1
Ferritin (ng/mL)	139	639 ± 743	301 ± 306,7	619 ± 925,3	333 ± 83,8
RCP (mg/l)	32	11,9 ± 9,8	15,14 ± 23,6	29 ± 40,3	7,5 ± 4,8
Patients with vascular events (%)	0	4	4	0	0
Patients with more than 2 events of Platelet Transfusion (%)	4	24	12	8	0
Patients with unsatisfactory CCI 24h (%)	0	8	4	0	0

Data given in Median ± Standard Deviation

BMI - Body Mass Index RCP - Reactive C Protein; CCI - Correct Count Increment

Source: Prepared by the Author



Patients with platelet refractoriness are described in table 3. Vascular complications were present in 2 patients, one with SOS and another with Engraftment Syndrome, described

in Table 4, where attention is drawn to the ferritin level of patient 1 and the number of CD34 + cells infused to the patient 2.

Table 3 - Patients with platelet refractoriness

Characteristics	Patient 1	Patient 2	Patient 3
Age	50	33	61
Sex	Female	Male	Male
Diagnosis	LNH	LH	MM
Transplant	Allogenic	Allogenic	Autologous
BMI (Kg/m ²)	22,3	21,6	29,1
Fever	Yes	Yes	No
Ferritin (ng/ml)	2000	1341	79
RCP (mg/l)	4	1	16
SOS	Yes	0	0
Splenomegaly	No	Yes	No
Transfusion reaction	No	No	No
Bleeding	No	No	No

LH - Hodgkin's Lymphoma; LNH - Non-Hodgkin's Lymphoma; MM - Multiple Myeloma; BMI - Body Mass Index; RCP - C Reactive Protein; SOS - Sinusoidal Obstruction Syndrome

Source: Prepared by the Author

Table 4 - Patients with vascular events.

Characteristics	Vascular Event	
	Patient1 SOS	Patient 2 Engraftment Syndrome
Age	50	25
Sex	Female	Female
Diagnosis	LNH	LNH
Previous radiotherapy	Yes	No
Transplant	Allogenic	Autologous
Conditioning	MEL + FLU	LEAM
CD 34+ cells	3,57	7,52
Days of neutropenia	13	9
BMI (kg / m ²)	22,3	30,8
Days of fever	5	4
Ferritin(ng/mL)	2000	34
RCP (mg/l)	4	8
Platelets Transfusion Events	7	3
Unsatisfactory ICC 24 h	Yes	No

SOS - Sinusoidal Obstruction Syndrome; LNH - Non-Hodgkin's lymphoma; MEL - Melphalan; FLU - Fludarabine; LEAM - Lomostine, Etoposide, Cytarabine, Melphalan; BMI - Body Mass Index; RCP - Reactive C Protein; CCI - Corrected Increment Count.

Source: Prepared by the Author

Discussion

Although the data postulate the lack of detection or inexistence of a significant relationship between inflammatory markers, platelet transfusion increment, as well as the

presence of thromboembolic and /or vascular events, we agree with preexisting data reported in the literature, where patients with high BMI have lower need of platelets transfusion.^{10,11}

Although the cause is unclear, it can be inferred an association with the pro-inflammatory state, which is caused largely by IL-6 present in the circulation produced by adipose tissue. IL-6 acts strongly on the proliferation of megakaryocyte progenitors and synergistically with thrombopoietin in the stimulation of megakaryopoiesis.^{10,13} It is also observed a procoagulant state in obese and metabolic syndrome, which are characterized by high Tissue Factor levels, von Willebrand Factor, Factor VIII, Fibrinogen and platelet aggregation secondary to dyslipidemia and endothelial dysfunction present in subjects with high body weight.^{5,12,13}

Patients undergoing BMT require serial platelet transfusions secondary to an intense and persistent thrombocytopenia, this situation is even more serious when the patient develops refractoriness to platelets transfusion. The frequency of patients with platelet refractoriness observed in the study (12%) was approximately half of what is reported in the literature, ranging from 24% to 34%.^{14,15,16}

The patient's characteristics at the refractory group demonstrates that exposure to a higher frequency of transfusion can lead to a platelet transfusion refractoriness, as in patient 3, who had a metallic heart valve and required full anticoagulation during the period of thrombocytopenia for this reason he was maintained with serial platelet transfusions in order to keep a platelet count around 50,000 mm³.

Other factors related to a worse post-transfusion platelet increment and platelet refractory, present in the study, which coincide with the literature were SOS, fever and the presence of splenomegaly. The increased spleen is documented as a factor of platelet refractoriness and lower interval between platelets transfusions.^{15,16}

The incidence of SOS varies from 0 to 50%, due to the close dependence on the conditioning regimen, as well as patient risk factors. In SOS, there is evidence that both thrombocytopenia and platelet refractoriness, probably related to disordered endothelial activation, are early markers of its presence. The low platelet increment of these patients may be related to endothelial lesion resulting from the chemotherapy program submitted to the patient, with an increase in platelet adhesion to the damage endothelium, resulting in a leakage of platelets from the circulation.^{17,18}

Other risk factors associated with SOS that are directly associated with the patient and their underlying pathology are; old age, current state of the disease, general condition and even the female sex have already been reported as factors of worse prognosis. The risk is also higher

in the state of alloreactivity found in allogeneic BMT compared to autologous BMT.¹⁸ The progression in the advent of new therapies and safer drugs allowed the insertion of groups with comorbidities that would once be ineligible for the procedure, creating a group of patients with high risk factors.

Recent studies have demonstrated the association between increased ferritin in the pre-transplantation period and several outcomes in HSCT recipients, including an increase in infectious conditions and in BMT-related mortality.²⁵ Iron overload is also associated with sinusoidal obstruction syndrome and ferritin levels greater than 1000 ng /dL in the pre-transplant period are an independent risk factor for this disease.^{18,19}

The results of our research do not corroborate the evidence related to high ferritin levels, as an independent risk at the pre-transplantation evaluation for vascular events, even though when we analyze the single SOS event, attention is drawn to the ferritin level of the patient in question, disproportionate to the sample. Although the single event is not significant in relation to the sample size, it presents a pattern like those described in the literature.^{18,19,20}

Engraftment Syndrome, the second vascular event diagnosed during the study period, presents a risk of pulmonary complications like transfusion-related lung injury. This syndrome often starts with fever and hypoxia at the time of leukocyte recovery and presents a possible and well-known correlation with the high number of infused CD34+ cells,^{20,21,22} studies have shown that for a successful grafting the number of CD34+ cells is an important factor, with a dose of $3.5-5 \times 10^6$ cells/kg/weight being the optimal value.^{22,23} The infusion of CD34+ $> \text{or} = 5 \times 10^6/\text{kg}$, although it is related to a lower need for hemotherapy support, it raises the risk for Engraftment Syndrome^{21,22,23}, according to the only patient who evolved with this condition and received $7.52 \times 10^6 / \text{kg}$.

Onco-hematological Patients classically presents clinical conditions and are submitted to therapies that interfere in the response to platelet transfusion. The conditions found among the patients with platelet refractoriness and in the 2 patients with vascular events, shares similar characteristics such as those described in the literature, reinforcing the importance of some of these factors as a cause of platelets refractoriness or vascular injury in patients submitted to BMT. Endothelial markers may help the early identification of patients at risk of developing vascular complications, such as SOS and Engraftment Syndrome, enabling the introduction of curative and prophylactic therapies.

The results of this prospective cohort show a limitation of a study sample size. However, the understanding of the impact related to platelets transfusion events, refractoriness and certain pathologies with vascular characteristics are important.

Conclusion

It is possible, that larger samples sizes will have demonstrated other factors that may interfere with the number of platelets transfusion events and the platelet transfusion increment in patient undergoing high doses chemotherapy protocols and BMT. A small sampling limits comparisons and significant statistical inference, however, we cannot rule out the relevance of a descriptive analysis of the results, especially considering that each patient should be evaluated in an individualized way in clinical practice.

References

1. Woywodt A, Haubitz M, Buchholz S, and Hertenstein B, "Counting the cost: markers of endothelial damage in hematopoietic stem cell transplantation," *Bone Marrow Transplantation*, vol. 34, no. 12, pp. 1015–1023, 2004
2. Padro T, Steins M, Li CX, Mesters RM, Hammel D, Scheld HH, Kienast, J. Comparative analysis of plasminogen activator inhibitor-1 expression in different types of atherosclerotic lesions in coronary arteries from human heart explants. *Cardiovasc Res.* 1997; 36:28–36.
3. Barac, A., Campia, U. And Panza, J. A. (2007) Methods for evaluating endothelial function in humans. *Hypertension* 49, 748–760.
4. Koca TT. Does obesity cause chronic inflammation? The association between complete blood parameters with body mass index and fasting glucose. *Pak J Med Sci.* 2017;33(1):65-69.
5. Avogaro A. Mechanisms of endothelial dysfunction in obesity. *Clínica Chimica Acta* 360 (2005) 9–26.
6. Wang M, et al. The Effects of Different BMI on Blood Loss and Transfusions in Chinese Patients Undergoing Coronary Artery Bypass Grafting. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2017; 23: 83–90
7. Palomo, Marta et al. Endothelial Dysfunction after Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Role of the Conditioning Regimen and the Type of Transplantation *Biology of Blood and Marrow Transplant*, Volume 16, Issue 7, 985 – 993.
8. Leitner et al. Influence of human platelet antigen match on the success of stem cell transplantation after myeloablative conditioning. *Bone Marrow Transplantation* 2003; 32: 821–824.
9. Pan J, et al. Factors Affecting Platelet Transfusion Response Following Haploidentical Stem Cell Transplant. *Blood* 2017; 130 (Suppl 1) 3729

10. Bernstein SH, et al. A multicenter study of platelet recovery and utilization in patients after myeloablative therapy and hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 1998; 91:3509–17.
11. Dalle JH, et al. Hepatic Venous-Occlusive Disease after Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Risk Factors and Stratification, Prophylaxis, and Treatment. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2016; 22: 400-409.
12. Samocha-Bonet D, et al. Platelet Counts and Platelet Activation Markers in Obese Subjects. *Mediators of Inflammation* Volume 2008, Article ID 834153.
13. Mertens, I. And Gaal, L. F. Obesity, haemostasis and the fibrinolytic system. *Obesity Reviews*, 2002; 3: 85-101.
14. Kostapanos MS, et al. Hemostatic factors and the metabolic syndrome. *Curr Vasc Pharmacol* 2013; 11: 880-905.
15. Baatout S. Interleukin-6 and megakaryocytopoiesis: an update. *Annals of Hematology*, 1996; vol. 73, no. 4:157–162.
16. Ferreira AA, et al. Identification of platelet refractoriness in oncohematologic patients. *Clinics*. 2011; 66(1):35-40.
17. Sherrill J, et al. Factors affecting posttransfusion platelet increments, platelet refractoriness, and platelet transfusion intervals in thrombocytopenic patients. *Blood*. 2005; 105:4106-4114.
18. Vion AC, et al. Interplay of Inflammation and Endothelial Dysfunction in Bone Marrow Transplantation: Focus on Hepatic Venous-Occlusive Disease. *Semin Thromb Hemost* 2015; 41:629–643.
19. Maradei SC, et al. Serum ferritin as risk factor for sinusoidal obstruction syndrome of the liver in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2009; 114 (6) 1270-1275.
20. Morado M, et al. BMT: Serum Ferritin as Risk Factor for Venous-occlusive Disease of the Liver. Prospective Cohort Study. *Hematology* 2000; 4(6):505-512.
21. Jillella AP, et al. What is the optimum number of CD34+ peripheral blood stem cells for an autologous transplant? *Stem Cells Dev*. 2004; 13(6):598-606.
22. Maiolino A, Engraftment syndrome following autologous hematopoietic stem cell transplantation: definition of diagnostic criteria, *Bone Marrow Transplant*. 2003; 31(5):393-7.

Ashihara E, et al. Infusion of a high number of CD34+ cells provide a rapid hematopoietic recovery and cost savings in autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Jpn J Clin Oncol.* 2002; 32(4):135-9.

23. Dalle JH, et al. Hepatic Veno-Occlusive Disease after Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Risk Factors and Stratification, Prophylaxis, and Treatment, *Biol Blood Marrow Transplant*, 2016;22: 400-409.
24. Yvonne A, et al. The Impact of Pre-Stem Cell Transplant Ferritin Level on Late Transplant Complications: An Analysis to Determine the Potential Role of Iron Overload on Late Transplant Outcomes. *The Internet journal of hematology* 7.1 2009: 9127.

ANEXOS

ANEXO A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP HU/UFJF
JUIZ DE FORA – MG – BRASIL

SERVIÇO DE HEMATOLOGIA E TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA HU/UFJF
PESQUISADOR RESPONSÁVEL: VICTOR QUINET DE ANDRADE BASTOS
ENDEREÇO: RUA DR. JOÃO PENIDO FILHO 362 BOM PASTOR
CEP: 36021-600 – JUIZ DE FORA – MG
FONE: (32) 9987-0101
E-MAIL: VQUINET@GMAIL.COM

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr. (a) está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa intitulada A ativação endotelial nos pacientes submetidos a quimioterapia em alta dose para transplante de medula óssea. Neste estudo pretendemos determinar a influência da: quimioterapia em alta dose na ativação de células endoteliais e estabelecer uma relação entre esse dano e a necessidade de transfusão de plaquetas assim como sua contribuição para a “pega” plaquetária e doenças secundárias ao transplante.

O motivo que nos leva a estudar este tema é: entender melhor o efeito da quimioterapia sobre o endotélio e assim poder prever suas possíveis consequências a fim de atuar preventivamente diminuindo o risco ao paciente e custos para o sistema de saúde.

Para este estudo realizaremos uma entrevista sobre seu tratamento anterior, medicamentos utilizados, alergias e doenças prévias. Realizaremos também um exame físico e o acompanharemos durante toda a internação. Não será necessária a realização de nenhum exame específico para este estudo além dos que você já realizará para seu tratamento.

Para participar deste estudo você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira e os riscos relacionados ao mesmo podem estar associados ao constrangimento em responder sobre os tratamentos prévios e ou condições clínicas adjacentes. Você será esclarecido (a) sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido (a) pelo pesquisador.

Como benefício deste trabalho tem a avaliação criteriosa dos pacientes contendo anamnese, exame físico e provas laboratoriais objetivando a qualidade de vida do paciente e a diminuição dos eventos adversos.

O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Você não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Apesar disso, você tem assegurado o direito ao ressarcimento ou indenização no caso de quaisquer danos eventualmente produzidos pela pesquisa.

Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 anos, e após esse tempo serão destruídos. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador.

O (A) Sr (a) não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra será fornecida a você.

Caso haja danos decorrentes dos riscos previstos, o pesquisador assumirá a responsabilidade pelos mesmos.

Eu, _____, portador do documento de Identidade _____ fui informado (a) dos objetivos do estudo “A ativação endotelial nos pacientes submetidos à quimioterapia de em alta dose para transplante de medula óssea”, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada à oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Juiz de Fora, _____ de _____ 2016.

_____	_____
Nome Assinatura participante	Data
_____	_____
Nome Assinatura pesquisador	Data
_____	_____
Nome Assinatura testemunha	Data

EM CASO DE DÚVIDAS COM RESPEITO AOS ASPECTOS ÉTICOS DESTA PESQUISA, VOCÊ PODERÁ CONSULTAR O
 CEP HU – COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA HU/UFJF
 HOSPITAL UNIVERSITÁRIO UNIDADE SANTA CATARINA
 PRÉDIO DA ADMINISTRAÇÃO SALA 27
 CEP 36036-110
 E-MAIL: CEP.HU@UFJF.EDU.BR

ANEXO B – Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFJF**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: A ativação endotelial em pacientes submetidos a quimioterapia de alta dose para transplante de medula óssea.

Pesquisador: victor quinet de andrade bastos

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 52091415.0.0000.5133

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA UFJF

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.466.443

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

JUIZ DE FORA, 28 de Março de 2016

Assinado por:
Gisele Aparecida Fófano
(Coordenador)

ANEXO C – Comprovação de submissão do artigo à Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia

Fwd: Submission Confirmation

Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia <abhh@abhh.org>

Dear Dr. BASTOS,

We have received your article "Evaluation of platelets transfusion in patients undergoing high dose chemotherapy for bone marrow transplantation." for consideration for publication in Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia.

Your manuscript will be given a reference number once an editor has been assigned.

To track the status of your paper, please do the following:

1. Go to this URL: <https://ees.elsevier.com/htct/>
2. Enter these login details.
Your username is: vquinet@gmail.com
If you can't remember your password please click the "Send Password" link on the Login page.
3. Click [Author Login]
This takes you to the Author Main Menu.
4. Click [Submissions Being Processed]

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Elsevier Editorial System
Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia