



Avaliação do impacto da contagem de neutrófilos, plaquetas e da relação neutrófilo:plaquetas no risco de desenvolvimento de DECHa em pacientes pós-TCTH alogênico

Palavras-Chave: transplante célula tronco hematopoiética, doença enxerto contra hospedeiro, neutrófilos; plaquetas; proteômica; biomarcadores

Autores(as):

MATEUS ROCHA SILVA – FCM

Prof(a). Dr(a). ERICH VINICIUS DE PAULA (orientador) – FCM

1. INTRODUÇÃO

1.1. Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas

O Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas (TCTH) é um procedimento cuja principal indicação é o tratamento de neoplasias malignas hematológicas ou linfóides. O enxerto transplantado pode ser a partir de uma fonte autóloga, ou seja, do próprio hospedeiro; singênica, uma fonte geneticamente idêntica; ou alogênica, no qual o transplante é realizado a partir de um doador geneticamente não idêntico. (1) Para que se realize o transplante, é necessário que o paciente passe antes por um regime de condicionamento, combinando-se quimioterapia e radioterapia, sendo que a intensidade desse procedimento pode ser fator de risco para uma das complicações pós-transplantes mais comuns, a Doença do Enxerto contra o Hospedeiro (DECH). (2)

1.2. Doença do Enxerto Contra Hospedeiro

1.2.1. Definições e relevância clínica e epidemiológico

DECH é uma das complicações mais reconhecidas e uma das principais causas de mortalidade pós TCTH. (3) Para que ocorra, é necessário que o enxerto transplantado possua células imunologicamente competentes (como os linfócitos T) e o hospedeiro deve estar imunocomprometido a ponto de ser incapaz de rejeitar ou eliminar o tecido transplantado, além de expressar antígenos estranhos às células do doador. Conseqüentemente, há uma reação das células transplantadas presentes no enxerto contra o tecido do hospedeiro. Clinicamente pode-se dividir a DECH em crônica ou aguda (DECHa), a depender das manifestações clínicas e órgãos acometidos. (4) Nesse projeto, o enfoque será feito sobre DECHa.

1.2.2. Fisiopatologia da DECH aguda

Pode-se dividir a fisiopatologia da DECHa em três fases distintas.

Na primeira delas, o dano tecidual causado pelo regime de condicionamento, pela própria neoplasia, ou outras causas quaisquer ativa as células apresentadoras de antígenos (APC) do hospedeiro, uma vez que há a liberação de fatores inflamatórios como TNF e IL-1. O dano tecidual no trato gastrointestinal pode ainda expor as APCs a produtos microbianos, como LPS, e intensificar ainda mais a ação imune no local. Na segunda fase, as APC ativadas apresentam os complexos antigênicos para as células T do doador provenientes do enxerto. Essas reações se devem principalmente pela diferença de compatibilidade dos antígenos leucocitários humanos (HLA) entre doador e receptor, sendo que quanto maior a incompatibilidade, mais intensa será a resposta imune. Na última fase, fatores celulares e inflamatórios atuam em conjunto na destruição tecidual. Há uma sinergia entre resposta imune inata e adaptativa para intensificar a inflamação induzida pela célula T, com ação de linfócitos T citotóxicos, células NK, monócitos e macrófagos etc. (4)

1.2.3. Fatores e biomarcadores da gravidade da DECH aguda

Como a DECHa é uma das principais causas de mortalidade pós-TCTH, é importante que sejam identificados biomarcadores confiáveis para tornar possível o manejo e cuidado de forma mais detalhada desses pacientes. Os sintomas clínicos apresentados por indivíduos que desenvolvem a reação do enxerto contra o hospedeiro geralmente são sintomas genéricos (por exemplo náuseas, diarreias, rashes cutâneos) e por isso são pouco discriminatórios.

Alguns marcadores importantes já estão sendo estudados, como a alteração do fator de ativação de células B (BAFF) e da IL-13 em pacientes pré-TCTH. (4) Outros biomarcadores possuem potencial promissor na identificação de DECHa, com grande parte deles fazendo parte da cascata de citocinas envolvidas na ativação das células efectoras na fisiopatologia da doença, incluindo o TNF e a IL-1 (5). Chama atenção que grande parte destes biomarcadores exigem o emprego de técnicas específicas imunológicas em plasma, soro ou tecidos para sua realização, o que torna sua aplicação um pouco mais complexa.

1.3. Imunotrombose

A hemostasia é um processo fisiológico cuja finalidade clássica é manter a fluidez do sangue nos vasos e prevenir e controlar sangramentos após lesões no endotélio. Para isso contribuem dois processos distintos, porém complementares: a coagulação, mediada por fatores e células circulantes, e as plaquetas. Células circulantes (leucócitos e hemácias, além das plaquetas) participam ativamente da hemostasia, assim como as células endoteliais. Um conceito relativamente novo é o da imunotrombose, que explica a ativação conjunta da hemostasia e da imunidade inata em processos inflamatórios, infecciosos ou estéreis. Esta ativação é em geral mediada pela ligação de moléculas presentes em patógenos, ou de moléculas liberadas durante a lesão tecidual (conhecidas como PAMPs e DAMPs

respectivamente) a receptores presentes em células do sistema imune inato e no endotélio, cuja ativação desencadeia processos inflamatórios. De fato, a ativação localizada da hemostasia em locais onde há invasão por patógenos ou lesão tecidual estéril tem o potencial de circunscrever estes processos, facilitando a erradicação de patógenos e/ou reparo tecidual. Ocorre que quando ativado de forma muito intensa, sem regulação, ou com perda da localização, esta ativação pode contribuir para a geração de um estado protrombótico que parece estar envolvido na fisiopatologia de eventos tromboembólicos venosos, arteriais e microvasculares. Interessantemente, os mecanismos humorais e celulares da ativação de hemostasia nestes processos inflamatórios são algo distintos daqueles observados na hemostasia clássica, e envolvem outros elementos como a expressão intravascular de fator tecidual, a ativação da via intrínseca da coagulação, o sistema complemento, polifosfatos plaquetários e a formação de redes extracelulares de neutrófilos (NETs). As plaquetas, ao formarem agregados com monócitos e neutrófilos, contribuem para a formação de NETS. (6)

Um aspecto interessante da imunotrombose é que o estado protrombótico gerado pode contribuir com a lesão tecidual mesmo na ausência de trombos macrovasculares, como evidenciado no caso da COVID-19 e na anemia falciforme.

1.3.1. NETs

Os neutrófilos, além de participarem do processo de fagocitose e da liberação enzimática no combate à patógenos, podem liberar redes extracelulares conhecidas como NETs. Os NETs são compostos por matriz de DNA e histonas, além de possuírem componentes antipatogênicos e capazes de ativar a coagulação, por meio da ativação direta do fator XII, ligação ao fator de Von Willebrand, ativação da via extrínseca da coagulação e recrutamento de plaquetas. Eles possuem ainda elastases de neutrófilos e mieloperoxidasas, responsáveis por clivar fatores anticoagulantes. (6,7) As plaquetas têm a capacidade de se ligar a neutrófilos, formando agregados neutrófilo:plaquetas e com isso impulsionar a liberação de NETs. (6,8)

1.4. A relação neutrófilos:plaquetas como biomarcador de gravidade em doenças associadas a imunotrombose

A relação neutrófilo:plaqueta de fato já foi demonstrada como um marcador preditivo para doenças inflamatórias ou associadas a imunotrombose, como a mortalidade em endocardite infecciosa (9), retocolite ulcerativa (10), e câncer colorretal (11). Até onde sabemos, ainda não houve a correlação entre a relação neutrófilo:plaqueta e o desenvolvimento de DECHa em pós-transplantados.

2. METODOLOGIA:

Os dados foram levantados a partir de duas fontes distintas: (i) registros eletrônicos dos sistemas AGHuse e prontuário eletrônico do Hemocentro; e (ii) base de dados consolidados do serviço de TMO do Hemocentro Unicamp. A população do estudo consistiu em todos os participantes submetidos a TCTH alogênico, pelo serviço de TMO do Hemocentro Unicamp entre 01/01/2012 a 31/12/2021, com

regido de condicionamento mieloablativo, reduzido e não mieloablativo. Foram excluídos transplantes autólogos e segundos transplantes no mesmo paciente. Dessa forma, chegou-se a um total de 173 participantes.

Uma tabela foi estruturada, contendo as variáveis consideradas relevantes para a análise, sendo elas: sexo do participante, diagnóstico, idade ao realizar o transplante, o tipo de condicionamento, a compatibilidade HLA, o parentesco do doador, o sexo do doador, o status da doença, a fonte do enxerto, a dose CD34+, a ocorrência de GVHD agudo ou crônico assim como seus graus, o *status* de sobrevivência, a ocorrência de neutropenia febril após o transplante, índice de comorbidade HCT e HCT modificado, e dados do hemograma antes e após a realização do transplante..

3. RESULTADOS

Uma vez selecionada a população, foi realizado uma tabela descritiva com as características gerais da população de estudo

Tabela 1 - Características gerais da população do estudo

Variável	n= 173
Idade, média ± DP	43 ± 13
Sexo, masculino:feminino	101:72
Tipo de condicionamento, n (%)	
<u>Mieloablativo</u>	76,9%
Reduzido	17,9%
Não mieloablativo	5,2%
Diagnóstico, n %	
Leucemias agudas	51,4%
Neoplasias linfoides maduras	23,7%
Outros	24,9%
Doença do enxerto contra hospedeiro aguda, n (%)	17,9%
Graus I-II	7,5%
Graus III-IV	10,4%
Doença do enxerto contra hospedeiro crônica, n (%)	23,7%
Graus I-II	12,7%
Graus III-IV	11%
Tempo de acompanhamento, média ± DP (dias)	604±789
Mortalidade, n (%)	63,6%

4. BIBLIOGRAFIA

1. Balassa K, Danby R, Rocha V. **Haematopoietic stem cell transplants: Principles and indications**. British Journal of Hospital Medicine [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2022 Jan 16];80(1):33–9. Available from: <https://www.magonlinelibrary.com/doi/abs/10.12968/hmed.2019.80.1.33>
2. Jagasia M, Arora M, Flowers MED, Chao NJ, McCarthy PL, Cutler CS, et al. **Risk factors for acute GVHD and survival after hematopoietic cell transplantation**. Blood [Internet]. 2012 Jan 5 [cited 2022 Apr 24];119(1):296–307. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article/119/1/296/125665/Risk-factors-for-acute-GVHD-and-survival-after>
3. Harris AC, Ferrara JLM, Levine JE. **Advances in predicting acute GVHD**. British Journal of Haematology [Internet]. 2013 Feb 1 [cited 2022 Apr 24];160(3):288–302. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/bjh.12142>
4. Ghimire S, Weber D, Mavin E, Wang XN, Dickinson AM, Holler E. **Pathophysiology of GvHD and other HSCT-related major complications**. Frontiers in Immunology. 2017 Mar 20;8(MAR):79.
5. Schots R, Kaufman L, van Riet I, Othman T ben, de Waele M, van Camp B, et al. **Proinflammatory cytokines and their role in the development of major transplant-related complications in the early phase after allogeneic bone marrow transplantation**. Leukemia 2003 17:6 [Internet]. 2003 May 23 [cited 2022 Apr 24];17(6):1150–6. Available from: <https://www.nature.com/articles/2402946>
6. Engelmann B, Massberg S. **Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity**. Nature Reviews Immunology 2012 13:1 [Internet]. 2012 Dec 7 [cited 2022 Apr 24];13(1):34–45. Available from: <https://www.nature.com/articles/nri3345>
7. Guo L, Rondina MT. The Era of Thromboinflammation: **Platelets Are Dynamic Sensors and Effector Cells During Infectious Diseases**. Frontiers in Immunology. 2019 Sep 13;10:2204.
8. Papayannopoulos V. **Neutrophil extracellular traps in immunity and disease**. Nature Reviews Immunology 2017 18:2 [Internet]. 2017 Oct 9 [cited 2022 Apr 24];18(2):134–47. Available from: <https://www.nature.com/articles/nri.2017.105>
9. Li Z, Gao Q, Ren Z, Zhou H, Qian Z, Peng J. **Nomogram based on neutrophil-to-platelet ratio to predict in-hospital mortality in infective endocarditis**. <https://doi.org/10.2217/bmm-2021-0085> [Internet]. 2021 Sep 7 [cited 2022 Apr 24];15(14):1233–43. Available from: <https://www.futuremedicine.com/doi/abs/10.2217/bmm-2021-0085>
10. Yamamoto-Furusho JK, Mendieta-Escalante EA. **Diagnostic utility of the neutrophil-platelet ratio as a novel marker of activity in patients with Ulcerative Colitis**. PLOS ONE [Internet]. 2020 Apr 1 [cited 2022 Apr 24];15(4):e0231988. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0231988>
11. Ramsay G, Ritchie DT, Mackay C, Parnaby C, Murray G, Samuel L. **Can Haematology Blood Tests at Time of Diagnosis Predict Response to Neoadjuvant Treatment in Locally Advanced Rectal Cancer? Digestive Surgery** [Internet]. 2019 Oct 1 [cited 2022 Apr 24];36(6):495–501. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/493433>