

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**Faculdade de Medicina**

**USO DE DIFERENTES MARCADORES INFLAMATÓRIOS  
PARA A PREDIÇÃO DA OCORRÊNCIA DE FEBRE  
EM PACIENTES NEUTROPÊNICOS  
PORTADORES DE DOENÇAS HEMATOLÓGICAS**

**ANA FLÁVIA LEONARDI TIBÚRCIO RIBEIRO**

**Belo Horizonte**

**2009**

**ANA FLÁVIA LEONARDI TIBÚRCIO RIBEIRO**

**USO DE DIFERENTES MARCADORES INFLAMATÓRIOS  
PARA A PREDIÇÃO DA OCORRÊNCIA DE FEBRE  
EM PACIENTES NEUTROPÊNICOS  
PORTADORES DE DOENÇAS HEMATOLÓGICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Infectologia e Medicina Tropical.

Orientador: Prof. Henrique Neves da Silva Bittencourt.

Coorientador: Prof. Vandack Alencar Nobre Júnior.

**Belo Horizonte**  
**Faculdade de Medicina – UFMG**  
**2009**

R484u Ribeiro, Ana Flávia Leonardi Tibúrcio.  
Uso de diferentes marcadores inflamatórios para a predição da ocorrência de febre em pacientes neutropênicos portadores de doenças hematológicas [manuscrito]. / Ana Flávia Leonardi Tibúrcio Ribeiro. - - Belo Horizonte: 2009.  
122f.: il.  
Orientador: Henrique Neves da Silva Bittencourt.  
Co-orientador: Vandack Alencar Nobre Júnior.  
Área de concentração: Infectologia e Medicina Tropical.  
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Neutropenia. 2. Marcadores Biológicos. 3. Febre/epidemiologia. 4. Dissertações Acadêmicas. I. Bittencourt, Henrique Neves da Silva. II. Nobre Júnior, Vandack Alencar. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.  
NLM: WH 200

# **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

## **REITOR**

Prof. Ronaldo Tadêu Pena

## **PRÓ-REITORA DE PÓS-GRADUAÇÃO**

Prof<sup>a</sup>. Elisabeth Ribeiro da Silva

## **DIRETOR DA FACULDADE DE MEDICINA**

Professor Francisco José Penna

## **COORDENADOR DO CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO**

Prof. Carlos Faria Santos Amaral

## **COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE: INFECTOLOGIA E MEDICINA TROPICAL**

Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha

## **SUBCOORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE: INFECTOLOGIA E MEDICINA TROPICAL**

Prof. Vandack Alencar Nobre Júnior

## **COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS DA SAÚDE: INFECTOLOGIA E MEDICINA TROPICAL**

Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro

Prof. José Roberto Lambertucci

Prof. Ricardo de Amorim Corrêa

Jader Bernardo Camponizzi (Disc.Titular)

José Adalberto Leal (Disc.Suplente)



FACULDADE DE MEDICINA  
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO  
Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533  
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100  
Fone: (031) 3248.9641 FAX: (31) 3248.9640



## DECLARAÇÃO

A Comissão Examinadora abaixo assinada, composta pelos professores doutores: Henrique Neves da Silva Bittencourt, Vandack Alencar Nobre Junior, Antonio Luiz Pinho Ribeiro, Eduardo Magalhães Rego, aprovou a defesa da dissertação intitulada: **“USO DE DIFERENTES MARCADORES INFLAMATÓRIOS PARA A PREDIÇÃO DA OCORRÊNCIA DE FEBRE EM PACIENTES NEUTROPÊNICOS PORTADORES DE DOENÇAS HEMATOLÓGICAS”** apresentada pela mestrandia **ANA FLAVIA LEONARDI TIBURCIO RIBEIRO** para obtenção do título de mestre em Medicina pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, realizada em 20 de novembro de 2009.

Prof. Henrique Neves da Silva Bittencourt  
(orientador)

Prof. Vandack Alencar Nobre Junior  
coorientador

Prof. Antonio Luiz Pinho Ribeiro

Prof. Eduardo Magalhães Rego

**Pai e Mãe,**  
vocês são meus maiores exemplos  
de responsabilidade, caráter,  
honestidade e integridade.  
Dedico esta tese a vocês, pela ajuda infinita.

Ao Daniel e Ana Clara,  
pelo carinho, beijinhos e abraços.

## **AGRADECIMENTOS**

Minha admiração e respeito ao Professor Henrique Neves da Silva Bittencourt e ao Professor Vandack Alencar Nobre Júnior, pelos ensinamentos, orientação segura, paciência, disponibilidade e perseverança dedicada em todas as horas.

Ao Professor Mauro Martins Teixeira, ao Professor Antônio Lúcio Teixeira e ao Laboratório de Imunofarmacologia do Departamento de Bioquímica e Imunologia do ICB, que proporcionaram as condições necessárias para a realização deste trabalho.

À Professora Sandra Guerra Xavier e Francisco Danilo Ferreira Paula, na fundamental etapa da organização e processamento do material biológico.

À colega Letícia Carvalho Neuenschwander, pela ajuda na execução do projeto, pelo apoio e amizade; e ao Jairo Cerqueira de Almeida Teixeira, pela contribuição em importantes etapas do projeto.

Aos colegas da equipe do Serviço de Hematologia e do Transplante de medula do Hospital das Clínicas de Belo Horizonte, pela colaboração ao longo do desenvolvimento do projeto.

À Equipe do Laboratório de Hematologia do Hospital das Clínicas de Belo Horizonte, pelo carinho e atenção com que sempre me atenderam.

À equipe do Laboratório Central do Hospital das Clínicas de Belo Horizonte, principalmente ao Dr. Guilherme Birchal Collares e à Dra. Raquel Lara Furlan, e aos bioquímicos Márcio, Josiane, Juliana e Paula, pela disponibilidade nos finais de semana e feriados.

À equipe da coleta do Hospital das Clínicas de Belo Horizonte, pela importante colaboração com o material biológico.

Aos pacientes, pela imprescindível participação neste estudo.

A meu Daniel, por tudo o que ele representa, pelo carinho e incentivo demonstrados ao longo das inúmeras jornadas na vida.

À minha filha, Ana Clara, por trazer brilho, poesia e gargalhadas ao meu mundo.

A toda a família Leonardi Tibúrcio, pelo apoio, amizade, cumplicidade e por estarem sempre e incondicionalmente ao meu lado.

À Família Dias Ribeiro, pelas palavras de conforto em momentos decisivos e por me deixarem fazer parte de sua história.

À minha mãe, pela presença constante, encorajadora e generosa.

Ao meu pai, pelo exemplo de dedicação e sabedoria.

A todos aqueles que, embora não tenham sido citados, contribuíram direta ou indiretamente nas várias etapas deste trabalho.



## **“Ser Grande**

Para ser grande, sê inteiro: nada  
teu exagera ou exclui.  
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és  
no mínimo que fazes.  
Assim, em cada lago a lua toda  
brilha, porque alta vive.

Fernando Pessoa”.

## RESUMO

A infecção constitui a principal complicação em pacientes neutropênicos. A febre representa, geralmente, o único indício de infecção nesses pacientes, mas pode ser um sinal tardio, com conseqüente demora na instituição de antimicrobianos. O objetivo desse estudo foi avaliar a capacidade de diversos marcadores inflamatórios de predizerem a ocorrência de febre nestes pacientes. Foram incluídos, entre setembro de 2008 e março de 2009, 32 eventos de neutropenia (neutrófilos  $\leq 1.000$  células/mm<sup>3</sup>) induzida por quimioterapia ou secundária à doença de base, ocorridos em 26 adultos portadores de doenças hematológicas, internados no Hospital das Clínicas da UFMG. Avaliou-se consecutivamente, os níveis séricos dos seguintes marcadores inflamatórios: interleucina 8 (IL-8), proteína induzida 10 (IP-10), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e seus dois receptores solúveis tipos I e II (sTNFR1 e sTNFR2), proteína quimiotática de monócitos (MCP-1), proteína inflamatória de macrófago 1 (MIP-1 $\alpha$ ), procalcitonina e eotaxina. Oito eventos de neutropenia não evoluíram com febre. Nestes, analisou-se as dosagens dos marcadores em três momentos: dia seguinte à inclusão no estudo, correspondente à mediana do período de permanência no estudo e correspondente à mediana do último dia do estudo. Dos 24 episódios que evoluíram com febre, considerou-se as amostras do dia seguinte à inclusão no estudo, do dia que antecedeu à febre e do dia da febre. Dos 26 pacientes, a mediana de idade foi de 36 anos (18 a 69 anos) e a doença de base mais frequente foi leucemia mieloide aguda em nove; 10 foram submetidos a transplante de medula óssea. Analisando toda a população, observou-se aumento progressivo na mediana dos níveis séricos de sTNFR1, sTNFR2 e IL-8 nos três momentos desde a inclusão até o último dia de coleta. A mediana do valor de sTNFR1 no dia que ocorreu a febre mostrou-se significativamente mais elevada nos episódios febris ( $p=0,029$ ), quando comparados com os afebris. Nos neutropênicos não transplantados, registrou-se elevação significativa nos níveis do sTNFR1 ( $p=0,041$ ) e da MCP-1 ( $p=0,042$ ) nos pacientes que apresentaram febre em relação aos afebris. Para o sTNFR1, identificou-se valor de corte de 1.514 pg/mL para a discriminação entre os febris e os afebris, com sensibilidade de 65%, especificidade de 87%, valores preditivos positivo (VPP) de 93% e negativo (VPN) de 46% e acurácia de 70%. Nos neutropênicos não transplantados, o mesmo ponto de corte para o sTNFR1 no dia da febre apresentou sensibilidade de 71%, especificidade de 87%, valores preditivos de 91% (positivo) e 63% (negativo) e acurácia de 77%. Os níveis de IL-8, IP-10, TNF- $\alpha$ , sTNFR2, MIP-1 $\alpha$ , Procalcitonina e da eotaxina não foram preditores de febre. Considerando-se todos os episódios de febre, a coleta das amostras dos marcadores inflamatórios antecedeu o momento desta em 11 horas (mediana; variação de 1 a 15 horas). Concluiu-se que o seguimento diário dos níveis séricos dos marcadores inflamatórios sTNFR1 e MCP-1 pode predizer o surgimento de febre em pacientes onco-hematológicos neutropênicos. Estes achados devem ser confirmados com estudo prospectivo envolvendo número mais alto de pacientes e com análise de custo-efetividade.

**Palavras-chave:** Neutropenia afebril, marcadores inflamatórios, preditores de febre, onco-hematológicos, sTNFR1.

## ABSTRACT

Infection is the main complication in neutropenic patients. Fever, usually the only clinical manifestation of infection in these patients, might be a late sign, with consequent delay in the onset of antibiotic therapy. Our hypothesis is that the use of inflammatory markers may allow an earlier diagnosis of infectious complications and potentially improve the outcomes in neutropenic patients. In an observational prospective single centre study, we evaluate the role of serum interleukin-8 (IL-8), inducible protein-10 (IP-10), tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), soluble receptors sTNFR1 and sTNFR2, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), macrophage inflammatory protein (MIP-1 $\alpha$ ), procalcitonin and eotaxin in 32 afebrile neutropenia events occurring in 26 hematological hospitalized patients. Blood samples were obtained in three different clinical periods: in the first day of neutropenia, the day before fever and in the day of fever. Patients were followed up to the 28<sup>th</sup> day, hospital discharge or death. The median age was 36 (range: 18 to 69) year-old and acute myeloid leukemia (AML) was the most common diagnosis (9 patients). Ten patients undertook a bone marrow transplant. Eight patients did not become febrile during the study procedures. Taking the whole population (32 events of neutropenia), sTNFR1, sTNFR2 and IL-8 levels showed a progressive increase pattern during the follow-up. There were a significant increase in sTNFR1 levels ( $p=0,029$ ) just prior to the fever episode as compared to the patients that did not presented fever. In a subgroup of non-transplanted patients, there were a significant increase in sTNFR1 and MCP-1 levels ( $p=0,041$  and  $p=0,042$ , respectively) just prior to the febrile episode as compared to afebrile neutropenic patients. In the so-called "day of fever", all samples were undertaken with a median time of 11 hours (range: 1 to 15 hours) before fever episode. Using ROC curves, a cut-off of 1514 pg/mL for sTNFR1 in fever day was able to discriminate between neutropenic patients that will or will not present fever, with sensibility of 65%, specificity of 87%, positive and negative predictive value of 93% and 46%, respectively. In a subgroup of non-transplanted patients, the same cut-off for sTNFR1 in fever day was able to discriminate between neutropenic patients that will or will not present fever with sensibility of 71%, specificity of 87%, positive and negative predictive value of 91% and 63%, respectively. TNF- $\alpha$ , sTNFR2, IL-8, MIP-1 $\alpha$ , IP-10, eotaxin and procalcitonin were not able to discriminate among neutropenic patients that will present or not a febrile episode. *Conclusion:* Daily measurement of sTNFR1 during neutropenia could predict occurrence of fever in onco-hematological patients. This could result in a shorter time to start antibiotic treatment and, consequently, improve prognosis. A large prospective trial is needed to confirm these data.

Keys words: Afebrile neutropenic, inflammatory markers, predict fever, onco-hematological patients, sTNFR1.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Anemia aplásica
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ADL	Atividades de vida diária
ATRA	Ácido trans-retinoico
BEAM	BCNU, etoposide, ara-C, melfalan, dexametasona
CCIH	Comissão de controle de infecção hospitalar
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CTH	Célula-tronco hematopoiética
D0	Dia da inclusão no estudo
D1	Dia posterior à inclusão no estudo
Dc	Célula dendrítica
Dfebre	Dia da febre
Dmed	Dia correspondente à mediana de permanência no estudo
D mediana	Dia correspondente à mediana de permanência no estudo
Dmedf	Dia correspondente à mediana do último dia de coleta
D mediana final	Dia correspondente à mediana do último dia de coleta
Dpré-febre	Dia pré-febre
E	Especificidade
ECOG	<i>Eastern Cooperative Oncology Group</i>
EDTA	<i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i> ou ácido etilendiamino tetraacético
ELFA	<i>Enzyme-Linked Fluorescent Assay</i>
ELISA	<i>Enzyme linked immunoassay</i>
G-CSF	Fatores estimuladores de colônia de granulócitos
HC	Hospital das Clínicas
HLA	Antígenos de histocompatibilidade
HMG	Hemograma
Hyper-CVAD	Ciclofosfamida, vincristina, doxorubicina, dexametasona, metotrexate, Ara-C, metilprednisolona
ICB	Instituto de Ciências Biológicas

ICE	Ifosfamida, carboplatina, etoposide
IFN- $\gamma$	Interferon Gama
IL	Interleucina
IP-10	Proteína induzida 10
LH	Linfoma de <i>Hodgkin</i>
LLA	Leucemia linfoblástica aguda
LMA	Leucemia mieloide aguda
LNH	Linfoma não- <i>Hodgkin</i>
LPS	Lipopolissacarídeo
MASCC	<i>Multinational Association of Supportive Care of Cancer</i>
MCP-1	Proteína quimiotática de monócitos-1
MIP-1 $\alpha$	Proteína inflamatória de macrófago-1 alfa
MM	Mieloma múltiplo
NaCl	Cloreto de sódio
NBR	Normas brasileiras de referência
NCI	<i>National Cancer Institute</i>
NF	Neutropenia febril
NK	<i>Natural killer</i>
PAC	Pneumonia adquirida na comunidade
PCR	Proteína C reativa
PCT	Procalcitonina
PGE2	Prostaglandina E2
pH	Potencial de Hidrogênio
PMN	Polimorfonucleados
RNA <sub>m</sub>	Ácido ribonucleico mensageiro
ROC	<i>Receiver operator characteristic curve</i>
rpm	Rotações por minuto
S	Sensibilidade
SMD	Síndrome mielodisplásica
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
sTNFR	Receptores solúveis do fator de necrose tumoral
sTNFR I	Receptor solúvel I do fator de necrose tumoral
sTNFR II	Receptor solúvel II do fator de necrose tumoral

TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TMO	Transplante de medula óssea
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VPN	Valor preditivo negativo
VPP	Valor preditivo positivo

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### Figura

FIGURA 1 Descrição da triagem da população de neutropênicos internados... 64

### Gráficos

GRÁFICO 1 Comparação dos níveis de sTNFRI mensurados nos dias após a inclusão no estudo (D1), dia pré-febre (Dpré-febre) e no dia da febre (Dfebre) nos episódios de neutropenia febril com os níveis mensurados nos dias após a inclusão no estudo (D1), dia da mediana de permanência no estudo (Dmed) e mediana do último dia do estudo (Dmedf) nos episódios de neutropenia afebril..... 80

GRÁFICO 2 Curva ROC para avaliação do melhor ponto de corte para o nível de sTNFRI no dia da febre para todos os pacientes neutropênicos febris e afebris..... 81

GRÁFICO 3 Comparação entre os níveis de sTNFRI nos dias após a inclusão no estudo (D1), dia pré-febre (Dpré-febre) e no dia da febre (Dfebre) mensurados na população neutropênica febril não transplantada, com os níveis mensurados no dia após a inclusão no estudo (D1), dia da mediana de permanência no estudo (Dmed) e mediana do último dia do estudo (Dmedf) nos episódios de neutropenia que permaneceram afebris durante o seguimento..... 84

### Quadro

QUADRO 1 Receptores humanos de quimiocinas descritos até 2002 e seus ligantes..... 34

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Causas de exclusão observadas em 170 episódios de neutropenia triados.....	56
TABELA 2 Dados epidemiológicos dos 26 participantes internados.....	66
TABELA 3 Dados epidemiológicos observados nos 32 episódios de neutropenia.....	68
TABELA 4 Dados epidemiológicos dos pacientes neutropênicos que apresentaram ou não febre.....	70
TABELA 5 Dados epidemiológicos dos episódios de neutropenia que apresentaram ou não apresentaram febre.....	71
TABELA 6 Dados referentes às hemoculturas coletadas nos episódios de neutropenia febril.....	72
TABELA 7 Mediana dos níveis séricos dos marcadores inflamatórios mensurados em diferentes momentos em toda a população de neutropênicos.....	73
TABELA 8 Mediana dos níveis séricos dos marcadores inflamatórios mensurados nos pacientes neutropênicos que apresentaram febre.....	74
TABELA 9 Mediana dos níveis séricos dos marcadores inflamatórios mensurados nos episódios de neutropenia que não apresentaram febre..	75
TABELA 10 Mediana dos níveis séricos dos marcadores inflamatórios mensurados de todos os episódios de pacientes não transplantados e neutropênicos.....	76
TABELA 11 Mediana dos níveis séricos dos marcadores inflamatórios mensurados nos episódios de febre dos pacientes neutropênicos não transplantados.....	77
TABELA 12 Variação dos valores dos diferentes marcadores inflamatórios entre todos os pacientes neutropênicos que tiveram febre e os pacientes que não tiveram febre nos diferentes momentos do estudo (teste de <i>Mann-Whitney</i> ).....	79



TABELA 13 Avaliação da predição de febre a partir dos níveis séricos da interleucina sTNFRI dosados no dia da ocorrência da febre em todos os pacientes neutropênicos.....	82
TABELA 14 Variação dos valores dos diferentes marcadores inflamatórios entre os pacientes neutropênicos não submetidos a transplante que tiveram ou não febre nos diferentes momentos do estudo (teste de <i>Mann-Whitney</i> ).....	83
TABELA 15 Avaliação da predição de febre a partir dos níveis séricos do sTNFRI dosados no dia da ocorrência da febre nos pacientes neutropênicos não transplantados.....	85

# SUMÁRIO<sup>1</sup>

1 INTRODUÇÃO.....	19
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	21
2.1 A febre.....	23
2.2 Neutropenia febril.....	24
2.3 Manejo dos pacientes com neutropenia febril.....	26
2.3.1 Tempo para início da terapia.....	26
2.3.2 Terapia inicial na neutropenia febril.....	28
2.3.3 Uso de fatores estimuladores de colônia de granulócitos.....	29
2.4 Marcadores inflamatórios.....	30
2.4.1 Citocinas.....	31
2.4.1.1 Mecanismo de ação.....	32
2.4.1.2 Interleucina-8 (IL-8).....	36
2.4.1.3 Fator de necrose tumoral (TNF).....	37
2.4.1.4 Receptores solúveis do TNF (sTNFR).....	38
2.4.1.5 Proteína quimiotática de monócito-1 (MCP-1).....	39
2.4.1.6 Proteína inflamatória de macrófago-1 alfa (MIP-1 $\alpha$ ).....	40
2.4.1.7 Eotaxina.....	40
2.4.1.8 Proteína induzida 10 (IP-10).....	41
2.4.2 Procalcitonina (PCT).....	42
2.5 Uso dos marcadores inflamatórios na neutropenia febril.....	42
2.5.1 Uso dos marcadores inflamatórios como instrumento diagnóstico e prognóstico de infecção.....	42
2.5.2 Marcadores inflamatórios e infecção: os estudos negativos.....	45
2.6 Uso dos marcadores inflamatórios como preditores de febre em pacientes com neutropenia.....	46
2.7 Marcadores inflamatórios e diminuição dos custos.....	48

---

<sup>1</sup> Este trabalho foi revisado de acordo com as novas regras ortográficas.

2.8 Transplante de medula óssea e a tempestade de citocina.....	49
2.9 Justificativa.....	52
3 OBJETIVOS.....	53
3.1 Objetivo geral.....	53
3.2 Objetivos específicos.....	53
4 PACIENTES E MÉTODOS.....	54
4.1 Desenho do estudo.....	54
4.2 Pacientes.....	54
4.2.1 Critérios de inclusão.....	54
4.2.2 Critérios de exclusão.....	55
4.2.3 Seleção dos participantes do estudo.....	55
4.2.4 Avaliação dos participantes do estudo.....	56
4.2.5 Variáveis do estudo.....	57
4.2.5.1 Variáveis adicionais coletadas nos pacientes submetidos a transplante de medula óssea.....	58
4.2.6 Desfecho do estudo.....	58
4.2.7 Seguimento clínico.....	58
4.2.8 Tratamento do episódio de neutropenia febril.....	58
4.2.9 Amostras biológicas.....	59
4.3 Métodos.....	60
4.4 Normas de redação e estilo.....	62
4.5 Pesquisa e normalização bibliográfica.....	62
4.6 Estatística.....	63
4.6.1 Cálculo do tamanho da amostra.....	63
4.6.2 Análise estatística.....	63
5 RESULTADOS.....	64
5.1 Demografia.....	64
5.2 Descrição dos 32 episódios de neutropenia.....	66
5.3 Febre.....	69
5.4 Níveis séricos dos marcadores inflamatórios no período de neutropenia.	72

5.4.1	Medianas dos níveis séricos dos marcadores inflamatórios em toda a população do estudo nos diferentes momentos da avaliação.....	72
5.4.2	Medianas dos níveis séricos dos marcadores inflamatórios na população febril nos diferentes momentos da avaliação.....	74
5.4.3	Medianas dos níveis séricos dos marcadores inflamatórios na população afebril nos diferentes momentos da avaliação.....	75
5.4.4	Medianas dos níveis séricos dos marcadores inflamatórios na população não submetida a transplante nos diferentes momentos da avaliação.....	76
5.4.5	Análise da variação dos valores dos diferentes marcadores inflamatórios entre os pacientes que apresentaram febre e os que não apresentaram febre nos diferentes momentos da avaliação.....	78
5.4.6	Análise da variação dos valores dos diferentes marcadores inflamatórios entre os pacientes não submetidos a transplante, conforme a ocorrência de febre no seguimento.....	83
6	DISCUSSÃO.....	86
7	CONCLUSÕES.....	95
	REFERÊNCIAS.....	96
	APÊNDICES E ANEXOS.....	109

## 1 INTRODUÇÃO

A neutropenia é definida como uma significativa redução no número absoluto de neutrófilos circulantes no sangue e representa um dos maiores problemas clínicos nos pacientes onco-hematológicos (WATTS, 1999). Os esquemas de tratamento quimioterápicos vêm apresentando expressivos avanços com a incorporação de regimes terapêuticos com múltiplas e novas drogas e a utilização do transplante de medula óssea em maior número de doenças. Com isso, há importante aumento na incidência de neutropenia e, conseqüentemente, de infecções relacionadas (BODEY *et al.*, 1966; PIZZO, 1999).

A infecção é a principal complicação observada nos pacientes onco-hematológicos e pode ser de difícil identificação devido à inespecificidade das alterações clínicas. Essas intercorrências são comumente graves e potencialmente fatais, sendo o diagnóstico precoce e o tratamento empírico prontamente instituído com antibioticoterapia de largo espectro as melhores estratégias para mudar a história natural da neutropenia febril (HUGHES *et al.*, 2002).

Normalmente, considera-se a febre o principal determinante do início da terapia antimicrobiana no neutropênico (HUGHES *et al.*, 2002). Entretanto, ela constitui marcador relativamente tardio da ocorrência de infecção e a espera pela elevação térmica pode postergar o tratamento com antibióticos, com conseqüente piora do prognóstico.

Marcadores precoces de infecção que precedam a ocorrência da febre e possibilitem a instituição mais precoce do tratamento antimicrobiano poderiam, portanto, ser de muita utilidade. Entre as diversas propriedades biológicas, os marcadores inflamatórios (citocinas e quimiocinas) possuem a habilidade de promover o início da febre, recrutar diferentes células do sistema imune aos sítios de infecção e de doença, além de apresentar efeitos bem definidos na hematopoiese e regulação do metabolismo celular (BEUTLER, 2004). A produção endógena desses marcadores inflamatórios é suficiente para explicar a maioria dos episódios de febre. São poucos os estudos publicados nos quais se testou a

capacidade dos marcadores inflamatórios anteciparem a ocorrência desta em pacientes neutropênicos.

A determinação de um ou mais marcador precoce de infecção nos neutropênicos pode contribuir para a melhora do prognóstico desses pacientes, antecipando a utilização empírica de antibióticos, com possíveis reduções do tempo de tratamento antimicrobiano e de hospitalização, dos custos e da ocorrência de efeitos colaterais secundários à antibioticoterapia.

Este estudo objetiva avaliar o uso de diferentes marcadores inflamatórios, como a interleucina 8 (IL-8), proteína induzida 10 (IP-10), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e seus dois receptores solúveis (sTNFR1 e sTNFR2), proteína quimiotática de monócitos-1alfa (MCP-1 $\alpha$ ), proteína inflamatória de macrófago 1 (MIP-1), procalcitonina (PCT) e a eotaxina como preditores da ocorrência de febre em pacientes com neutropenia induzida por quimioterapia ou secundária à doença de base hematológica ao diagnóstico ou em recidiva da mesma.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

Nos últimos anos, houve acentuado avanço no tratamento dos pacientes portadores de neoplasias hematológicas devido, em parte, à melhoria nas medidas de cuidados suportivos. São inúmeros os desafios clínicos apresentados por esses pacientes, que incluem o manejo das infecções, efeitos tóxicos da quimioterapia, náuseas, sangramentos, dor, impacto psicossocial do diagnóstico, hospitalização prolongada, entre outros. As infecções são as principais causas de morbidade e mortalidade entre eles (CHANG *et al.*, 1976).

A doença maligna e/ou a quimioterapia podem causar níveis variados de mielossupressão. Esta é a toxicidade mais comum e é o que limita a dose dos agentes antineoplásicos. A quantidade da droga necessária para induzir a adequada morte das células tumorais frequentemente causa dano aos tecidos normais, sendo o tecido hematopoiético o mais acometido (HICKMAN, 1992). A intensidade e a duração da mielossupressão são diretamente relacionadas à dose da droga administrada. A supressão de cada uma das linhagens hematopoiéticas ocorre em tempos diferentes, sendo os leucócitos, frequentemente, as primeiras células sanguíneas a se reduzirem. Observa-se, geralmente, a redução do número de células brancas cinco a 14 dias após a administração dos agentes antineoplásicos e a recuperação após sete a 21 dias. Os regimes que utilizam altas doses de quimioterápicos, como no caso dos transplantes de medula óssea, geralmente mantêm a neutropenia em valores inferiores a 500 células/mm<sup>3</sup> por até 25 dias (HANDE, 1999).

O número de neutrófilos varia com a idade, sexo, raça e outros fatores, o que faz com que o limite inferior do número absoluto de neutrófilos normal varie entre as populações analisadas. Considera-se o valor de 1.500 células/mm<sup>3</sup> como o limite inferior do normal para crianças e adultos (WATTS, 1999). Indivíduos de raça negra apresentam valores um pouco inferiores aos de raça branca, com o limite inferior de 1.000 células/mm<sup>3</sup> (BROUN *et al.*, 1966).

A neutropenia é classificada em leve, moderada e grave, com base nos valores do número absoluto de neutrófilos. Valores entre 1.000 e 1.500 células/mm<sup>3</sup> são considerados neutropenia leve; entre 500 e 1.000 células/mm<sup>3</sup>,

moderada; e valor inferior a 500 células/mm<sup>3</sup> forma grave (WATTS, 1999). Essa classificação é útil em prever o risco de infecção bacteriana grave. No clássico estudo envolvendo o risco de infecção em neutropenia secundária à leucemia aguda, Bodey *et al.* (1966) demonstraram que o risco de infecção está diretamente correlacionado com o grau e a duração da neutropenia. Após quatro semanas da neutropenia, a taxa de infecção era de quase 100% quando o número de neutrófilos era inferior a 100 células/mm<sup>3</sup>, enquanto um tempo de exposição três vezes mais longo era necessário para atingir as mesmas taxas de infecção diante de um valor acima de 1.000 células/mm<sup>3</sup>. Quando a neutropenia tem duração curta (poucos dias a semanas), somente nos casos em que ela é grave (< 500 células/mm<sup>3</sup>) observa-se alto risco de infecção grave.

Nos pacientes portadores de neoplasias malignas, todos os componentes de defesa do organismo estão, de modo geral, afetados, como a pele, as mucosas, a imunidade celular específica (linfócitos T e B) e inespecífica (fagócitos) e a imunidade humoral (imunoglobulinas e complemento) (Van DER MEER, 2002). Isso se deve a uma combinação de fatores associados, como doença de base e o tratamento quimioterápico e radioterápico utilizados (PICKERING *et al.*, 1978).

As infecções que surgem nos pacientes neutropênicos são comumente graves e potencialmente fatais, sendo o diagnóstico e o tratamento precoces as melhores estratégias para mudar favoravelmente a história natural dessas infecções (SCHIMPF *et al.*, 1971; PIZZO, 1986).



## 2.1 A febre

A febre é definida como a elevação da temperatura corporal acima do nível normal mantido pelo indivíduo, com mudança nos níveis termorreguladores centrais do hipotálamo. É um mecanismo adaptativo de benefício para o organismo, estimulando o sistema imune e acarretando aumento da migração de neutrófilos e mais produção de citocinas. Constitui, portanto, um marcador útil de inflamação e valores mais elevados de temperatura refletem mais gravidade do processo inflamatório (LAMBERTUCCI, 1990; GUYTON, 1991; BEUTLER, 2004).

A elevação da temperatura corporal resulta em termogênese por tremores e vasoconstrição da derme (estímulo simpático), enquanto que os mecanismos de resfriamento envolvem a combinação das vias simpáticas e parassimpáticas. A temperatura corporal varia conforme o local da medição. A cavidade oral reflete bem a temperatura corporal, estando em média 0,4°C acima da temperatura axilar. No reto, ela é 0,6°C maior que na boca (LAMBERTUCCI, 1990; GUYTON, 1991; PORTO, 2001; BEUTLER, 2004).

Essencialmente, o sistema imune do indivíduo é o responsável pelo desenvolvimento da febre de origem infecciosa (BENNET JR.; BEESON, 1953). Os receptores de superfície celular que interagem com moléculas de origem microbiana geram sinais que levam à elaboração de citocinas inflamatórias, como o fator de necrose tumoral (TNF), interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e interleucina-12 (IL-12) (DINARELLO *et al.*, 1988; BEUTLER, 2004). Cada tipo de receptor reconhece um repertório limitado de moléculas microbianas, como a porção lipopolissacarídea presente em virtualmente todas as bactérias gram-negativo, ou os peptídeos glicanos, que são componentes essenciais da estrutura da parede celular de todas as bactérias gram-negativo e gram-positivo (D'AMBROSIO *et al.*, 2003; ROSELLI *et al.*, 2003; DINARELLO, 2004).

Como os indutores microbianos e as citocinas secretadas podem ter acesso ao plasma, uma infecção localizada pode causar efeitos à distância. A indução da febre é um desses efeitos. A desregulação hipotalâmica que culmina com a febre ocorre quando as citocinas derivadas do sistema imune interagem com as células do sistema nervoso central (COOPER *et al.*, 1964). Os fagócitos mononucleares são as principais fontes de citocinas pirogênicas, mas as mesmas

proteínas podem originar-se de células neoplásicas teciduais não-imunogênicas, pela produção e secreção autonômica (DINARELLO, 2004).

A febre é, em geral, o primeiro e, em muitos casos, o único sinal clínico de infecção (LINK *et al.*, 2003). Ainda que sujeita a falhas, a sua utilização como sinal de alerta da existência de infecções mostra-se razoavelmente segura em pacientes imunocompetentes (DINARELLO, 1995). Questiona-se, entretanto, se a febre representa um sinal suficientemente precoce de infecção nos pacientes neutropênicos (BOGGS *et al.*, 1962; TALCOTT *et al.*, 1992; VISCOLI *et al.*, 1994 LUCAS *et al.*, 1996, ENGEL *et al.*, 1998).

## 2.2 Neutropenia febril

Considera-se neutropenia febril (NF) a contagem de neutrófilos abaixo de 500 células/mm<sup>3</sup> ou 500-1000 cel/mm<sup>3</sup>, com tendência à queda, somado a uma medição da temperatura oral  $\geq 38,3^{\circ}\text{C}$  ou  $\geq 38^{\circ}\text{C}$  por pelo menos uma hora ou em duas medidas consecutivas ao longo de 12 horas consecutivas (HUGHES *et al.*, 2002; LINK *et al.*, 2003).

No Brasil, onde não se tem o hábito de realizar a medição da temperatura oral, o Serviço de Hematologia do HC-UFMG utiliza o critério de uma medida de temperatura axilar  $\geq 38^{\circ}\text{C}$  ou uma medida  $\geq 37,8^{\circ}\text{C}$  com duração de pelo menos uma hora (ou em duas medidas consecutivas nas próximas 12 horas) (LAMBERTUCCI, 1990; PORTO, 2001; HUGHES *et al.*, 2002; LINK *et al.*, 2003).

Durante o período de neutropenia, os pacientes podem apresentar um ou mais episódios de febre, que podem estar associados ou não a eventos infecciosos. Entre as causas não-infecciosas de febre encontram-se transfusões de hemoderivados, hematomas e hemorragias, tromboflebitas, administração de quimioterápicos (e.g., citarabina) e secundária à atividade da doença neoplásica de base (RAAB *et al.*, 1960). A febre é a principal evidência de infecção nos pacientes neutropênicos e frequentemente a única, já que não é comum ocorrerem outros sinais como eritema, edema, dor ou calor (SCHIMPF *et al.*, 1971; SICKLES *et al.*, 1975; HANN *et al.*, 1997). O padrão da febre não é específico nem patognomônico de nenhum tipo de infecção específica nem de

causas não-infecciosas e pode ser suprimido com o uso de antitérmicos ou de corticoides (usados nos regimes de quimioterapia) (SILVER *et al.*, 1958; RAAB *et al.*, 1960; McGEE; GORBY, 1987).

A incidência de febre depende da duração da neutropenia e do grau dos danos às mucosas. Os fatores adicionais que contribuem para o aumento da susceptibilidade a infecções incluem lesão cutânea, de mucosas da orofaringe ou trato gastrointestinal – que podem ser secundárias aos efeitos tóxicos da quimioterapia e da radioterapia – ou a própria neutropenia. Um processo infeccioso é identificado em torno de metade dos episódios de NF (KOH; PIZZO, 2002; LINK *et al.*, 2003). Destes, em cerca de 50% um agente etiológico é identificado (diagnóstico microbiológico) e nos demais um sítio de infecção é localizado (diagnóstico clínico). Na outra metade, a etiologia ou o sítio de infecção não são esclarecidos (LINK *et al.*, 2003; EI-MAGHRABY *et al.*, 2007).

A maioria das infecções que acometem o paciente neutropênico é causada por microrganismos da flora endógena (trato gastrointestinal, trato respiratório superior ou cutâneo) (SCHIMPF *et al.* 1972; LEE; PIZZO, 1993). No entanto, deve-se lembrar que, após alguns dias de internação, a flora modifica-se e o paciente adquire novos microrganismos com perfil de sensibilidade diferente (“flora hospitalar”) e, em geral, mais resistentes que os encontrados no paciente à admissão (JOHANSON *et al.*, 1969; SCHIMPF, 1997). O uso crescente de quimioterapia em altas doses e do transplante de células-tronco hematopoiéticas ocasiona mucosite, o que, aliado à translocação bacteriana, proporciona acesso dos microrganismos à circulação, facilitando o surgimento de episódios infecciosos (BEARMAN *et al.*, 1988). Além disso, o uso frequente de cateteres de longa permanência ocasiona quebra na barreira natural da pele e a possibilidade do acesso facilitado de bactérias e fungos à circulação (LINK *et al.*, 2003; Von LILIENFELD-TOAL *et al.*, 2004).

Ainda que devam ser obtidas rotineiramente nos pacientes neutropênicos febris, as hemoculturas não auxiliam na decisão terapêutica inicial. A terapia antimicrobiana baseia-se na ocorrência de febre ou, menos frequentemente, em outros fatores clínicos sugestivos de infecção (HUGHES *et al.*, 2002). Nos últimos 20 anos, observou-se mudança nos microrganismos isolados nos pacientes com NF (PIZZO, 1993). Nos anos 70, os bacilos gram-negativo eram a principal causa

de infecções e, atualmente, nos Estados Unidos e na Europa, são os microrganismos gram-positivo, principalmente os estafilococos coagulase negativos (OUDE NIJHUIS *et al.*, 2002).

Diferentes categorias de risco de progressão e óbito no paciente com NF foram descritas na literatura (TALCOTT *et al.*, 1988; 1992). Os critérios diferem de acordo com o sistema proposto, sendo o mais utilizado a estratificação proposta pela *Multinational Association of Supportive Care of Cancer* (MASCC), categorizado pela presença ou ausência de complicações e defervescência da febre (KLASTERSKY *et al.*, 2000; LINK *et al.*, 2003; BASKARAN *et al.*, 2008).

Outra estratificação de risco de infecção no neutropênico é baseada na previsão de duração da neutropenia (BODEY *et al.*, 1966; LINK *et al.*, 2003). É classificado como risco baixo quando a duração da neutropenia é inferior ou igual a cinco dias, risco intermediário quando está entre seis e nove dias e risco alto quando a duração da neutropenia é superior ou igual a 10 dias (LINK *et al.*, 2003). A classificação inicial pode ser mudada durante o curso da infecção. Dos casos de neutropenia febril, 30 a 40% podem ser classificados como de risco baixo. Alguns pesquisadores acreditam que os pacientes portadores de neoplasias hematológicas nunca devem ser considerados de risco baixo, independentemente de outros fatores (TALCOTT *et al.*, 1992; LINK *et al.*, 2003).

## **2.3 Manejo dos pacientes com neutropenia febril**

### **2.3.1 Tempo para início da terapia**

O tempo é fundamental no manejo do paciente com NF ou do neutropênico afebril que apresente sintomas e/ou sinais sugestivos de infecção. Após a coleta de culturas, deve-se iniciar imediatamente a terapia antimicrobiana empírica, de amplo espectro, com cobertura para agentes gram-negativo mais prevalentes, como enterobactérias e *Pseudomonas spp.* (FREIFELD *et al.*, 1999; HUGHES *et al.*, 2002; OUDE NIJHUIS *et al.*, 2005).

Vários trabalhos correlacionaram o tempo gasto para se iniciar a antibioticoterapia com o padrão de evolução do paciente (IREGUI *et al.*, 2002).

Nessas publicações, os autores reconhecem que o início imediato da antibioticoterapia apropriada e do suporte hemodinâmico é essencial para o tratamento inicial de pacientes em sepse grave ou em choque séptico (IREGUI *et al.*, 2002; HOUCK *et al.*, 2004; NOBRE JR. *et al.*, 2007; COREY; SNYDER, 2008). O início imediato de antibióticos para o tratamento de pneumonia adquirida na comunidade (PAC) também resulta em melhor evolução clínica (BATTLEMAN *et al.*, 2002). A administração de antibióticos em até quatro horas da entrada do paciente no hospital foi associada à redução da mortalidade e do período de internação no estudo randomizado em pacientes idosos com PAC sem tratamento prévio domiciliar (HOUCK *et al.*, 2004). A avaliação do tratamento de crianças com PAC mostrou que cada hora adicional até o início da antibioticoterapia estava associada a 3% de demora até a estabilização clínica ( $p=0,001$ ) e a 3% de aumento do tempo de hospitalização ( $p=0,002$ ) (SANDORA *et al.*, 2009).

Estudo retrospectivo em 165 pacientes internados para o tratamento de meningite bacteriana em hospital de Minneapolis, Estados Unidos, revelou que a taxa de mortalidade para pacientes que receberam antibióticos na sala de emergência (com mediana de tempo de uma hora e oito minutos) foi de 7,9% e para os pacientes internados em enfermarias (que receberam antibióticos após seis a nove horas da internação) foi de 29% (MINER *et al.*, 2001).

Grande estudo de coorte de pacientes com choque séptico realizado por Kumar *et al.* (2006) mostrou que, a partir do estabelecimento da hipotensão, cada hora de atraso no início da antibioticoterapia dentro do período de seis horas estava associada à redução de 8% na sobrevivência. Assim, os antibióticos devem ser iniciados o mais cedo possível após o diagnóstico de sepse grave ou choque séptico e, se possível, em três horas.

Embora a necessidade de rápida instituição de antibioticoterapia nos episódios de neutropenia febril seja consenso na literatura, existem poucos estudos sobre o assunto. Perrone *et al.* (2004) avaliaram 55 pacientes neutropênicos febris e descreveram que 170 minutos foi o tempo médio gasto desde a chegada do paciente ao hospital até o início da antibioticoterapia.

Larche *et al.* (2003) avaliaram retrospectivamente os preditores de mortalidade em 30 dias em pacientes portadores de neoplasias com choque

séptico. Nessa população, 80 (90,9%) apresentavam neoplasias hematológicas, 19 (21,6%) tinham se submetido ao transplante de medula óssea (TMO) e 47 (53,4%) estavam neutropênicos. A análise multivariada mostrou aumento na mortalidade quando o tempo gasto até o início da antibioticoterapia era superior a duas horas (LARCHE *et al.*, 2003).

### **2.3.2 Terapia inicial na neutropenia febril**

O conhecimento do grupo de risco do paciente, dos agentes mais prevalentes na instituição em que o paciente encontra-se internado e de seus respectivos perfis de sensibilidade é fundamental para a escolha da terapia empírica mais adequada. Os esquemas indicados incluem a monoterapia com cefalosporinas (de 3ª geração, com atividade antipseudomonas ou de 4ª geração), penicilinas com atividade antipseudomonas ou, ainda, carbapenêmicos ou terapia combinada, com cefalosporina ou carbapenêmico associados a aminoglicosídeos. Um esquema alternativo é o uso de dois betalactâmicos associados (por exemplo, se os aminoglicosídeos forem contraindicados). A vantagem da associação de drogas de diferentes classes é a possibilidade de redução da emergência de cepas resistentes, ponderando-se, entretanto, que o uso de aminoglicosídeos eleva o risco de nefrotoxicidade. Nenhum estudo mostrou vantagem de um esquema em relação aos demais, sendo a escolha individualizada pelo grupo de risco do paciente e características da instituição (HUGHES *et al.*, 1997; 2002; LINK *et al.*, 2003).

De acordo com a estratificação de risco de infecção no neutropênico baseada na previsão de duração da neutropenia (LINK *et al.*, 2003), a terapia oral com ciprofloxacina ou levofloxacina combinada com amoxicilina/ácido clavulânico é permitida nos pacientes classificados como de risco baixo (FREIFELD *et al.*, 1999).

O uso abusivo de antimicrobianos é apontado como um dos principais responsáveis pela emergência de cepas de bactérias resistentes, além de elevar o custo da assistência à saúde e relacionar-se a efeitos adversos e interações medicamentosas indesejáveis. Vários estudos mostram que a duração da terapia antimicrobiana pode ser reduzida de maneira segura, tanto em infecções leves a

moderadas (EL MOUSSAOUI *et al.*, 2006; LI *et al.*, 2007) quanto em infecções graves (NOBRE JR. *et al.*, 2008). A redução da exposição do paciente às drogas antimicrobianas, com seu uso racional (indicação, doses, espectro, via de administração), constitui uma das ações mais desejadas na luta contra o problema crescente da multirresistência bacteriana. Embora os guias de recomendações ofereçam alguma orientação, a duração da terapia antimicrobiana em pacientes com neutropenia febril ainda é baseada em decisões empíricas (HUGHES *et al.*, 1990; 1997; LINK *et al.*, 2003; TAMURA, 2004).

### **2.3.3 Uso de fatores estimuladores de colônia de granulócitos**

Os fatores estimuladores de colônia de granulócitos (G-CSF) estimulam a proliferação e diferenciação dos progenitores em granulócitos maduros, aumentando o número de neutrófilos circulantes. Podem ser usados no tratamento de pacientes NF em associação com antibioticoterapia para reduzir a duração da supressão da medula óssea (HANDE, 1999). Eles também são utilizados nos regimes de quimioterapia em que se espera incidência de eventos de neutropenia febril acima de 40%. Vários estudos randomizados avaliaram a utilização dos G-CSF no manejo inicial do paciente neutropênico febril (BENNET *et al.*, 1999; SUNG *et al.*, 2007). O guia de recomendações da *American Society of Clinical Oncology* de 2006 não recomenda o uso rotineiro de G-CSF no tratamento de pacientes neutropênicos febris (SMITH *et al.*, 2006). Seu uso deve ser individualizado para casos de neutropenia grave ( $<100$  células/mm<sup>3</sup>), tempo prolongado de neutropenia ( $> 10$  dias), critérios clínicos de sepse, infecção fúngica invasiva e idade superior a 65 anos (KLASTERSKY *et al.*, 2000).

## 2.4 Marcadores inflamatórios

A tentativa de se prever a ocorrência de febre durante os episódios de neutropenia parte da necessidade de se reduzir o uso empírico de antibióticos de largo espectro e de melhorar os desfechos desses episódios (ENGEL *et al.*, 1998). Diversas substâncias poderiam, em tese, ser utilizadas para avaliar a ocorrência de infecção em pacientes com neutropenia. As proteínas de fase aguda (e.g., proteína C reativa, fibrinogênio, C3, C4, ácido- $\alpha$ -2glicoproteína, amiloide sérico A) são sintetizadas principalmente pelos hepatócitos e por macrófagos ativados em sítios inflamatórios. A proteína C reativa (PCR) é a principal proteína de fase aguda e aumenta significativamente em vários processos inflamatórios. Ela tem sido largamente utilizada na clínica diária, mas eleva-se muito tardiamente após o insulto infeccioso, tornando-se inadequada como marcador precoce de infecção em pacientes neutropênicos (BEUTLER, 2004).

Em 1960, observou-se que o sobrenadante de culturas de leucócitos apresentava substâncias quimioatrativas de granulócitos e monócitos. Nos últimos 20 anos, muitas dessas substâncias quimioatrativas e seus receptores foram purificados e clonados, revelando uma família em expansão contínua de citocinas quimiotáticas homólogas, conhecidas como quimiocinas (BAGGIOLINI *et al.*, 1994; BEN-BARUCH *et al.*, 1995).

Verifica-se rápido aumento do número de investigações sobre esses marcadores inflamatórios por causa das suas ações sobre os leucócitos e sobre o processo inflamatório em geral. Seu papel no crescimento de tumores não é claro, mas está bem documentado que as linhagens de células malignas produzem grandes quantidades de quimiocinas diferentes (BAGGIOLINI *et al.*, 1997; VINANTE *et al.*, 1998).



### 2.4.1 Citocinas

O termo citocina ou imunocitocina foi inicialmente usado para separar um grupo de proteínas imunomoduladoras, chamadas também de imunotransmissores, de um grupo de fatores de crescimento ou peptídeos reguladores que modulavam a proliferação e bioatividade de células não-imunes (MURPHY, 1994). Essa terminologia, entretanto, sugere uma distinção que não pode ser mantida, já que algumas citocinas são produzidas por um número limitado de células e outras são produzidas por quase todos os tipos celulares (ROSSI; SLOTNIK, 2000). O conceito inicial “*one producer - one cytokine - one target cell*” foi retirado após alguns estudos iniciais. A nomenclatura das citocinas baseadas no tipo celular em que atuam ou nas atividades biológicas de que compartilham também é problemática (DINARELLO, 1990; MURPHY, 1994; BAGGIOLINI *et al.*, 1994; 1997).

Atualmente, o termo citocina é utilizado como um nome genérico para um grupo diverso de proteínas solúveis e peptídeos que atuam como reguladores hormonais, em concentrações nano ou picomolares, os quais, sob condições normais ou patogênicas, modulam as atividades funcionais das células e tecidos. As citocinas agem sobre um número maior de células do que os hormônios e também não são necessariamente produzidas por células especializadas. A maioria delas não apresenta atividades enzimáticas. As citocinas compreendem as interleucinas (que inicialmente se pensava serem produzidas por leucócitos), as linfocinas (que inicialmente se pensava serem produzidas por linfócitos), monocinas, interferons, fatores estimuladores de colônia, quimiocinas e várias outras proteínas. A maioria das citocinas é glicoproteína produzida pelas células através dos padrões clássicos de secreção. Geralmente não se apresentam estocadas nas células e sua produção e liberação são influenciadas por estímulos variados (BAGGIOLINI *et al.*, 1997).

Quimiocinas constituem uma superfamília de citocinas pró-inflamatórias envolvidas em uma variedade de respostas imunes, agindo primariamente como ativadores de leucócitos e como quimiotáticos. Apresentam atividade em processos alérgicos, doenças infecciosas, doenças autoimunes, angiogênese,

inflamação, crescimento tumoral e desenvolvimento hematopoiético (BAGGIOLINI; DAHINDEN, 1994).

As quimiocinas (ou citocinas quimiotáticas) são pequenas proteínas solúveis (8-10kDa) compostas de 92 a 125 aminoácidos e têm como característica comum a existência de quatro moléculas de cisteína (BAGGIOLINI; *et al.*, 1997). Já foram descritas cerca de 50 quimiocinas humanas que são separadas em quatro famílias de acordo com a posição e funções dos seus dois primeiros resíduos de cisteína (BAGGIOLINI; *et al.*, 1997). São ainda classificadas em quatro subgrupos: ALFA (CXC), BETA (CC), DELTA (CX3C) – nos quais X é o aminoácido e C é a cisteína (SCHALL; BACON, 1994; BAGGIOLINI; *et al.*, 1997) – e GAMA (C), que apresenta somente a segunda e a quarta cisteína presentes nas outras quimiocinas. Em humanos, os genes das quimiocinas CXC estão no cromossoma 4 e os das CCs no cromossoma 17. A maioria da quimiocinas encontra-se na forma de dímeros quando em solução (BAGGIOLINI; *et al.*, 1997; ROSSI; ZLOTNIK, 2000).

As mais recentes quimiocinas identificadas são da subfamília CC e incluem a eotaxina (JOSE *et al.*, 1994). As quimiocinas são produzidas e liberadas por extensa variedade de células durante a fase de resposta do hospedeiro a lesões, alérgenos, antígenos e microrganismos invasores. Além da habilidade de recrutar elevado número de células do sistema imune aos sítios de infecção e doença, as quimiocinas são mediadoras da imunidade natural, reguladoras da ativação, crescimento e diferenciação dos linfócitos e ativadoras de células inflamatórias inespecíficas (SALLUSTO *et al.*, 2000). Na imunidade natural, produtos microbianos, como o lipopolissacarídeo (LPS), estimulam diretamente os fagócitos mononucleares para que secretem suas quimiocinas em resposta à vigência de bactérias, vírus, parasitos e micobactérias.

#### **2.4.1.1 Mecanismo de ação**

O mecanismo de ação das quimiocinas inicia-se pela sua ligação ao receptor. Já foram descritos 18 receptores, entre eles cinco para as ALFA quimiocinas (CXCR1 a 5) e 10 para as BETA (CCR1-9) (SALLUSTO *et al.*, 2000). Essas estruturas apresentam duas moléculas de cisteína, uma no domínio NH<sub>2</sub>-

terminal e outra na terceira hélice extracelular que forma uma ponte dissulfídica importante para a conformação ao ligante. Pequenas modificações nessa porção podem reduzir drasticamente e qualitativamente a atividade das quimiocinas da subclasse CC (BAGGIOLINI; *et al.*, 1994; 1997).

Esses receptores são capazes de se ligar com alta afinidade a múltiplas quimiocinas no que se refere à especificidade do ligante (HARBARTH *et al.*, 2001), conforme mostrado no QUADRO 1. Já os ligantes de um receptor são quase sempre restritos a uma mesma estrutura de subclasse (ROSSI; ZLOTNIK, 2000; MURPHY, 2002). Muito foi esclarecido sobre a seletividade e a complexidade desse sistema (SPRINGER, 1994). O conceito anterior, de que as quimiocinas da subclasse CXC agiam primariamente em neutrófilos e as da subclasse CC sobre outros tipos de leucócitos, foi revisto após observação de que os receptores CXCR3 e CXCR4 realizam o recrutamento de linfócitos (LOETSCHER *et al.*, 1996). As quimiocinas da subclasse CXC apresentam alta afinidade com um único receptor (exceto a IL-8, que se liga ao CXCR1 e ao CXCR2) (HOLMES *et al.*, 1991). Os receptores CXCR1 e CXCR2 estão presentes em todos os neutrófilos e monócitos e em uma minoria de linfócitos. Encontram-se em culturas de melanócitos, fibroblastos, tecido cutâneo inflamado e nas lesões por queimadura de tecido muscular liso (MOSER *et al.*, 1993). A MCP-1 e a eotaxina, que agem via CCR2 e CCR3, respectivamente, são os dois únicos marcadores que apresentam restrição à ligação aos receptores (SALLUSTO *et al.*, 2000).

## QUADRO 1

Receptores humanos de quimiocinas descritos até 2002 e seus ligantes

Receptor	Agonistas	Principais Funções
<b>SUBGRUPO</b>	<b>CXC</b>	
<b>CXCR1</b>	<b>CXCL8</b>	Migração de neutrófilos, imunidade inata, inflamação aguda.
<b>CXCR2</b>	<b>CXCL1-3; CXCL5-8</b>	Migração de neutrófilos, imunidade inata, inflamação aguda, angiogênese.
<b>CXCR3</b>	<b>CXCL9-11</b>	Migração de célula T, imunidade adaptativa.
<b>CXCR4</b>	<b>CXCL12</b>	Linfopoiese de célula B, hematopoiese
<b>CXCR5</b>	<b>CXCL13</b>	Desenvolvimento linfóide, migração de célula B
<b>CXCR6</b>	<b>CXCL16</b>	Migração de célula T
<b>SUBGRUPO</b>	<b>CC</b>	
<b>CCR1</b>	<b>CCL3, CCL5, CCL7, CCL8, CCL13-16, CCL23</b>	Migração de monócito e célula T, imunidade inata e adaptativa, inflamação
<b>CCR2</b>	<b>CCL2; CCL7, CCL8, CCL13</b>	Migração de monócito e célula T, imunidade inata e adaptativa.
<b>CCR3</b>	<b>CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CCL13, CCL15, CCL24, CCL26</b>	Migração de eosinófilo, basófilo e célula T, inflamação alérgica
<b>CCR4</b>	<b>CCL17, CCL22</b>	Migração de monócito e célula T, inflamação alérgica.
<b>CCR5</b>	<b>CCL3, CCL4, CCL5, CCL8, CCL14</b>	Migração de monócito e célula T, imunidade inata e adaptativa, infecção pelo HIV
<b>CCR6</b>	<b>CCL20</b>	Migração de célula dendrítica
<b>CCR7</b>	<b>CCL19, CCL21</b>	Migração de célula dendrítica e célula T, desenvolvimento linfóide, resposta imune primária.
<b>CCR8</b>	<b>CCL1, CCL4, CCL17</b>	Tráfego de célula T
<b>CCR9</b>	<b>CCL25</b>	Retorno da célula T ao intestino.
<b>CCR10</b>	<b>CCL26-28</b>	Retorno da célula T à pele
<b>SUBGRUPO</b>	<b>CX<sub>3</sub>C e C</b>	
<b>CX<sub>3</sub>CR1</b>	<b>CX<sub>3</sub>CL1</b>	Tráfego e adesão de célula T e célula NK, imunidade inata e adaptativa, inflamação Th1
<b>XCR1</b>	<b>XC1-2</b>	Tráfego de célula T

NK: *natural killer* (MURPHY, 2002).

Após a ligação da quimiocina ao receptor, composto de sete domínios transmembrana acoplados à proteína G, há uma rápida reconfiguração das proteínas de adesão, com as integrinas B na superfície das células facilitando a adesão endotelial (DAAKA *et al.*, 1998). Em seguida, esses leucócitos migram entre endotélio e tecidos, estimulados pelo crescente coeficiente de concentração das quimiocinas ao sítio de origem (FOXMAN *et al.*, 1997). Em resposta à concentração mais elevada de quimiocinas no sítio da lesão tecidual ou da invasão microbiana, os leucócitos são ativados a liberar seus grânulos e aumentar a produção de interleucinas (BAGGIOLINI; *et al.*, 1997). Os receptores solúveis regulam os eventos inflamatórios e imunes, funcionando como agonistas ou antagonistas desses marcadores inflamatórios (LEVINE, 2004; 2008).

Devido à sua carga positiva, as quimiocinas se ligam a moléculas de proteoglicanos sulfatados presentes na superfície das células ou na matriz extracelular. Uma vez secretadas, elas tendem a permanecer concentradas localmente, formando gradientes estáveis (FOXMAN *et al.*, 1997). A imobilização das quimiocinas é especialmente importante para as células endoteliais que estão expostas ao fluxo sanguíneo. As quimiocinas expostas na superfície dessas células endoteliais podem ser também sintetizadas pela própria célula ou ser adquiridas do meio extracelular. As células endoteliais podem endocitar as quimiocinas do tecido e transportá-las para a parte luminal.

A secreção de citocinas é um evento breve e autolimitado, já que a síntese é iniciada, geralmente, por nova transcrição gênica transitória, de acordo com a necessidade. Elas podem ficar estocadas em grânulos e ser mobilizadas rapidamente, quando necessário, o que promove um tipo de memória após o primeiro contato com o estímulo e possibilita o imediato recrutamento de leucócitos sem a necessidade de nova síntese (RICHARDSON *et al.*, 1995; SALLUSTO *et al.*, 2000).

Várias quimiocinas são mutuamente indutoras e o conceito de uma “cascata de citocinas” justificaria a produção de vários fatores que ocorrem em resposta à elaboração de um membro do grupo. O papel central das quimiocinas na reação inflamatória tem sido demonstrado por numerosos estudos. A administração local de quimiocinas, por exemplo, da IL-8 através de injeções subcutâneas, resulta em reação inflamatória aguda que é dominada pela

inflamação de neutrófilos (BAGGIOLINI; DAHINDEN, 1994). A infiltração por células mononucleares mais tardiamente ocorre em resposta às quimiocinas CC como a MCP-1, RANTES e MIP-1 $\alpha$ . Do mesmo modo, tem sido demonstrada supressão de produção de quimiocinas com redução da resposta inflamatória após a neutralização com anticorpos (HUFFNAGLE *et al.*, 1995). As quimiocinas têm sido detectadas em tecidos e fluidos corporais por imuno-histoquímica ou técnicas de *enzyme-linked immunoassay* (ELISA).

As citocinas pirogênicas apresentam efeitos bem definidos na hematopoiese, inflamação e regulação do metabolismo celular. Elas interagem com receptores do endotélio vascular no hipotálamo e promovem a elevação térmica determinada pelo centro termorregulador. Esse mecanismo depende da produção endotelial de prostaglandina (PGE<sub>2</sub>). Uma única citocina não é capaz de promover febre de magnitude equivalente à da endotoxina bacteriana. Entretanto, a produção simultânea de várias citocinas seria suficiente para explicar a maioria dos episódios de febre. Quando se injeta TNF- $\alpha$  em coelho, imediatamente a temperatura corporal se eleva e um segundo pico febril é registrado logo após, possivelmente pela produção secundária de IL-1 (BEUTLER, 2004).

#### **2.4.1.2 Interleucina-8 (IL-8)**

A interleucina-8 (IL-8) foi a primeira quimiocina a ser descrita, há mais de 20 anos. Ela forma dímeros globulares em solução, mas é funcional também na forma de monômero. Os dois receptores para IL-8, CXCR1 e o CXCR2 são expressos em neutrófilos, que compartilham 77% de identidade entre seus aminoácidos. A fosforilação das serinas na região COOH-terminal do receptor CXCR1 leva à dessensibilização após a estimulação pela IL-8. Os receptores estão presentes também em monócitos, basófilos e eosinófilos, mas a resposta dessas células à IL-8 é muito mais fraca quando comparada à dos neutrófilos (BAZZONI *et al.*, 1991). A razão de neutrófilos e linfócitos após a injeção de IL-8 foi de 45:1; e após TNF- $\alpha$  ou IL-1 $\alpha$  foi de 5:1 (COLDITZ; WATSON, 1992).

Uma das principais funções da IL-8 é promover a quimiotaxia de neutrófilos, servindo também como fator ativador de neutrófilos. Estimula a proliferação endotelial e promove a vascularização (BAZZONI *et al.*, 1991). Quando injetada por via intradérmica, ela interage com a matriz de glicosaminoglicanos e permanece confinada nesse local, o que confirma que a migração de leucócitos se verifica em meio sólido por um gradiente de concentração (COLDITZ *et al.*, 1990).

#### **2.4.1.3 Fator de necrose tumoral (TNF)**

O fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) é derivado do fagócito mononuclear e de outras células; e o fator de necrose tumoral beta (TNF- $\beta$ ) é derivado de fibroblastos, entre outras células. A afinidade do TNF com seu receptor é baixa, contudo, ele é sintetizado em grandes quantidades e os receptores estão presentes em quase todos os tipos celulares examinados (SCHALL *et al.*, 1990; TRACEY; CERAMI, 1993a).

O TNF é o principal mediador da resposta do hospedeiro a bactérias gram-negativo, podendo também desempenhar importante papel na resposta a outros organismos infecciosos. O LPS, em baixas concentrações, estimula a função dos mononucleares e atua como ativador policlonal de linfócitos B, que contribuem para eliminação de bactérias invasoras (STRIETER *et al.*, 1993). O TNF estimula os fagócitos mononucleares a produzirem citocinas como IL-1, IL-6 e IL-8 e atua sobre hepatócitos aumentando a síntese do amiloide A sérico. As IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , apesar de incapazes de produzir choque, causam efeitos similares aos do TNF- $\alpha$  e respostas sinérgicas podem ser notadas (TRACEY; CERAMI, 1993b; BEUTLER, 2004).

Entre os principais efeitos induzidos pelo TNF estão a capacidade de produzir várias manifestações do choque séptico, de ser mediador dos efeitos deletérios das endotoxinas bacterianas, incluindo febre, anorexia, necrose tumoral, reabsorção óssea, ativação de neutrófilo, aumento da adesividade das células endoteliais, e de ter efeitos procoagulantes (TRACEY; CERAMI, 1994; BEUTLER, 2004).

Evidências experimentais sugerem que o TNF está envolvido na proliferação de blastos leucêmicos (VINANTE *et al.*, 1998).

#### **2.4.1.4 Receptores solúveis do TNF (sTNFR)**

São descritos dois receptores solúveis do TNF, o receptor solúvel I do TNF (sTNFRI) e o receptor solúvel II do TNF (sTNFRII), que podem ser mensurados na circulação e urina de indivíduos saudáveis. Estão presentes em virtualmente todas as membranas celulares, com exceção dos eritrócitos, e se ligam ao TNF com afinidades semelhantes (VINANTE *et al.*, 1998).

Os níveis de sTNFRI (massa de 55kD-p55) são mais facilmente mensuráveis que o TNF- $\alpha$ , constituindo-se em marcador confiável de citocinemia (GELAPE *et al.*, 2007). O sTNFR é um marcador de inflamação mais precoce que o próprio TNF (KERN *et al.*, 1995). Apresenta meia-vida curta, entre 6-20 minutos (TRACEY; CERAMI, 1994). Os níveis desses receptores solúveis em indivíduos saudáveis são estáveis. Os níveis séricos de ambos correspondem diretamente ao índice de massa corporal e à idade (ADERKA *et al.*, 1992).

Após a ligação ao TNF, esses receptores são parcialmente internalizados e os domínios extracelulares (sTNF-p55 ou sTNFRI e sTNF-p75 ou sTNFRII) são liberados na circulação, por clivagem proteolítica, como fatores anti-inflamatórios. Essas porções solúveis competem com receptores de superfície para o TNF, podendo neutralizar ou modular as atividades do próprio TNF. Esses receptores podem também funcionar como carreadores do TNF e como reservatório de controle de liberação do TNF (SCHALL *et al.*, 1990; KRAJCIK *et al.*, 2003).

A concentração desses receptores está aumentada em pacientes portadores de doenças infecciosas e se eleva após a administração de endotoxina em indivíduos normais (SPINAS *et al.*, 1992; Van ZEE *et al.*, 1992; ROGY *et al.*, 1994). A sua produção nos pacientes que apresentam sepse pode constituir importante mecanismo de defesa, capaz de atenuar as consequências hemodinâmicas e pró-inflamatórias do TNF. Essas quimiocinas se ligam ao próprio TNF e, como não induzem a transdução do sinal, funcionam como inibidores do TNF, especialmente quando estão presentes em grandes quantidades.



Evidências sugerem que o TNF está envolvido na proliferação de células da leucemia aguda, induzindo a transcrição de genes de outras quimiocinas, receptores e promotores de apoptose. Os níveis de sTNFR estão significativamente mais altos nos portadores de leucemia mieloide aguda (LMA – mediana de sTNFR I de 3.750 ng/mL e sTNFR II de 4.720 ng/mL) e de leucemia linfoblástica aguda (LLA – mediana de sTNFR I 2.950 ng/mL e sTNFR II de 4.560 ng/mL) do que nos indivíduos saudáveis (1.980 ng/mL e 2.370 ng/mL, respectivamente), porém nenhuma correlação com a sobrevida foi feita com a LLA. Níveis mais altos de sTNFR I (> 3.750 ng/mL) foram associados à menor sobrevida livre de doença e sobrevida geral nos portadores de LMA (VINANTE *et al.*, 1998). Rozlyn *et al.* (*apud* KRAJCIK *et al.*, 2003) não referiram associação dos níveis séricos de sTNFR ou de TNF com o risco de se desenvolver câncer de mama.

#### **2.4.1.5 Proteína quimiotática de monócito-1 (MCP-1)**

A MCP-1 foi o primeiro membro da subclasse CC a ser caracterizado biologicamente e é chave para o recrutamento e a ativação dos leucócitos, principalmente monócitos, linfócitos T e basófilos, durante a inflamação aguda. Sequencialmente, foram também identificadas a MCP-2, MCP-3 e MCP-4. Nos basófilos, a MCP-1 é altamente eficaz em estimular a liberação de histamina e leucotrienos. São potentes ativadores e quimioatrativos de linfócitos T. Sobre as mesmas condições, a MCP-1, MCP-3 e MCP-4 atraem mais células que o RANTES e as proteínas inflamatória de macrófagos (MIP) MIP-1 $\alpha$  e MIP-1 $\beta$  a atravessarem filtros cobertos por células endoteliais. São capazes de estimular a lise de células-alvo pelas células NK provenientes da corrente sanguínea (LEONARD *et al.*, 1991).

Está presente no gene JE do cromossomo 17. Apresentam uma prolina piroglutamato no NH<sub>2</sub>-terminal e são estruturalmente semelhantes à eotaxina (a sequência de aminoácidos coincide em até 71%). Essa região é importante no reconhecimento e ativação pelo receptor e a deleção dessa porção resulta na diminuição em pelo menos 50% na atividade de monócitos e basófilos (BAGGIOLINI; *et al.*, 1997; LEONARD *et al.*, 1993).

É expressa nos monócitos, células do endotélio vascular, células musculares lisas, células do mesângio glomerular e osteoblastos. Quando se observa efeito da ausência da MCP-1 na expressão da trama das quimiocinas em cobaias, há superprodução de outras quimiocinas (IL-1 $\beta$ , MIP-2, IL1ra, CCR5, CCR3, IL-11) e diminuição de outras (CCR4) (LEONARD; YOSHIMURA, 1990). Sabidamente, os lipopolissacárides bacterianos, IL-1, TNF e o interferon gama (IFN- $\gamma$ ) induzem a produção de mRNA dessa quimiocina nas células mononucleares sanguíneas (FERREIRA *et al.*, 2005).

#### **2.4.1.6 Proteína inflamatória de macrófago-1 alfa (MIP-1 $\alpha$ )**

É uma das quimiocinas da subclasse CC e encontra-se predominantemente na forma de monômeros. Foi descrita inicialmente como regulador da hematopoiese e inibidor da proliferação das células-tronco (GRAHAM *et al.*, 1990). Apesar da constatação de que ela não era responsável pelas alterações na medula óssea em cobaias, ainda é considerada um potente estimulador da produção e liberação de leucócitos da medula óssea (COOK, 1996; SHERRY *et al.*, 1988).

A presença de MIP-1 $\alpha$ , MCP-1 e IP-10 foi demonstrada por imunohistoquímica nos tecidos de pacientes portadores de infecção gengival confirmada e a ausência desses marcadores em tecidos saudáveis sugere que essas quimiocinas podem ser responsáveis pela modulação do processo infeccioso local (KABASHIMA *et al.*, 2002).

#### **2.4.1.7 Eotaxina**

Pertence à subfamília CC e age seletivamente no recrutamento dos eosinófilos. O termo “eotaxin” é originário do momento da descoberta quando isolada do fluido broncoalveolar de cobaias alérgicas e logo após foi identificada e clonada nos humanos, com 60% de semelhança genética (JOSE *et al.*, 1994). Os eosinófilos humanos expressam elevado número de receptores CCR3 para a

ligação com a eotaxina. A eotaxina, o RANTES e a MCP-3 reconhecem e se ligam a esse receptor.

Ao contrário das outras quimiocinas da subfamília CC, a eotaxina é altamente específica desse receptor. É inativa em neutrófilos e monócitos, os quais não parecem expressar CCR3, mas apresenta fraca a moderada atividade quimiotática à interleucina 2 (IL-2) liberada pelos linfócitos T. Essa quimiocina atrai exclusivamente eosinófilos e sua expressão é estimulada em modelos animais durante reações inflamatórias alérgicas e em sítios onde se acumulam os eosinófilos no homem (PONATH *et al.*, 1996a). Devido à sua preferencial e poderosa ação sobre esse tipo celular e sua ocorrência em diferentes espécies, a eotaxina é considerada a quimiocina mais relevante na fisiopatologia de condições alérgicas e na asma (PONATH *et al.*, 1996b).

Em altas doses, a eotaxina é quimiotática para um pequeno número de monócitos, possivelmente pela baixa afinidade dessa célula com o receptor CC (BAGGIOLINI; *et al.*, 1997; PONATH *et al.*, 1996b).

#### **2.4.1.8 Proteína induzida 10 (IP-10)**

A IP-10 (proteína induzida) é uma quimiocina CXC induzida pelo IFN $\gamma$ , o qual está associado a reações cutâneas de hipersensibilidade tardia (SALLUSTO *et al.*, 2000).

O receptor específico para a IP-10 e o Mig (quimiocina também induzida pelo IFN $\gamma$ ) é o CXCR3, o qual presumivelmente encontra-se expresso em linfócitos T ativados de forma seletiva. A restrição da expressão e seletividade de um único receptor em células T sugere que a IP-10 e o Mig influenciam na regulação do recrutamento de linfócitos e na formação de infiltrados linfóides observados nas lesões inflamatórias autoimunes, reações de hipersensibilidade tardia, algumas infecções virais e alguns tumores (LUSTER; RAVETCH, 1987).

Ela promove a quimiotaxia de monócitos humanos, linfócitos T, células NK, é angiostática e ajuda no remodelamento e na cicatrização de feridas (TAUB *et al.*, 1993; 1996).

## **2.4.2 Procalcitonina (PCT)**

A procalcitonina (PCT) é um propeptídeo da calcitonina normalmente produzida na glândula tireoide (células C) e em menor quantidade nas células neuroendócrinas dos pulmões. A molécula de PTC possui 116 aminoácidos e apresenta meia-vida longa de cerca de 30-35 horas (BLIJLEVENS *et al.*, 2000). Em indivíduos saudáveis, os níveis séricos de PCT são mínimos ou indetectáveis (ORTEGA *et al.*, 2004). Em condições inflamatórias, notadamente aquelas associadas a infecções bacterianas, os níveis séricos de PCT mostram-se elevados, por vezes, milhares de vezes acima dos valores normais (KARZAI *et al.*, 1997). Após a administração de endotoxina, os níveis séricos de PCT elevam-se em 2-3 horas, com pico em 6-8 horas, atingindo um platô em 24 horas (SAKR *et al.*, 2008; SECMEER *et al.*, 2007).

## **2.5 Uso dos marcadores inflamatórios na neutropenia febril**

### **2.5.1 Uso dos marcadores inflamatórios como instrumento diagnóstico e prognóstico de infecção**

Recentemente, o uso das concentrações plasmáticas de diversas citocinas e proteínas de fase aguda tem sido proposto como ferramenta diagnóstica e prognóstica nos pacientes neutropênicos após a ocorrência da febre. Vários estudos associaram níveis séricos de diferentes marcadores inflamatórios ao desenvolvimento de bacteremia, sepse ou até mesmo a estratificação do paciente com mínimo risco de complicações (ENGERVALL *et al.*, 1995; ENGEL *et al.*, 1998; 1999; LEHRNBECHER *et al.*, 1999; KERN *et al.*, 2001).

Concentrações plasmáticas de PCR, PCT e citocinas pró-inflamatórias têm sido consideradas para avaliar a capacidade de identificar infecções bacterianas e fúngicas como causadoras de febre nos pacientes neutropênicos. A determinação dos níveis de IL-8 e IL-6, mais do que a PCR ou da PCT, tem ganhado ampla aceitação na capacidade de predizer infecções por gram-negativo

(ENGEL *et al.*, 1998; 1999; ENGERVALL *et al.*, 1995; LEHRNBECHER *et al.*, 1999; KERN *et al.*, 2001).

Durante episódios de neutropenia febril em portadores de neoplasias hematológicas, concentrações mais elevadas de TNF- $\alpha$  na hora da febre e até duas horas após foram reportadas nos pacientes que apresentavam bacteremias por bacilos gram-negativo. Os níveis de TNF- $\alpha$ , IL-1ra, IL-6 e IL-10 durante o período de 24 horas após a febre mostraram-se mais altos no grupo que desenvolveu infecção por bacilos gram-negativo em comparação com o grupo infectado por bactérias gram-positivo (ENGERVALL *et al.*, 1995).

Kern *et al.* (2001) relacionaram valores de IL-8 com bacteremia, principalmente por bactérias gram-negativo. Níveis séricos de IL-8 acima de 2.000 pg/mL apresentaram sensibilidade de 53% e especificidade de 97% como preditor de infecção por bacilos gram-negativo. Esse estudo também mostrou aumento na mortalidade em pacientes com níveis séricos de IL-8 acima de 2.000 pg/dL, sugerindo que esse subgrupo de pacientes deve ser abordado de maneira mais agressiva a fim de se evitarem desfechos clínicos desfavoráveis (KERN *et al.*, 2001).

Estudo suíço publicado em 2005 por Persson *et al.* (2005) investigou o valor preditivo da PCT, PCR, IL-6 e amiloide A sérico medidos no sangue periférico para determinar-se o curso clínico dos pacientes neutropênicos febris. Níveis séricos elevados de PCT e IL-6 apresentaram correlação com o desenvolvimento de complicações clínicas. Valores de IL-6  $\leq$  50 pg/mL e PCT  $\leq$  0,4 ng/mL no oitavo dia de febre relacionaram-se à ausência de novas intercorrências, sugerindo ser boa ferramenta na decisão de interromper a antibioticoterapia.

Pesquisas recentes indicam que a associação de critérios clínicos com diversos parâmetros laboratoriais, como a concentração plasmática de IL-8, IL-6 e PCT, pode ser mais útil para a classificação de pacientes de alto risco em relação à evolução do episódio de neutropenia febril (ENGEL *et al.*, 1998; De BONT *et al.*, 1999; STRYJEWski *et al.*, 2005).

Em acompanhamento prospectivo recente com 76 crianças neutropênicas apresentando neoplasias hematológicas para avaliar padrões de estratificação de risco, El-Maghraby *et al.* (2007) concluíram que baixos níveis de PCR, MCP-1 e

IL-8 podem identificar pacientes com febre de origem indeterminada (grupo I com n=26); altos níveis desses marcadores podem ajudar no diagnóstico dos episódios de infecção bem documentada, i.e., bacteremia, sepse clínica bem documentada, infecção localizada ( $p < 0,001$ ). As dosagens eram obtidas 24 horas após o início da febre (85 episódios) e correlacionadas com a clínica dos pacientes. Os níveis séricos elevados de PCR foram os melhores preditores de bacteremia. Valores  $\geq 90$  mg/L estavam relacionados à bacteremia por bacilos gram-negativo. Os autores recomendaram a utilização de mais de um marcador na abordagem da neutropenia febril. Quando comparadas entre si, a PCR, IL-8 e MCP-1 apresentavam valor preditivo semelhante para identificar a gravidade clínica dos episódios de neutropenia febril, embora a MCP-1 possuísse a melhor especificidade (92,3%) e valor preditivo positivo (VPP) (95%). A alta especificidade e VPP devem aumentar a sua utilidade no início do tratamento empírico do NF. Poderiam ser usados dois ou três marcadores em um grupo selecionado de pacientes com potencial redução do custo final do tratamento.

Harbarth *et al.* (2001) mostraram que a PCT é uma ferramenta de diagnóstico adequado e confiável marcador prognóstico para a avaliação da resposta ao tratamento de pacientes críticos com suspeita de sepse. Nos primeiros quatro dias após o início do quadro séptico, observou-se redução da PCT  $> 80\%$  em 89% dos sobreviventes e em nenhum dos pacientes que foram a óbito.

Alguns autores avaliaram a utilidade da dosagem da PCT em pacientes neutropênicos febris. Em um estudo prospectivo com pacientes neutropênicos apresentando neoplasias hematológicas ou tumores sólidos, constatou-se que a mediana dos níveis séricos de PCT no primeiro dia de febre foi de 8,23 ng/mL em pacientes com bacteremia, comparando com 0,86 ng/mL em pacientes com infecções localizadas ( $p=0,017$ ) (GIAMARELLOS-BOURBOULIS *et al.*, 2001). Além disso, esses valores foram de 2,62 ng/mL em pacientes com sepse grave, comparado com 0,57 ng/mL em pacientes com infecções localizadas ( $p=0,001$ ). Diminuição pronunciada nos níveis de PCT foi também referida em pacientes com febre de origem obscura e com resposta ao tratamento antimicrobiano em comparação aos pacientes sem resposta ao mesmo tratamento (HARBARTH *et al.*, 2001).

### 2.5.2 Marcadores inflamatórios e infecção: os estudos negativos

Várias pesquisas preconizam que as dosagens de IL-6 e IL-8 à admissão são valiosas ferramentas para prever infecção em pacientes portadores de neoplasias com neutropenia febril (De BONT *et al.*, 1999). Já que os níveis séricos de ambas são influenciados por promotores polimórficos definidos, avaliou-se como o genótipo desses promotores interferiria no valor diagnóstico dessas interleucinas, em acompanhamento prospectivo multicêntrico de 146 crianças neutropênicas portadoras de neoplasias hematológicas ou de tumores sólidos, apresentando febre há menos de 24 horas da internação. A IL-6 à admissão exibiu valores significativamente mais elevados em pacientes com bacteremia por organismos gram-negativo (n=18) que nos portadores de febre de origem não determinada (n=209) ou infecções bem localizadas (n=48), mas não se diferenciava dos níveis de IL-6 nos casos de pneumonia (n=15) ou bacteremia por gram-positivo (n= 21). Os níveis de IL-8 não variaram entre os diferentes tipos de infecções. Apesar dos promotores polimórficos IL-6 G-174C e IL-8 A-251T influenciarem as concentrações séricas das citocinas, seu genótipo não altera o valor das medidas das interleucinas, que se encontra elevado após contato com as endotoxinas. Essa análise mostra que as medidas realizadas à admissão possuem valor diagnóstico limitado para identificar uma infecção grave real (LEHRNBECHER *et al.*, 2004).

De Bont *et al.* (2000) publicaram trabalho no qual foi analisada a dosagem de PCT em neutropênicos febris estratificados em dois grupos clínicos diferentes: grupo I – pacientes com hemoculturas negativas e sem sinais e sintomas clínicos de infecção; grupo II – pacientes neutropênicos febris com hemoculturas positivas ou sinais e sintomas de infecção. Não houve diferença estatisticamente significativa dos níveis séricos de PCT capaz de diferenciar os pacientes nos dois grupos.

## 2.6 Uso dos marcadores inflamatórios como preditores de febre em pacientes com neutropenia

A identificação de infecções antes do advento da febre permitiria a utilização empírica de antibióticos mais precocemente, com os seguintes benefícios potenciais: melhora do prognóstico clínico, redução do tempo de tratamento antimicrobiano, do tempo de hospitalização e dos custos e limitação de efeitos colaterais secundários à terapia.

Pouco foi publicado sobre a capacidade dos marcadores inflamatórios de predizerem a existência de febre. A maioria dos trabalhos aborda as curvas dos níveis desses marcadores após a elevação térmica, como já visto. Os poucos estudos têm limitações, como pequeno número de participantes, heterogeneidade em relação ao recrutamento dos pacientes e a classificação em diferentes grupos de episódios febris.

Engel *et al.* (1994) relataram elevação nos níveis de IL-6 e IL-8 em 14 pacientes neutropênicos febris, com boa correlação entre os valores dessas interleucinas com a febre. Apesar de várias medidas antes e depois do pico da febre, muitos valores de TNF e da IL-1 $\beta$  foram indetectáveis.

Trabalho publicado em 1995 por Kern *et al.* mostra que o sistema celular responsivo ao TNF está ativo nos pacientes portadores de neoplasias hematológicas, pois se evidenciou elevada concentração dos dois receptores sTNFR I e sTNFR II, apesar da neutropenia e da monocitopenia. Esses autores não tinham o objetivo de analisar a capacidade dos sTNFRs em predizer a febre, porém, analisaram os níveis séricos de sTNFR I e sTNFR II em 14 pacientes portadores de neoplasias hematológicas, neutropênicos infectados, uma a duas horas antes da febre e compararam com os níveis em 20 indivíduos saudáveis (sTNFR I de  $1.300 \pm 300$  ng/mL e sTNFR II de  $2.800 \pm 500$  ng/mL). A mediana dos níveis de sTNFR I foi de 2.900 ng/mL e de sTNFR II foi de 3.400 ng/mL. Esses valores estavam elevados várias horas antes da febre e permaneceram assim após a defervescência. Concluiu-se que os receptores correspondem pobremente à elevação da temperatura ou resposta à terapia antimicrobiana. E que os níveis de sTNFR II tendem a se elevar ou se manter elevados por mais tempo que o sTNFR I (KERN *et al.*, 1995).



Engel *et al.* (1998) avaliaram as concentrações séricas das IL-8, IL-6 e PCR em pacientes neutropênicos oncológicos para estabelecerem o valor desses marcadores na predição de febre, de bacteremia por gram-negativo e de infecção complicada. A febre manifestou-se em 104 dos 191 episódios de neutropenia avaliados. A PCR e as interleucinas não foram preditoras de febre antes de 24 horas do seu início.

A PCT sérica tem sido proposta como um novo marcador de infecção bacteriana e fúngica. O estudo avaliou os níveis de PCT e IL-8 em 103 eventos de neutropenia febril e os vários tipos de infecção, dosados três vezes na semana (segunda, quarta e sexta-feira). O dia -1 representa o dia antes da febre e cobre o período de -40 a -16 horas antes da febre, com valores medianos de PCT que variaram de 0,16 a 0,23 ng/mL. Em 10 eventos os valores de PCT estavam acima de 0,5 ng/mL e em dois pacientes, superiores a 1 ng/mL. Comparando com os valores pré-febre, a mediana da PCT aumentou de 0,16 ng/mL no dia -1 para 0,34 ng/mL no dia +1 após a febre. As amostras foram obtidas 32 horas após a febre. O estudo não conseguiu prever a ocorrência desta, pois a PCT tem pouca capacidade de prognosticá-la (ENGEL *et al.*, 1999).

Goetz *et al.* (2002) avaliaram os níveis séricos de sTNFRII em 54 pacientes (59 episódios) com LMA como tentativa de diagnosticar precocemente sepse em neutropenia, como parte de um estudo multicêntrico piloto. Um total de 11 (20,4%) pacientes não teve febre e 19 (32,2%) exibiram foco de infecção bem documentado. Analisando toda a população, verificaram-se valores de medianas de sTNFRII no dia pré-febre de 4.055 pg/mL e no dia da febre de 4.536 pg/mL. Não foi possível demonstrar elevação significativa nos níveis de sTNFRII no dia da febre comparado ao dia anterior. As concentrações de sTNFRII também não foram preditoras da gravidade do episódio febril. Sendo assim, o artigo não recomenda seu uso como preditor de sepse e de febre nessa população.

Em 2009, foi publicado um trabalho sobre os níveis de receptor solúvel da interleucina 2 (sIL-2R), IL-6, IL-8, PCR, interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) e TNF- $\alpha$  em 22 pacientes com diagnóstico recente de neoplasias onco-hematológicas e virgens de tratamento em diferentes momentos. O grupo-controle foi composto de pessoas não-portadoras de neoplasias. No grupo de neutropênicos febris, as citocinas foram coletadas quatro horas após o início da febre. Em todos os

grupos analisados (não-neutropênicos antes da quimioterapia, período de neutropenia afebril, neutropênico febril, no período de recuperação medular já afebril), os níveis séricos de sIL-2R, IL-6, IL-8 e PCR estavam elevados em relação ao grupo-controle, com pico no período de neutropenia febril. Entretanto, no período de neutropenia afebril, os níveis de IL-6 em nove pacientes, sILR2 em cinco, PCR em quatro e a IL-8 em dois pacientes não se mostraram diferentes em relação aos níveis basais. A IL-8 foi a citocina que apresentou mais variação entre os diferentes momentos avaliados. As medianas dos níveis séricos de IL-8 estiveram elevadas, com diferenças estatisticamente significativas quando se comparou o grupo não-neutropênico antes da quimioterapia com o grupo-controle.

Ao se analisarem as medianas de IL-6 e de PCR no dia da febre com os níveis do grupo neutropenia afebril, houve elevação significativa ( $p < 0,001$ ). Os autores concluíram, porém, que a IL8 não consegue discriminar de maneira adequada os pacientes que irão apresentar febre. Como em outras pesquisas, os níveis séricos de citocinas e da PCR tiveram pico no período de neutropenia febril e retornaram aos valores basais após recuperação medular e da resolução da febre (BUYUKBERBER *et al.*, 2009).

## **2.7 Marcadores inflamatórios e diminuição dos custos**

Em 2005, Oude Nijhuis *et al.* publicaram um estudo avaliando a combinação da dosagem de IL-8 com parâmetros clínicos determinantes de gravidade para definir o tempo de internação hospitalar e os dias de tratamento antimicrobiano. Além disso, o estudo avaliou o custo-efetividade de se adicionar a dosagem de IL-8 e diminuir o tempo de internação. Os pacientes classificados como de baixo risco (níveis de IL-8 abaixo do valor de corte e ausência de sinais e sintomas de infecções ou de gravidade) recebiam alta hospitalar após 12 horas de observação sem tratamento antimicrobiano. Os classificados como de médio ou de alto risco recebiam tratamento habitual para neutropenia febril em regime hospitalar. Não houve falha no tratamento de nenhum dos classificados como de

baixo risco, com economia de aproximadamente € 471/paciente (OUDE NIJHUIS *et al.*, 2005).

## 2.8 Transplante de medula óssea e a tempestade de citocinas

O transplante de célula-tronco hematopoiética (CTH) apresenta uma série de complicações com morbidade e mortalidade relevantes habitualmente relacionadas ao condicionamento, à doença do enxerto contra o hospedeiro e às complicações infecciosas.

As complicações ligadas ao condicionamento podem se manifestar sob diferentes formas: doença veno-oclusiva hepática, pneumopatia intersticial, síndrome de extravasamento capilar, etc. Essa síndrome de lesão endotelial observada nesses casos decorre, de um lado, de lesões diretas do endotélio vascular e do epitélio e também da liberação de expressiva quantidade de citocinas, chamada tempestade de citocinas (HOLLER *et al.*, 1990).

A doença do enxerto contra o hospedeiro decorre da alorreatividade dos linfócitos do enxerto contra os antígenos de histocompatibilidade do hospedeiro (BILLINGHAM, 1966). Ela se divide em aguda, quando ocorre dentro dos 100 primeiros dias após o transplante, e crônica, quando se dá após o 100º dia (FERRARA *et al.*, 1999).

Os tecidos do hospedeiro são danificados pelo condicionamento ou pelas citocinas liberadas após o condicionamento ou após infecção (IL-1, IL-6, TNF-alfa, etc). Em decorrência disto, os órgãos-alvo da doença do enxerto contra o hospedeiro são sede de uma hiperexpressão de moléculas de histocompatibilidade e de moléculas de adesão. A seguir, esses linfócitos reconhecem os antígenos de histocompatibilidade (HLA) como estranhos ao organismo do receptor, proliferam e secretam IL-2. Esta, por sua vez, estimula as células mononucleadas do doador a secretarem um coquetel de citocinas inflamatórias, como IL-1, TNF- $\alpha$  e INF- $\gamma$ . A resposta inflamatória resultante dessa combinação amplifica as lesões teciduais (FERRARA *et al.*, 1999).

As complicações infecciosas são uma das principais causas de morbidade e mortalidade nos pacientes transplantados. Vários fatores de risco para infecções

estão presentes nesses pacientes, como o longo período de neutropenia, a toxicidade ligada ao condicionamento, a utilização de cateteres de longa permanência e intensa e prolongada imunossupressão causada, em parte, pela profilaxia da doença do enxerto contra o hospedeiro e, em parte, pela reconstituição da imunidade muito lenta – mais lenta ainda diante de uma doença do enxerto contra o hospedeiro (PIRSCH; MAKI, 1986; SAYER *et al.*, 1994; RICHARDSON; KOKKI, 1998; YUEN *et al.*, 1998). A maioria das infecções bacterianas ocorre nas primeiras três semanas após o transplante, o que corresponde usualmente à duração média da aplasia após o condicionamento (WILLIAMSON *et al.*, 1999; WINGARD, 1999).

A falha na pega do enxerto é uma complicação geralmente fatal após o transplante de medula óssea e, embora a incidência seja baixa em pacientes HLA idêntico, até 30% dos transplantados com medulas depletadas de células T apresentam tal complicação. Um trabalho publicado em 2004 avaliou o papel da IL-8 durante a pega do transplante de medula óssea alogênico (n=32) e após transplante autólogo com células-tronco periféricas (n=8). Houve relação inversa entre os níveis de IL-8 e o número de leucócitos e correlação direta com extensão da neutropenia ( $p < 0,0001$ ). Em quatro pacientes sem pega do enxerto, detectaram-se concentrações sustentadas de IL-8 ( $>300$  pg/mL). Essa elevação foi estatisticamente significativa e tão precoce quanto no dia 11 após o transplante, num momento em que não havia outro sinal iminente de falha de pega (SCHWABE *et al.*, 2004).

O resultado da avaliação procedida por Blijlevens *et al.* (2000) quanto ao uso de procalcitonina em pacientes pós-transplante alogênico de medula óssea na tentativa de se diferenciarem processos infecciosos e inflamatórios ressaltou que, apesar do baixo número de pacientes avaliados no estudo (12), PCT e PCR não foram capazes de discriminar eventos inflamatórios de infecciosos nos pacientes pós-transplante.

Outros autores analisaram a relevância da dosagem de PCT em 92 episódios de neutropenia febril em adultos após TMO. No primeiro dia de febre, os níveis de PCT não distinguiram entre febre de origem indeterminada e infecção clínica ou microbiologicamente documentada dos eventos febris não-infecciosos. Entretanto, quando a febre persistia por mais de cinco dias, os

valores de PCT  $\geq 3$  ng/mL apresentavam alta sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de aspergilose invasiva (ORTEGA *et al.*, 2004).

Em 2008, outra avaliação utilizou IL-6, IL-8, neopterin, PCR e PCT em portadores de neoplasias malignas ao diagnóstico, no início da neutropenia secundária à quimioterapia ou após o transplante de medula óssea e diariamente até seis dias após o início da febre. PCR e neopterin não se elevaram ao diagnóstico ou durante o início da neutropenia. Os níveis de PCT apresentavam-se significativamente elevados nos pacientes com bacteremia por bacilos gram-negativo após 24-48 horas da febre. Os pacientes com provável infecção fúngica tinham elevações nos níveis de PCT quando a febre persistia por mais de 4-5 dias. A PCR foi mais sensível em prever bacteremia, mas sua sensibilidade foi baixa (PRAT *et al.*, 2008).

## 2.9 Justificativa

Pacientes neutropênicos são especialmente vulneráveis ao desenvolvimento de infecções. Por outro lado, as manifestações clínicas indicativas de complicações infecciosas podem ser especialmente frustras nessa população. Febre representa o principal sinal clínico utilizado na prática médica como guia indicativo do início de tratamento antimicrobiano em pacientes neutropênicos. Ocorre que a febre pode se dar tardiamente ou mesmo não ocorrer, a despeito da presença de infecção grave e ameaçadora da vida. A atividade inflamatória relacionada à própria doença de base ou a que ocorre imediatamente após o condicionamento do transplante de medula óssea pode tornar-se um fator de confusão. Distinguir entre inflamação causada por alta carga tumoral, lise tumoral e/ou medicações/quimioterapia da inflamação causada por quadros infecciosos representa sério desafio no cuidado diário a esses pacientes.

Busca-se a identificação de fatores preditivos da existência de infecção que sejam mais precoces do que a febre e aplicáveis na rotina clínica. Uma possibilidade recai sobre os marcadores inflamatórios descritos nos últimos anos. São poucas as publicações nas quais se testou a capacidade dos marcadores inflamatórios anteciparem a ocorrência de febre como indicadores de infecção em pacientes neutropênicos. Alguns desses marcadores não foram ainda estudados no contexto específico da neutropenia e febre. Em tese, com base nos valores de citocinas dosadas sequencialmente, seria possível antecipar a utilização empírica de antibióticos, com possíveis reduções do tempo de tratamento antimicrobiano e de hospitalização, dos custos, da verificação de efeitos colaterais secundários à antibioticoterapia, além de contribuir para a melhora do prognóstico desses pacientes, sem indução de prejuízo ou dano ao paciente. Assim se justifica a realização do presente estudo.

## **3 OBJETIVOS**

### **3.1 Objetivo geral**

Avaliar o uso dos níveis séricos de diferentes marcadores inflamatórios como fatores preditivos da ocorrência de febre em pacientes com neutropenia induzida por quimioterapia ou secundária à doença de base hematológica ao diagnóstico ou em recidiva da mesma.

### **3.2 Objetivos específicos**

- Identificar a variação dos níveis séricos de diferentes marcadores inflamatórios em pacientes neutropênicos portadores de doenças hematológicas.
- Identificar a variação dos níveis séricos de diferentes citocinas/quimiocinas em pacientes submetidos à quimioterapia no momento do início da neutropenia, e diariamente até a ocorrência de febre.
- Correlacionar aumento ou redução dos níveis séricos de diferentes citocinas/quimiocinas com a ocorrência de febre.
- Determinar a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) da variação dos níveis séricos de diferentes citocinas/quimiocinas para o diagnóstico precoce de febre em pacientes neutropênicos.

## **4 PACIENTES E MÉTODOS**

### **4.1 Desenho do estudo**

Este é um estudo de coorte prospectivo observacional que foi conduzido no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (HC-UFMG). O HC-UFMG é um hospital geral com cerca de 400 leitos ativos, referência para o tratamento de neoplasias hematológicas e realização de transplante de células-tronco hematopoiéticas no estado de Minas Gerais. Esta pesquisa foi realizada em colaboração com o Laboratório de Imunofarmacologia do Departamento de Bioquímica e Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Laboratório Central do HC-UFMG (Laboratório de Biologia Molecular e de Hematologia), além da equipe de coleta do HC-UFMG.

### **4.2 Pacientes**

#### **4.2.1 Critérios de inclusão**

Foram incluídos pacientes internados no HC-UFMG, com diagnóstico de doença hematológica, que apresentaram todas as seguintes características:

- idade igual ou acima de 18 anos;
- neutropenia definida como contagem de neutrófilos  $\leq 500$  células/mm<sup>3</sup> ou de 500-1.000 células/mm<sup>3</sup>, com tendência à queda nos dois dias subsequentes;
- previsão de duração da neutropenia de, no mínimo, seis dias para os pacientes em tratamento quimioterápico;
- a inclusão foi feita sequencialmente no estudo, independentemente de sexo e de já terem participado deste estudo em episódio anterior.
- assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A).



#### 4.2.2 Critérios de exclusão

- portadores de doença não-hematológica causando a neutropenia;
- febre (temperatura axilar  $\geq 37,8^{\circ}\text{C}$  em duas medidas separadas por no mínimo uma hora ou uma medida isolada acima ou igual a  $38^{\circ}\text{C}$ ) nas últimas 48 horas que antecederam a inclusão no estudo;
- uso de terapia antimicrobiana no momento da inclusão ou em qualquer momento do episódio de neutropenia em curso;
- pacientes não encontrados no leito de referência ou em processo de alta hospitalar;
- portadores de neutropenias secundárias à deficiência carencial (vitamina B12 ou folato);
- pacientes criticamente enfermos (em ventilação mecânica e/ou com instabilidade clínica em uso de aminas vasoativas);
- portadores de condições especiais (deficiência mental, presidiários).

#### 4.2.3 Seleção dos participantes do estudo

Após a aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da UFMG (parecer nº ETIC 250/08) (ANEXO A), foi iniciada a seleção de participantes.

De setembro de 2008 a março de 2009 foram avaliados, para potencial inclusão na pesquisa, todos os pacientes internados no HC-UFMG que apresentavam neutropenia e idade acima de 18 anos, a partir de verificação diária, no período vespertino, dos hemogramas realizados pelo Laboratório do HC-UFMG. Para fins de triagem, foi considerada neutropenia uma contagem de neutrófilos  $\leq 1.000$  células/mm<sup>3</sup> (APÊNDICE B).

Após essa triagem, procedeu-se à busca pelo paciente no HC-UFMG, verificados os critérios de inclusão e de exclusão. Os pacientes selecionados foram convidados a participar do estudo e, caso aceitassem, eram incluídos após esclarecimento acerca dos objetivos e da metodologia.

Ao todo, foram triados 211 episódios de neutropenia, dos quais 41 foram selecionados para o estudo. Eles ocorreram em 33 pacientes, sendo que quatro

contribuíram com mais de um caso de neutropenia. Assim, 170 episódios foram excluídos. A TAB. 1 detalha os principais motivos de exclusão desses pacientes. Alguns pacientes internados pelo convênio não puderam ser incluídos, pela impossibilidade de contato com médico assistente no momento da neutropenia. E 20 episódios apresentaram mais de um critério de exclusão.

TABELA 1

Causas de exclusão observadas em 170 episódios de neutropenia triados

<u>Motivo de Exclusão</u>	<u>Número de Eventos (%)<sup>a</sup></u>
Presença de febre ou uso de antibióticos	88 (51,7%)
Doenças não-hematológicas <sup>b</sup>	23 (22,9%)
Paciente de convênio sem contato com médico assistente	15 (8,8%)
Paciente não encontrado no HC-UFMG	13 (7,6%)
Em processo de alta	7 (4,1%)
Paciente crítico (instabilidade clínica, ventilação mecânica)	7 (4,1%)
Reusou-se a participar do estudo	2 (1,2%)
Outros motivos	19 (11,1%)
Uso de ganciclovir	4 (2,3%)
Deficiência de vitamina B12	1 (0,6%)
Outros <sup>c</sup>	14 (8,2%)

<sup>a</sup> 20 episódios de neutropenia triados apresentaram mais de um motivo de exclusão da pesquisa.

<sup>b</sup> Portadores de tumores sólidos, transplante de outros órgãos, leishmaniose, síndrome da imunodeficiência adquirida.

<sup>c</sup> Entre os outros motivos estavam os pacientes sem diagnóstico definido e outras causas não especificadas na ocasião da triagem.

#### 4.2.4 Avaliação dos participantes do estudo

A coleta de dados clínicos e epidemiológicos foi realizada mediante o uso de questionário especialmente desenhado para o projeto. Um dos pesquisadores responsáveis (Ana Flávia Leonardi Tibúrcio Ribeiro), contando com auxílio de outro pesquisador e de um aluno de iniciação científica, encarregou-se da coleta de dados, em visitas diárias ao HC-UFMG (APÊNDICE C).

Todos os pacientes foram submetidos ao exame físico no dia da inclusão (chamado de D0) e, a partir dessa data, foi registrada a curva térmica (temperatura axilar a cada quatro horas) diariamente.

Os pacientes encontravam-se em diferentes estágios da doença hematológica e foram internados nas seguintes circunstâncias: diagnóstico recente ou recidiva de doença hematológica, para receber quimioterapias de consolidação, para submeter-se a transplante de células-tronco hematopoiéticas ou por complicações de progressão da neoplasia.

#### 4.2.5 Variáveis do estudo

As seguintes variáveis foram coletadas para análise:

- Idade;
- sexo;
- condição socioeconômica (ANEXO B);
- doença de base;
- estadio da doença;
- quimioterapia prévia ou em uso;
- performance *status* ECOG (OKEN *et al.*, 1982) (ANEXO C);
- comorbidades *segundo a escala elaborada por Charlson modificada* (CHARLSON *et al.*, 1987; SORROR *et al.*, 2005) (ANEXO D);
- contagens hematiméricas durante o período de estudo;
- temperatura axilar;
- nível sérico dos seguintes marcadores inflamatórios: TNF- $\alpha$ , sTNFR1, sTNFR2, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , eotaxina, IL-8, IP-10 e procalcitonina;
- uso de fator de crescimento hematopoiético (G-CSF);
- mucosite (NCI, 1999) (ANEXO E);
- uso de antibióticos profiláticos.

#### **4.2.5.1 Variáveis adicionais coletadas nos pacientes submetidos a transplante de medula óssea**

- Tipo de transplante (autólogo ou alogênico);
- compatibilidade HLA;
- tipo de enxerto (medula óssea, células-tronco periféricas ou sangue de cordão umbilical).

#### **4.2.6 Desfecho do estudo**

O desfecho avaliado no presente estudo foi a ocorrência de febre, conforme descrito anteriormente.

#### **4.2.7 Seguimento clínico**

Após a inclusão no estudo, os pacientes foram acompanhados diariamente pelos pesquisadores. O seguimento hospitalar foi de no máximo 28 dias ou até a resolução da neutropenia (neutrófilos > 1.000 células/mm<sup>3</sup>), alta hospitalar ou óbito.

Em agosto de 2009 foi realizado um último contato por telefone com os participantes ou verificado o retorno dos mesmos ao Ambulatório Borges da Costa para consulta médica.

#### **4.2.8 Tratamento do episódio de neutropenia febril**

Por ser um estudo observacional, as decisões propedêuticas e terapêuticas ficaram sob responsabilidade da equipe médica assistente, não vinculada diretamente a este projeto, e seguiram o protocolo do Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas. As dosagens dos níveis dos marcadores inflamatórios foram realizadas posteriormente à coleta de todos os dados da pesquisa. Portanto, não houve qualquer risco aos participantes, nem influência na conduta clínica.

Segundo o protocolo do Serviço de Hematologia, foram coletadas amostras para hemoculturas após a ocorrência de febre (duas amostras de sangue periférico e uma de cateter venoso central, quando presente). Outros exames complementares adicionais foram realizados, de acordo com a decisão da equipe médica assistente.

#### **4.2.9 Amostras biológicas**

Na manhã seguinte ao dia da inclusão, foi iniciada a coleta das amostras de sangue para dosagem dos marcadores inflamatórios. As amostras foram coletadas diariamente até o início da febre. Nos pacientes que não desenvolveram febre, a coleta estendeu-se até a manifestação de um dos seguintes eventos: resolução da neutropenia (polimorfonucleados  $> 1.000$ ), o 28º dia de seguimento contado a partir da data de entrada no estudo, alta hospitalar ou óbito do paciente.

As amostras foram incluídas na coleta dos exames de sangue de rotina (para evitar necessidade de outra punção venosa) à qual todo paciente neutropênico foi submetido. Foi realizada pela equipe de coletores do HC-UFMG. Em eventuais dias que os médicos assistentes não solicitaram exames, não foram obtidas amostras para a pesquisa. Assim, entre sete e oito horas da manhã, foram coletadas de cada paciente amostras de 5 mL de sangue periférico, utilizando-se recipientes a vácuo em tubos de *ethylenediamine tetraacetic acid* (EDTA) do sistema Vacutainer. Os tubos foram identificados com o número do paciente e a data da coleta, sendo enviados ao Laboratório de Biologia Molecular na Faculdade de Medicina da UFMG durante a semana ou ao Laboratório Central do Hospital das Clínicas durante os finais de semana para centrifugação, separação, acondicionamento e congelamento (vide seção 4.3).

As amostras obtidas foram transferidas em caixa térmica resfriada com gelo seco ao Laboratório de Imunofarmacologia do Departamento de Bioquímica e Imunologia do ICB no *Campus* Pampulha da UFMG. Lá, foram realizadas, no mesmo dia, as dosagens dos diferentes marcadores inflamatórios em bloco, após descongelamento (ALESSANDRI *et al.*, 2006; GELAPE *et al.*, 2007; GONÇALVES *et al.*, 2007).

Utilizou-se, para a dosagem dos marcadores inflamatórios, somente um dos tubos de *ependorf* armazenados. As alíquotas de plasma não processadas (“espelho”) seguem congeladas no *freezer* a  $-80^{\circ}$  graus.

Por questões de orçamento, optou-se pela dosagem dos marcadores inflamatórios no dia seguinte à inclusão ao estudo (chamado de D1), no dia anterior à febre e no dia da febre, caso tenham sido coletadas essas amostras. Para os pacientes que não apresentaram febre, optou-se pelas dosagens dos marcadores inflamatórios no dia seguinte ao da inclusão (D1), no dia correspondente à mediana de permanência no estudo (D mediana) e no dia correspondente à mediana do último dia de coleta (D mediana final).

O custo com insumos de *kits* de ELISA para as dosagens dos marcadores inflamatórios foi financiado por recursos próprios do Laboratório de Imunofarmacologia do Departamento de Bioquímica e Imunologia do ICB, coordenado pelo Professor Mauro Martins Teixeira. O preço médio da dosagem de um dos marcadores pelo método ELISA é de US\$ 2,70 (cada placa custa, em média, US\$ 250,00). Os insumos necessários para a coleta e armazenamento das amostras de sangue, assim como as dosagens de PCT, foram adquiridos com recursos do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical.

### 4.3 Métodos

Os hemogramas foram realizados nos aparelhos da marca *Sysmex* XE2.100D do Laboratório de Hematologia ou do Laboratório Central do Hospital das Clínicas.

As amostras de 5 mL de sangue, coletadas assepticamente em tubos de EDTA, foram centrifugadas à temperatura ambiente, com velocidade de 4.000 rotações por minuto (rpm), durante cinco minutos. Obteve-se, em seguida, o plasma sobrenadante com o auxílio de uma pipeta e armazenou-se 1 mL em cada um dos tubos tipo *ependorf*. As amostras alíquotadas foram acondicionadas em pequenas caixas plásticas no *freezer*  $-20^{\circ}$  C e depois transferidas para *freezer*  $-80^{\circ}$  C.

Foram, então, realizadas as dosagens dos marcadores inflamatórios em bloco. As amostras foram descongeladas e o excesso de proteínas removido pela precipitação em solução sal/ácido. As dosagens dos marcadores inflamatórios no plasma foram realizadas usando-se *kits* de ELISA *sandwich* (*Duaset R & D Systems*, Minneapolis, MN, USA), seguindo-se rigorosamente as instruções do fabricante. Resumidamente: misturou-se um volume de plasma igual ao volume da solução de 1,2% de ácido trifluoracético/1,35M de cloreto de sódio (NaCl) e a solução foi mantida em temperatura ambiente durante 10 minutos. Após esse período, as amostras foram centrifugadas durante cinco minutos a 10.000 rpm. Foi então corrigido o teor de sal do sobrenadante (0,14M de cloreto de sódio e 0,01M de fosfato de sódio) e do potencial de Hidrogênio (pH) (7,4), para a determinação da concentração dos marcadores inflamatórios.

Foram medidos os valores plasmáticos das interleucinas pela técnica de ELISA *sandwich* (*Duaset R & D Systems*, Minneapolis, MN, USA), com pares de anticorpos marcados para TNF- $\alpha$ , sTNFR1, sTNFR2, MIP-1 $\alpha$ , IL-8, eotaxina, IP-10 e MCP-1 dos pacientes. O limite de detecção do ELISA foi de aproximadamente 5 pg/mL para todos os marcadores inflamatórios.

As dosagens da procalcitonina no plasma foram realizadas no Laboratório Central do HC-UFMG pela técnica *Enzyme-Linked Fluorescent Assay* (ELFA), em ensaio automatizado no aparelho VIDAS bioMérieux. Após descongelamento, o plasma foi centrifugado durante cinco minutos a 10.000 rpm e pipetados 200  $\mu$ L em cada barrete com os reagentes já prontos para serem usados e já pré-repartidos. Todas as etapas do teste foram realizadas automaticamente. A amostra foi colhida e transferida para o poço que contém o anticorpo antiprocalcitonina marcado com fosfatase alcalina (conjugado). A mistura amostra/conjugado foi aspirada e depois dispersada pelo cone, permitindo ao antígeno ligar-se às imunoglobulinas fixadas no cone, formando, assim, um *sandwich*. Foram procedidas as etapas de revelação e o valor do sinal de fluorescência foi proporcional à concentração do antígeno presente na amostra. Em seguida, os resultados foram impressos.

No aparelho VIDAS PCT, o domínio de leitura do reagente estende-se de 0,05 a 200 ng/dL. Uma limitação encontrada refere-se ao fato da coleta para o estudo ter sido feita em tubo com EDTA, o que não é recomendado para a

medida de procalcitonina utilizando-se a metodologia descrita. O EDTA interfere na reatividade da fosfatase alcalina, enzima necessária ao processo de medida da PCT. Como forma de avaliar a confiabilidade dos resultados, os pesquisadores realizaram testes comparativos em 10 amostras coletadas em tubos com e sem EDTA. A variação determinada pela presença do EDTA nos resultados mostrou-se inferior 10% (dados não publicados).

#### **4.4 Normas de redação e estilo**

Para redação do trabalho, empregou-se, como referências, o Manual de Redação e Estilo de “O Estado de São Paulo” (MARTINS, 1990) e o Manual para normalização de publicações técnico-científicas (FRANÇA *et al.*, 2007) .

#### **4.5 Pesquisa e normalização bibliográfica**

A pesquisa e a normalização bibliográfica foram feitas a partir de consulta à base de dados da Bireme, Lilacs e Medline, disponíveis na Internet, utilizando-se busca com base em palavras-chave (*chemokines, cytokines, febrile neutropenia, infection, fever, antibiotic therapy*). As referências pesquisadas limitaram-se aos artigos de língua inglesa e portuguesa.

Foram procurados artigos relevantes na área de interesse e obtiveram-se dados em livros especializados, teses e livros de resumo de eventos científicos. Seguiram-se as normas de citações em documentos Normas Brasileiras de Referência (NBR 10520:2002) e referências (NBR 6023:2002) da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).



## 4.6 Estatística

### 4.6.1 Cálculo do tamanho da amostra

No HC-UFMG, aproximadamente 120 episódios de neutropenia febril foram notificados no primeiro semestre de 2007, ocorrendo em 100 pacientes com doença onco-hematológica ou após transplante de medula óssea (dados disponibilizados pela CCIH do HC-UFMG).

Este estudo foi, então, desenhado para incluir 40 episódios de neutropenia afebril, considerando-se incidência de 80% de febre nessa população estudada e intervalo de confiança de 95%.

### 4.6.2 Análise estatística

Diferenças nas variáveis contínuas foram analisadas pelo teste não-paramétrico de *Mann-Whitney* (amostras não pareadas). Variáveis categóricas foram avaliadas pelo teste exato de *Fisher*. A capacidade de cada marcador inflamatório em predizer a ocorrência de febre foi avaliada mediante a realização de *Receiver operator characteristic curve* (ROC). Por meios dessas curvas definiram-se os melhores valores de corte, considerando-se a melhor combinação de sensibilidade e especificidade. Foram calculados, ainda, o valor preditivo positivo (VPP) e o valor preditivo negativo (VPN) dos marcadores que se mostraram associados à febre.

Para conferência dos dados coletados, foram reverificados aqueles que se apresentaram discrepantes. Os resultados foram armazenados e analisados utilizando-se o pacote estatístico *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) versão 11. Foi considerado significativo o valor de  $p < 0,05$ . Não foi feita correção para múltiplos testes.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Demografia

Dos 41 episódios de neutropenia incluídos no estudo, nove foram excluídos da análise final por não apresentarem amostras coletadas no dia da febre. Entre os motivos da falta dessas amostras, estão a não-solicitação de exames de sangue pelo médico assistente, falha da equipe de coleta, material coagulado, volume do material insuficiente para análise ou extravio da amostra.

Assim, 32 casos de neutropenia presentes em 26 pacientes portadores de neoplasias hematológicas foram incluídos na análise final do estudo. Dessa população, oito não evoluíram com febre, sendo-lhes selecionadas as dosagens dos marcadores inflamatórios referentes aos dias D1, D mediana e D mediana final. Em relação aos eventos de neutropenia que apresentaram febre, foram selecionadas as amostras dos marcadores inflamatórios previstos no D1, Dpré-febre e Dfebre em 10 deles, do Dpré-febre e Dfebre em quatro, do D1 e pré-febre em um paciente, do Dpré-febre em um e somente do dia da febre em oito (*i.e.*, pacientes que apresentaram febre no dia seguinte à inclusão).

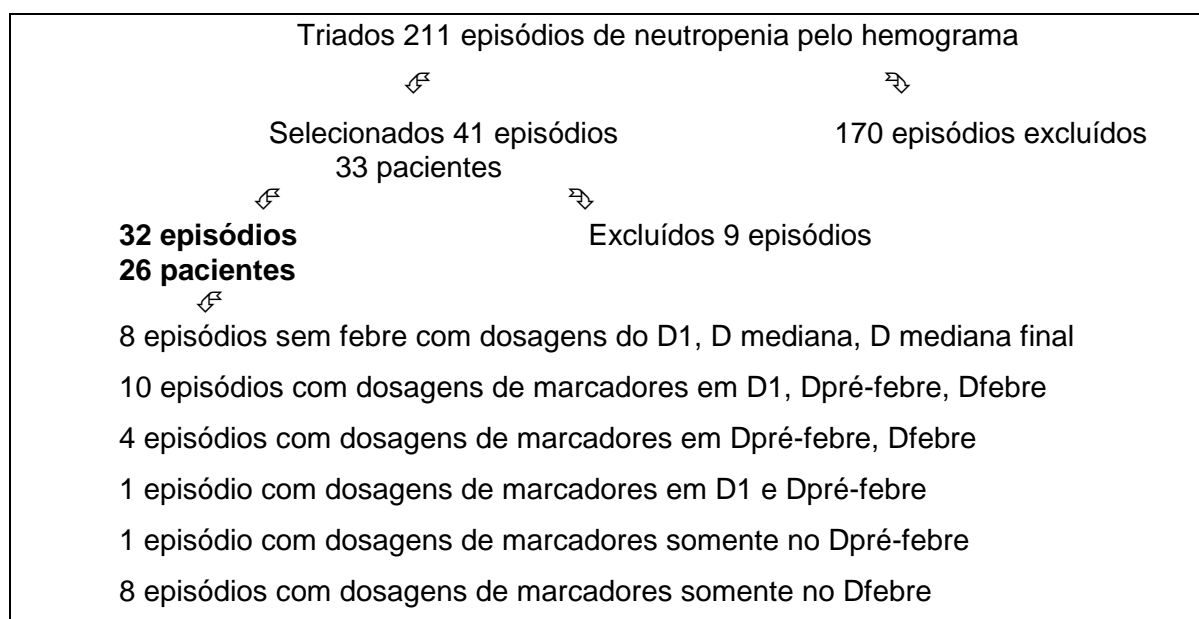


FIGURA 1 - Descrição da triagem da população de neutropênicos internados.

Desses 26 pacientes, 19 (73%) eram do sexo masculino e a mediana de idade foi de 36 anos (mínima de 18 anos e máxima de 69 anos). As doenças hematológicas de base apresentadas foram: leucemia mieloide aguda (LMA) em nove (35%) pacientes, linfoma não-*Hodgkin* (LNH) em seis (23%), mieloma múltiplo (MM) em quatro (15%), síndrome mielodisplásica (SMD) em três (11%), linfoma de *Hodgkin* (LH) em dois (8%), leucemia linfocítica aguda (LLA) em um (4%) e anemia aplásica em um (4%).

De acordo com a classificação socioeconômica, sete (26,9%) pacientes tinham nível C2, cinco (19,3%) nível B2, quatro (15,4%) nível C1, dois (7,7%) foram classificados como nível B1 e dois (7,7%) como nível E. Somente um (3,8%) paciente apresentou nível A2 e um (3,8%) nível D. Em quatro (15%) participantes essa classificação não pôde ser realizada, conforme dados mostrados na TAB. 2.

TABELA 2  
Dados epidemiológicos dos 26 participantes internados

<b><u>Dados epidemiológicos</u></b>	<b><u>n (%)</u></b>
<b>Sexo masculino</b>	19 (73%)
<b>Mediana de idade (mínimo-máximo)</b>	36 (18-69) anos
<b>Doença de base</b>	
Leucemia Mielóide Aguda	9 (35%)
Mieloma Múltiplo	4 (15%)
Síndrome Mielodisplásica	3 (11%)
Linfoma não- <i>Hodgkin</i>	6 (23%)
Linfoma de <i>Hodgkin</i>	2 (8%)
Anemia Aplásica	1 (4%)
Leucemia Linfoblástica Aguda	1 (4%)
<b>Classe socioeconômica</b>	<sup>a</sup>
A2	1 (3,8%)
B1	2 (7,7%)
B2	5 (19,3%)
C1	4 (15,4%)
C2	7 (26,9%)
D	1 (3,8%)
E	2 (7,7%)

<sup>a</sup> Em quatro pacientes não foi feita a classificação socioeconômica.

## 5.2 Descrição dos 32 episódios de neutropenia

No dia da inclusão no estudo, todos os episódios apresentavam neutrófilos  $\leq 1.000$  células/mm<sup>3</sup>, com mediana de 273 (mínimo de zero e máximo de 997) células/mm<sup>3</sup>. No dia da febre ou no dia da mediana de saída dos pacientes do estudo, 17 (53%) apresentavam número de neutrófilos igual ou inferior a 100 células/mm<sup>3</sup>. Os demais dados hematimétricos estão resumidos na TAB. 3.

De acordo com a escala de performance *status* do *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG), em 15 (47%) situações os participantes foram classificados como ECOG=1 e em 10 (31%) como ECOG=0. De acordo com a Escala de comorbidade de Charlson modificada, exceto um (3%) paciente que apresentou escore igual a seis, toda a população apresentou valores inferiores ou iguais a dois, conforme TAB. 3.

No momento da inclusão, em cinco casos (16%) os pacientes apresentaram tosse e, em dois deles (6,3%), expectoração. Não houve relato de algúria, disúria ou polaciúria. Em dois eventos (6%) havia sinais de infecção em sítio de acesso venoso e em um (3%) a existência de abscesso cutâneo, mas sem evidências de celulite ou erisipela e sem necessidade de tratamento antibiótico. Em relação à mucosite, somente os pacientes que foram submetidos ao transplante de medula apresentaram sinais de mucosite (cinco pacientes, 16% dos episódios).

Em três (9%) episódios os pacientes não haviam utilizado quimioterapia prévia e em um (3%) utilizou-se somente o ácido trans-retinoico (ATRA). Os esquemas de quimioterapia utilizados previamente à vigência de neutropenia foram o *Hyper-CVAD* em quatro (13%) episódios, citarabina associada à antraciclina em três (9%), citarabina em altas doses em três (9%), citarabina associada a corticoide e metotrexate em dois (6%), citarabina associada ao ácido trans-retinoico em um (3%) e o esquema ifosfamida, carboplatina, etoposide (ICE) também em dois (6%). Como regime de condicionamento dos pacientes submetidos ao transplante, foi usado o melfalano isolado em três (9%) episódios, fludarabina associada a bussulfano e alentuzumabe em três (9%) e o esquema BCNU, etoposide, ara-C, melfalan, dexametasona (BEAM) em dois (6%). Em cinco (18%) casos, outras medicações quimioterápicas foram utilizadas nesse período, como a ciclofosfamida associada ou não ao bussulfano, antraciclina associada a dexametasona e imatinibe e a hidroxiureia. Em 16 (50%) eventos foi utilizado o G-CSF após o início da neutropenia.

A mediana de tempo de permanência no estudo foi de três dias (mínimo de um e máximo de 27 dias).

TABELA 3  
Dados epidemiológicos observados nos 32 episódios de neutropenia

	<b><u>Mediana (mínimo – máximo) ou Número de episódios (%)</u></b>
Mediana de tempo de permanência no estudo	3 (1-27) dias
Mediana do número de neutrófilos no D0	273 (0-997) células/mm <sup>3</sup>
Número de episódios com neutrófilos no D0 ≤ 100 células/mm <sup>3</sup>	8 (25%)
Mediana do número de global de leucócitos no D0	835 (80-5250) células/mm <sup>3</sup>
Mediana dos níveis de hemoglobina no D0	9,2 (4,7-13,2) g/dL
Mediana do número plaquetas no D0	46.500 (3.000-208.000)/uL.
ECOG no D0	
0	10 (31,3%)
1	15 (46,9%)
2	4 (12,5%)
3	1 (3,1%)
4	2 (6,2%)
Escore de Charlson no D0	
0	26 (81,3%)
1	3 (9,4%)
2	2 (6,2%)
6	1 (3,1%)
Ausência de mucosite no D0	27 (84%)
Uso de G-CSF	16 (50%)

D0: Dia da inclusão no estudo.

### 5.3 Febre

A febre ocorreu em 24 (75%) dos episódios incluídos no estudo, com mediana de tempo de seu aparecimento de dois dias (mínimo de um dia e máximo de nove). No dia do surgimento da febre, observou-se que a coleta das amostras dos marcadores inflamatórios antecedeu o momento da febre numa mediana de 11 horas (mínimo de 1 hora e máximo de 15 horas). Em nenhum paciente a febre foi clinicamente associada à infusão de medicação ou à transfusão de hemoderivados.

Para os episódios de neutropenia que evoluíram sem febre, a mediana de permanência no estudo foi de 6,5 dias (mínimo de dois dias e máximo de 27). Somente quatro (50%) episódios que não apresentaram febre tinham mais de 500 neutrófilos por  $\text{mm}^3$  no final do seguimento. As TAB. 4 e 5 mostram os dados epidemiológicos dos pacientes e dos episódios de neutropenia que apresentaram ou não febre.

O APÊNDICE D mostra os dados epidemiológicos da população transplantada.

TABELA 4  
 Dados epidemiológicos dos pacientes neutropênicos  
 que apresentaram ou não febre

	<u>Pacientes afebris</u> <u>n (%) ou</u> <u>n (mínimo-máximo)</u>	<u>Pacientes febris</u> <u>n (%) ou</u> <u>n (mínimo-máximo)</u>
<b>Sexo masculino</b>	6 (75%)	15 (75%)
<b>Mediana de idade (mínimo-máximo)</b>	36 (18-69) anos	35 (20-64) anos
<b>Doença de base</b>		
Leucemia Mielóide Aguda	3 (37,5%)	7 (35%)
Mieloma Múltiplo	3 (37,5%)	4 (20%)
Síndrome Mielodisplásica	1 (12,5%)	2 (10%)
Leucemia Linfoblástica Aguda	1 (12,5%)	0
Mieloma Múltiplo	0	4 (20%)
Linfoma de <i>Hodgkin</i>	0	2 (10%)
Anemia Aplásica	0	1 (5%)
<b>Doença em atividade</b>	5 (62,5%)	11 (55%)
<b>Classe socioeconômica</b>		<sup>a</sup>
A2	0	1 (5%)
B1	1 (12,5%)	1 (5%)
B2	1 (12,5%)	4 (20%)
C1	1 (12,5%)	3 (15%)
C2	3 (37,5%)	6 (30%)
D	1 (12,5%)	0
E	1 (12,5%)	1 (5%)

<sup>a</sup> Quatro pacientes não apresentaram a classificação socioeconômica.



TABELA 5  
 Dados epidemiológicos dos episódios de neutropenia  
 que apresentaram ou não apresentaram febre

	<u>Episódios de neutropenia</u> <u>afebril</u> <u>n=8</u> <u>Mediana</u> <u>(mínimo-máximo)</u> <u>ou n(%)</u>	<u>Episódios de</u> <u>neutropenia febril n=24</u> <u>Mediana</u> <u>(mínimo-máximo)</u> <u>ou n(%)</u>
Número de neutrófilos no D0	189 (0-997) células/mm <sup>3</sup>	312 (0-997) células/mm <sup>3</sup>
Número de global de leucócitos no D0	745 (30-1580) células/mm <sup>3</sup>	875 (80-5250) células/mm <sup>3</sup>
Níveis de hemoglobina no D0	9,2 (5,1-12,7) g/dL	9,4 (4,7-13,2) g/dL
Número Plaquetas no D0	45.500 (3.000-203.000)/uL	46.500 (6.000-208.000)/uL
ECOG no D0:		
0	3 (37,5%)	7 (29,2%)
1	3 (37,5%)	12 (50%)
2	1 (12,5%)	3 (12,5%)
3	0	1 (4,2%)
4	1 (12,5%)	1 (4,2%)
<b>Ausência de mucosite no D0</b>	8 (100%)	19 (79,2%)
<b>Uso de G-CSF</b>	1 (12,5%)	14 (58,3%)
<b>Tempo de permanência no estudo</b>	6,5 (2-27) dias	2 (1-9) dias

D0: Dia da inclusão no estudo.

Dos 24 pacientes que tiveram febre, 23 foram submetidos à coleta de sangue para hemocultura e em sete (29%) deles o resultado revelou-se positivo. Os germes isolados encontram-se listados na TAB. 6.

Cinco (19%) pacientes morreram durante o período de seguimento do estudo. No último contato feito com os pacientes, em agosto de 2009, 13 (50%) permaneciam vivos.

TABELA 6

Dados referentes às hemoculturas coletadas nos episódios de neutropenia febril

	<b><u>Número de pacientes (%)</u></b>
	<b><u>n=24</u></b>
<b>Coleta de hemocultura no dia da febre</b>	23 (96 %)
<b>Hemoculturas negativas</b>	16 (67 %)
<b>Hemoculturas positivas</b>	7 (29%)
<i>Escherichia coli</i>	2
<i>Klebsiella</i>	2
Cocos gram-positivo	1
<i>Bacillus</i> gram-negativo	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1

#### 5.4 Níveis séricos dos marcadores inflamatórios no período de neutropenia

##### 5.4.1 Medianas dos níveis séricos dos marcadores inflamatórios em toda a população do estudo nos diferentes momentos da avaliação

A TAB. 7 mostra os valores de cada marcador inflamatório no momento da inclusão no estudo, no dia anterior à febre (ou no dia correspondente à mediana para os pacientes que não apresentaram febre) e o dia da febre (ou o dia correspondente à mediana de saída do estudo para os pacientes que não apresentaram febre). Verificou-se progressivo aumento na mediana dos níveis séricos do sTNFR1, sTNFR2 e da IL-8 desde o dia da inclusão até o último dia de coleta. Registrou-se, por outro lado, crescente redução nos valores da eotaxina e da MCP-1.

TABELA 7

Mediana dos níveis séricos dos marcadores inflamatórios mensurados em diferentes momentos em toda a população de neutropênicos

<b><u>Marcador</u></b> <b><u>Inflamatório</u></b>	<b><u>Dia seguinte à</u></b> <b><u>inclusão no estudo</u></b> <b><u>D1</u></b> <b><u>n=19</u></b> <b><u>Mediana pg/mL</u></b> <b><u>(mínimo-máximo)</u></b>	<b><u>Dia pré-febre ou</u></b> <b><u>mediana da</u></b> <b><u>permanência no</u></b> <b><u>estudo n=22</u></b> <b><u>Mediana pg/mL</u></b> <b><u>(mínimo-máximo)</u></b>	<b><u>Dia da febre ou</u></b> <b><u>mediana do último</u></b> <b><u>dia de coleta</u></b> <b><u>n=31</u></b> <b><u>Mediana pg/mL</u></b> <b><u>(mínimo-máximo)</u></b>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	110,03 (0 - 799,82)	158,8 (0 - 730,79)	95,74 (0 - 720,31)
<b>sTNFRI</b>	1.261,6 (647,26 - 2.381,56)	1.316,8 (647,26 - 4.593,31)	1.557,26 (731,37 - 6.306,12)
<b>sTNFRII</b>	2498,31 (1.441,34 - 4.036,09)	2610,4 (1.510,03 - 4.953,69)	2915,10 (1.514,70 - 5.546,53)
<b>IL-8</b>	104,23 (33,21 - 223,85)	118,5 (48,05 - 631,21)	130,21 (13,49 - 1.070,16)
<b>MIP-1<math>\alpha</math></b>	48,9 (5 - 1.071,95)	107,7 (18 - 1.068,14)	75,58 (5 - 1.031,50)
<b>Eotaxina</b>	203,90 (95,12 - 659,98)	189,1 (115,66 - 524,82)	164,89 (121,75 - 601,00)
<b>IP-10</b>	0,00 (0 - 641,74)	0,00 (0 - 650,60)	12,27 (0 - 269,35)
<b>MCP-1</b>	1.834,4 (0- 6 - 492,26)	1.460,4 (0 - 3.535,94)	1.384,01 (0 - 6.278,90)
<b>Procalcitonina<sup>a</sup></b>	0,06 <sup>b</sup> (0,01 - 3,68)	0,05 <sup>c</sup> (0,01 - 103,82)	0,07 <sup>d</sup> (0,01 - 84,23)

<sup>a</sup> ng/mL; <sup>b</sup> n=17; <sup>c</sup> n=19; <sup>d</sup> n=30.

TNF- $\alpha$ : Fator de necrose tumoral alfa. sTNFRI: Receptor solúvel I do fator de necrose tumoral alfa. sTNFRII: Receptor solúvel II do fator de necrose tumoral alfa. IL-8: interleucina-8. MIP-1 $\alpha$ : Proteína inflamatória de macrófago-1 alfa. IP-10: Proteína induzida 10. MCP-1: Proteína quimotática de monócito -1.

### 5.4.2 Medianas dos níveis séricos dos marcadores inflamatórios na população febril nos diferentes momentos da avaliação

Na descrição dos níveis plasmáticos dos diferentes marcadores inflamatórios na população que apresentou febre, registrou-se progressão nos valores das medianas dos níveis séricos dos marcadores sTNFRI, sTNFRII, IL-8 e procalcitonina desde o dia da inclusão até o último dia de coleta, conforme se podemos constatar na TAB. 8.

TABELA 8

Mediana dos níveis séricos dos marcadores inflamatórios mensurados nos pacientes neutropênicos que apresentaram febre

<b><u>Marcador Inflamatório</u></b>	<b><u>Dia posterior à inclusão no estudo D1 n=11</u></b>	<b><u>Dia pré-febre n=15</u></b>	<b><u>Dia da febre n=23</u></b>
	<b><u>Mediana pg/mL (mínimo-máximo)</u></b>	<b><u>Mediana pg/mL (mínimo-máximo)</u></b>	<b><u>Mediana pg/mL (mínimo-máximo)</u></b>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	110,0 (0 - 799,8)	177,1 (0 - 628,1)	127,8 (0 - 631,0)
<b>sTNFRI</b>	1.261,6 (764,8 - 2.269,5)	1.356,4 (781,0 - 4.593,3)	1.877,8 (911,3 - 6.306,1)
<b>sTNFRII</b>	2.498,3 (1.678,7 - 4.036,0)	2785,0 (2.000,8 - 4.953,6)	3.190,5 (1.514,7 - 5.546,5)
<b>IL-8</b>	77,6 (33,2 - 150,5)	108,9 (48,0 - 631,2)	139,0 (72,0 - 1.070,1)
<b>MIP-1<math>\alpha</math></b>	30,3 (5,6 - 403,9)	107,5 (18,4 - 509,0)	83,6 (5,0 - 761,2)
<b>Eotaxina</b>	208,4 (110,0 - 299,4)	168,8 (121,5 - 402,2)	162,8 (123,5 - 473,0)
<b>IP-10</b>	0,0 (0 - 768,0)	0,0 (0 - 650,6)	16,8 (0 - 269,3)
<b>MCP-1</b>	1.834,4 (0 - 3.505,2)	1.384,0 (0 - 3.535,9)	1.812,9 (0 - 6.278,9)
<b>Procalcitonina<sup>a</sup></b>	0,06 (0,01 - 3,68)	0,09 <sup>b</sup> (0,01 - 103,82)	0,11 <sup>c</sup> (0,01 - 84,23)

<sup>a</sup> ng/mL; <sup>b</sup> n=14; <sup>c</sup> n=22.

D1: Dia posterior à inclusão no estudo. TNF- $\alpha$ : Fator de necrose tumoral alfa. sTNFRI: Receptor solúvel I do fator de necrose tumoral alfa. sTNFRII: Receptor solúvel II do fator de necrose tumoral alfa. IL-8: interleucina-8. MIP-1 $\alpha$ : Proteína inflamatória de macrófago-1 alfa. IP-10: Proteína induzida 10. MCP-1: Proteína quimotática de monócito -1.

### 5.4.3 Medianas dos níveis séricos dos marcadores inflamatórios na população afebril nos diferentes momentos da avaliação

Considerando-se a mediana dos valores de interleucinas dos pacientes que permaneceram afebris, não há um nítido padrão de variação entre as medianas dos níveis séricos de nenhum dos marcadores, conforme TAB. 9.

TABELA 9

Mediana dos níveis séricos dos marcadores inflamatórios mensurados nos episódios de neutropenia que não apresentaram febre

<b>Marcador Inflamatório</b>	<b>Dia posterior à inclusão no estudo D1 n=8 Mediana pg/mL (mínimo-máximo)</b>	<b>Mediana da permanência no estudo n= 7 Mediana pg/mL (mínimo-máximo)</b>	<b>Mediana do último dia de coleta n=8 Mediana pg/mL (mínimo-máximo)</b>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	94,9 (0,4 - 642,6)	53,1 (11,2 - 730,7)	88,8 (0 - 720,3)
<b>sTNFRI</b>	1241,4 (647,2 - 2381,5)	1089,1 (647,2 - 2391,1)	1290,4 (731,3 - 2295,0)
<b>sTNFRII</b>	2567,0 (1414,3 - 3743,3)	2599,6 (1510,0 - 3850,7)	2657,2 (1894,1 - 3942,5)
<b>IL-8</b>	150,9 (68,8- 223,8)	143,3 (83,2- 226,9)	120,9 (13,4 - 168,5)
<b>MIP-1<math>\alpha</math></b>	70,5 (5,0 - 1071,9)	125,0 (18,4 - 1068,1)	49,5 (35,6 - 1031,5)
<b>Eotaxina</b>	184,4 (95,1 - 659,9)	191,8 (115,6 - 524,8)	177,7 (121,7 - 601,0)
<b>IP-10</b>	0,0 (0,0 - 641,7)	0,0 (0 - 77,9)	12,2 (0 - 69,9)
<b>MCP-1</b>	1625,9 (0 - 6492,26)	2189,8 (0 - 2659,94)	858,1 (0- 2813,70)
<b>Procalcitonina<sup>a</sup></b>	0,05 <sup>b</sup> (0,01 - 0,15)	0,01 <sup>c</sup> (0,01- 0,31)	0,03 (0,01 - 0,11)

<sup>a</sup> ng/mL; <sup>b</sup>n=6; <sup>c</sup>n=5.

D1: Dia posterior à inclusão no estudo. TNF- $\alpha$ : Fator de necrose tumoral alfa. sTNFRI: Receptor solúvel I do fator de necrose tumoral alfa. sTNFRII: Receptor solúvel II do fator de necrose tumoral alfa. IL-8: interleucina-8. MIP-1 $\alpha$ : Proteína inflamatória de macrófago-1 alfa. IP-10: Proteína induzida 10. MCP-1: Proteína quimotóxica de monócito -1.

#### 5.4.4 Medianas dos níveis séricos dos marcadores inflamatórios na população não submetida a transplante nos diferentes momentos da avaliação

Conforme a TAB. 10, nessa população de neutropênicos não transplantados houve elevação nas medianas dos níveis do sTNFR1 desde o dia posterior à inclusão no estudo até o dia da febre.

TABELA 10

Mediana dos níveis séricos dos marcadores inflamatórios mensurados de todos os episódios de pacientes não transplantados e neutropênicos

<b><u>Marcador Inflamatório</u></b>	<b><u>Dia posterior à inclusão no estudo D1</u></b> <b><u>n=15</u></b>	<b><u>Dia pré febre ou mediana da permanência no estudo</u></b> <b><u>n=18</u></b>	<b><u>Dia da febre ou mediana do último dia de coleta</u></b> <b><u>n=22</u></b>
	<b><u>Mediana pg/mL</u></b> <b><u>(mínimo-máximo)</u></b>	<b><u>Mediana pg/mL</u></b> <b><u>(mínimo-máximo)</u></b>	<b><u>Mediana pg/mL</u></b> <b><u>(mínimo-máximo)</u></b>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	127,3 (0,4 – 799,8)	192,3 (3,2 - 730,7)	117,7 (0 - 720,3)
<b>sTNFR1</b>	1296,6 (647,2 - 2381,5)	1317,9 (647,2 - 2758,4)	1514,2 (731,3 - 5302,4)
<b>sTNFR2</b>	2679,7 (1441,3 - 4036,0)	2610,4 (1510,0 - 4874,3)	2925,8 (1514,70 - 5287,1)
<b>IL-8</b>	120,5 (68,4 - 223,8)	134,0 (75,6 - 631,2)	124,7 ( 13,4 - 349,4)
<b>MIP-1<math>\alpha</math></b>	78,9 (5 – 1071,9)	116,2 (18,4 - 1068,1)	79,6 ( 9,4 - 1031,5)
<b>Eotaxina</b>	202,9 (95,1 - 659,9)	167,8 (115,6 - 524,8)	159,0 (121,7 - 601,0)
<b>IP-10</b>	0,0 (0 - 641,7)	0,0 (0 - 199,6)	14,5 (0 - 143,5)
<b>MCP-1</b>	2008,1 (0 – 6492,2)	1647,4 (0 - 2993,3)	1636,7 (0 - 6278,9)
<b>Procalcitonina<sup>a</sup></b>	0,11 <sup>b</sup> (0,01 - 3,68)	0,05 <sup>c</sup> (0,01 - 8,09)	0,05 <sup>d</sup> (0,01 - 5,78)

<sup>a</sup> ng/mL; <sup>b</sup> n=13; <sup>c</sup> n=16, <sup>d</sup> n=21.

D1: Dia posterior à inclusão no estudo. TNF- $\alpha$ : Fator de necrose tumoral alfa. sTNFR1: Receptor solúvel I do fator de necrose tumoral alfa. sTNFR2: Receptor solúvel II do fator de necrose tumoral alfa. IL-8: interleucina-8. MIP-1 $\alpha$ : Proteína inflamatória de macrófago-1 alfa. IP-10: Proteína induzida 10. MCP-1: Proteína quimotóxica de monócito -1.

Considerando-se o subgrupo febril da população não transplantada, nota-se elevação nos níveis dos marcadores inflamatórios TNF- $\alpha$ , sTNFR2 e IL-8, desde o dia posterior à inclusão no estudo até o dia da febre (TAB. 11).

TABELA 11

Mediana dos níveis séricos dos marcadores inflamatórios mensurados nos episódios de febre dos pacientes neutropênicos não transplantados

<b><u>Marcador Inflamatório</u></b>	<b><u>Dia posterior à inclusão no estudo D1 n=7</u></b> Mediana pg/mL (mínimo-máximo)	<b><u>Dia pré-febre ou mediana da permanência no estudo n= 11</u></b> Mediana pg/mL (mínimo-máximo)	<b><u>Dia da febre ou mediana do último dia de coleta n=14</u></b> Mediana pg/mL (mínimo-máximo)
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	164,12 (37,8 - 799,82)	207,66 (3,2 - 628,13)	212,48 (0 - 631,08)
<b>sTNFRI</b>	1419,7 (1067,0 - 2269,56)	1367,2 (781,8 - 2758,41)	1858,74 (911,31 - 5302,42)
<b>sTNFRII</b>	2679,70 (1678,71 - 4036,09)	2785,0 (2011,51 - 4874,33)	3283,92 (1514,70 - 5287,12)
<b>IL-8</b>	100,31 (68,46 - 150,5)	108,95 (75,6 - 631,21)	128,53 (73,23 - 349,45)
<b>MIP-1<math>\alpha</math></b>	78,9 (26,10 - 403,90)	107,9 (18,48 - 169,7)	100,09 (9,41 - 761,24)
<b>Eotaxina</b>	202,9 (137,4 - 299,42)	144,9 (121,51 - 402,23)	151,52 (123,50 - 466,44)
<b>IP-10</b>	0,00 (0 - 76,8)	0,00 (0 - 199,6)	18,09 (0 - 143,57)
<b>MCP-1</b>	2025,8 (0 - 3505,29)	1384,01 (0 - 2993,32)	2452,13 (0 - 6278,90)
<b>Procalcitonina<sup>a</sup></b>	0,21 (0,01 - 3,68)	0,13 (0,01 - 8,09)	0,05 <sup>b</sup> (0,01 - 5,78)

<sup>a</sup> ng/mL; <sup>b</sup> n=13.

D1: Dia posterior à inclusão no estudo. TNF- $\alpha$ : Fator de necrose tumoral alfa. sTNFRI: Receptor solúvel I do fator de necrose tumoral alfa. sTNFRII: Receptor solúvel II do fator de necrose tumoral alfa. IL-8: interleucina-8. MIP-1 $\alpha$ : Proteína inflamatória de macrófago-1 alfa. IP-10: Proteína induzida 10. MCP-1: Proteína quimotóxica de monócito -1.

#### **5.4.5 Análise da variação dos valores dos diferentes marcadores inflamatórios entre os pacientes que apresentaram febre e os que não apresentaram febre nos diferentes momentos da avaliação**

A TAB. 12 apresenta as medianas dos valores dos diferentes marcadores inflamatórios nos diferentes momentos da avaliação dos pacientes neutropênicos, comparando-se os episódios conforme a ocorrência ou não de febre durante o seguimento. Observou-se diferença estatisticamente significativa entre os níveis do sTNFRI mensurados no dia da febre e na mediana de saída do estudo (para os episódios em que não ocorreu febre) ( $p=0,029$ ). O GRÁF. 1 ilustra essas diferenças.



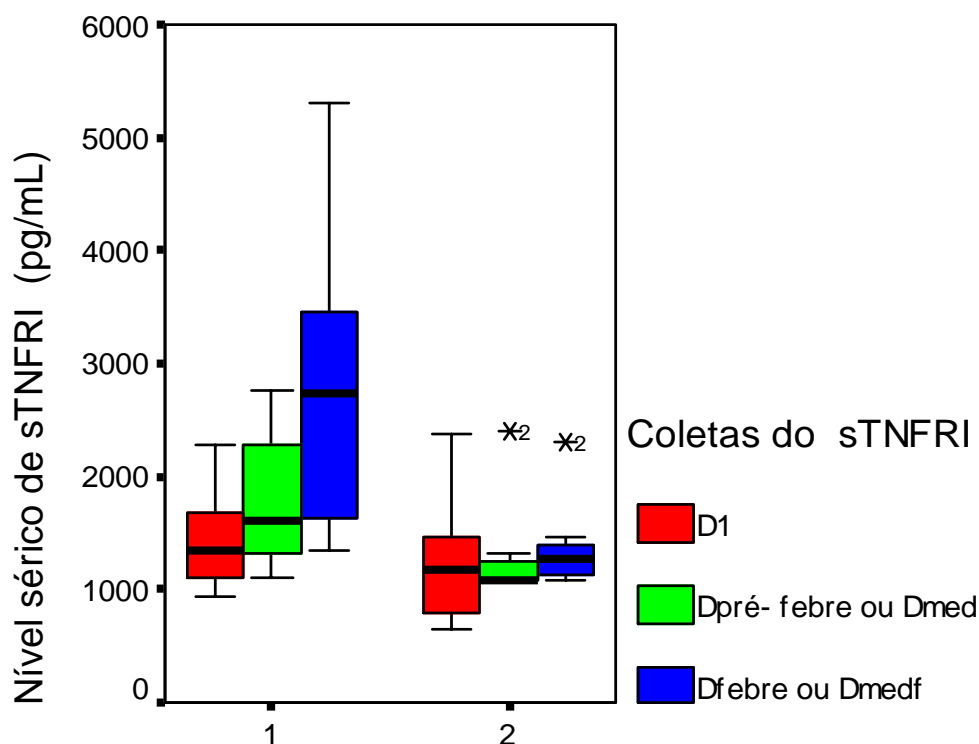
TABELA 12

Variação dos valores dos diferentes marcadores inflamatórios entre todos os pacientes neutropênicos que fizeram febre e os pacientes que não fizeram febre nos diferentes momentos do estudo (teste de *Mann-Whitney*)

<b>Marcador inflamatório pg/mL</b>	<b>Dia posteriorà inclusão no estudo D1 n=8</b>	<b>Dia posterior à inclusão no estudo n=11</b>	<b>Dia da mediana de permanênci a no estudo n= 7</b>	<b>Dia pré- febre n=15</b>	<b>Dia da mediana do último dia de coleta n=8</b>	<b>Dia da febre n=23</b>
	Grupo afebril Mediana	Grupo febril Mediana	Grupo afebril Mediana	Grupo febril Mediana	Grupo afebril Mediana	Grupo febril Mediana
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	94,9 $p=0,74$	110,0	53,1 $p=0,80$	177,1	88,8 $p=0,89$	127,8
<b>sTNFRI</b>	1.241,4 $p= 0,74$	1.261,6	1.089,1 $p= 0,09$	1.356,4	1.290,4 $p= 0,029$	1.877,8
<b>sTNFRII</b>	2.567,0 $p=0,86$	2.498,3	2.599,6 $p=0,24$	2.785,0	2.657,2 $p=0,23$	3.190,5
<b>IL-8</b>	150,9 $p=0,03$	77,6	143,3 $p=0,80$	108,9	120,9 $p=0,26$	139,0
<b>MIP-1<math>\alpha</math></b>	70,5 $p=0,56$	30,3	125,0 $p=0,57$	107,5	49,5 $p=0,83$	83,6
<b>Eotaxina</b>	184,4 $p=0,80$	208,4	191,8 $p=0,59$	168,8	177,7 $p=0,57$	162,8
<b>IP-10</b>	0,0 $p=0,91$	0,0	0,0 $p=0,40$	0,0	12,2 $p=0,61$	16,8
<b>MCP-1</b>	1.625,9 $p= 0,9$	1.834,4	2.189,8 $p=0,57$	1.384,0	858,1 $p=0,14$	1812,9
<b>Pro calcitonina<sup>a</sup></b>	0,05 <sup>b</sup> $p= 0,64$	0,06 <sup>c</sup>	0,01 <sup>d</sup> $p= 0,49$	0,09 <sup>e</sup>	0,03 <sup>f</sup> $p=0,10$	0,11 <sup>g</sup>

<sup>a</sup> ng/mL <sup>b</sup> n=6; <sup>c</sup> n=11; <sup>d</sup> n=5; <sup>e</sup> n=14; <sup>f</sup> n=8; <sup>g</sup> n=22.

D1: Dia posterior à inclusão no estudo. TNF- $\alpha$ : Fator de necrose tumoral alfa. sTNFRI: Receptor solúvel I do fator de necrose tumoral alfa. sTNFRII: Receptor solúvel II do fator de necrose tumoral alfa. IL-8: interleucina-8. MIP-1 $\alpha$ : Proteína inflamatória de macrófago-1 alfa. IP-10: Proteína induzida 10. MCP-1: Proteína quimotóxica de monócito -1.



### Presença de febre

Grupo1: População neutropênica febril

Grupo 2: População neutropênica afebril

GRÁFICO 1 Comparação dos níveis de sTNFRI mensurados nos dias após a inclusão no estudo (D1), dia pré-febre (Dpré-febre) e no dia da febre (Dfebre) nos episódios de neutropenia febril com os níveis mensurados nos dias após a inclusão no estudo (D1), dia da mediana de permanência no estudo (Dmed) e mediana do último dia do estudo (Dmedf) nos episódios de neutropenia afebril.

Para discriminar o melhor ponto de corte para o nível de sTNFRI no dia da febre, foi realizada uma curva ROC, mostrada no GRÁF. 2.

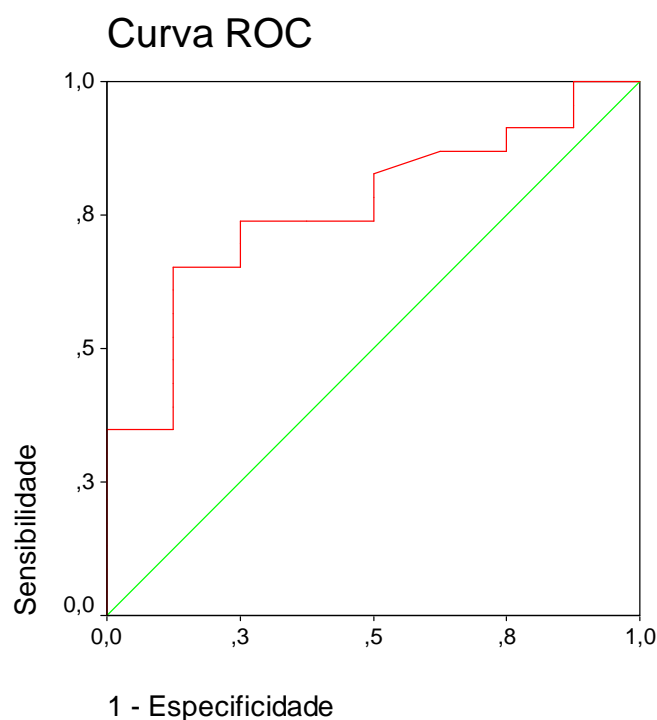


GRÁFICO 2 Curva ROC para avaliação do melhor ponto de corte para o nível de sTNFRI no dia da febre para todos os pacientes neutropênicos febris e afebris.

Foi identificado, para o sTNFRI, um valor de corte de 1.514 pg/mL para a discriminação entre os pacientes febris e afebris. Esse valor apresentou sensibilidade de 65%, especificidade de 87%, VPP de 93%, VPN de 46% e acurácia de 70%.

A variável sTNFRI foi então dicotomizada para valores acima e abaixo do ponto de corte identificado. Foi testado esse valor de corte na população de pacientes e constatou-se significativa diferença ( $p=0,015$ ) entre os pacientes febris e afebris, conforme TAB. 13.

**TABELA 13**  
 Avaliação da predição de febre a partir dos níveis séricos  
 da interleucina sTNFRI dosados no dia da ocorrência da febre  
 em todos os pacientes neutropênicos

Nível sérico da interleucina sTNFRI	Febre		Total
	Sim	Não	
>1.514 pg/mL	15	1	16
≤ 1.514 pg/mL	8	7	15
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>8</b>	<b>31</b>

S = 65%; E = 87%; VPP = 93%; VPB = 46%; Acurácia = 70%.

S = sensibilidade; E = especificidade; VPP = valor preditivo positivo; VPB = valor preditivo negativo.

#### **5.4.6 Análise da variação dos valores dos diferentes marcadores inflamatórios entre os pacientes não submetidos a transplante, conforme a ocorrência de febre no seguimento**

A TAB. 14 exhibe os níveis séricos dos diferentes marcadores inflamatórios nos diversos momentos da avaliação, entre os pacientes neutropênicos não submetidos a transplante de medula óssea, conforme a ocorrência de febre. Registrou-se diferença estatisticamente significativa entre os níveis de sTNFRI e de MCP-1 no dia da febre/mediana de saída do estudo entre os pacientes febris e não-febris ( $p=0,041$  e  $p=0,042$ , respectivamente). O GRÁF. 3 ilustra essas diferenças.

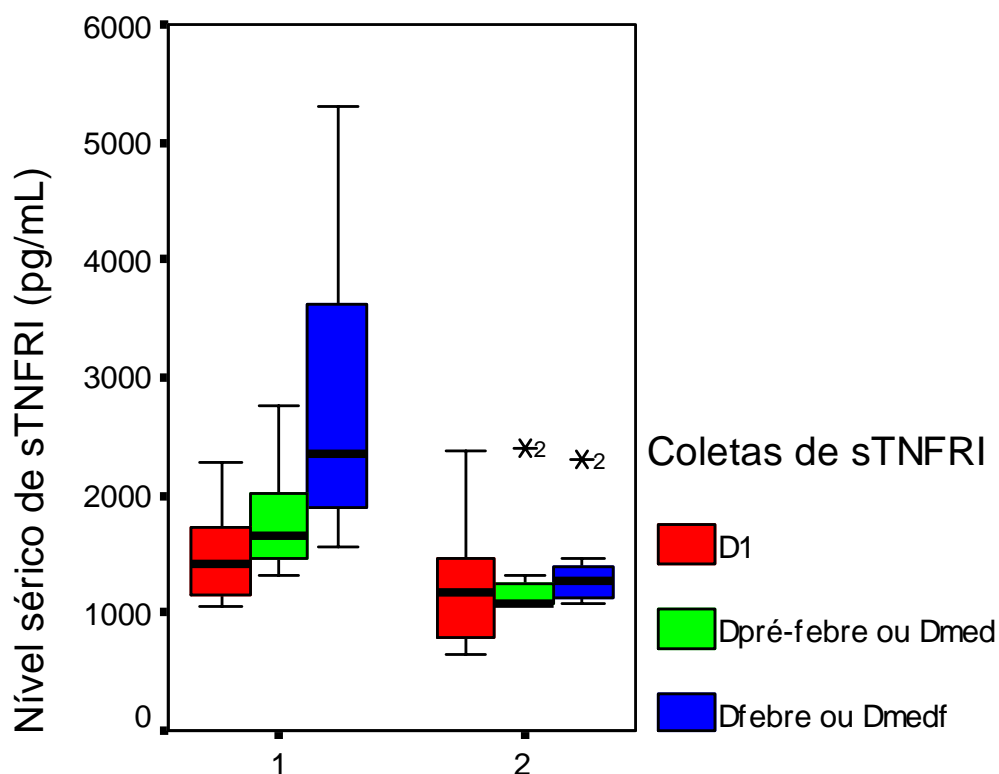
TABELA 14

Variação dos valores dos diferentes marcadores inflamatórios entre os pacientes neutropênicos não submetidos a transplante que tiveram ou não febre nos diferentes momentos do estudo (teste de *Mann-Whitney*)

<b>Marcador Inflamatório</b> <b>pg/mL</b>	<b>Dia posterior à inclusão no estudo</b> <b>n=8</b> <b>Grupo afebril</b> <b>Mediana</b>	<b>Dia posterior à inclusão no estudo</b> <b>n=7</b> <b>Grupo febril</b> <b>Mediana</b>	<b>Dia da mediana de permanência no estudo</b> <b>n=7</b> <b>Grupo afebril</b> <b>Mediana</b>	<b>Dia pré-febre</b> <b>n=11</b> <b>Grupo febril</b> <b>Mediana</b>	<b>Dia da mediana do último dia de coleta</b> <b>n=8</b> <b>Grupo afebril</b> <b>Mediana</b>	<b>Dia da febre</b> <b>n=14</b> <b>Grupo febril</b> <b>Mediana</b>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	94,9	164,1	53,1	207,6	88,8	212,4
	$p=0,41$		$p=0,497$		$p=0,0733$	
<b>sTNFRI</b>	1.241,4	1.419,7	1.089,1	1.367,2	1.290,4	1.858,7
	$p=0,487$		$p=0,063$		$p=0,041$	
<b>sTNFRII</b>	2.567,0	2.679,9	2.599,6	2.785,0	2.657,2	3.283,9
	$p=0,728$		$p=0,258$		$p=0,495$	
<b>IL-8</b>	150,9	100,3	143,3	108,9	120,9	128,5
	$p=0,083$		$p=0,964$		$p=0,432$	
<b>MIP-1<math>\alpha</math></b>	70,5	78,9	125,0	107,9	49,5	100,0
	$p=0,728$		$p=0,651$		$p=0,495$	
<b>Eotaxina</b>	184,4	202,9	191,8	144,9	177,7	151,5
	$p=0,728$		$p=0,189$		$p=0,172$	
<b>IP-10</b>	0,0	0,0	0,0	0,0	12,2	18,0
	$p=1,0$		$p=0,59$		$p=0,48$	
<b>MCP-1</b>	1.625,9	2.025,8	2.189,8	1.384,0	858,1	2.452,1
	$p=0,724$		$p=0,356$		$p=0,042$	
<b>Procalcitonina<sup>a</sup></b>	0,05 <sup>b</sup>	0,21	0,01 <sup>c</sup>	0,13	0,03	0,05 <sup>d</sup>
	$p=0,147$		$p=0,442$		$p=0,257$	

<sup>a</sup> ng/mL <sup>b</sup> n=6; <sup>c</sup> n=5; <sup>d</sup> n=13.

D1: Dia posterior à inclusão no estudo. TNF- $\alpha$ : Fator de necrose tumoral alfa. sTNFRI: Receptor solúvel I do fator de necrose tumoral alfa. sTNFRII: Receptor solúvel II do fator de necrose tumoral alfa. IL-8: interleucina-8. MIP-1 $\alpha$ : Proteína inflamatória de macrófago-1 alfa. IP-10: Proteína induzida 10. MCP-1: Proteína quimotática de monócito -1.



### Presença de febre

Grupo 1: População neutropênica febril não transplantada

Grupo 2: População neutropênica Afebril

GRÁFICO 3 Comparação entre os níveis de sTNFRI nos dias após a inclusão no estudo (D1), dia pré-febre (Dpré-febre) e no dia da febre (Dfebre) mensurados na população neutropênica febril não transplantada, com os níveis mensurados no dia após a inclusão no estudo (D1), dia da mediana de permanência no estudo (Dmed) e mediana do último dia do estudo (Dmedf) nos episódios de neutropenia que permaneceram afebris durante o seguimento.

Foi realizada nova curva ROC para discriminar o melhor ponto de corte para o nível de sTNFRI no dia da febre entre os pacientes que não foram submetidos a transplante. Para essa população, identificou-se um ponto de corte para o nível de sTNFRI de 1.514 pg/mL para discriminar entre os pacientes febris e afebris não submetidos a transplante, semelhantemente ao obtido para toda a

população. Esse valor apresenta sensibilidade de 71%, especificidade de 87%, VPP de 91%, VPN de 63% e acurácia de 77%.

Como realizado anteriormente, a variável sTNFRI foi dicotomizada para valores acima e abaixo do ponto de corte identificado. Foi testado esse ponto de corte na população de pacientes não submetidos a transplante. Demonstrou-se significativa diferença ( $p=0,024$ ) entre os pacientes febris e afebris não submetidos a transplante (TAB. 15).

TABELA 15

Avaliação da predição de febre a partir dos níveis séricos do sTNFRI dosados no dia da ocorrência da febre nos pacientes neutropênicos não transplantados

Nível sérico da interleucina sTNFRI	Febre		Total
	Sim	Não	
>1.514 pg/mL	10	1	11
≤ 1.514 pg/mL	4	7	11
<b>Total</b>	14	8	22

S = 71%; E = 87%; VPP = 91%; VPN = 63%; Acurácia = 77%

S = sensibilidade; E = especificidade; VPP = valor preditivo positivo; VPN = valor preditivo negativo.

A curva ROC para os níveis de MCP-1 no dia da febre entre os pacientes que não foram submetidos a transplante não apresentou valores adequados para discriminar o melhor ponto de corte para esse marcador.

## 6 DISCUSSÃO

A infecção é a principal complicação nos pacientes onco-hematológicos. O processo infeccioso pode ser fatal e muitas vezes de difícil identificação devido à inespecificidade das alterações clínicas. Normalmente, considera-se a febre o principal determinante do início de terapia antimicrobiana. Entretanto, é um marcador relativamente tardio de infecção e a espera pela elevação térmica pode postergar o início do tratamento com antibióticos, com conseqüente piora do prognóstico. Há, portanto, necessidade de marcadores de infecção que precedam à ocorrência da febre e possibilitem a instituição mais precoce do tratamento antimicrobiano.

Diversos marcadores inflamatórios poderiam, em tese, ser utilizados para identificar a infecção em pacientes com neutropenia. Entre as diversas propriedades biológicas, esses marcadores possuem a habilidade de promover o início da febre e recrutar diferentes células do sistema imune aos sítios de infecção e doença.

O objetivo principal deste estudo foi avaliar o uso dos níveis séricos de diferentes marcadores inflamatórios como fatores preditivos da ocorrência de febre em pacientes com neutropenia induzida por quimioterapia ou secundária à doença de base hematológica ao diagnóstico ou em recidiva da mesma.

Os resultados encontrados mostraram que os valores do sTNFRI elevam-se de maneira significativa imediatamente antes do aparecimento da febre (mediana de 11 horas) em pacientes neutropênicos quando comparados com os pacientes neutropênicos que não apresentaram febre ( $p=0,029$ ). Quando analisada exclusivamente a população de pacientes neutropênicos não transplantados, observou-se o mesmo resultado ( $p=0,04$ ). Nesse subgrupo também foi evidenciado significativo aumento nos níveis de MCP-1 ( $p=0,04$ ) nos pacientes neutropênicos que apresentaram febre, quando comparados à população neutropênica que permaneceu afebril.

Na busca por um valor do sTNFRI que fosse preditivo de febre em pacientes neutropênicos, um valor de corte de 1.514 pg/mL mostrou a melhor



discriminação entre os pacientes febris e afebris, com sensibilidade de 65%, especificidade de 87%, VPP de 93%, VPN de 46% e acurácia de 70%. Na subpopulação de neutropênicos não transplantados, o mesmo ponto de corte para o sTNFRI mostrou sensibilidade de 71%, especificidade de 87%, VPP de 91%, VPN de 63% e acurácia de 77%. A MCP-1, embora mostrando diferença estatisticamente significativa entre os pacientes neutropênicos não transplantados febris e afebris, não demonstrou capacidade discriminatória adequada. Além disso, seus valores em pacientes afebris apresentaram variações importantes, o que também impede o seu uso como preditor de febre.

Os níveis séricos dos demais marcadores inflamatórios avaliados (IL-8, IP-10, TNF- $\alpha$ , sTNFR2, MIP-1, PCT e eotaxina) não se alteraram significativamente ao longo do período de neutropenia entre os pacientes neutropênicos que apresentaram ou não febre. Neste estudo, portanto, eles não mostraram potencial para predição da ocorrência de febre.

Um ponto importante a ser destacado é que, embora nominado como “coleta realizada no dia da febre”, as coletas das amostras dos marcadores inflamatórios, em verdade, antecederam o momento da febre, numa mediana de 11 horas (mínimo de 1 hora e máximo de 15). Portanto, os níveis de sTNFRI medidos correspondem a valores séricos obtidos horas antes do evento febre. Considerando-se que os resultados dos níveis séricos desses marcadores realizados pelo método ELISA podem estar disponíveis em torno de cinco horas após a sua coleta, medidas seriadas desse marcador poderiam efetivamente prever a febre em pacientes neutropênicos.

Apesar de existirem fatores preditivos clínicos de febre (e.g. quanto mais longo o tempo de neutropenia transcorrido, mais alto o risco de febre), eles não são suficientemente acurados para a aplicação na prática clínica diária. Embora potencialmente úteis, pouco foi publicado até hoje sobre a capacidade dos diversos marcadores inflamatórios em preverem a febre (BUYUKBERBER *et al.*, 2009; ENGEL *et al.*, 1994; 1998; 1999; GOETZ *et al.*, 2002; KERN *et al.*, 1995). A maioria dos trabalhos aborda o uso desses marcadores após o aparecimento da febre, como fator prognóstico de desfecho do episódio de neutropenia febril (ENGEL *et al.*, 2005; ENGERVALL *et al.*, 1995; FLEISCHHACK *et al.*, 2000; PERSSON *et al.*, 2005). Quando usados para esse fim, os marcadores

inflamatórios suscitam acirrada discussão na literatura médica (EI-MAGHRABY *et al.*, 2007; OUDE NIJHUIS *et al.*, 2002).

Nesse contexto, vários estudos mostram que as medidas de um ou mais desses marcadores (individualmente ou em associação) são capazes de predizer o diagnóstico de bacteremia, a infecção por bacilos gram-negativo, a infecção documentada, a infecção fúngica e o prognóstico em pacientes neutropênicos febris (ENGERVALL *et al.*, 1995; LEHRNBECHER *et al.*, 1999; PERSSON *et al.*, 2005; STRYJEWSKI *et al.*, 2005; WONG *et al.*, 2008).

Como mencionado, poucas publicações avaliaram o papel dos marcadores inflamatórios em predizer a ocorrência de febre (De BONT *et al.*, 2000). Engel *et al.* (1998) avaliaram as concentrações séricas das IL-8, IL-6 e a PCR em neutropênicos oncológicos e referiram que elas não foram preditoras de febre antes de 24 horas do seu início.

Em 1999, um estudo avaliou os níveis de PCT e IL-8 em 103 eventos de neutropenia febril, correlacionando-os com a infecção. Os marcadores foram dosados três vezes na semana (segunda, quarta e sexta-feira). Comparando com os valores pré-febre, a mediana da PCT aumentou de 0,16 ng/mL no dia -1 para 0,34n g/mL no dia +1 após a febre. Esse trabalho analisou somente a população com infecção, apresentando níveis de PCT elevados no dia da febre, que, em verdade, se estendem anteriormente ao evento febre em até 16 horas (ENGEL *et al.*, 1999).

Goetz *et al.* (2002) avaliaram os níveis séricos de sTNFRII em 54 pacientes (59 episódios) com LMA para avaliar o diagnóstico precoce de sepse em neutropenia, como parte de um estudo muticêntrico piloto; 11 (20,4%) pacientes não apresentaram febre. Analisando-se toda a população, foram verificados valores de medianas de sTNFRII no dia pré-febre de 4.055 pg/mL e no dia da febre de 4.536 pg/mL. Assim, não foi possível demonstrar a significância da elevação dos níveis de sTNFRII antes da febre.

Uma pesquisa avaliou, em 2009, os níveis de receptor solúvel da interleucina 2 (sIL-2R), IL-6, IL-8, PCR, interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) e TNF- $\alpha$  em 22 pacientes com diagnóstico recente de neoplasias onco-hematológicas e virgens de tratamento. A IL-8 foi a citocina que se elevou de maneira mais constante nos diferentes períodos de neutropenia. Entretanto, no período de neutropenia afebril,

os níveis de IL-6 em nove pacientes, sILR2 em cinco, PCR em quatro e a IL-8 em dois não se mostraram diferentes em relação aos níveis basais. Nenhuma citocina mostrou-se preditiva de febre (BUYUKBERBER *et al.*, 2009).

Diversas diferenças entre esses estudos estão listadas a seguir e podem ser responsáveis pela incapacidade dos mesmos em identificar um marcador inflamatório preditor de neutropenia febril (ENGEL *et al.*, 1998):

- A heterogeneidade dos estudos, no que diz respeito ao recrutamento dos pacientes, o baixo número de participantes incluídos e a formação de subgrupos diferentes para análise;
- diversas associações entre os marcadores analisados em cada trabalho e os vários níveis de corte utilizados, diferentes períodos de coleta desses marcadores;
- a possibilidade de que os marcadores estejam elevados pela própria doença de base nos portadores de neoplasias, mesmo na ausência de infecção ou febre, e de que a variação entre os níveis séricos não tenha poder em prever a infecção (GOETZ *et al.*, 2002; VINANTE *et al.*, 1998).

No acompanhamento ao paciente neutropênico febril, aplica-se, em muitos casos, tratamento antimicrobiano baseado no risco. Pacientes de baixo risco podem ser tratados com antibioticoterapia oral ambulatorialmente ou ter alta mais precoce. Por outro lado, os neutropênicos identificados como de alto risco podem necessitar de antibioticoprofilaxia, de diagnóstico precoce de infecção, de terapia mais agressiva feita em ambiente hospitalar e de hospitalização mais prolongada.

Estudos recentes em pacientes neutropênicos febris indicam que os modelos de estratificação de risco baseados tanto em critérios clínicos quanto em níveis séricos de algumas citocinas são capazes de identificar quais pacientes de baixo risco poderão desenvolver infecções potencialmente graves. Sabe-se, porém, que um número relativamente alto é classificado de modo equivocado como de baixo risco. Mais importante, estes são fatores prognósticos que ocorrem após o surgimento da febre. Tão ou talvez mais importante poderia ser a predição da febre antes do seu aparecimento. A identificação de um paciente já com uma infecção em desenvolvimento, mas sem manifestação clínica, e a sua terapia precoce contra um inóculo microbiano pequeno provavelmente seriam importante fator prognóstico de desfecho favorável (KLASTERSKY *et al.*, 2000).

Os valores de sensibilidade e especificidade para a predição de febre em pacientes neutropênicos pelo sTNFRI encontrados neste estudo são comparáveis com os de outros trabalhos que propõem a utilização dos marcadores inflamatórios como critério diagnóstico de infecção bacteriana em neutropênicos febris. Um exemplo é a avaliação dos níveis de PCT e IL-8 em 103 eventos de neutropenia febril e os vários tipos de infecção, que mostrou que o valor definido para predizer infecção com bacteremia associada foi de 0,5 ng/mL, com sensibilidade de 73% e especificidade de 86% (ENGEL *et al.*, 1999). A utilização de um exame para predição de febre no paciente neutropênico, com a finalidade de antecipar a terapia anti-infecciosa, deve se preocupar principalmente com o VPP do teste. No presente estudo, os VPPs tanto para a população geral quanto para a população não transplantada mostraram valores elevados para a predição de febre. Já em relação ao VPN, um valor abaixo de 1.514 ng/mL mostrou-se melhor discriminador para a não-ocorrência de febre durante a neutropenia no subgrupo de pacientes não transplantados do que no total de 32 episódios estudados.

Em média, o preço da dosagem unitária de um dos marcadores estudados pelo método ELISA é de US\$ 2,70. Em 2005, Nijhuis *et al.* avaliaram o custo-efetividade de se adicionar a dosagem de IL-8 e diminuir o tempo de internação dos pacientes de acordo com classificação de risco de gravidade da infecção e relataram economia de aproximadamente € 471/paciente (OUDE NIJHUIS *et al.*, 2005). Os autores não objetivaram nem usaram instrumentos adequados para avaliar essa questão específica. Pode-se supor, entretanto, o uso sistemático de um marcador inflamatório na monitoriação do paciente neutropênico de alto risco para a ocorrência de febre acarretaria um custo baixo à instituição. A mediana de tempo entre o início da neutropenia e o surgimento de febre foi de dois dias (total de US\$ 5,4/cada marcador inflamatório/paciente). Mesmo nos pacientes que não tiveram febre, a duração mediana de permanência no estudo pela duração da neutropenia foi de 6,5 dias (total de US\$ 16,2/cada marcador inflamatório/paciente).

Embora os resultados desses trabalhos sejam potencialmente relevantes para o manejo futuro dos pacientes neutropênicos, nossos resultados devem ser vistos com cautela. No HC-UFMG, cerca de 120 episódios de neutropenia febril

foram notificados no primeiro semestre de 2007, ocorrendo em 100 pacientes com doença onco-hematológica ou após transplante de medula óssea. Na presente pesquisa, embora o número de eventos de neutropenia triados tenha sido elevado, a maior parte dos episódios acabou sendo excluída, principalmente por estarem sendo identificados com o paciente já febril ou por ocorrerem em consequência a doenças não-hematológicas. Este estudo analisou, num período de seis meses, 32 eventos de neutropenia. Apesar da maioria das publicações apresentar também baixo número de participantes, esse fato limita as análises realizadas e é fonte de crítica (BUYUKBERBER *et al.*, 2009; ENGERVALL *et al.*, 1995; GOETZ *et al.*, 2002; WONG *et al.*, 2008). O baixo número de eventos analisados leva, inevitavelmente, à perda de precisão na inferência estatística.

Em relação ao perfil da população estudada, 10 pacientes foram submetidos a transplante de medula óssea. Todos apresentaram febre. Sabe-se que os tecidos do hospedeiro são danificados pela quimioterapia de condicionamento empregada no transplante ou pelas citocinas liberadas após o condicionamento (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , etc.), o que caracteriza a chamada “tempestade de citocinas” (HOLLER *et al.*, 1990). Essa alteração nas citocinas, que acontece precocemente após o transplante, pode ser um fator de confusão para o uso dos marcadores inflamatórios como preditores de febre nessa população. Neste estudo, o valor das medidas do sTNFRI mostrou-se melhor preditor na população não transplantada do que na população geral (que inclui os pacientes transplantados). O número de transplantados, embora fosse em torno de um terço da população total analisada, tornou-se inexpressivo para poder ser analisado individualmente. Entre esses pacientes, apesar da interferência que a tempestade de citocinas pode causar, segue sendo importante a tentativa de se identificarem marcadores inflamatórios, pois este é o subgrupo, de todos os pacientes neutropênicos, que mais manifesta infecção (BLIJLEVENS *et al.*, 2000; ORTEGA *et al.*, 2004; PRAT *et al.*, 2008).

Como mencionado, a mediana de tempo entre o início da neutropenia até a ocorrência de febre foi de somente dois dias. Em muitos casos não se conseguiu incluir pacientes após o primeiro hemograma (HMG) mostrar neutropenia. Isso se atribui a vários fatores: o atraso na leitura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), idosos analfabetos e

desacompanhados e pacientes fora do leito para realização de exames propedêuticos.

Outra limitação deste estudo é o fato dele ter sido realizado em apenas uma instituição. Deve-se ressaltar, porém, que este é um centro de tratamento de referência nessa área de Minas Gerais e o único a realizar transplantes alogênicos no estado. Diferentes rotinas de tratamento onco-hematológico e diferentes manejos dos pacientes neutropênicos adotados por diferentes instituições podem influenciar sua evolução. Um estudo multicêntrico é, pois, importante para a validação dos resultados.

Como a febre é um sintoma inesperado, torna-se difícil a coincidência com a coleta do exame para as dosagens dos marcadores. Muitos trabalhos utilizaram uma escala de tempo referente ao valor, como, por exemplo, o dia zero representando as medidas que são, em verdade, coletadas num período de tempo variável que engloba o horário relativo ao primeiro pico de febre (ENGEL *et al.*, 1999). Por questões de orçamento, optou-se pela dosagem dos marcadores inflamatórios no dia posterior à inclusão ao estudo (D1), no dia anterior à febre e no dia da febre. Para aqueles que não apresentaram febre, optou-se pelas dosagens dos marcadores inflamatórios no dia seguinte ao da inclusão (D1), no dia da mediana do período de neutropenia (D mediana) e no dia mediano do último dia de coleta (D mediana final).

Dos 32 eventos de neutropenia, oito não evoluíram com febre e, para esses, foram obtidas as três dosagens dos marcadores inflamatórios. Em relação aos episódios de neutropenia que manifestaram febre, foram obtidas as três amostras dos marcadores inflamatórios previstas (D1, Dpré-febre e Dfebre) em 10 eventos, do Dpré-febre e Dfebre em cinco e somente do dia da febre em nove (os pacientes incluíram-se no estudo e tiveram febre no dia seguinte). O pequeno tamanho da amostra acabou prejudicando uma melhor avaliação dos marcadores, particularmente do sTNFR1, no dia anterior à febre. Aparentemente, existe tendência a aumento do sTNFR1 no dia anterior à febre, que não pode ser confirmada, pelo baixo número de casos analisados.

Algumas análises das dosagens dos marcadores inflamatórias ficaram prejudicadas devido a valores inferiores ao limite de detecção do teste ELISA (aproximadamente 5 pg/mL) encontrados. Isso foi particularmente notado na

dosagem da IP-10. Em menor grau, esse fenômeno foi notado também nas dosagens de MCP-1. Pequenas variações podem, assim, não ter sido detectadas, mas isto é uma limitação do método de dosagem das citocinas empregado. Especificamente para a MCP-1, esse fator acabou também prejudicando o seu uso como preditor de febre.

A PCT sérica tem sido proposta como um novo marcador de infecção bacteriana e fúngica. Comparando com os valores pré-febre, a mediana da PCT aumenta de 0,16 a 0,34 ng/mL no dia da febre (ENGEL *et al.* 1999). No aparelho VIDAS BRAHMS utilizado neste estudo, o valor definido para predizer a infecção bacteriana da não-bacteriana é 0,5 ng/mL. Segundo recomendação do fabricante, a dosagem deve ser realizada em soro e não em plasma. Isso se deve ao fato de que o EDTA reduz os valores medidos no aparelho, pois este interfere na reatividade da fosfatase alcalina.

No presente estudo, a coleta foi feita em tubo com EDTA. Como forma de avaliar a confiabilidade dos resultados, os pesquisadores realizaram testes comparativos em 10 amostras obtidas em tubos com e sem EDTA. A variação determinada pelo EDTA nos resultados mostrou-se inferior a 10% (dados não publicados). Nessa população febril analisada, as medianas dos níveis de PCT elevaram-se progressivamente nas três medidas realizadas, mas não houve diferenças significativas nesses valores em relação à população que não teve febre. Embora revelem tendência, o uso da procalcitonina no contexto de predição de febre carece ainda de um estudo com amostras coletadas de maneira adequada.

Mesmo sendo considerado o melhor marcador de infecção durante o período de neutropenia, a febre nem sempre é efetivamente causada por infecção. A própria doença hematológica, hemotransfusões e algumas medicações podem causar febre. Neste estudo, o pequeno tamanho da amostra impossibilitou a avaliação dos diferentes marcadores inflamatórios como discriminadores de febre relacionada ou não à infecção.

Finalmente, é importante destacar que esta pesquisa tinha o objetivo de explorar alguns marcadores inflamatórios nunca antes estudados no âmbito da neutropenia febril. Entre eles, pode-se citar o próprio sTNFRI e a MCP-1, além de MIP-1 $\alpha$ , eotaxina e IP-10. Apesar de todas as limitações descritas, conseguiu-

se mostrar que um marcador em particular pode ter papel promissor na predição de febre nos pacientes neutropênicos. Mesmo se considerando que não foram realizadas correções para os valores de  $p$ , a alteração encontrada no sTNFRI tem respaldo biológico. Este é um dos marcadores inflamatórios mais precoces e a sua rápida secreção nos locais de inflamação/infecção para ativar as diferentes células de defesa e a posterior secreção de outras citocinas que só então ativarão os centros de febre hipotalâmicos justifica utilizá-lo como preditor de febre (ADERKA *et al.*, 1992; SCHALL *et al.*, 1990; TRACEY; CERAMI, 1994).

Métodos novos, simples e confiáveis são necessários para predizer quais são os pacientes neutropênicos que desenvolverão febre e para possibilitar a instituição mais precoce do tratamento antimicrobiano. Na última década houve acentuado progresso no conhecimento da resposta inflamatória nos pacientes neutropênicos onco-hematológicos. Apesar disso, muito ainda precisa ser esclarecido. O campo de pesquisa das citocinas é promissor, cresce em velocidade exponencial, abrangendo crescente número de disciplinas variadas. Novas moléculas e seus receptores estão na fila para serem testadas e muitas associações estão por serem desvendadas.

É realmente preferível utilizar as citocinas no lugar de um marcador mais convencional, como a febre? Esta investigação não se propôs a responder definitivamente esta questão, mas, como citado anteriormente, a possibilidade de se identificar precocemente um episódio infeccioso num paciente neutropênico antes do início de qualquer manifestação clínica pode significar uma mudança de paradigma e a possibilidade de aumentar as chances de um desfecho favorável. Deve-se lembrar que, particularmente na população de pacientes com leucemia aguda, a infecção no período de neutropenia ainda é a principal causa de óbito precoce (e conseqüente impossibilidade de se obter remissão), além de ser importante causa de óbito no período de tratamento pós-remissão.

É necessária a realização de estudos prospectivos, com uma população maior de pacientes, preferencialmente em vários centros, para validar o papel do sTNFRI como preditor de febre nos pacientes neutropênicos portadores de doenças hematológicas.



## 7 CONCLUSÕES

- Analisando toda a população, observou-se aumento progressivo na mediana dos níveis séricos de sTNFR1, sTNFR2 e IL-8 nos três momentos desde a inclusão até o último dia de coleta. No subgrupo que não foi submetido ao transplante, observou-se aumento progressivo na mediana dos níveis séricos de TNF- $\alpha$ , sTNFR2 e IL-8 nos três momentos desde a inclusão até o último dia de coleta. Não houve variação significativa nos níveis séricos de todos os marcadores inflamatórios do subgrupo afebril.
- Os níveis de sTNFR1 elevaram-se significativamente nos pacientes que apresentaram febre, em relação aos pacientes neutropênicos afebris. Os níveis de sTNFR1 e da MCP-1 elevaram-se significativamente no subgrupo de neutropênicos não transplantados de medula óssea que apresentou febre, em relação aos pacientes neutropênicos não transplantados que não tiveram febre. Os níveis séricos de IL-8, IP-10, TNF- $\alpha$ , sTNFR2, MIP-1, PCT e de eotaxina não foram preditores da ocorrência de febre em pacientes com neutropenia induzida por quimioterapia ou secundária à doença de base hematológica ao diagnóstico ou em recidiva da mesma.
- A elevação dos marcadores inflamatórios sTNFR1 e MCP-1 antecipou-se à febre numa mediana de tempo de 11 horas. Sendo assim, esses marcadores inflamatórios foram efetivamente preditores de febre nessas populações. O seguimento diário dos níveis séricos de marcadores inflamatórios, destacando-se o sTNFR1, pode prever a ocorrência de febre e possibilitar a instituição mais precoce de terapia antimicrobiana em pacientes hematológicos neutropênicos.
- Foi identificado para o sTNFR1 um valor de corte de 1.514 pg/mL para a discriminação entre os pacientes febris e afebris, com sensibilidade de 65%, especificidade de 87%, VPP de 93%, VPN de 46% e acurácia de 70%. Na população de neutropênicos não transplantados, determinou-se o mesmo ponto de corte para o sTNFR1, com sensibilidade de 71%, especificidade de 87%, VPP de 91%, VPN de 63% e acurácia de 77%.

## REFERÊNCIAS

ADERKA, D. *et al.* Variation in serum levels of the soluble TNF receptors among healthy individuals. **Lymphokine Cytokine Res**, v. 11, n. 3, p. 157-9, Jun. 1992.

ALESSANDRI, A. L. *et al.* Concentrations of CXCL8, CXCL9 and sTNFR1 in plasma of patients with pulmonary tuberculosis undergoing treatment. **Inflamm Res**, v.55,n.12, Dec, p528-33.2006.

BAGGIOLINI, M.; DAHINDEN, C.A. CC chemokines in allergic inflammation. **Immunol Today**, v. 15, n. 3, p. 127-33, Mar. 1994.

BAGGIOLINI, M. *et al.* Interleukin-8 and related chemotactic cytokines--CXC and CC chemokines. **Adv Immunol**, v. 55, p. 97-179, 1994.

BAGGIOLINI, M. *et al.* Human chemokines: an update. **Annu Rev Immunol**, v. 15, p .675-705, 1997.

BASKARAN, N.D. *et al.* Applying the multinational association for supportive care in cancer risk scoring in predicting outcome of febrile neutropenia patients in a cohort of patients. **Ann Hematol**, v. 87, n. 7, p. 563-9, Jul. 2008.

BATTLEMAN, D.S. *et al.* Rapid antibiotic delivery and appropriate antibiotic selection reduce length of hospital stay of patients with community-acquired pneumonia: link between quality of care and resource utilization. **Arch Intern Med**, v. 162, n. 6, p. 682-8, Mar. 25, 2002.

BAZZONI, F. *et al.* Phagocytosing neutrophils produce and release high amounts of the neutrophil-activating peptide 1/interleukin 8. **J Exp Med**, v. 173, n. 3, p. 771-4, Mar. 1, 1991.

BEARMAN, S.I. *et al.* Regimen-related toxicity in patients undergoing bone marrow transplantation. **J Clin Oncol**, v. 6, n. 10, p. 1562-8, Oct. 1988.

BEN-BARUCH, A. *et al.* Signals and receptors involved in recruitment of inflammatory cells. **J Biol Chem**, v. 270, n. 20, p. 11703-6, May. 19, 1995.

BENNETT, C.L. *et al.* Use of hematopoietic colony-stimulating factors: comparison of the 1994 and 1997 American Society of Clinical Oncology surveys regarding ASCO clinical practice guidelines. Health Services Research Committee of the American Society of Clinical Oncology. **J Clin Oncol**, v. 17, n. 11, p. 3676-81, Nov. 1999.

BENNETT JR., I.L.; BEESON, P.B. Studies on the pathogenesis of fever. II. Characterization of fever-producing substances from polymorphonuclear leukocytes and from the fluid of sterile exudates. **J Exp Med**, v. 98, n. 5, p. 493-508, Nov. 1953.

BEUTLER, B.; BEUTLER, S. M. The pathogenesis of fever. *In*: GOLDMAN, L.; AUSIELLO, D. (Ed.). **Textbook of medicine**. Philadelphia: Saunders, v. 1, 2004, p. 1730-1733.

BILLINGHAM, R.E. The biology of graft-versus-host reactions. **Harvey Lect**, v. 62, p. 21-78. 1966.

BLIJLEVENS, N.M. *et al.* Procalcitonin does not discriminate infection from inflammation after allogeneic bone marrow transplantation. **Clin Diagn Lab Immunol**, v. 7, n. 6, p. 889-92, Nov. 2000.

BODEY, G.P.B. *et al.* Quantitative relationships between circulating leucocytes and infection in patients with acute leukemia. **Ann Intern Med**, v. 64, n. 2, p. 328-340, 1966.

BOGGS, D.R. *et al.* The acute leukemias. Analysis of 322 cases and review of the literature. **Medicine**, Baltimore, v. 41, p. 163-225, Sep. 1962.

BROUN, G.O. *et al.* Leukopenia in Negroes. **N Engl J Med**, v. 275, n. 25, p.1410-3, Dec 22, 1966.

BUYUKBERBER, N. *et al.* Cytokine concentrations are not predictive of bacteremia in febrile neutropenic patients. **Med Oncol**, v.26, n.1, p.55-61. 2009.

CHANG, H.Y. *et al.* Causes of death in adults with acute leukemia. **Medicine**, Baltimore, v. 55, n. 3, p. 259-68, May, 1976.

CHARLSON, M. *et al.* Why predictive indexes perform less well in validation studies. Is it magic or methods? **Arch Intern Med**, v. 147, n.12, Dec, p.2155-61. 1987.

COLDITZ, I.G. *et al.* Neutrophil accumulation and plasma leakage induced in vivo by neutrophil-activating peptide-1. **J Leukoc Biol**, v. 48, n. 2, p. 129-37, Aug. 1990.

COLDITZ, I.G.; WATSON, D.L. The effect of cytokines and chemotactic agonists on the migration of T lymphocytes into skin. **Immunology**, v. 76, n .2, p. 272-8, Jun. 1992.

COOK, D.N. The role of MIP-1 alpha in inflammation and hematopoiesis. **J Leukoc Biol**, v. 59, n. 1, p. 61-6, Jan. 1996.

COOPER, K.E. *et al.* Temperature Regulation during Fever in Man. **Clin Sci**, v. 27, p. 345-56, Dec. 1964.

COREY, A.L.; SNYDER, S. Antibiotics in 30 minutes or less for febrile neutropenic patients: a quality control measure in a new hospital. **J Pediatr Oncol Nurs**, v. 25, n. 4, p.208-12, Jul-Aug. 2008.

DAAKA, Y. *et al.* Essential role for G protein-coupled receptor endocytosis in the activation of mitogen-activated protein kinase. **J Biol Chem**, v. 273, n. 2, p. 685-8, Jan. 9, 1998.

D'AMBROSIO, D. *et al.* Chemokine receptors in inflammation: an overview. **J Immunol Methods**, v. 273, n. 1-2, p. 3-13, Feb. 2003.

De BONT, E.S. *et al.* Plasma IL-8 and IL-6 levels can be used to define a group with low risk of septicaemia among cancer patients with fever and neutropenia. **Br J Haematol**, v. 107, n. 2, p. 375-80, 1999.

De BONT, E.S. *et al.* Procalcitonin: a diagnostic marker of bacterial infection in neutropenic cancer patients with fever? **Infection**, v. 28, n. 6, p. 398-400, Nov.Dec., 2000.

DINARELLO, C.A. *et al.* New concepts on the pathogenesis of fever. **Rev Infect Dis**, v. 10, n. 1, p. 168-89, Jan-Feb, 1988.

DINARELLO, C.A. The acute phase response. *In*: GOLDMAN, L.; AUSIELLO, D. (Ed.). **Cecil textbook of medicine**. Philadelphia: Saunders, v. 297, 2004, p.1733-1735

DINARELLO, C.A. *et al.* **The physiological and pathological effects of cytokines**. New York, 1990.

DINARELLO, C.A. *et al.* Pathogenesis of fever and the acute phase response. *In*: MANDELL, G. L. *et al.* (Ed.). **Principles and practice of infectious diseases**. New York: Churchill Livingstone, v. 1, 1995, p. 530-536.

EI-MAGHRABY, S.M. *et al.* The diagnostic value of C-reactive protein, interleukin-8, and monocyte chemotactic protein in risk stratification of febrile neutropenic children with hematologic malignancies. **J Pediatr Hematol Oncol**, v. 29, n. 3, Mar, p. 131-6. 2007.

EI MOUSSAOUI, R. *et al.* Effectiveness of discontinuing antibiotic treatment after three days versus eight days in mild to moderate-severe community acquired pneumonia: randomised, double blind study. **BMJ**, v. 332, n. 7554, p. 1355, Jun. 10, 2006.

ENGEL, A. *et al.* An analysis of interleukin-8, interleukin-6 and C-reactive protein serum concentrations to predict fever, gram-negative bacteremia and complicated infection in neutropenic cancer patients. **Infection**, v. 26, n. 4, p. 213-21, Jul-Aug. 1998.

ENGEL, A. *et al.* Diagnostic value of procalcitonin serum levels in neutropenic patients with fever: comparison with interleukin-8. **Scand J Infect Dis**, v. 31, n. 2, p. 185-9. 1999.

ENGEL, A. *et al.* Interleukin-8 serum levels at fever onset in patients with neutropenia predict early medical complications. **Infection**, v. 33, n. 5-6, p. 380-2, Oct. 2005.

ENGERVALL, P. *et al.* Clinical significance of serum cytokine patterns during start of fever in patients with neutropenia. **Br J Haematol**, v. 91, n. 4, p. 838-45, Dec. 1995.

FERRARA, J.L. *et al.* Pathophysiologic mechanisms of acute graft-vs.-host disease. **Biol Blood Marrow Transplant**, v. 5, n. 6, p. 347-56, 1999.

FERREIRA, A.M. *et al.* The effect of MCP-1 depletion on chemokine and chemokine-related gene expression: evidence for a complex network in acute inflammation. **Cytokine**, v. 30, n. 2, p. 64-71, Apr 21, 2005.

FLEISCHHACK, G. *et al.* Procalcitonin in paediatric cancer patients: its diagnostic relevance is superior to that of C-reactive protein, interleukin 6, interleukin 8, soluble interleukin 2 receptor and soluble tumour necrosis factor receptor II. **Br J Haematol**, v. 111, n. 4, p. 1093-102, Dec. 2000.

FOXMAN, E.F. *et al.* Multistep navigation and the combinatorial control of leukocyte chemotaxis. **J Cell Biol**, v. 139, n. 5, p. 1349-60, Dec. 1, 1997.

FRANÇA, J.L. *et al.* Manual para normalização de publicações técnico-científicas. Belo Horizonte: UFMG, 8. ed., 2007.

FREIFELD, A. *et al.* A double-blind comparison of empirical oral and intravenous antibiotic therapy for low-risk febrile patients with neutropenia during cancer chemotherapy. **N Engl J Med**, v. 341, n. 5, p. 305-11, Jul. 29, 1999.

GELAPE, C.L. *et al.* Preoperative plasma levels of soluble tumor necrosis factor receptor type I (sTNF-RI) predicts adverse events in cardiac surgery. **Cytokine**, v. 38, n. 2, p. 90-5, May. 2007.

GIAMARELLOS-BOURBOULIS, E.J. *et al.* Assessment of procalcitonin as a diagnostic marker of underlying infection in patients with febrile neutropenia. **Clin Infect Dis**, v. 32, n. 12, p. 1718-25, Jun. 15, 2001.

GOETZ, M. *et al.* Soluble tumor necrosis factor receptor type II in the early diagnosis of fever in neutropenia. **Ann Hematol**, v.81, n.7, p. 382-5, Jul, 2002.

GONÇALVES, R. M. *et al.* Increased serum levels of CXCL8 chemokine in acute toxoplasmic retinochoroiditis. **Acta Ophthalmol Scand**, v.85, n.8, Dec, p.871-6. 2007.

GRAHAM, G.J. *et al.* Identification and characterization of an inhibitor of haemopoietic stem cell proliferation. **Nature**, v. 344, n. 6265, p. 442-4, Mar. 29, 1990.

GUYTON, A.C. Temperatura corporal, regulação térmica e febre. *In*: GUYTON, A.C. (Ed.). **Tratado de Fisiologia Médica**. Guanabara Koogan, v. 1, p. 699-709, 1991.

HANDE, K.R. Principles and pharmacology of chemotherapy. *In*: LEE, G. R. *et al.* (Ed.). **Wintrobe's clinical hematology**. Baltimore: Williams & Wilkins, v. 2, 1999, p. 2076-2101.

HANN, I. *et al.* A comparison of outcome from febrile neutropenic episodes in children compared with adults: results from four EORTC studies. International Antimicrobial Therapy Cooperative Group (IATCG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). **Br J Haematol**, v. 99, n. 3, p. 580-8, Dec. 1997.

HARBARTH, S. *et al.* Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 164, n. 3, p. 396-402, Aug. 2001.

HICKMAN, J.A. Apoptosis induced by anticancer drugs. **Cancer Metastasis Rev**, v. 11, n. 2, p. 121-39, Sep. 1992.

HOLLER, E. *et al.* Increased serum levels of tumor necrosis factor alpha precede major complications of bone marrow transplantation. **Blood**, v. 75, n. 4, p. 1011-6, Feb. 15, 1990.

HOLMES, W.E. *et al.* Structure and functional expression of a human interleukin-8 receptor. **Science**, v. 253, n. 5025, p. 1278-80, Sep. 13, 1991.

HOUCK, P.M. *et al.* Timing of antibiotic administration and outcomes for Medicare patients hospitalized with community-acquired pneumonia. **Arch Intern Med**, v. 164, n. 6, p. 637-44, Mar. 2004.

HUFFNAGLE, G.B. *et al.* The role of monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) in the recruitment of monocytes and CD4+ T cells during a pulmonary *Cryptococcus neoformans* infection. **J Immunol**, v. 155, n. 10, p. 4790-7, Nov. 15, 1995.

HUGHES, W.T. *et al.*, 2002 guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with cancer. **Clin Infect Dis**, v. 34, n. 6, p. 730-51, Mar. 15, 2002.

HUGHES, W.T. *et al.* 1997 guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with unexplained fever. Infectious Diseases Society of America. **Clin Infect Dis**, v. 25, n. 3, p. 551-73, Sep. 1997.

HUGHES *et al.* From the Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with unexplained fever. **J Infect Dis**, v. 161, n. 3, p. 381-96, Mar. 1990.

IBOPE. **Critério de Classificação Econômica Brasil**. Dados com base no Levantamento Socioeconômico, 2005. Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP). Brasil: IBOPE, 2008.

IREGUI, M. *et al.* Clinical importance of delays in the initiation of appropriate antibiotic treatment for ventilator-associated pneumonia. **Chest**, v. 122, n. 1, p. 262-8, Jul. 2002.

JOHANSON, W.G. *et al.* Changing pharyngeal bacterial flora of hospitalized patients. Emergence of gram-negative bacilli. **N Engl J Med**, v. 281, n. 21, p. 1137-40, Nov. 20, 1969.

JOSE, P.J. *et al.* Eotaxin: a potent eosinophil chemoattractant cytokine detected in a guinea pig model of allergic airways inflammation. **J Exp Med**, v. 179, n. 3, p. 881-7, Mar. 1, 1994.

KABASHIMA, H. *et al.* The presence of chemokine (MCP-1, MIP-1alpha, MIP-1beta, IP-10, RANTES)-positive cells and chemokine receptor (CCR5, CXCR3)-positive cells in inflamed human gingival tissues. **Cytokine**, v. 20, n. 2, p. 70-7, Oct. 21, 2002.

KARZAI, W. *et al.* Procalcitonin--a new indicator of the systemic response to severe infections. **Infection**, v. 25, n. 6, p. 329-34, Nov-Dec. 1997.

KERN, W.V. *et al.* Prediction of gram-negative bacteremia in patients with cancer and febrile neutropenia by means of interleukin-8 levels in serum: targeting empirical monotherapy versus combination therapy. **Clin Infect Dis**, v. 32, n.5, p. 832-5, Mar. 2001.

KERN, W.V. *et al.* Soluble tumor necrosis factor receptors in febrile neutropenic cancer patients. **Infection**, v. 23, n. 1, p. 64-5, Jan-Feb. 1995.

KLASTERSKY, J. *et al.* The Multinational Association for Supportive Care in Cancer risk index: A multinational scoring system for identifying low-risk febrile neutropenic cancer patients. **J Clin Oncol**, v. 18, n. 16, p. 3038-51, Aug. 2000.

KOH, A.; PIZZO, P.A. Empirical oral antibiotic therapy for low risk febrile cancer patients with neutropenia. **Cancer Invest**, v. 20, n. 3, p.420-33, 2002.

KRAJCIK, R.A. *et al.* No association between serum levels of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) or the soluble receptors sTNFR1 and sTNFR2 and breast cancer risk. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, v. 12, n. 9, p. 945-6, Sep. 2003.

KUMAR, A. *et al.* Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. **Crit Care Med**, v. 34, n. 6, p. 1589-96, Jun. 2006.

LAMBERTUCCI, J.R.S. *et al.* Febre. In: LÓPEZ, M.; MEDEIROS, J. L. (Ed.). **Semiologia Médica**. Livraria Atheneu, v. 1, p. 71-86, 1990.

LARCHE, J. *et al.* Improved survival of critically ill cancer patients with septic shock. **Intensive Care Med**, v. 29, n. 10, p. 1688-95, Oct. 2003.

LEE, J.W.; PIZZO, P.A. Management of the cancer patient with fever and prolonged neutropenia. **Hematol Oncol Clin North Am**, v. 7, n. 5, p. 937-60, Oct. 1993.

LEHRNBECHER, T. *et al.* Assessment of measuring circulating levels of interleukin-6, interleukin-8, C-reactive protein, soluble Fc gamma receptor type III, and mannose-binding protein in febrile children with cancer and neutropenia. **Clin Infect Dis**, v. 29, n. 2, p.414-9, 1999.

LEHRNBECHER, T. *et al.* Circulating levels and promoter polymorphisms of interleukins-6 and 8 in pediatric cancer patients with fever and neutropenia. **Haematologica**, v. 89, n. 2, p. 234-6, Feb. 2004.

LEONARD, E.J. *et al.* Biological aspects of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1). **Adv Exp Med Biol**, v. 305, p. 57-64. 1991.

LEONARD, E.J. *et al.* Secretion of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) by human mononuclear phagocytes. **Adv Exp Med Biol**, v. 351, p. 55-64, 1993.

LEONARD, E.J.; YOSHIMURA, T. Human monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1). **Immunol Today**, v. 11, n. 3, p. 97-101, Mar. 1990.

LEVINE, S.J. Mechanisms of soluble cytokine receptor generation. **J Immunol**, v. 173, n. 9, p. 5343-8, Nov. 1, 2004.

LEVINE, S.J. Molecular mechanisms of soluble cytokine receptor generation. **J Biol Chem**, v. 283, n. 21, p. 14177-81, May 23, 2008.

LI, J.Z. *et al.* Efficacy of short-course antibiotic regimens for community-acquired pneumonia: a meta-analysis. **Am J Med**, v. 120, n. 9, p. 783-90, Sep. 2007.

LINK, H. *et al.* Antimicrobial therapy of unexplained fever in neutropenic patients.-- guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO), Study Group Interventional Therapy of Unexplained Fever, Arbeitsgemeinschaft Supportivmassnahmen in der Onkologie (ASO) of the Deutsche Krebsgesellschaft (DKG-German Cancer Society). **Ann Hematol**, v. 82, Suppl 2, p. S105-17, Oct. 2003.

LOETSCHER, M. *et al.* Chemokine receptor specific for IP10 and mig: structure, function, and expression in activated T-lymphocytes. **J Exp Med**, v. 184, n. 3, p. 963-9, Sep. 1, 1996.



LUCAS, K.G. *et al.* The identification of febrile, neutropenic children with neoplastic disease at low risk for bacteremia and complications of sepsis. **Cancer**, v. 77, n. 4, p. 791-8, Feb. 15, 1996.

LUSTER, A.D.; RAVETCH, J.V. Biochemical characterization of a gamma interferon-inducible cytokine (IP-10). **J Exp Med**, v. 166, n. 4, p. 1084-97, Oct. 1, 1987.

MARTINS, E. (org., ed.) **Manual de redação e estilo**. São Paulo, O Estado de São Paulo, 1990.

MCGEE, Z.A.; GORBY, G.L. The diagnostic value of fever patterns. **Hosp Pract (Off Ed)**, v. 22, n. 10A, p. 103-4, 106, 108-10, Oct. 30, 1987.

MINER, J.R. *et al.* Presentation, time to antibiotics, and mortality of patients with bacterial meningitis at an urban county medical center. **J Emerg Med**, v. 21, n. 4, p. 387-92, Nov. 2001.

MOSER, B. *et al.* Expression of transcripts for two interleukin 8 receptors in human phagocytes, lymphocytes and melanoma cells. **Biochem J**, v. 294 (Pt 1), p. 285-92, Aug. 15, 1993.

MURPHY, P.M. The molecular biology of leukocyte chemoattractant receptors. **Annu Rev Immunol**, v. 12, p. 593-633, 1994.

MURPHY, P.M. International Union of Pharmacology. XXX. Update on chemokine receptor nomenclature. **Pharmacol Rev**, v. 54, n. 2, p. 227-9, Jun. 2002.

NATIONAL CANCER INSTITUTE (NCI). **Cancer therapy evaluation program-common toxicity criteria**. Version 2.0, 1999.

NOBRE JR., V.A. *et al.* Prompt antibiotic administration and goal-directed hemodynamic support in patients with severe sepsis and septic shock. **Curr Opin Crit Care**, v. 13, n. 5, p. 586-91, Oct. 2007.

NOBRE JR., V.A. *et al.* Use of procalcitonin to shorten antibiotic treatment duration in septic patients: a randomized trial. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 177, n. 5, p. 498-505, Mar. 1, 2008.

OKEN, M.M. *et al.* Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. **Am J Clin Oncol**, v. 5, n. 6, p. 649-55, Dec. 1982.

ORTEGA, M. *et al.* Prospective evaluation of procalcitonin in adults with febrile neutropenia after haematopoietic stem cell transplantation. **Br J Haematol**, v. 126, n. 3, p. 372-6, Aug. 2004.

OUDE NIJHUIS, C.S. *et al.* Feasibility of withholding antibiotics in selected febrile neutropenic cancer patients. **J Clin Oncol**, v. 23, n. 30, p. 7437-44, 2005.

OUDE NIJHUIS, C.S. *et al.* Fever and neutropenia in cancer patients: the diagnostic role of cytokines in risk assessment strategies. **Crit Rev Oncol Hematol**, v. 44, n. 2, p. 163-74, Nov. 2002.

PERRONE, J. *et al.* Emergency department evaluation of patients with fever and chemotherapy-induced neutropenia. **J Emerg Med**, v. 27, n. 2, p. 115-9, Aug. 2004.

PERSSON, L. *et al.* Assessment of systemic inflammation markers to differentiate a stable from a deteriorating clinical course in patients with febrile neutropenia. **Eur J Haematol**, v. 74, n. 4, p. 297-303, Apr. 2005.

PICKERING, L.K. *et al.* Effect of chemotherapeutic agents on metabolic and bactericidal activity of polymorphonuclear leukocytes. **Cancer**, v. 42, n. 4, p. 1741-6, Oct. 1978.

PIRSCH, J.D.; MAKI, D.G. Infectious complications in adults with bone marrow transplantation and T-cell depletion of donor marrow. Increased susceptibility to fungal infections. **Ann Intern Med**, v. 104, n. 5, p. 619-31, May 1986.

PIZZO, P.A.E.A. A randomized trial comparing ceftazidime alone with combination of antibiotic in cancer patients with fever and neutropenia. **N Engl J Med**, v. 315, p. 552-558, 1986.

PIZZO, P.A.E.A. Fever in immunocompromised patients. **N Engl J Med**, v. 341, n. 12, p. 893-900, 16 Sept. 1999.

PIZZO, P.A. Management of fever in patients with cancer and treatment-induced neutropenia. **N Engl J Med**, v. 328, n. 18, May 6, p.1323-32, 1993.

PONATH, P.D. *et al.* Cloning of the human eosinophil chemoattractant, eotaxin. Expression, receptor binding, and functional properties suggest a mechanism for the selective recruitment of eosinophils. **J Clin Invest**, v. 97, n. 3, p. 604-12, Feb. 1, 1996.

PONATH, P.D. *et al.* Molecular cloning and characterization of a human eotaxin receptor expressed selectively on eosinophils. **J Exp Med**, v. 183, n. 6, p. 2437-48, Jun. 1, 1996.

PORTO, C.C.. Exame Físico Geral. *In*: PORTO, C.C. (Ed.). **Semiologia Médica**. Editora Guanabara Koogan, v. 1, p. 89-155, 2001.

PRAT, C. *et al.* Evaluation of procalcitonin, neopterin, C-reactive protein, IL-6 and IL-8 as a diagnostic marker of infection in patients with febrile neutropenia. **Leuk Lymphoma**, v. 49, n. 9, p. 1752-61, Sep. 2008.

RAAB, S.O. *et al.* The clinical significance of fever in acute leukemia. **Blood**, v. 16, p. 1609-28, Nov. 1960.

RICHARDSON, M.D.; KOKKI, M.H. Diagnosis and prevention of fungal infection in the immunocompromized patient. **Blood Rev**, v. 12, n. 4, p. 241-54, Dec. 1998.

RICHARDSON, R.M. *et al.* Regulation of human interleukin-8 receptor A: identification of a phosphorylation site involved in modulating receptor functions. **Biochemistry**, v. 34, n. 43, p. 14193-201, Oct. 31, 1995.

ROGY, M.A. *et al.* Persistently elevated soluble tumor necrosis factor receptor and interleukin-1 receptor antagonist levels in critically ill patients. **J Am Coll Surg**, v. 178, n. 2, p. 132-8, Feb. 1994.

ROSELLI, M. *et al.* Association between serum carcinoembryonic antigen and endothelial cell adhesion molecules in colorectal cancer. **Oncology**, v. 65, n. 2, p. 132-8. 2003.

ROSSI, D.; ZLOTNIK, A. The biology of chemokines and their receptors. **Annu Rev Immunol**, v. 18, p. 217-42, 2000.

SAKR, Y. *et al.* The role of procalcitonin in febrile neutropenic patients: review of the literature. **Infection**, v. 36, n. 5, p. 396-407, Oct. 2008.

SALLUSTO, F. *et al.* The role of chemokine receptors in primary, effector, and memory immune responses. **Annu Rev Immunol**, v. 18, p. 593-620, 2000.

SANDORA, T.J. *et al.* Assessing quality indicators for pediatric community-acquired pneumonia. **Am J Med Qual**, v. 24, n. 5, p. 419-27, Sep-Oct. 2009.

SAYER, H.G. *et al.* Increased risk of infection in marrow transplant patients receiving methylprednisolone for graft-versus-host disease prevention. **Blood**, v. 84, n. 4, p. 1328-32, Aug. 15, 1994.

SCHALL, T.J.; BACON, K.B. Chemokines, leukocyte trafficking, and inflammation. **Curr Opin Immunol**, v. 6, n. 6, p. 865-73, Dec. 1994.

SCHALL, T.J. *et al.* Molecular cloning and expression of a receptor for human tumor necrosis factor. **Cell**, v. 61, n. 2, p. 361-70, Apr. 1990.

SCHIMPF, S. *et al.* Empiric therapy with carbenicillin and gentamicin for febrile patients with cancer and granulocytopenia. **N Engl J Med**, v. 284, n. 19, p. 1061-5, May 13, 1971.

SCHIMPF, S.C. *et al.* Origin of infection in acute nonlymphocytic leukemia. Significance of hospital acquisition of potential pathogens. **Ann Intern Med**, v. 77, n. 5, p. 707-14, Nov. 1972.

SCHIMPF, S.C. Infection in neutropenic cancer patients: three decades of progress. **Support Care Cancer**, v. 5, n. 5, p. 343-5, Sep. 1997.

SCHWABE, M. *et al.* Interleukin-8, neutropenia, and graft failure in human stem cell transplantation. **Transplantation**, v. 78, n. 7, p. 1086-8, Oct. 15, 2004.

SECMEER, G. *et al.* Role of procalcitonin and CRP in differentiating a stable from a deteriorating clinical course in pediatric febrile neutropenia. **J Pediatr Hematol Oncol**, v. 29, n. 2, p. 107-11, Feb. 2007.

SHERRY, B. *et al.* Resolution of the two components of macrophage inflammatory protein 1, and cloning and characterization of one of those components, macrophage inflammatory protein 1 beta. **J Exp Med**, v. 168, n. 6, p. 2251-9, Dec. 1, 1988.

SICKLES, E.A. *et al.* Clinical presentation of infection in granulocytopenic patients. **Arch Intern Med**, v. 135, n. 5, p. 715-9, May 1975.

SILVER, R.T. *et al.* Fever, infection and host resistance in acute leukemia. **Am J Med**, v. 24, n. 1, p. 25-39, Jan. 1958.

SMITH, T.J. *et al.* 2006 update of recommendations for the use of white blood cell growth factors: an evidence-based clinical practice guideline. **J Clin Oncol**, v. 24, n. 19, p. 3187-205, Jul. 1, 2006.

SORROR, M. L., *et al.* Hematopoietic cell transplantation (HCT)- specific comorbidity index : a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. **Blood**, v.106, n.8, Oct 15, p.2912-9. 2005.

SPINAS, G.A. *et al.* Release of soluble receptors for tumor necrosis factor (TNF) in relation to circulating TNF during experimental endotoxemia. **J Clin Invest**, v. 90, n. 2, p. 533-6, Aug. 1992.

SPRINGER, T.A. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. **Cell**, v. 76, n. 2, p. 301-14, Jan. 1994.

STRIETER, R.M. *et al.* Role of tumor necrosis factor-alpha in disease states and inflammation. **Crit Care Med**, v. 21, n. 10 Suppl, p. S447-63, Oct. 1993.

STRYJEWSKI, G. R., *et al.* Interleukin-6, interleukin-8, and a rapid and sensitive assay for calcitonin precursors for the determination of bacterial sepsis in febrile neutropenic children. **Pediatr Crit Care Med**, v.6, n.2, Mar, p.129-35.2005.

SUNG, L. *et al.* Meta-analysis: effect of prophylactic hematopoietic colony-stimulating factors on mortality and outcomes of infection. **Ann Intern Med**, v. 147, n. 6, p. 400-11, Sep. 18, 2007.

TALCOTT, J.A. *et al.* Risk assessment in cancer patients with fever and neutropenia: a prospective, two-center validation of a prediction rule. **J Clin Oncol**, v. 10, n. 2, p. 316-22, Feb. 1992.

TALCOTT, J.A. *et al.* The medical course of cancer patients with fever and neutropenia. Clinical identification of a low-risk subgroup at presentation. **Arch Intern Med**, v. 148, n. 12, p. 2561-8, Dec. 1988.

TAMURA, K. Initial empirical antimicrobial therapy: duration and subsequent modifications. **Clin Infect Dis**, v. 39 Suppl 1, Jul 15, p. S59-64, 2004.

TAUB, D.D. *et al.* Recombinant human interferon-inducible protein 10 is a chemoattractant for human monocytes and T lymphocytes and promotes T cell adhesion to endothelial cells. **J Exp Med**, v. 177, n. 6, p. 1809-14, Jun. 1, 1993.

TAUB, D.D. *et al.* Human interferon-inducible protein-10 induces mononuclear cell infiltration in mice and promotes the migration of human T lymphocytes into the peripheral tissues and human peripheral blood lymphocytes-SCID mice. **Blood**, v. 87, n. 4, p. 1423-31, Feb. 15, 1996.

TRACEY, K.J.; CERAMI, A. Tumor necrosis factor, other cytokines and disease. **Annu Rev Cell Biol**, v. 9, p. 317-43, 1993a.

TRACEY, K.J.; CERAMI, A. Tumor necrosis factor: an updated review of its biology. **Crit Care Med**, v. 21, n. 10 Suppl, p. S415-22, Oct. 1993b.

TRACEY, K.J.; CERAMI, A. Tumor necrosis factor: a pleiotropic cytokine and therapeutic target. **Annu Rev Med**, v. 45, p. 491-503, 1994.

Van DER MEER, J.W.M. *et al.* Defect in host defense mechanisms. *In*: RUBIN, Y.L. *et al.* (Ed.). **Clinical approach to infection in the compromised host**. Kluwer Academic/Plenum 2002, p.5-47

Van ZEE, K.J. *et al.* Tumor necrosis factor soluble receptors circulate during experimental and clinical inflammation and can protect against excessive tumor necrosis factor alpha in vitro and in vivo. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 89, n. 11, p. 4845-9, Jun. 1992.

VINANTE, F. *et al.* Serum levels of p55 and p75 soluble TNF receptors in adult acute leukaemia at diagnosis: correlation with clinical and biological features and outcome. **Br J Haematol**, v. 102, n. 4, p. 1025-34, Sep. 1998.

VISCOLI, C. *et al.* Factors associated with bacteraemia in febrile, granulocytopenic cancer patients. The International Antimicrobial Therapy Cooperative Group (IATCG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). **Eur J Cancer**, v. 30A, n. 4, p. 430-7, 1994.

Von LILIENFELD-TOAL, M. *et al.* Markers of bacteremia in febrile neutropenic patients with hematological malignancies: procalcitonin and IL-6 are more reliable than C-reactive protein. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 23, n. 7, p. 539-44, Jul. 2004.

WATTS, R.G. Neutropenia. *In*: LEE, G. R. *et al.* (Ed.). **Wintrobe's clinical hematology**. Baltimore: Williams & Wilkins, v. 2, 1999, p.1862-1888.

WILLIAMSON, E.C. *et al.* Infections in adults undergoing unrelated donor bone marrow transplantation. **Br J Haematol**, v. 104, n. 3, p. 560-8, Mar. 1999.

WINGARD, J.R. Fungal infections after bone marrow transplant. **Biol Blood Marrow Transplant**, v. 5, n. 2, p. 55-68. 1999.

WONG, H. R., *et al.* Interleukin-8 as a stratification tool for interventional trials involving pediatric septic shock. **Am J Respir Crit Care Med**, v.178, n.3, Aug 1, p.276-82. 2008.

YUEN, K.Y. *et al.* Unique risk factors for bacteraemia in allogeneic bone marrow transplant recipients before and after engraftment. **Bone Marrow Transplant**, v. 21, n. 11, p. 1137-43, Jun. 1998.

## **APÊNDICES E ANEXOS**

### **APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido**

Esclarecimentos a respeito do projeto de pesquisa “Uso de diferentes marcadores inflamatórios para predição da ocorrência de febre em pacientes neutropênicos”.

Pacientes portadores de doenças hematológicas, também conhecidas como doenças do sangue, como as leucemias, linfomas e anemias aplásicas, apresentam elevado risco de adquirirem infecções, seja pela própria doença ou pelo tratamento necessário. Em boa parte dos casos a febre é o único sinal de infecção. Nos pacientes que apresentam febre, aproximadamente metade não tem causa identificada, mesmo com a realização de vários exames para esclarecimento. A outra metade tem diagnóstico de infecção, mas nem sempre consegue-se determinar o microrganismo responsável pela infecção. Naqueles com identificação do agente causador da infecção, as bactérias são responsáveis pela grande maioria dos casos.

Recentemente, novos testes vêm sendo descritos para auxiliar a identificação dos pacientes que apresentam infecções, sendo a maioria desses testes realizados com base em exames de sangue. Quanto mais rápido for identificada uma infecção bacteriana e iniciado o tratamento, mais chances existem de sucesso. Da mesma forma, se o paciente não apresentar alterações sugestivas de infecção por bactérias, ele será poupado do uso desnecessário de antimicrobianos e dos seus possíveis efeitos colaterais. Um desses testes pode ser a dosagem das citocinas no sangue.

Você está sendo convidado para participar de uma pesquisa que avalia a utilidade da dosagem das citocinas na identificação precoce da infecção. O objetivo é estudar se a utilização da dosagem no sangue de várias citocinas em pacientes com redução do número de leucócitos (células brancas do sangue, responsáveis pela defesa do organismo) consegue identificar rapidamente a presença de infecções e a evolução clínica. Seu nome ou qualquer outra

identificação não será utilizada, de forma que você permanecerá anônimo durante toda a pesquisa.

Serão realizados procedimentos de acordo com a indicação do seu médico a partir de amostras de sangue coletadas de rotina para o seu tratamento. Você será submetido aos exames normalmente indicados, como radiografia do tórax, tomografia computadorizada do tórax, coleta de sangue, urina ou secreções (se presentes). Você será informado sobre todos os procedimentos realizados e poderá se recusar a participar ou retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem prejuízo de seu tratamento. Esses procedimentos apresentam riscos habituais relativos à coleta de amostras, como hematomas, sem que haja risco de morte e, caso os apresente, você receberá o devido tratamento. Será retirado um máximo de 4 mL de sangue em cada coleta, quantidade esta que não o prejudicará nem o seu tratamento. Nenhum desses exames irá retardar a sua avaliação ou o início do tratamento pelo seu médico e qualquer conduta só será realizada se aprovado pela equipe responsável pelo seu tratamento. Além do mais, como o resultado nível de citocina será realizado *a posteriori*, não haverá benefício ao participante desta pesquisa.

Não é previsto pagamento ao paciente por participar deste estudo.

Os custos deste trabalho serão pagos integralmente pelos pesquisadores.

Eu, \_\_\_\_\_, concordo em participar deste estudo diante do que me foi esclarecido.

Belo Horizonte, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

Ass. do paciente: \_\_\_\_\_

Ass. do pesquisador: \_\_\_\_\_

Prof. Henrique Neves da Silva Bittencourt

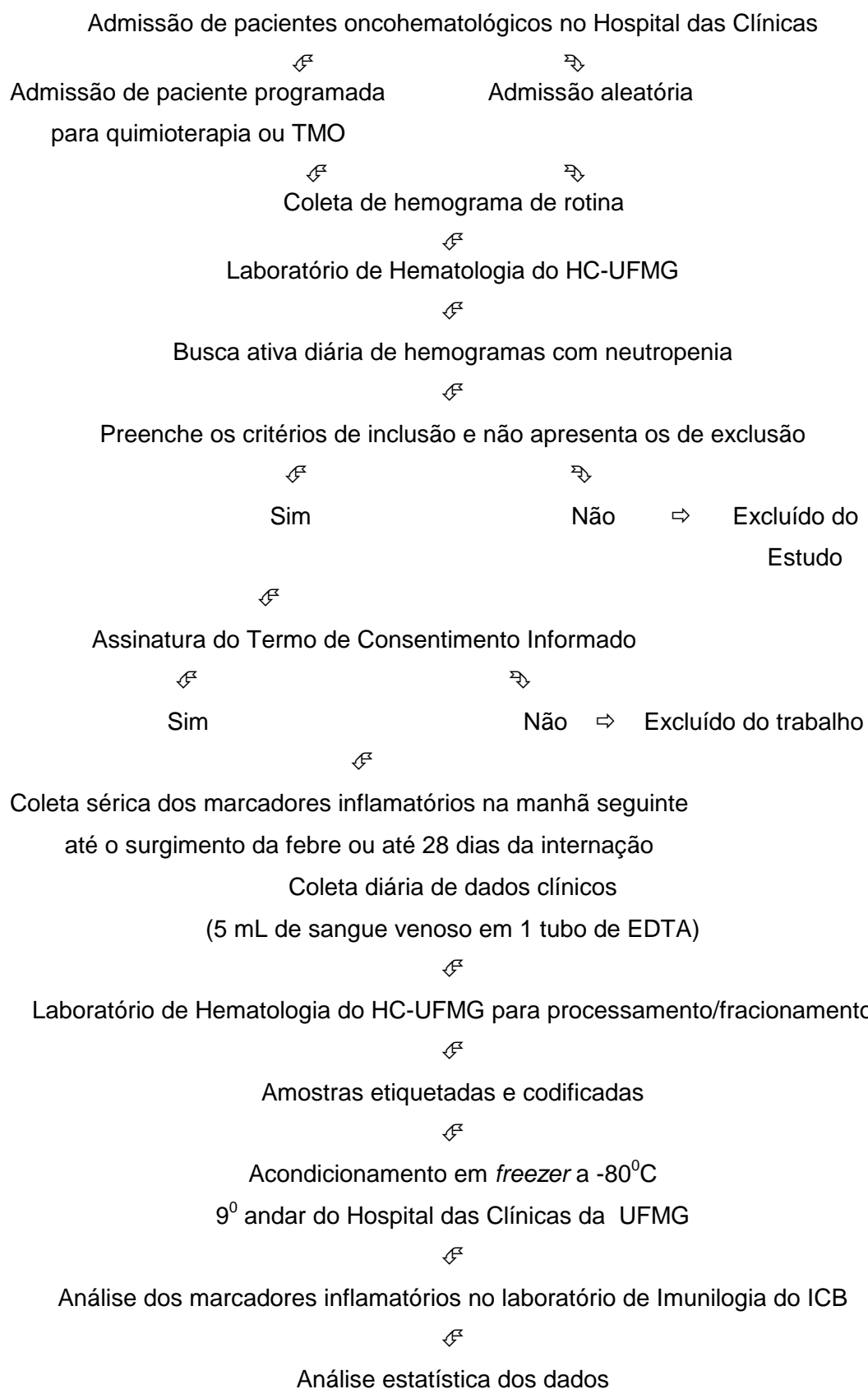
Investigador Principal

Telefone de contato: 34099192/9489

Comitê de Ética UFMG: Unidade Administrativa II (prédio da FUNDEP),  
2º andar, sala 2005 - CEP 31270-901 – Telefone: 34094592- BH/MG



## APÊNDICE B - Fluxograma



**APÊNDICE C - Ficha de coleta de dados****FORMULÁRIO DOS PACIENTES NEUTROPÊNICOS**

**Estudo: Uso de diferentes marcadores inflamatórios para a predição da ocorrência de febre em pacientes neutropênicos**

Data Inclusão \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Dados de identificação**

Número no Estudo: ____	Sexo: ( ) 1 - F 2 - M
Leito: ____	RG SAME:
Data nascimento: __/__/__	Tel:

**Check list critério de inclusão**

Idade >= 18 anos	Sim ( )	Não ( )
Neutropenia <b>afebril</b>	Sim ( )	Não ( )
Previsão de > 6 dias de neutropenia	Sim ( )	Não ( )
Assinatura consentimento informado	Sim ( )	Não ( )

**Check list - Coleta do material da pesquisa**

<b>Dia</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>12</b>	<b>14</b>
<b>Coleta</b>														
<b>Dia</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>20</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>24</b>	<b>25</b>	<b>26</b>	<b>27</b>	<b>28</b>
<b>Coleta</b>														

**Dados da doença de base**

<u>Doença de base</u> ( )	1-LLA 2-LMA 3-SMD 4-MM 5-LH 6-LNH 7- A. aplásica 9- Outros: _____			
Situação da doença à internação: ( ) 1 – Remissão 2 – Em atividade				
Data Diagnóstico ____/____/____	Data Internação atual ____/____/____	Data Alta ____/____/____ Data óbito ____/____/____		
<u>Quimioterápicos</u>	Data do último ciclo: 1º dia: ____/____/____ último dia: ____/____/____			
Asparaginase ( )	Bleomicina ( )	Carboplatina ( )	Ciclofosfamida ( )	Cisplatina ( )
Citarabina ( )	Clorambucil ( )	Dactinomicina ( )	Daunorubicina ( )	Dexametasona ( )
Doxorrubicina ( )	Epirrubicina ( )	Etoposide ( )	Fludarabina ( )	Gemcitabina ( )
Busulfano ( )	Carmustina ( )	Imatinibe ( )	Vinblastina ( )	Mercaptopurina ( )
Hidroxiureia ( )	Idarrubicina ( )	Ifosfamida ( )	Melfalano VO ( )	Melfalano IV ( )
Metotrexato ( )	Prednisona ( )	Rituximabe ( )	Talidomida ( )	Vincristina ( )
Mitoxantrone ( )	Outros ( ):			

Se internou neutropênico e irá fazer QT:

Data do início de QT pós internação: 1º dia: \_\_/\_\_/\_\_ último dia: \_\_/\_\_/\_\_

<b>Quimioterápicos</b>	Data do último ciclo: 1º dia: __/__/__ <b>último dia:</b> __/__/__			
Asparaginase ( )	Bleomicina ( )	Carboplatina ( )	Ciclofosfamida ( )	Cisplatina ( )
Citarabina ( )	Clorambucil ( )	Dactinomicina ( )	Daunorubicina ( )	Dexametasona ( )
Doxorrubicina ( )	Epirubicina ( )	Etoposide ( )	Fludarabina ( )	Gemcitabina ( )
Busulfano ( )	Carmustina ( )	Imatinibe ( )	Vinblastina ( )	Mercaptopurina ( )
Hidroxiureia ( )	Idarrubicina ( )	Ifosfamida ( )	Melfalano VO ( )	Melfalano IV ( )
Metotrexato ( )	Prednisona ( )	Rituximabe ( )	Talidomida ( )	Vincristina ( )
Mitoxantrone ( )	Outros ( ):			

**Outros medicamentos / transplante – está previsto a seguir**

Uso ATB profilático prévio ( ) 1 – Sim 2 – Não Qual/Quais:

Uso ATB profilático após neutropenia ( ) 1 – Sim 2 – Não Qual/Quais:

Uso G-CSF ( ) 1 – Sim 2 – Não Data início \_\_/\_\_/\_\_ Data término \_\_/\_\_/\_\_

Transplante ( ) 1–AutoTMO 2- AloTMO aparentado 3 – aloTMO não-aparent. 9 – Não  
Data \_\_/\_\_/\_\_

Fonte Células ( ) 1 – MO 2 – CTP 4 – Cordão umbilical 9 – N/A

Compatibilidade HLA ( ) 1 – compatível 2 – Não compatível 9 – N/A

Profilaxia DECH ( ) 1 – CSA 2 – MTX 4 – MMF 8 – Tacrolimus 16 – Corticoide 32 – ATG  
64 – Alemtuzumab

**Classificação socioeconômica classe:**

\_\_\_\_\_

**Pontuação** \_\_\_\_\_ **Escolaridade** \_\_\_\_\_

**Escore de risco pela MASCC (ver tabela 02) Pontuação:**  
**Total:** \_\_\_\_\_

Escala de Comorbidade – Charlson modificada  
Pontuação: \_\_\_\_\_

**Peso:** \_\_\_\_\_ **Altura:** \_\_\_\_\_ **IMC:** \_\_\_\_\_



**Avaliação laboratorial**  
**NEUT\*: Segmentado + Bastão + Metamielócito**

	D0	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9
GL										
NEUT										
LINF										
MONO										
HB										
PLAQ										
	D10	D11	D12	D13	D14	D15	D16	D17	D18	D19
GL										
NEUT										
LINF										
MONO										
HB										
PLAQ										
	D20	D21	D22	D23	D24	D25	D26	D27	D28	
GL										
NEUT										
LINF										
MONO										
HB										
PLAQ										

**Observações**

<b>Hemotransfusão: 1 –Plaquetas 2 – Hemácias 4 – Plasma 8 – Outro:</b>							
( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:
( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:
( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:
( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:
( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:
( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:
( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:
( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:	( ) Data:	Hora:

**Culturas**

<b>Data</b>	<b>Material</b>	<b>Patógeno– (ver tabela 06)</b>

**Antibioticoterapia**

<b>Antibiótico</b>	<b>Data do início/HORA</b>	<b>Término</b>	<b>Razão troca ATB (*)</b>	<b>Sítio de infecção</b>
			( )	
			( )	
			( )	

(\*)1: Falência terapêutica

2: Persistência da febre

3: Guiado por cultura

4: Efeitos adversos

5: Outros

**APÊNDICE D - Dados epidemiológicos comparando as populações do grupo-controle e a população transplantada neutropênica, internada no HC-UFMG no período entre setembro de 2008 e março de 2009**

<u>Dados epidemiológicos</u>	<u>Grupo-controle</u>	<u>População</u>
	<u>Pacientes afebris n=8</u>	<u>transplantada n=10</u>
<b>Sexo masculino n (%)</b>	6 (75%)	7 (70%)
<b>Mediana de idade em anos (mínimo-máximo)</b>	36 (18-69) anos	44 (20-59) anos
<b>Doença de base n (%)</b>		
Leucemia Mielóide Aguda	3 (37,5%)	2 (20%)
Linfoma não- <i>Hodgkin</i>	3 (37,5%)	1 (10%)
Leucemia Linfoblástica Aguda	1 (12,5%)	0
Síndrome mielodisplásica	1 (12,5%)	2 (20%)
Mieloma múltiplo	0	3 (30%)
Linfoma <i>Hodgkin</i>	0	2 (20%)
Anemia Aplásica	0	0
<b>Doença de base em atividade</b>	5 (62,5%)	4 (40%)
<b>Classe socioeconômica n (%)</b>		<sup>b</sup>
A2	0	1 (10%)
B1	1 (12,5%)	1 (10%)
B2	1 (12,5%)	3 (30%)
C1	1 (12,5%)	1 (10%)
C2	3 (37,5%)	2 (20%)
D	1 (12,5%)	0
E	1 (12,5%)	0
<b>Escala de Comorbidades de Charlson n (%)</b>		
Escore zero	7 (87,5%)	7 (70%)
Escore 1	0	2 (20%)
Escore 2	0	1 (10%)
Escore 6	1 (12,5%)	0
<b>Mediana de tempo de permanência no estudo em dias (mínimo-máximo)</b>	6,5 (2-27) dias	1,5 (1-3) dias

## ANEXO A – Parecer ético



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

**Parecer nº. ETIC 250/08**

**Interessado(a): Prof. Henrique Neves da Silva Bittencourt  
Departamento de Clínica Médica  
Faculdade de Medicina - UFMG**

**DECISÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 13 de agosto de 2008, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado **"Uso de diferentes marcadores inflamatórios para predição de ocorrência de febre em pacientes neutropênicos"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'M. T. Marques Amaral', is written over a horizontal line.

**Profa. Maria Teresa Marques Amaral  
Coordenadora do COEP-UFMG**

**ANEXO B - Classificação socioeconômica – Critério de Classificação Econômica Brasil, 2008 (IBOPE, 2008).**

Posse de itens/ Quantidade de Itens

	0	1	2	3	4 ou +	PONTOS
TV em Cores	0	1	2	3	4	
Rádio	0	1	2	3	4	
Banheiro	0	4	5	6	7	
Automóvel	0	4	7	9	9	
Empregada mensalista	0	3	4	4	4	
Máquina de lavar	0	2	2	2	2	
Videocassete e/ou DVD	0	2	2	2	2	
Geladeira	0	4	4	4	4	
Freezer (ou aparelho duplex )	0	2	2	2	2	
<b>SUBTOTAL</b>						

Grau de instrução do chefe da família

	PONTOS
Analfabeto / até 3ª série ensino fundamental	0
4º série fundamental	1
Fundamental completo (até 8ª série)	2
Médio completo (1º, 2º e 3º Científico)	4
Superior completo (faculdade completa)	8
<b>SUBTOTAL</b>	

TOTAL GERAL	
-------------	--

Classificação Geral

CLASSE	
A1	42-46
A2	35-41
B1	29-34
B2	23-28
C1	18-22
C2	14-17
D	8 – 13
E	0 – 7



**ANEXO C - Escala de Performance *status*/ECOG**

Os critérios dessa escala são utilizados em pesquisa para avaliar como a doença está evoluindo, como ela afeta as atividades de vida diária do paciente, ajuda a determinar o tratamento mais apropriado e é um dos fatores de prognóstico.

---

**ECOG**

---

- |          |   |
|----------|---|
| <b>0</b> | Ativo. Capaz de realizar todas as tarefas que fazia antes da doença, sem restrição.   |
| <b>1</b> | Incapaz de realizar atividade física extenuante, mas independente para as atividades de vida diária, como trabalhar e afazeres domésticos leves.            |
| <b>2</b> | É ambulatorial, realiza os cuidados próprios de higiene, porém incapaz de realizar qualquer atividade no trabalho.<br>Permanece mais de 50% do tempo de pé. |
| <b>3</b> | Capaz de realizar somente os mínimos cuidados de higiene própria.<br>Confinado ao leito/cadeira mais de 50% do tempo.                                       |
| <b>4</b> | Completamente incapaz. Não realiza nenhum cuidado próprio de higiene.<br>Totalmente confinado ao leito/cadeira.   |
| <b>5</b> | Óbito   |
-

## ANEXO D - Escala de Comorbidade – Charlson modificada

	Definição	ESCORE
<b>Arritmia</b>	FA; <i>flutter</i> ; doença do nó sinusal; arritmias ventriculares	1
<b>Doenças cardiovasculares degenerativas</b>	DAC (acometendo 1 ou mais vasos com necessidade de tratamento, <i>stent</i> ou <i>bypass</i> ); IAM; ICC; FE $\leq$ 50%	1
<b>Doença valvar cardíaca</b>	Exceto prolapso de valva mitral	3
<b>Hipertensão arterial</b>	Qualquer estágio	0
<b>Diabetes <i>mellitus</i></b>	Com necessidade de tratamento medicamentoso	1
<b>Diabetes <i>mellitus</i></b>	Controle com dieta	0
<b>Doença cérebro-vascular</b>	AIT; AVC	1
<b>Obesidade</b>	IMC $>35$ Kg/ m <sup>2</sup> (peso / altura <sup>2</sup> )	1
<b>Sobrepeso</b>	IMC= 25 a 35 Kg/ m <sup>2</sup> (peso / altura <sup>2</sup> )	0
<b>Doença pulmonar leve</b>	Dispneia aos mínimos esforços; VEF1 entre 66 e 80%	2
<b>Doença pulmonar grave</b>	VEF1 $\leq$ 65%; Dispneia ao repouso; necessidade de oxigenioterapia	3
<b>Doença hepática leve</b>	Hepatite crônica; BT= 0,7 a 1; TGO= 34 a 87; TGP= 28 a 70	1
<b>Doença hepática grave</b>	Cirrose hepática; BT $>1$ ; TGO $>87$ ; TGP $>70$	3
<b>Doença renal</b>	Creatinina $>2$ ; Terapia dialítica; Transplante renal prévio	2
<b>Doença renal leve</b>	Creatinina de 1,3 a 2	0
<b>Doença inflamatória intestinal</b>	Crohn ou RCU	1
<b>Doença reumatológica</b>	LES; AR; DMTC; polimiosite; dermatopolimiosite; polimialgia reumática.	2
<b>Tumores sólidos</b>	Tratamento prévio para tumores, em qualquer época, exceto para tumores de pele não-melanoma	3
<b>Infecção</b>	Com necessidade de continuidade do tratamento após início de QT	1
<b>Úlcera péptica</b>	Com necessidade de tratamento	2
<b>Distúrbio psiquiátrico</b>	Depressão; ansiedade	1
<b>TOTAL</b>		

**ANEXO E - Classificação de mucosite**

<b>Mucosite</b>					
<b>Estomatite</b>	<b>Grau I</b>	<b>Grau II</b>	<b>Grau III</b>	<b>Grau IV ↓</b>	<b>Grau V</b>
<b>Ânus</b>	Trato aerodigestivo	Trato aerodigestivo	Trato aerodigestivo		Óbito
<b>Esôfago</b>	Superior	Superior	Superior		
<b>Intestino grosso</b>	Sintomas respiratórios mínimos,	Sintomas respiratórios presentes	Sintomas respiratórios interferem na ADL		
<b>Laringe</b>	Sem interferir na função	Mas não interferem na ADL*			
<b>Cavidade oral</b>	Dieta normal	Sintomático mas,	Sintomático e incapaz	Sintomas associados a	
<b>Faringe</b>		Consegue comer e deglutir	De se alimentar ou	consequências que ameaçam a vida	
<b>Reto intestino delgado</b>	Trato gastrointestinal inferior	Trato gastrointestinal inferior	Trato gastrointestinal inferior		
<b>Estômago</b>	Desconforto mínimo,	Sintomático, a intervenção	Incontinência fecal ou		
<b>Traqueia</b>	intervenção não indicada	é indicada, mas não interfere na ADL*	Outros sintomas que interferem na ADL*		
<b>Efeito adverso</b>	<b>Leve</b>	<b>Moderado</b>	<b>Grave</b>	<b>Ameaça a vida</b>	<b>Óbito</b>

ADL\*: Atividades de vida diária

GRAU I: Mucosite leve  
 GRAU II: Mucosite moderada  
 GRAU III: Mucosite grave  
 GRAU IV: Ameaça à vida  
 GRAU V: Óbito