



ÉRICA ORTIZ

**“Alterações Histológicas Nasossinusais no
Paciente Transplantado de Células Tronco
Hematopoiéticas (TCTH) e na Doença do
Enxerto Contra o Hospedeiro (DECH) Crônica
com Rinossinusite”**

**CAMPINAS
2014**



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

ÉRICA ORTIZ

**“Alterações Histológicas Nasossinusais no
Paciente Transplantado de Células Tronco
Hematopoiéticas (TCTH) e na Doença do
Enxerto Contra o Hospedeiro (DECH) Crônica
com Rinossinusite”**

Orientadora: Profa. Dra. Ester Maria Danielli Nicola

Co-Orientadora: Profa. Dra. Eulália Sakano

Dissertação de Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Campinas para obtenção de título de Doutora em Ciências Médicas, área de concentração em Otorrinolaringologia.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA ÉRICA ORTIZ E ORIENTADO PELO PROFa. DRa. ESTER MARIA DANIELLI NICOLA.

Assinatura do Orientador

**CAMPINAS
2014**

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

Or8a Ortiz, Érica, 1973-
Alterações histológicas nasossinusais no paciente Transplantado de Células Tronco Hematopoiéticas (TCTH) e na Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro (DECH) crônica com rinossinusite / Érica Ortiz. – Campinas, SP : [s.n.], 2014.

Orientador: Ester Maria Danielli Nicola.

Coorientador: Eulália Sakano.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Sinusite. 2. Doença enxerto-hospedeiro. 3. Transplante de células-tronco hematopoiéticas. 4. Mucosa nasal. I. Nicola, Ester Maria Danielli, 1944-. II. Sakano, Eulália. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Sinonasal ultrastructure of the Hematopoietic Stem Cell Transplant and Chronic Graft-Versus-Host Disease with rhinosinusitis

Palavras-chave em inglês:

Sinusitis

Graft vs host disease

Hematopoietic Stem Cell Transplant

Nasal mucosa

Área de concentração: Otorrinolaringologia

Titulação: Doutora em Ciências Médicas

Banca examinadora:

Ester Maria Danielli Nicola [Orientador]

Wilma Terezinha Anselmo Lima

Shirley Shizue Nagate Pignatari

Carlos Takahiro Chone

Albina Messias de Almeida Milani Altemani

Data de defesa: 07-02-2014

Programa de Pós-Graduação: Ciências Médicas

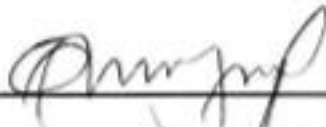
BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO

ÉRICA ORTIZ

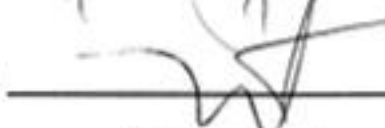
Orientador (a) PROF(A). DR(A). ESTER MARIA DANIELLI NICOLA

MEMBROS:

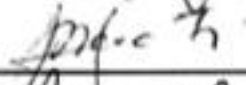
1. PROF(A). DR(A). ESTER MARIA DANIELLI NICOLA




2. PROF(A). DR(A). WILMA TEREZINHA ANSELMO LIMA



3. PROF(A). DR(A). SHIRLEY SHIZUE NAGATE PIGNATARI



4. PROF(A). DR(A). CARLOS TAKAHIRO CHONE



5. PROF(A). DR(A). ALBINA MESSIAS DE ALMEIDA MILANI ALTEMANI



Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

Data: 07 de fevereiro de 2014

Agradecimentos

Aos meus pais: Jonas Ortiz e Zuleica Corrente Ortiz

Enfermagem: toda equipe do ambulatório e enfermaria da Otorrinolaringologia e do Transplante de Medula Óssea do HC UNICAMP e HEMOCENTRO UNICAMP

Biólogas: Marilucia Rugiero Martins; Geralda Domiciana Pádua; Mayara

Áudio visual: Adilson Abílio Piazza

Secretarias: Cristina Maria Alves dos Santos; Nicete Romano; Erica e Waltair

Colegas médicos: Marcelo Hamilton Sampaio; Ronny Ng; Albina M. A Altemani; Maria Letícia Cintra; Ilma Aparecida Paschoal; Eulália Sakano; Carmino Antonio de Sousa; Afonso C. Vigorito; Francisco Jose Penteado Aranha; Marcelo Bailarini; Laiza Mohana; Fabrizio Ricci Romani; Luciana Rodrigues Meirelles; Ester Maria Danielli Nicola; Edwin Tamashiro; J. Navarro; Wilma Anselmo Lima

Dentista: Maria Elvira Pizzigati Correa

Estatístico: Roberto Zulli

Bibliotecária: Janeti Lourdes B de Moura

Informática: Fabio Ishii Torigoi

Meus mais sinceros agradecimentos pelo apoio no decorrer deste estudo. Em especial para Dra Ilma Paschoal, através da qual, consegui executar a principal tarefa de leitura das lâminas da microscopia eletrônica. Além das minhas queridas orientadoras e coorientadora, Dra. Ester M. D. Nicola e Dra. Eulália Sakano. E para todos aqueles que de alguma forma contribuíram com a elaboração desta tese.

Alterações histológicas nasossinusais no paciente transplantado de células tronco hematopoiéticas e na doença do enxerto contra o hospedeiro crônica com rinossinusite

Introdução: Acredita-se que a imunossupressão seja única causa para maior prevalência de rinossinusites (RS) no transplantado de células tronco hematopoiéticas (TCTH) principalmente naqueles com Doença do Enxerto contra o Hospedeiro (DECH) crônica. Pacientes submetidos ao TCTH podem apresentar alterações nasossinusais, que podem se relacionar ao próprio transplante, assim como pelo regime de condicionamento ou pela DECH. Entretanto, estas alterações nasossinusais não estão bem descritas na literatura assim como a associação entre estas e a rinossinusite. **Objetivo:** verificar a histologia e ultraestrutura da mucosa nasossinusal com RS no TCTH com e sem DECH; e verificar a influencia da RS nas possíveis alterações histológicas nestes pacientes. **Método:** estudo prospectivo exploratório de coorte transversal com análise estatística de dados obtidos da avaliação de mucosa de processo unciforme de pacientes transplantados com (16) e sem DECH (8) com RS; através da microscopia eletrônica de transmissão e óptica. **Comparação da recorrência das RS e alterações histológicas.** **Resultados:** 47% (14) tiveram apenas 1 ou 2 episódios e 33%, mais de 3 episódios de rinossinusite. Apenas a presença de microvilosidades foi significativamente maior nos pacientes sem GVHD ($p=0,05$). Não houve diferença significativa na quantidade de cílios, ultraestrutura ciliar, metaplasia escamosa, células caliciformes, vacuolização citoplasmática, densidade do infiltrado inflamatório, linfócitos, eosinófilos e corpúsculos apoptóticos intraepiteliais, glândulas mucosas, espessura da membrana basal, edema e fibrose subepiteliais entre os grupos com e sem DECH. Houve diminuição significativa de cílios conforme maior recorrência de rinossinusite ($p=0,008$). **Conclusão:** pacientes com RS e TCTH não apresentaram diferenças nas alterações histológicas nasossinusais, exceto aumento de microvilosidades naqueles sem a DECH. Os transplantados com e sem DECH apresentaram somente diminuição dos cílios conforme o aumento da recorrência de RS.

Palavras Chave: Sinusite, Doença enxerto-hospedeiro, Transplante de células-tronco, Hematopoiéticas, Mucosa nasal

Sinonasal Ultrastructure of the Transplant Hematopoietic Stem Cell and Chronic Graft-Versus-Host Disease with Rhinosinusitis

INTRODUCTION: It is believed that immunosuppression is the sole cause for the occurrence of rhinosinusitis in hematopoietic stem cell transplant (HSCT). There is a high incidence of sinusitis in recipient patients, especially in those with Chronic Graft-Versus-Host disease (GVHD). Histopathological abnormalities were described in recipients' sinus mucosa compared to immunocompetent patients. There were also mucosal abnormalities related to cytotoxicity in the transplanted patients with chronic GVHD but no difference in ultrastructure between HSCT patients with and without GVHD, except for increased goblet cells in patients without GVHD. The relation between the sinonasal mucosa abnormalities of patients with and without GVHD and rhinosinusitis is not well established yet. **OBJECTIVE:** To verify the ultrastructure of the sinonasal mucosa of HSCT with and without GVHD with rhinosinusitis to understand the cause of high sinusitis incidence in recipients with and without GVHD. **METHOD:** A prospective study with preliminary exploratory statistical analysis of data obtained from the evaluation of the uncinate process mucosa of patients transplanted with (16) and without GVHD (8) with rhinosinusitis by transmission electron and optical microscopy. **RESULTS:** Of the patients, 47% (14) had only 1 or 2 episodes, and 33% had more than 3 episodes of rhinosinusitis. Only the presence of microvilli was significantly higher in patients without GVHD. There was no significant difference in the amount of cilia, ciliary ultrastructure, squamous metaplasia, goblet cells, vacuolization, density of the inflammatory infiltrate, intraepithelial lymphocytes, eosinophils, mucous glands, apoptotic corpuscles intraepithelial basement membrane thickness, edema and subepithelial fibrosis between groups. There was a significant decrease of cilia with higher recurrence of rhinosinusitis. **CONCLUSION:** There was an increase in microvilli HSCT without GVHD with rhinosinusitis, and the ultrastructure and histological changes of HSCT with and without GVHD did not change with the recurrence of rhinosinusitis. However, there was a decrease of cilia in the epithelium of the sinonasal HSCT with higher recurrence of rhinosinusitis.

Key words: Sinusitis, Graft vs host disease, Hematopoietic stem cell transplant, Nasal mucosa

LISTA DE ABREVIATURAS

TCTH	- transplante de células tronco hematopoiéticas
DECH	- doença do enxerto contra o hospedeiro
RS	- rinossinusite
HSCT	- Hematopoietic Stem Cell Transplantation ou Transplante de células tronco hematopoiéticas
GVHD	- graft versus host disease
TEM	- transmission electron microscopy ou microscopia eletrônica de transmissão
TBI	- radioterapia de corpo inteiro ou total body irradiation
ME	- microscopia eletrônica
VAS	- vias aéreas superiores
RFI	- rinossinusite fúngica invasiva
EVA	- escala visual analógica
MALT	- mucosa associated lymphoid tissue
NALT	- nasal associated lymphoid tissue
TMO	- transplante de medula óssea
PAS	- periodic acid schiff
CMV	- citomegalovírus
CD4+	- linfócitos reguladores / CD8+: linfócitos citotóxicos
PRPs	- receptores de reconhecimento plasmático e de membrana
PAMPs	- pathogen-associated molecular patterns (tipo de PRP)
TLR:	- Toll like receptor (tipo de PRP)
APC	- célula apresentadora de antígeno
Th	- linfócito T helper ou auxiliar
HLA	- antígeno linfocitário humano
IL	- interleucina
INF	- interferon
TNF	- fator de necrose tumoral
HE	- hematoxilina eosina
HPF	- campo de maior aumento ou high Power Field

LISTA FIGURAS

Figura 1: Peça anatômica de parede lateral nasal do complexo ostio-meatal no círculo amarelo: processo unciforme.	17
Figura 2: A: Processo unciforme representado em corte coronal de tomografia computadorizada de seios paranasais.	17
Figura 3: Epitélio Ciliado Pseudoestratificado: MALT ou NALT com neutrófilos.	18
Figura 4: A: medida de orientação em corte transversal de cílios..	21
Figura 5: A: Esquema de corte transversal de cílio representando sua ultraestrutura em microscopia eletrônica com nomenclatura das suas unidades; B: cílio em corte transversal na microscopia eletrônica de transmissão.	22
Figura 6: Epitélio pseudoestratificado ciliado de paciente submetido à TCTH sem cílio e com superfície danificada (seta), sob microscopia eletrônica de transmissão.	25

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	ix
LISTA FIGURAS.....	x
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	12
1.1 Rinossinusites.....	15
1.2 Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas (TCTH).....	25
1.3 Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro (DECH).....	27
1.4 Método de avaliação histológica da mucosa nasossinusal.....	29
2. OBJETIVO.....	32
3. SUBMISSÃO PARA REVISTA E FOLHA DE ROSTO DO TRABALHO.....	34
4. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	51
5. CONCLUSÃO GERAL.....	53
6. BIBLIOGRAFIA GERAL.....	55
ANEXOS.....	61

1. INTRODUÇÃO GERAL

INTRODUÇÃO GERAL:

A medicina no século 21 trouxe um avanço no diagnóstico e tratamento das doenças crônicas graves, essencialmente oncológicas, além de patologias autoimunes e genéticas. Assim, os transplantes consagraram-se como um tratamento possível e efetivo para algumas destas doenças. Desta forma, os transplantes de células tronco hematopoiéticas, renal, hepático, cardíaco e pulmonar tornaram-se procedimentos terapêuticos bem sucedidos e rotineiros nos centros terciários de saúde.

No primeiro trimestre de 2013, houve, no Brasil, 356 transplantes células tronco hematopoiéticas (TCTH), 1235 renais, 18 pulmonares, 376 hepáticos, 6 pancreáticos e 52 cardíacos, sendo que 50% destes transplantes são realizados no estado de São Paulo.¹ A expectativa para o ano de 2013 é de um aumento de 10% nos transplantes, chegando até 6000 transplantes renais, 1800 hepáticos e mais de 1600 de células tronco hematopoiéticas, segundo a Associação Brasileira dos Transplantes de órgãos. Estima-se ainda que no mundo inteiro, ocorra aproximadamente 60.000 TCTH por ano.¹

Os transplantes são tratamentos usualmente mais agressivos, pois incluem a quimioterapia, radioterapia e/ou imunoterapia preparatória; e portanto, o número de pacientes com imunossupressão secundária nos dias atuais aumentou.

O Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas (TCTH) alogênico provoca uma maior imunossupressão com período de neutropenia mais prolongado, quando comparado aos demais transplantes. O condicionamento pré-TCTH com a radioterapia de corpo inteiro (TBI), quimioterapia em altas doses e drogas imunossupressoras são descritos como fatores preditivos para o desenvolvimento de infecções secundárias e suas complicações, principalmente de vias aéreas superiores (VAS).^{2,3,4,5} O período de imunossupressão dura em média 5 anos a partir do transplante, variando de intensidade ao longo deste tempo. A maioria dos pacientes transplantados utilizam

medicações imunossupressoras para evitar a reação de rejeição do órgão, embora a seleção do doador seja rigorosa. Por isso, o estado de imunossupressão se mantém após cinco anos do transplante.^{2,3} A Doença do Enxerto contra Hospedeiro (DECH) no transplante de células tronco hematopoiéticas alogênico é uma reação de rejeição que pode ser aguda (nos primeiros 100 dias) ou crônica.^{2,3} Esta DECH pode se manifestar em vários órgãos (pele, olhos, fígado, boca, genital, pulmão). Nestes pacientes, o tratamento imunossupressor se inicia conforme o aparecimento desta DECH até o controle das manifestações.^{6,7,8}

As Vias Aéreas Superiores do Sistema Respiratório estão diretamente expostas e em contato com o ambiente e, por isto, apresentam um risco aumentado de infecções bacterianas, virais e fúngicas nestes pacientes imunossuprimidos.^{4,5,9 - 19} A Rinossinusite Fúngica Invasiva (RFI) é mais temida quando se trata de um paciente imunossuprimido, devido à alta mortalidade. Entretanto, sua frequência é baixa (0,5 a 3,8%).¹⁰⁻¹⁸ Atualmente, a mortalidade da RFI diminuiu devido ao diagnóstico e tratamentos mais precoces. Estima-se uma mortalidade para RFI de 18%, divergente da estimativa antiga de 90-100%.¹⁰⁻¹⁸ Por outro lado, existe um grande risco de 36,9% para ocorrência de rinossinusites bacterianas nestes transplantados, com taxas 4,3 vezes maiores na Doença do Enxerto contra o Hospedeiro (DECH).^{4,9} A frequência de rinossinusites bacterianas alcança 49% nos transplantados de células tronco hematopoiéticas, quando comparados a somente 5-15% nos pacientes imunocompetentes.^{19,20,21}

As Rinossinusites são doenças inflamatórias e/ou infecciosas que envolvem fatores externos ambientais e fatores intrínsecos do organismo do indivíduo como a imunologia, a mucosa ou epitélio respiratório e o muco sobre este epitélio. A fisiopatogenia das rinossinusites crônica e recorrente ainda não está totalmente esclarecida, porém a integridade e a função do epitélio respiratório e sua associação direta com as reações imunológicas contra o agente agressor externo são fundamentais para o desencadeamento e ou manutenção desta doença.^{20,21}

O paciente submetido ao TCTH apresenta alterações histológicas na mucosa nasossinusal, conforme estudos anteriores demonstraram.^{22,23} Estas alterações poderiam causar ou ao menos contribuir para o aumento da frequência das rinosinusites no TCTH. Entretanto, ainda não ficou esclarecido se estas alterações na mucosa nasossinusal seriam secundárias ou prévias ao processo inflamatório da rinosinusite.

A hipótese deste estudo baseia-se na premissa de que o processo do condicionamento, do TCTH e da DECH poderiam causar os danos epiteliais e, assim, seriam fatores desencadeantes da maior incidência de rinosinusite; ou então, a imunossupressão seria exclusivamente o principal causador e as lesões epiteliais, meras consequências das rinosinusites.

A seguir serão explicados detalhadamente os tópicos desta introdução em:

1. Rinosinusites
 - a. Imunologia
 - b. Epitélio respiratório e Clearance mucociliar
2. Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas
3. Doença do Enxerto contra o Hospedeiro
4. Método de avaliação histológica da mucosa nasossinusal

1.1 Rinosinusites

A rinosinusite é uma inflamação da mucosa da cavidade nasal que se estende para os seios paranasais, daí o termo mais correto rinosinusite. Existem inflamações isoladas de seios paranasais que podem ser denominadas sinusites como as odontogênicas.^{20,21} Quando a rinosinusite é infecciosa, sua causa pode ser viral, bacteriana ou fúngica. Existem possíveis fatores associados ou agravantes descritos para o desenvolvimento das rinosinusites como tabagismo, rinite alérgica, doenças

genéticas (Discinesia Ciliar, Fibrose Cística), imunossupressão, doença do refluxo gastro-esofágico, poluição ambiental, alterações estruturais anatômicas de cavidade nasal, corpo estranho nasal, barotrauma e fatores iatrogênicos (cirurgias endonasais).
20,21,22,23

A classificação atual das rinosinusites baseia-se no tempo dos sintomas da rinosinusite: aguda (<12 semanas), crônica (>12 semanas), recorrente (mais de 4 episódios anuais); e, na intensidade dos sintomas de acordo com a escala visual analógica (EVA) de 0 a 10 em números decimais.^{20,21}

O mecanismo inflamatório da rinosinusite aguda ocorre por bloqueio do óstio de drenagem dos seios paranasais e alterações do clearance mucociliar. O edema da mucosa provocado por reação inflamatória pode ocluir a drenagem dos seios paranasais, principalmente a região anatômica do meato médio, conhecido como complexo óstio-meatal (Figura 1). O processo unciforme é uma estrutura crucial para esta oclusão. Este delimita o infundíbulo e o hiato semilunar, que formam uma estreita fenda de drenagem dos seios maxilares, etmoidais anteriores e frontal. Além do edema decorrente a inflamação na rinosinusite, pode haver um estreitamento maior deste local devido a variações anatômicas como pneumatização ou prolongamento do processo unciforme, causando um bloqueio da drenagem destes seios e a manutenção da rinosinusite (Figura 2; A e B).^{23,24,25,26,27,37}

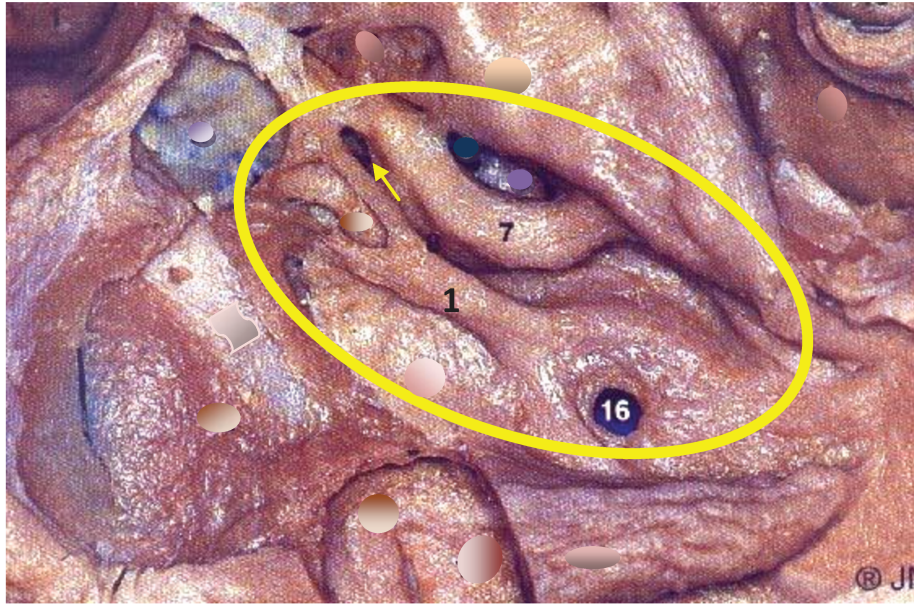


Figura 1: Peça anatômica de parede lateral nasal do complexo ostio-meatal no círculo amarelo: processo unciforme (1), bula etmoidal (7), infundíbulo (3), ostio acessório maxilar (16), recesso fronto-etmoidal (seta). (Cortesia de Dr. Paulo Navarro- livro Caverna do nariz e seios paranasais, Ed All Dent).

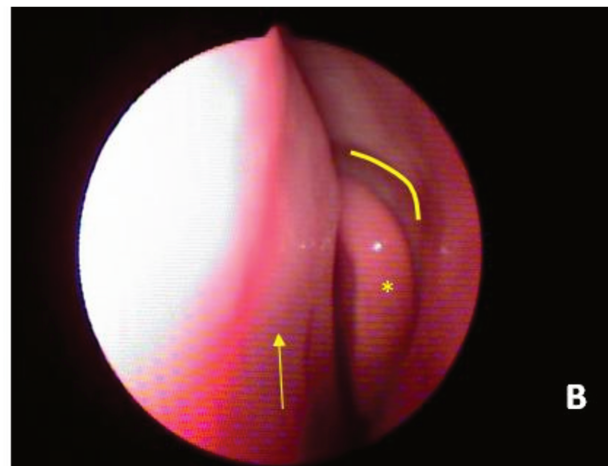
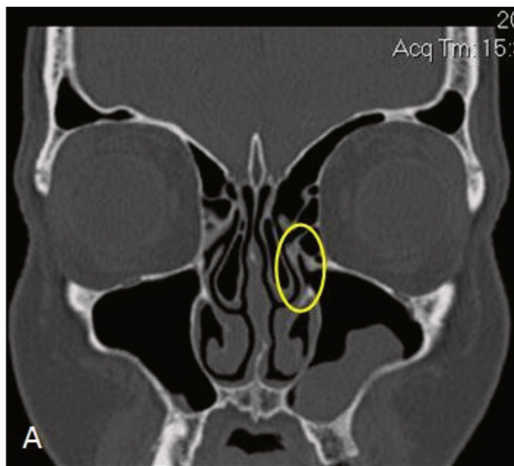


Figura 2: **A:** Processo unciforme representado em corte coronal de tomografia computadorizada de seios paranasais (círculo amarelo); **B:** imagem endoscópica de fossa nasal esquerda com evidência do processo unciforme em traçado amarelo, a cabeça de concha média (*) e na seta, o septo.

A recorrência ou a cronicidade das rinosinusites parecem ter fatores causais múltiplos que ocasionam um desequilíbrio entre a resposta imunológica inata e adquirida, o epitélio ciliado pseudoestratificado e o clearance muco-ciliar.

a. Imunologia

As células da série branca que compõem o sistema imune se originam na medula óssea de uma mesma célula progenitora, denominada célula tronco hematopoiética.

A imunidade inata é a primeira defesa e não depende de exposição prévia do agente infeccioso. Esta resposta inata ocorre pela atividade fagocitária dos macrófagos e neutrófilos, que podem estar disponíveis nas mucosas, tecidos e sangue. As mucosas possuem um sistema imune compartimentalizado, ou seja, o tecido linfóide associado à mucosa, denominado anel linfático de Waldeyer, e o MALT (*Mucosa Associated Lymphoid Tissue*) ou NALT (*Nasal Associated Lymphoid Tissue*) que possuem tipos diferentes de linfócitos T (CD4 e CD8) e IgA (figura 3).

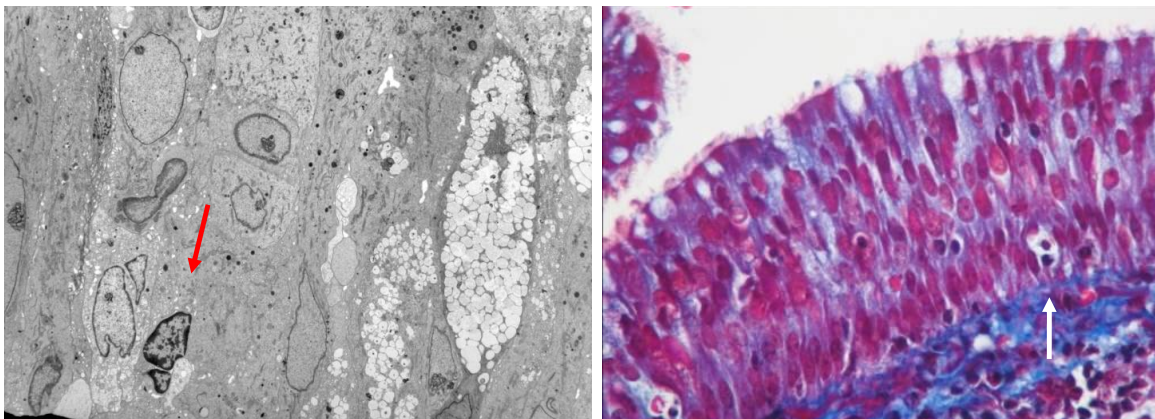


Figura 3: Epitélio Ciliado Pseudoestratificado: MALT ou NALT com neutrófilos (seta vermelha) e linfócitos (seta branca) entre as células ciliadas.

Os linfócitos, plasmócitos, macrófagos, células dendríticas, vasos e glândulas ficam geralmente abaixo do epitélio ciliado. Alérgenos, fungos e bactérias contêm atividade proteolítica que pode danificar a integridade epitelial e estimular as células imunológicas. Estas células imunológicas têm a capacidade de migrarem através das células ciliadas e impedir a penetração do micro-organismo no sistema vascular

submucoso. O sistema imune da mucosa é capaz de reconhecer se o micro-organismo é comensal ou possível patógeno invasor sem grandes prejuízos epiteliais. Se o clearance mucociliar for efetivo assim como o sistema imunológico estiver íntegro, haverá a restauração rápida do epitélio. Existem duas respostas imune contra patógenos e/ou proteínas estranhas: a inata e a adquirida. A resposta inata está presente e pronta antes da exposição ao micro-organismo. Esta se inicia pelos receptores de reconhecimento citoplasmáticos e de membrana (PRPs) que identificam algumas moléculas de parasitas, vírus, bactérias e micobactérias e fungos chamadas *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs). Isto serve como um alerta para o sistema imunológico do paciente. Os PRPs também são capazes de identificar danos epiteliais pela detecção de debris ou células necróticas. Então, na presença de dano, ocorre um recrutamento de células dendríticas, neutrófilos e macrófagos que fagocitam ou eliminam citocinas e substâncias tóxicas contra o micro-organismo, impedindo sua penetração na submucosa. Existem duas classes de PRPs chamados Toll-like receptors (TLR) e NOD-like receptors. Os TLR são receptores transmembrana que estão nas células epiteliais respiratórias (ciliadas). A resposta imune adquirida parece iniciar pelo reconhecimento dos PAMPs e dano epitelial por linfócitos que desencadeia liberação de citocinas que estimulam as células apresentadoras de antígeno (APC), que por sua vez recruta a cadeia imunológica (linfócitos). Parece que o dano epitelial expõe mais os PRPs e promove uma amplificação da resposta imune, induzindo a imunidade adquirida. Nesta resposta, as APC ou células dendríticas estimulam os linfócitos Thelper (Th), sendo a interleucina (IL6) um importante ativador da resposta imune adquirida. Atualmente, sabe-se que pode haver diferentes respostas como Th1, Th2, Th17, Treg cells. As respostas Th1 e Th17 parecem defender o organismo de patógenos (vírus, fungo e bactéria); enquanto a Th2 estaria relacionada à alergia. A Th₁₇ possivelmente funciona contra bactérias extracelulares; e a Treg cells como regulador da inflamação, através da imunossupressão e imunotolerância.^{25,26}

A imunidade adaptativa é a uma defesa contra um agente infeccioso específico, que gera uma proteção duradoura contra reinfecções. As respostas adaptativas dependem da atividade dos linfócitos. A resposta imune humoral (adquirida) protege os espaços extracelulares através da atividade dos anticorpos produzidos por linfócitos B que são estimulados, por sua vez, pelos linfócitos T auxiliares (CD4). Existem cinco principais classes de anticorpos que correspondem a IgM, IgG, IgE, IgA e IgD.^{25,26}

A imunossupressão certamente é um fator desencadeante crucial para as rinossinusites. Nos transplantados de células tronco hematopoiéticas, as drogas imunossupressoras e a quimioterapia em altas doses e o próprio transplante produzem uma disfunção da imunidade inata inicialmente e celular subsequente. Sabe-se que a barreira imune da mucosa nasossinusal (NALT) está comprometida nestes pacientes. Desta forma, os pacientes TCTH permanecem vulneráveis e com risco maior para desenvolver rinossinusite. Além disto, o sucesso do transplante pode ser comprometido pelas complicações infecciosas e ter um êxito letal.

b. Clearance Mucoiliar e Epitélio Respiratório

O clearance mucociliar é um mecanismo protetor de "auto limpeza" da superfície da mucosa nasossinusal, que impede a permanência de agentes agressores ou irritantes na cavidade nasal e seios paranasais. O epitélio respiratório pseudoestratificado ciliado e o muco nasal são fundamentais para a função adequada deste mecanismo de proteção. Para que o clearance ocorra, as células ciliadas e os cílios precisam ter estrutura e batimento adequados; e o muco deve ter viscosidade ideal das duas fases (gel e sol).^{20,21}

As células ciliadas correspondem a 80% das células do epitélio respiratório, sendo os 20% restante as células caliciformes. Cada célula ciliada projeta uns 200 cílios para a cavidade aérea; elas variam o comprimento entre 2 a 3 µm e diâmetro de

0,25-0,33 μm . Apenas 10% do comprimento do cílio ficam mergulhados na porção mais espessa do muco nasal (gel). Desta forma, se o cílio estiver encurtado ou imaturo, não vai conseguir ter um batimento e deslocamento do muco efetivos.²⁷ A velocidade do clearance mucociliar é de 4,5 – 7mm/min na mucosa nasal. O batimento ciliar tem de ser orientado, ou seja, todos os cílios com movimento na mesma direção e maneira (estiramento rápido e encurtamento lento), como pode ser observado nas Figuras 4 (A e B).²⁷⁻³³ A orientação ciliar é medida através de cortes transversais dos cílios com numero mínimo de dez no mesmo campo visual do microscópio eletrônico de transmissão. Deve-se fazer um traço perpendicular entre os microtúbulos centrais e todos os traços devem estar paralelos entre si. A quantidade de células ciladas e de cílios no epitélio respiratório parece determinar uma frequência de batimento ciliar adequado para o clearance mucociliar.²⁷⁻³³

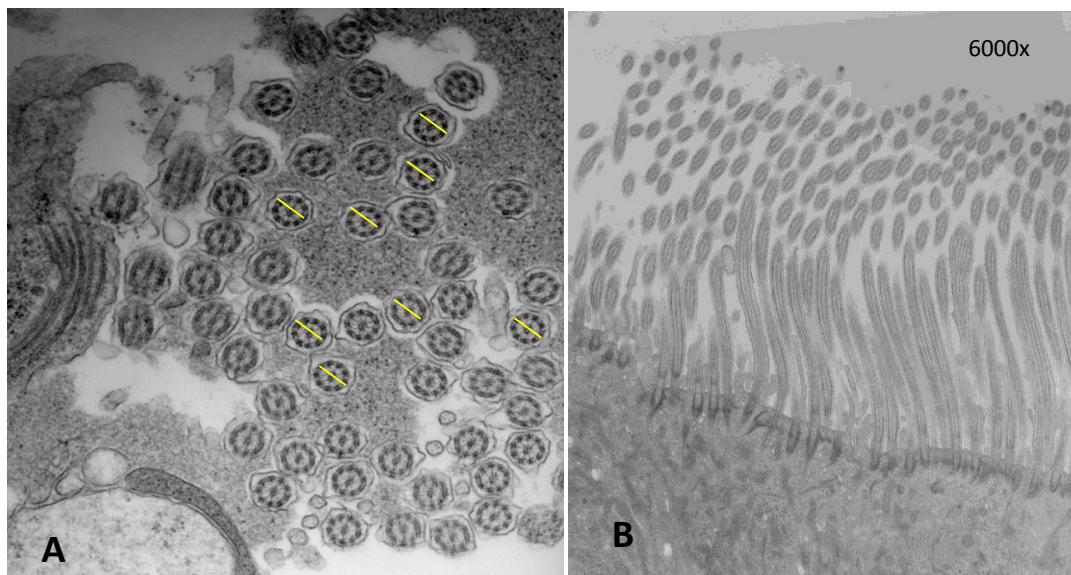


Figura 4: **A: medida de orientação em corte transversal de cílios. B: corte longitudinal de célula ciliada em microscopia eletrônica de transmissão com cílios orientados no mesmo sentido.**

A ultraestrutura ciliar é composta pelo axonema ou cílio, que contem nove pares de *doublets* de microtúbulos periféricos e um par de *singlets* central (9 + 2). Os

microtubulos são constituídos por anéis de protofilamentos de polímeros de tubulina, e podem ser *singlets*, *doublets* e *triplets*, se estendendo do citoplasma da célula, ancorados pelo corpúsculo basal ate o topo delas. O microtúbulo com anel completo é denominado A, enquanto que o B e C são microtúbulos aderidos com anéis incompletos. Os *triplets* são os nove pares periféricos ainda dentro do citoplasma da célula, e tornam-se *doublets* na transição da membrana celular. Esta estrutura é totalmente envolta por uma membrana plasmática, constituindo, então o axonema. Os microtúbulos centrais estão envolvidos por uma membrana fibrosa e estão conectados aos pares e periféricos pelos raios. Já os periféricos estão ligados entre si pela nexina. Há ainda os braços de dineína interno e externos nos microtúbulos periféricos, responsáveis pela hidrólise de ATP (ATPase), que faz o deslizamento destes microtúbulos e ocasiona a flexão do cílio (figura 5/ A e B).²⁷⁻³³

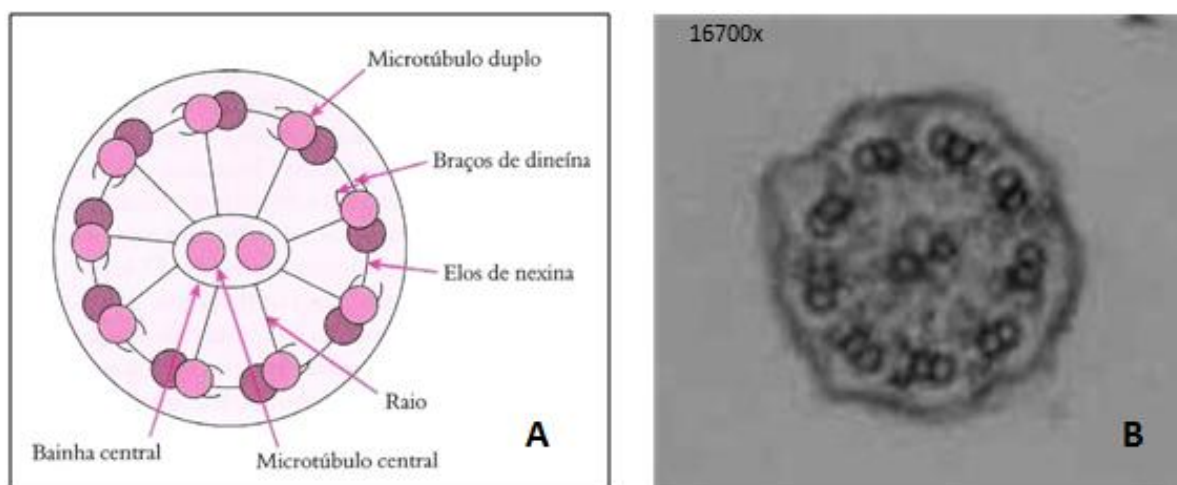


Figura 5: A: Esquema de corte transversal de cílio representando sua ultraestrutura em microscopia eletrônica com nomenclatura das suas unidades; B: cílio em corte transversal na microscopia eletrônica de transmissão.

Na fisiopatogenia da rinossinusite, acredita-se que o bloqueio do complexo óstio-meatal provoque acúmulo de secreção dentro dos seios paranasais e os agentes infectantes, uma lesão no epitélio ciliado, com alteração do clearance mucociliar e perpetuação do processo inflamatório.^{20,21} A literatura mostra que, em 23 a 28% das

rinossinusites crônicas e recorrentes, o batimento ciliar apresenta-se alterado ou ausente, decorrente a diminuição ou ausência de cílios ou das células ciliadas e também à desorientação ciliar.²⁷⁻³³ Dentre as alterações ultraestruturais, somente a ausência de braços de dineína ou microtúbulos periféricos parecem comprometer o batimento ciliar. Estas alterações parecem ocorrer de maneira significativa (58 a 77%) somente nos pacientes com Discinesia Ciliar cuja prevalência é rara (1:15.000 a 1:30.000 nascidos vivos). Outras alterações estruturais como cílios compostos, translocação de microtúbulos, microtúbulos centrais supranumerários podem ou não comprometer o batimento ciliar e podem ser encontradas nas rinossinusites crônicas e recorrentes ou outras doenças respiratórias em pacientes imunocompetentes numa frequência de 17 a 45%; e também, numa porcentagem pequena (5 a 9%) em epitélio ciliado nasal de indivíduos hígidos.²⁷⁻³³

As alterações histopatológicas mais frequentes na mucosa nasossinusal dos pacientes imunocompetentes com rinossinusite recorrente ou crônica são: infiltrado leucocitário, metaplasia escamosa, hiperplasia glandular, aumento de células caliciformes e presença de microvilosidades.²⁷⁻³⁶

Demonstrou-se que algumas infecções podem causar uma alteração transitória na ultraestrutura do epitélio ciliado. Os vírus influenza, adenovírus, parainfluenza, respiratório sincicial e herpes podem provocar anormalidades ciliares que melhoram em aproximadamente 10 semanas. Nas rinossinusites crônicas e recorrentes, o *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* e *Pseudomonas aeruginosa* causam alterações mais persistentes em mucosa nasossinusal. Isto possivelmente se deve à liberação de toxinas e proteases por estas bactérias, além da liberação da elastases pelos macrófagos intraepiteliais que diminuem o batimento ciliar e desorganizam os cílios.^{34,35,36}

Estudo recente demonstrou uma inibição da ciliogênese decorrente à ação de mediadores pró-inflamatórios na rinossinusite crônica. Isto explicaria a diminuição das células ciliadas e/ou diminuição de cílios.³⁵

No transplantado de células tronco parece existir uma alteração no epitélio ciliado que impede adequada função do clearance muco-ciliar e facilita a deposição e penetração de microorganismos ou irritantes através da mucosa respiratória pelas *tight junctions* danificadas.^{22,23} Cordonnier (1996) demonstrou alterações ultraestruturais do epitélio ciliado respiratório, porém não conseguiu relacionar fatores de associação entre o transplante de células tronco hematopoiéticas e rinossinusite e TBI, DECH ou terapia imunossupressora prévia.²² Estudo recente demonstrou que 77% dos pacientes TCTH tinham diminuição ou ausência de cílios e 50% tinham alguma alteração na ultraestrutura ciliar após o transplante.²³ Não está esclarecido ainda qual a causa da lesão epitelial, se seria a própria infecção ou o processo do transplante ou condicionamento. No entanto, há de se considerar que estes pacientes apresentam uma mucosa mais destruída e permeável aos novos microorganismos que chegam do ambiente externo (figura 6). Daí, quanto maior a imunossupressão, menor a barreira imune da mucosa, e por consequência, mais fácil à penetração deste microorganismo no epitélio ciliado e corrente sanguínea.

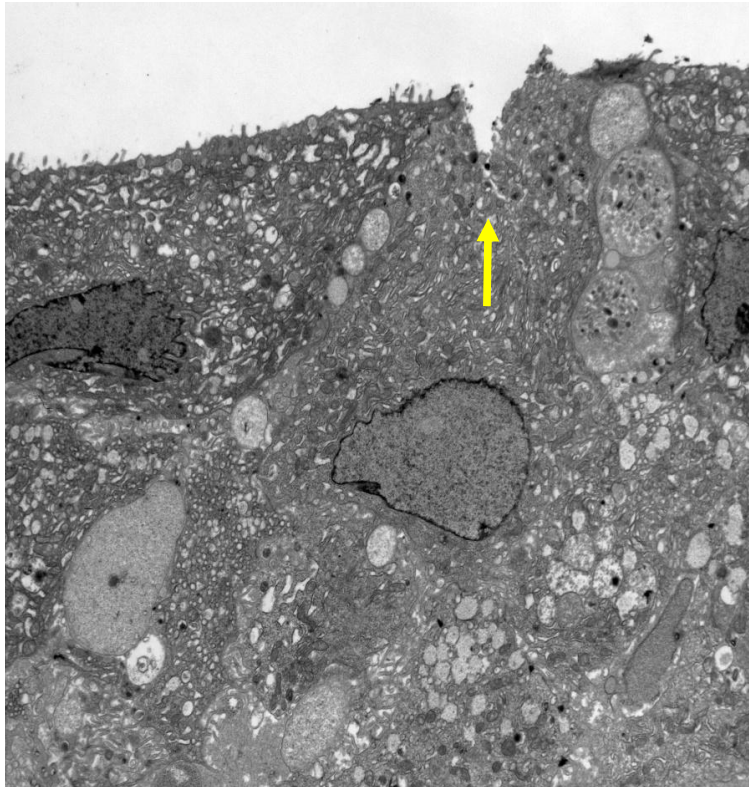


Figura 6: Epitélio pseudoestratificado ciliado de paciente submetido à TCTH sem cílio e com superfície danificada (seta), sob microscopia eletrônica de transmissão.

1.2 Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas (TCTH)

O transplante de células tronco hematopoiéticas é utilizado para tratamento de doenças malignas e benignas hematológicas e até para algumas doenças degenerativas neurológicas como esclerose múltipla.^{2,3}

Existem várias fontes do enxerto como medula óssea, sangue periférico ou sangue de cordão umbilical. Quando o doador é o próprio paciente denomina-se transplante autólogo, e quando o doador é outro indivíduo, alogênico.^{2,3} O enxerto deve ter o Antígeno Linfocitário Humano (HLA) compatível ao doador para não haver reação de rejeição entre eles. Dois conjuntos do grupo HLA de classe I (loci A e B) e II (HLA-DR) herdados no cromossomo 6 do pai e da mãe precisam ser idênticos no doador e receptor para histocompatibilidade ideal.³⁷ Os antígenos HLA detectados

por anticorpos específicos (sorologia) são encontrados nas células nucleadas e são referidas como antígenos da classe I. Outros antígenos HLA são expressos somente em linfócitos, macrófagos, monócitos e células endoteliais, referidos como antígenos de classe II.^{5,6,37}

Os transplantes alogênicos eram usualmente realizados em crianças ou pacientes jovens. Atualmente, a realização do transplante alogênico abrange também pacientes mais idosos devido à redução da intensidade do condicionamento pré - TCTH e aumentou a viabilidade de doadores alternativos como não aparentados HLA (Antígeno Linfocitário Humano) compatíveis.

O processo do TCTH envolve basicamente três etapas: condicionamento, transplante, consolidação. O condicionamento é o preparo do paciente para receber o enxerto doado, utilizando-se quimioterapia e/ou radioterapia de corpo inteiro para eliminação da própria medula do receptor. O transplante consiste na infusão das células progenitoras hematopoiéticas via endovenosa. A consolidação constitui na recuperação setorial imunológica do paciente, sendo o período crítico para esta recuperação os primeiros 30 dias. Neste período, ocorre a produção de novas células da serie vermelha, seguida da branca. O tempo considerado de consolidação do transplante e cura da doença pode ocorrer em até cinco anos após o transplante.^{2,3,5,6} Neste período, o paciente pode receber drogas imunossupressoras de diversos tipos e doses conforme apresente uma reação de rejeição do enxerto (DECH). Embora a contagem de linfócitos possa estar normalizada no período de pós-transplante, infere-se que os linfócitos não tenham uma atividade normal devido à imaturidade do sistema imune ou à interferência das drogas imunossupressoras. Portanto, neste período de cinco anos pós-transplante, considera-se o paciente, um imunossuprimido secundário, principalmente se este desenvolver a Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro (DECH) crônica.^{2,3,6}

1.3 Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro (DECH)

A Doença do Enxerto contra Hospedeiro é uma complicação do Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas alogênico semelhante a uma doença autoimune em sua fase aguda.^{6,7,8}

A DECH ainda é o maior problema após o TCTH alogênico. Pode ocorrer em 40 a 60% dos receptores e ser responsável por 15 a 50% da mortalidade aguda após o transplante. O seu grau de gravidade relaciona-se à incompatibilidade de HLA quando o doador é não aparentado, possui sexo diferente, ou idade avançada a do receptor.^{6,39,41,40}

A reação consiste nos linfócitos do enxerto reconhecerem os antígenos dos tecidos do receptor através de uma aparente reação de citotoxicidade linfocitária até a apoptose celular. A fisiopatogenia da DECH ainda não está bem definida, mas resumidamente existiria um desequilíbrio na proporção linfocitária com uma diminuição de células reguladoras (CD4+) e aumento das células citotóxicas (CD8+), com um predomínio desta citotoxicidade.³⁹⁻⁴⁷ Esta destruição epitelial resultante inclui a apoptose de células epiteliais e células do sistema imune dentro destas, conhecido como “necrose” de célula satélite.³⁹⁻⁴⁷

A Doença do Enxerto Contra Hospedeiro pode ocorrer logo após o transplante, denominada aguda, ou após aproximadamente três meses do Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas, chamada de crônica. A fase aguda ocorre em duas subfases distintas, uma aferente e outra eferente. Na fase aferente, células T CD4+ e CD8+ reagem contra os aloantígenos classe I e II do hospedeiro na superfície das células apresentadoras do antígeno (APC). As células T são estimuladas pela interleucina-2 (IL-2). Sob influência da IL-2, as células TCD4+ e CD8+ se expandem clonalmente e diferenciam-se em células efetoras, as quais induzem a resposta enxerto contra hospedeiro. Essas células efetoras são ativadas por coestimuladores e citocinas pró-

inflamatórias, como interferon gama (INF- γ) e interleucina -12 (IL-12), em células efectoras T helper 1 (incluindo linfócitos citotóxicos CD4+ e CD8+), as quais direcionam a resposta enxerto contra hospedeiro. As células T alorreativas podem, ainda, transformar-se em células supressoras T helper 2 antígenos específicos sob a influência das interleucinas 4 e 10 (IL4 e IL10). O regime de condicionamento parece iniciar a resposta imune pelo dano aos outros tecidos do hospedeiro, como mucosa intestinal, fígado e outros com indução de liberação de citocinas, em especial da interleucina 1, do fator de necrose tumoral (TNF)- α e a penetração de lipossacarídeos bacterianos entéricos ou endotoxinas que pré-ativam macrófagos a liberar TNF- α e IL-1.^{6,7,8,38,39}

Todos os pacientes, portanto, com exceção dos receptores de transplante singênico de medula óssea, recebem profilaxia contra DECH por 6 a 12 meses, composta por combinações de ciclosporina e metotrexano, ciclosporina e prednisona ou das três drogas.^{6,48} Quando ocorre a DECH, há necessidade de utilização de outros medicamentos imunossupressores a fim de controlar a citotoxicidade linfocitária; o que diminui ainda mais a imunidade do paciente. A prednisona, isoladamente, mostrou-se mais eficaz do que a associação prednisona/azatioprina, quando analisada a sobrevida global dos pacientes. No entanto, em pacientes que apresentam trombocitopenia, a combinação da ciclosporina com a prednisona mostrou-se mais eficaz. A talidomida é um medicamento também utilizado.^{6,7,8,48} Outros agentes imunossupressores, que interrompem a fase 2 da cascata da DECH, são usados em larga escala, como tacrolimus, micofenolato de mofenil e depleção de células T por Campath-1.^{6-8,38-47}

Visto que não há uma etiologia bem definida principalmente na forma crônica, o diagnóstico da Doença do Enxerto Contra Hospedeiro é baseado em parâmetros clínicos, histológicos e com uso de marcadores moleculares, padronizados pelo Consenso da Doença do Enxerto Contra Hospedeiro da National Institutes of Health (NIH) de 2005.^{7,8} Os critérios para diagnóstico são: lesões tipo líquen plano e estenose

na mucosa vaginal; bronquiolite obliterante no pulmão; líquen-planus, placas hiperqueratóticas e restrição da abertura de boca (esclerose) na cavidade oral; poiquilodermia, características tipo líquen planus ou escleróticas ou tipo morféia ou líquen escleroso na pele.^{6,7,8,40-47} Há uma alteração como líquen plano e hiperpigmentação com hiperqueratose, infiltração, principalmente linfocitária da camada basal e presença de corpúsculo apoptótico ou eosinofílico no citoplasma celular, com evolução para atrofia e fibrose nos casos mais extensos.^{41,40,45,47} Na mucosa gastro-intestinal, o órgão mais acometido é o esôfago que apresenta infiltrado inflamatório linfocitário com lise das células próximas a camada basal e esfoliação do epitélio escamoso, atipia de células epiteliais e corpúsculo apoptóticos com fibrose da submucosa.^{39,43} Na mucosa oral, ocorre uma alteração liquenosa com desorganização da camada basal, vacuolização dos ceratinócitos e corpúsculos apoptóticos, clivagem entre epitélio e tecido conjuntivo com infiltrado inflamatório principalmente linfocitário.^{42,44} Na cavidade nasal, poucos estudos demonstraram alteração histopatológica, mas em número pequeno de pacientes, sem correlação específica.^{22,23}

Então, conforme maior imunossupressão e possíveis danos epiteliais, estes pacientes passam a apresentar maior frequência de infecções de vias aéreas, principalmente rinosinusites aguda ou recorrente.^{4,5,7,8,9,12,17,19,22,23,41,46}

1.4 Método de avaliação histológica da mucosa nasossinusal

A mucosa do processo unciforme é representativa e pode ser utilizada para uma análise histológica da mucosa nasossinusal. As biopsias desta mucosa podem ser realizadas com uma pinça sacabocado cortante de nariz ou bisturi frio número 15, sob anestesia local ou geral por via endoscópica. Deve-se cuidar para não amassar a mucosa e danificar os cílios das células epiteliais.

A avaliação histopatológica é feita através da microscopia óptica (anátomo-patológico) e da microscopia eletrônica de transmissão.

As variáveis analisadas na microscopia óptica foram: densidade e composição do infiltrado inflamatório; contagem de linfócitos, corpúsculos apoptóticos e eosinófilos intraepiteliais; densidade glandular, espessura da membrana basal, edema e fibrose subepiteliais. As contagens foram feitas por campo de maior aumento de 400 vezes (CMA). As medidas da membrana basal foram feitas com o auxílio de uma ocular com grátula micrométrica (régua de Breslow), nos cortes histológicos corados pela Tricromo Masson em dez (10) campos de 400 vezes, selecionados aleatoriamente de áreas onde o material estava bem incluído. Os valores obtidos foram somados e divididos pelo número de campos selecionados (média aritmética) para análise comparativa entre os grupos.

As colorações utilizadas foram Hematoxilina-Eosina (HE), Periodic acid - Schiff (PAS) e Tricromo Masson (Masson). O HE permite melhor análise da densidade e composição do infiltrado inflamatório, contagem de eosinófilos, corpúsculos apoptóticos e linfócitos intraepiteliais e a densidade glandular. Já o PAS permite melhor análise da densidade e composição do infiltrado inflamatório e principalmente da contagem de linfócitos intraepiteliais. O Masson avalia melhor a fibrose, o edema e espessura da membrana basal.

Para microscopia eletrônica, a amostra foi colocada em papel cartão fino permeável sobre um disco de cera e cortada em finos fragmentos de aproximadamente 0,3mm de diâmetro, colocada em recipiente com solução fixadora de glutaraldeído 3% mantido a temperatura de 4° C por 3 horas, sendo então, processadas as etapas de lavagem e colocada num recipiente com tampão fosfato. Foram realizados vários fragmentos de aproximadamente 2 mm do processo unciforme aleatórios e feitos cortes ultrafinos, 50-60 nm de espessura, que foram

obtidos a partir das áreas seleccionadas utilizando o ultramicrotomo pela faca de diamante. A amplificação utilizada variou de 1.600 a 20.000 vezes.

Os parâmetros avaliados na microscopia eletrônica de transmissão foram: quantidade de cílios (ausência, diminuição, normal), organização da estrutura, orientação ciliar, metaplasia escamosa, microvilosidades (presença ou ausência), goblet cells ou células caliciformes (ausência, diminuído, aumentado, normal), mitocôndrias intracelulares (presença ou ausência) e vacuolização citoplasmática (presença ou ausência).

A orientação ciliar é medida através de um traço entre os microtúbulos centrais de pelo menos 10 cílios em corte transversal, sendo que todos estes traços devem ter a mesma direção, com uma discreta variação de, no máximo, 10° de direção entre os traços. A análise subjetiva das células caliciformes baseia-se na porcentagem normal de 20:80 (células caliciformes: células ciliadas). Desta forma, se a proporção na análise subjetiva for menor do que os 20% das células caliciformes considerado normal, pode-se inferir que há uma diminuição destas células caliciformes no epitélio respiratório nasal; assim como, do contrário, há um aumento na proporção

2. OBJETIVO

Verificar as alterações histológicas e a ultraestrutura da mucosa nasossinusal dos pacientes transplantados de células tronco hematopoiéticas com Rinossinusite, entre os grupos com e sem Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro crônica.

Secundariamente, verificar a recorrência da rinossinusite no TCTH e suas alterações histológicas nasossinusais.

**3. SUBMISSÃO PARA REVISTA E
FOLHA DE ROSTO DO TRABALHO**

Trabalho submetido ao Journal of Stem Cell Research & Therapy:

***Sinonasal Ultrastructure of the Hematopoietic Stem Cell Transplant and
Chronic Graft-Versus-Host Disease with Rhinosinusitis***

Érica Ortiz¹; Luciana R. Meirelles²; Afonso C. Vigorito³; Eulália Sakano¹;
Ester Maria Danielli Nicola¹

¹Otolaryngology Department of UNICAMP
Campinas, Sao Paulo, Brazil

²Pathology Department of UNICAMP
Campinas, Sao Paulo, Brazil

³Haemathology Department of UNICAMP
Campinas, Sao Paulo, Brazil

Data contained in this manuscript were presented at SERIN 2013 (BRUSSELS, BE)
The authors have no financial conflict of interest to disclose.

Address correspondence to

Erica Ortiz, MD
Faculdade de Ciências Médicas
Caixa Postal 6111 – Cidade Universitária “Zeferino Vaz”
Campinas, São Paulo, Brazil
Phone (Fax): 55-19-3521-7523/3521-7454
Email: erica.ortiz@terra.com.br

Introduction:

The respiratory epithelium has sinonasal mechanical and immunological barriers for its protection against microbes or irritants coming from the external environment. These barriers are the ciliated pseudostratified epithelium (ciliated cells and tight junctions), mucociliary clearance and innate immunity (mucosa or nasal-associated lymphoid tissue; MALT or NALT). The highest incidence (37%), recurrence and chronicity of rhinosinusitis in patients submitted to hematopoietic stem cell transplants are due mainly to immunosuppression, which modifies the innate immunity. The frequency of bacterial rhinosinusitis can reach 49% in these patients, compared to only 5-15% in immunocompetent individuals.¹

Immunosuppressive drugs, total body irradiation, high doses of chemotherapy and chronic graft versus host disease (GVHD) are predictive or aggravating factors described for the development of rhinosinusitis in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation (HSCT).^{2,3,4,5} There is a 4.3 times greater risk for the occurrence of rhinosinusitis in patients who developed chronic GVHD.⁶ This disease is a cytotoxicity reaction that affects the respiratory, gastrointestinal and vaginal mucosal systems, as well as the skin, the eyes and the liver.^{7,8,9,10}

In our previous study, we demonstrated that 77% of HSCT patients had decreased or absent cilia, and 50% had ultrastructural abnormalities of the cilia after these transplants, even without the occurrence of rhinosinusitis.¹¹ By contrast, ciliary beating was altered or absent in only 23 to 28% of chronic and recurrent rhinosinusitis for immunocompetent patients due to the decrease or absence of cilia or ciliated cells, as well as to the disorientation of the cilia.^{1,6,7,8,14} It has been suggested that these abnormalities might lead to an increased RS incidence due to mucociliary clearance changes, as well as to immunosuppression.^{11,12} However, the correlation between histopathological abnormalities and rhinosinusitis has not yet been established, i.e., whether it is the sinusitis that causes the histopathological abnormalities or the abnormalities that precipitate a higher incidence of sinusitis in these patients.¹²

In immunocompetent patients, there is evidence of anatomical, ciliary and mucus viscosity alterations that may trigger, exacerbate or maintain the occurrence of rhinosinusitis. By contrast, it is believed that rhinosinusitis can cause pathological damage in the sinus mucosa, perpetuating or exacerbating the local inflammation.^{13,14}

Objective:

The aims of this study were to verify the histology and ultrastructure of the sinonasal mucosa of those patients who underwent hematopoietic stem cell transplants with rhinosinusitis between the groups with and without GVHD. Second, this study aimed to verify whether the HSCT and/or the rhinosinusitis influenced the development of sinonasal histological abnormalities.

Method:

This is a prospective exploratory cross-sectional study of patients undergoing hematopoietic stem cell transplants at the Department of Bone Marrow Transplantation (BMT - Department of Hematology) at the Otorhinolaryngology Department of the University of Campinas, São Paulo, Brazil. This study was approved by the Ethics Committee in Research of FCM UNICAMP under number 088-2002.

We selected 30 patients who underwent an allogeneic hematopoietic stem cell transplant, of whom nine (9) had no GVHD and 21 had chronic GVHD. The transplant recipients were selected independently of the type of donor and GVHD prophylaxis. All of them had rhinosinusitis at the time of the study, except for six (6) of these patients, who were separated from the analysis. Then, they were divided into two groups: one group of 16 patients with GVHD and rhinosinusitis and another group of 8 without GVHD and with rhinosinusitis.

The exclusion criteria were patients with a serious risk of bleeding due to thrombocytopenia and patients with cytomegalovirus (CMV) or herpes virus.

Thirty patients with an average age of 39 years and a male predominance (63%) were transplanted with allogeneic hematopoietic stem cells. A total of 73% underwent myeloablative transplantation, and 27% underwent non-myeloablative. Of the 24 patients who had rhinosinusitis, 47% (14) had only 1 or 2 episodes, and 33% had more than 3 episodes of rhinosinusitis. Table 1 lists the general characteristics of the groups of transplanted patients with and without GVHD and rhinosinusitis.

Table 1. Groups of transplanted hematopoietic stem cells in patients with rhinosinusitis

	HSCT	Hematologic disease	Rhinosinusitis
With GVHD	Myeloablative :	CLM : 5 (31%)	1 – 2 RS :
	12 (75%)	ALM : 5 (31%)	9 (56,2%)
	Non-myeloablative :	MM : 2 (12,5%)	3 ou > RS :
	4 (25%)	CLL : 1 (6%)	7 (43,7%)
		AA : 1 (6%)	
		MDS : 2 (12,5%)	
Without GVHD	Myeloablative :	ALL : 2 (25%)	1 – 2 RS :
	5 (62,5%)	MM : 1 (12,5%)	6 (75%)
	Non-myeloablative :	SCA : 1 (12,5%)	3 ou > RS :
	3 (37,5%)	AA : 2 (25%)	2 (25%)
		MDS : 2 (25%)	

Caption: HSCT: hematopoietic stem cell transplant; CML: chronic myeloid leukemia, AML: acute myeloid leukemia, MM: multiple myeloma; CLL: chronic lymphocytic leukemia; AA: aplastic anemia, MDS: myelodysplastic syndrome; ALL: acute lymphoblastic leukemia, SCA: sickle cell anemia, RS: rhinosinusitis.

Biopsies of the uncinat process mucosa at the middle meatus were performed for all patients under anesthesia by endoscopy.¹⁵ Histopathological evaluation was performed by optical microscopy and transmission electron microscopy (TEM). We used hematoxylin-eosin staining (HE), Periodic acid - Schiff (PAS) and Masson's trichrome (Massom) for a better assessment of each variable. The histologic criteria analyzed by light microscopy in HE were the density and composition of epithelial and submucosal inflammatory infiltrate; the apoptotic bodies and intraepithelial eosinophils; and the submucosal glandular density. The intraepithelial lymphocyte counts and the density of epithelial and submucosal inflammatory infiltrate analysis were done by PAS, and the basal membrane thickening, submucosal edema and fibrosis were determined by Masson's trichrome. The variable counts were determined by the analysis of the histological sections that were randomly selected from the best embedded glass slides using at least ten (10) fields per 40x high-power fields (HPF). The measurements of the basal membrane were made with the aid of a micrometer eyepiece graticule (Breslow strip) in histological sections stained with Masson's trichrome in ten (10) 40x high-power fields, which were also randomly selected areas where the material was well embedded. The values of the lymphocytes, eosinophils, apoptotic bodies and submucosal glands counts, as well as the basal membrane thickness, were summed and divided by the number of selected fields (arithmetic average) for a comparative analysis between the groups. The optical analysis per HPF of the inflammatory infiltrate density, edema and fibrosis were subjectively graded as absent, mild, moderate or severe.

For electron microscopy, the sample was placed in a permeable thin paper card on a hard wax and cut into fine fragments of approximately 0.3 mm diameter placed in a container with fixative 3% glutaraldehyde solution and maintained at 4°C for 3 hours. Then, the samples were processed through the wash steps and placed in a container with phosphate buffer. Various fragments of approximately 2 mm from the uncinata process were randomly selected and made into ultrathin sections 50-60 nm thick using an ultramicrotome diamond knife. The amplification used ranged from 1,600 to 20,000 times. The parameters subjectively evaluated by transmission electron microscopy were the following: amount of cilia (absent, decreased, normal), organization of cilia structure, squamous metaplasia (absent or present), microvilli (present or absent), goblet cells (absent, decreased, increased or normal), intracellular mitochondria (present or absent) and cytoplasm vacuolization (present or absent). The cilia orientation was measured by cross sections of at least 10 cilia, which were delineated as one perpendicular line between the central microtubules, arranged in the same direction and angle within a possible variation of 10°.

For light microscopy, all the slides were examined by two pathologists, and for electron microscopy, all the fragments of the biopsy were always evaluated by the same investigator.

The data collected from the biopsies were compared among the three groups using a statistical analysis of contingency (chi-squared), as well as the Wilcoxon and the R version 2.7.0. Copyright (C) 2008 The R Foundation for Statistical Computing. The level of significance (P value) was set at 0.05 and a confidence interval of 95%.

The data used as a control for comparison and discussion of this study were obtained from our previous study, the methodology of which was identical.¹¹ This study evaluated the histological aspects of the nasal mucosa of immunocompetent patients and also of patients undergoing bone marrow transplants without rhinosinusitis.

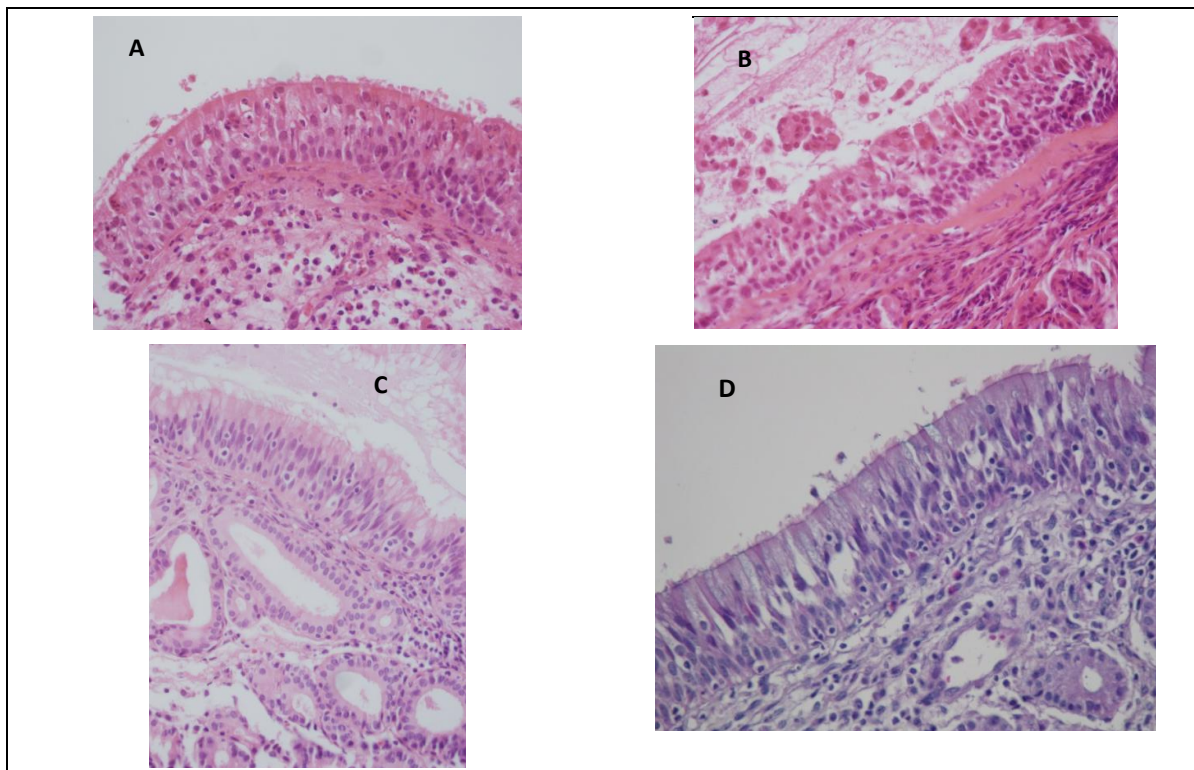
Results:

The nasal mucosa analysis by optical microscopy among the groups of HSCT with and without GVHD and with rhinosinusitis showed no significant changes in any of the variables analyzed (Table 2). However, the inflammatory infiltrate density in patients with GVHD was moderate in 45% of the patients, compared to only 25% of transplanted patients without GVHD. The glandular density was almost 2 times lower in the submucosa of HSCT with GVHD. The mucosal eosinophil count was three times higher in patients with GVHD. Moderate to severe edema occurred in 54% of patients with GVHD and in only 12% of those without GVHD. Moreover, 27% of the transplanted patients with severe GVHD

had fibrosis, compared to no one from the transplanted without GVHD group. Figure 1 shows the histological sections of optical microscopy, comparing HSCT patients with and without GVHD.

Table 2. Analysis of the sinonasal optical microscopy of patients transplanted with hematopoietic stem cells, with and without graft versus host disease (GVHD) epithelium. Fisher's exact test and Wilcoxon analysis with P value <0.005. (No./hpf = number per field of greatest increase, mm = millimeters)

Light Microscopy	Without GVHD	With GVHD	P
Moderate Inflammatory infiltrate	2(25%)	5(45%)	0,669
Intraepithelial lymphocytes (no./hpf)	12	7,2	0,098
Apoptotic body (no./hpf)	5,3	6,6	0,482
Eosinophils (no./hpf)	4,2	14,4	0,641
Glandular density (no./hpf)	11	6,7	0,126
Moderate/severe edema	1(12%)	6(54%)	0,16
Fibrosis	0	3(27%)	0,332
Basal membrane (mm)	0,048	0,032	0,858



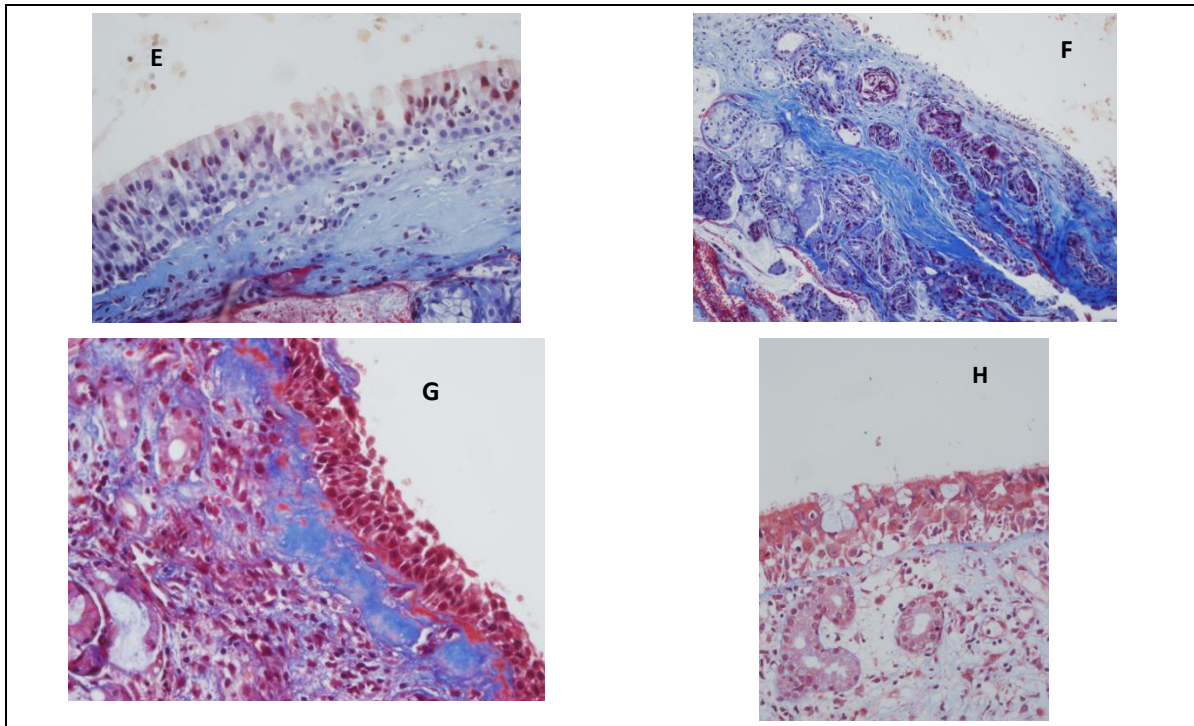


Figure 1 Histological sections of the nasal epithelium of transplanted patients under optical microscopy. A and B: intense and moderate eosinophilic inflammatory infiltrate and submucosal epithelial (HE). C and D: lymphocytic inflammatory infiltrate epithelial (PAS). E: ciliated epithelium, pseudostratified without fibrosis (Massom). F: subepithelial (Massom) fibrosis. G: thickening of the basement membrane (arrow) in Massom. H: submucosal edema (Massom)

Regarding the parameters studied in transmission electron microscopy, there was a significant difference in the presence of microvilli (Table 3). All the HSCT patients without GVHD had microvilli on the tops of ciliated cells, compared to half of those with GVHD. The primary modification of the ultrastructure is the compound cilia in both groups. Squamous metaplasia occurs in approximately 20% of patients in both groups. Despite the amount of cilia not differing significantly, half of the patients with GVHD have no cilia on the surfaces of the ciliated cells, whereas the cilia are absent in only 37% of HSCT patients without GVHD. Approximately 72% of transplanted patients with GVHD have rare or no goblet cells in the nasal respiratory epithelium. Figure 2 shows the histological sections under electron microscopy among the different groups.

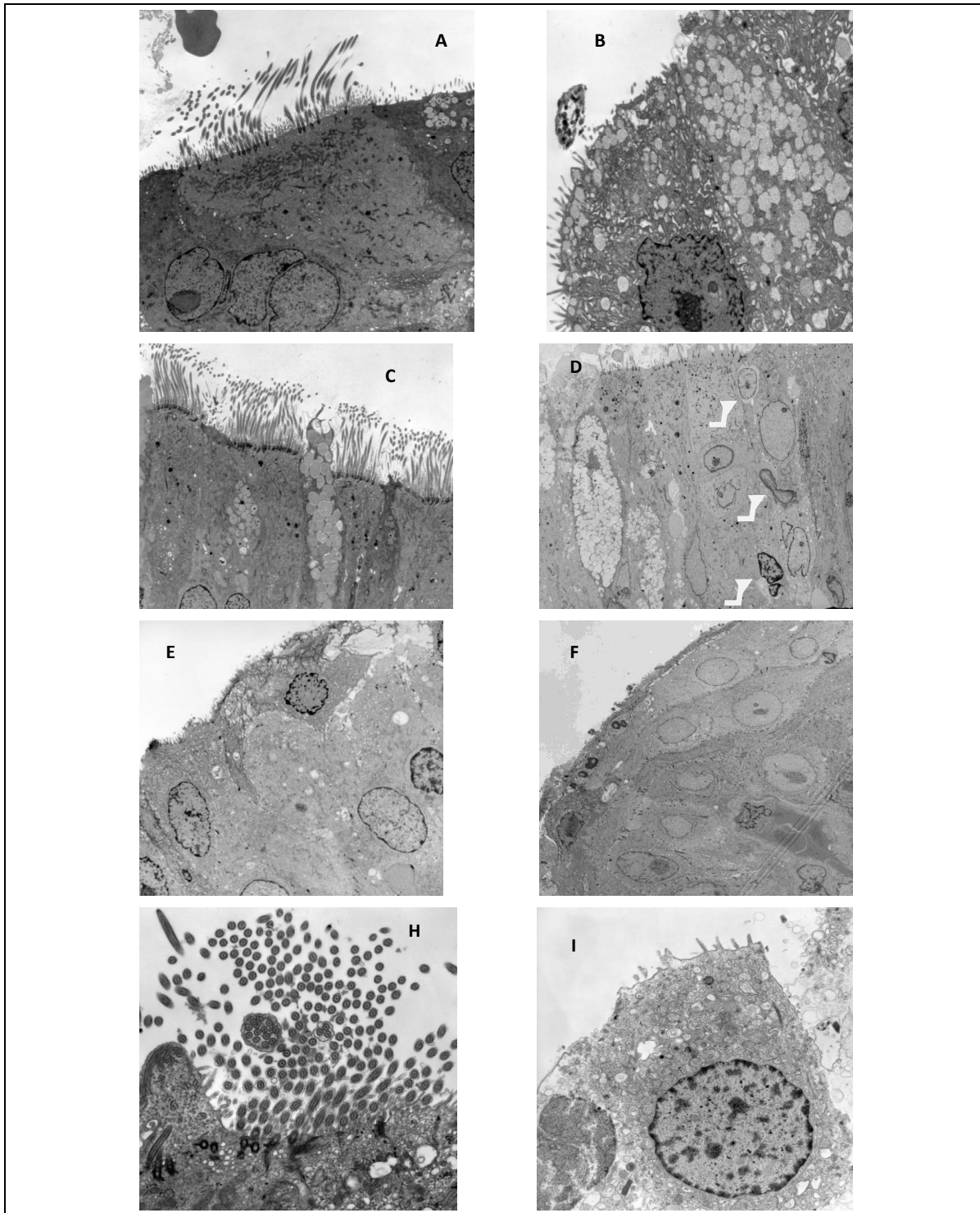


Figure 2 Ciliated nasal epithelium of transplanted patients without GVHD (right column) and with GVHD (left column) under transmission electron microscopy. **A:** ciliated cells with cilia decrease and microvilli increase. **B:** pseudostratified ciliated epithelium without cilia. **C:** normal ciliated epithelium with goblet cells. **D:** ciliated epithelium without cilia and mononuclear cells migrating to the surface (arrow). **E:** epithelium into a process of squamous metaplasia without cilia. **F:** squamous metaplasia. **G:** compound cilia. **H:** ciliated cells without cilia and with cytoplasmic vacuolization.

Table 3 . Analysis of the nasal epithelium of hematopoietic stem cell transplanted patients with and without the Graft Versus Host Disease (GVHD) by transmission electron microscopy. Fisher's exact test and Wilcoxon analysis with P = P value (significance <0.05).

Electron Microscopy	WITHOUT GVHD	WITH GVHD	P
Cilia (absence)	3(37%)	7(50%)	0,747
Ultrastructure (compound cilia)	3(37,5%)	2(14,2%)	0,412
Normal Ciliary Orientation	4(50%)	4(31%)	0,482
Squamous metaplasia	2(25%)	3(21%)	1
Microvilli	8(100%)	8(57%)	0,05
Globet cells (decreased/absence)	3(37%)	10(72%)	0,271
Cytoplasmatic Mitochondria (decreased/absence)	4(50%)	8(57%)	0,685
Cytoplasmatic Vacuolization	4(50%)	6(43%)	1

When the rhinosinusitis recurrence and epithelium aspects were compared under optical and transmission electron microscopy, there were no significant differences among the recipients with and without GVHD, except for a tendency towards an absence of cilia among those with the highest recurrence of rhinosinusitis (Tables 4 and 5). However, only 15% of patients with less frequent rhinosinusitis recurrences have squamous metaplastic epithelium, compared with 33% of those with more than 3 episodes of rhinosinusitis. The nasal epithelia of those with increased recurrence of rhinosinusitis had half as many microvilli.

Table 4 . Rhinosinusitis recurrence and the nasal epithelium aspects under optical microscopy in patients with and without chronic graft-versus-host disease (GVHD). (1 or 2 RS = 1-2 episodes of rhinosinusitis;> 3 RS = more than 3 episodes of rhinosinusitis; P = P value; No./hpf: number per 40x high-power field, RS: rhinosinusitis)

Light Microscopy	1 or 2 RS	>3 RS	P
Moderate inflammatory infiltrate	4(36%)	3(38%)	0,343
Intraepithelial Lymphocytes (hpf)	6	12	0,62
Apoptotic body (hpf)	5,3	6,6	0,301
Eosinophils (hpf)	14,4	3,6	0,219
Glandular density (hpf)	6,8	11	0,62
Moderate/severe edema	4(36%)	3(38%)	0,567
Moderate/severe fibrosis	4(36%)	5(63%)	0,74
Basal Membrane (mm)	0,048	0,032	0,593

Table 5. Rhinosinusitis recurrence and the nasal epithelium aspects under transmission electron microscopy in patients with and without chronic graft-versus-host disease (GVHD). (1 or 2 RS = 1-2 episodes of rhinosinusitis;> 3 RS = more than 3 episodes of rhinosinusitis, P = P value)

Electron Microscopy	1 or 2 RS	>3 RS	P
Cilia (absence)	3(23%)	7(77%)	0,08
Ultrastructure (compound cilia)	4(31%)	1(11%)	0,163
Normal Ciliary Orientation	6(46%)	2(22%)	0,367
Squamous metaplasia	2(15%)	3(33%)	0,609
Microvilli	11(85%)	5(56%)	0,178
Globet cells (decreased/absence)	7(54%)	6(67%)	0,764
Cytoplasmatic Mitochondria (decreased/absence)	4(31%)	7(78%)	0,164
Cytoplasmatic Vacuolization	5(38%)	5(56%)	0,666

Surprisingly, the occurrence of rhinosinusitis showed no significant relation to myeloablation or chronic GVHD. However, 80% of transplanted patients who underwent a myeloablation had a higher rhinosinusitis recurrence, compared to only 20% of non-myeloablative HSCT patients. Similarly, 70% of patients with chronic GVHD had more than 3 cases of rhinosinusitis, compared to only 30% without GVHD.

However, the comparison between recipients who had no rhinosinusitis and those who had more than three recurrences shows a significant ciliary decrease as the occurrence of rhinosinusitis increases (P = 0.008). Although not significant, a 67% decrease or absence of goblet cells may occur in transplanted patients with higher recurrences of rhinosinusitis, compared to a 16% decrease in this cell among patients without rhinosinusitis. The data comparing the occurrence of rhinosinusitis and its ultrastructural aspects are presented in Table 6.

Table 6. Analysis of the ultrastructure of the nasal mucosa in relation to the occurrence of rhinosinusitis under transmission electron microscopy. (RS: rhinosinusitis; P = P value)

Transmission Electron Microscopy	WITHOUT RS	1 or 2 RS	>3 RS	P
Cilia (absence)	0	3	7	0,008
Ultrastructure (compound cilia)	2	3	1	0,178
Normal Ciliary Orientation	5	6	2	0,06
Squamous metaplasia	0	2	3	0,388
Microvilli	5	11	5	0,343
Globet cells (decreased/absence)	1	7	6	0,598
Cytoplasmatic Mitochondria (decreased/absence)	1	5	7	0,159
Cytoplasmatic Vacuolization	3	5	5	0,885

Discussion:

It is known that there is a higher prevalence of bacterial rhinosinusitis and that its recurrence in hematopoietic stem cell-transplanted patients is still 4.3 times more likely in those with chronic GVHD.^{6,16,17,18} Given our previous results, it was found that patients undergoing HSCT had significant epithelial damage after the transplants, which may increase the risk of respiratory infection via the mechanical disruption of the barrier protection.¹¹ Moreover, opportunistic pathogens due to immunosuppression may cause increased harm to the epithelium that maintains the sinus infection.^{2,3,4}

As our current results show, the ultrastructure of the nasal mucosa of allogeneic transplanted patients with GVHD in the presence of rhinosinusitis indeed appears to have fewer microvilli, cilia (50%) and goblet cells (72%). These findings are consistent with the findings of our previous study, which showed a significant decrease in cilia (77%) and goblet cells (50%) in the sinonasal mucosa of HSCT compared to immunocompetent (0%) patients, independent of the occurrence of rhinosinusitis.¹¹ This epithelial damage and goblet cell decrease may cause a mucosal dryness that harms the proper mucociliary clearance while maintaining adequate lubrication to keep the defense proteins (lactoferrins, lysosomes) and immunoglobulins within the mucosal surface, further decreasing the respiratory defense.¹⁹

Because sinus infections are more prevalent in hematopoietic stem cell transplants (HSCT) with GVHD, we expected to find different epithelial changes in both groups of transplanted patients; however, we did not find any significant histological differences, despite a denser apparent inflammatory lymphocytic and eosinophilic infiltration, fewer submucosal glands and more edema and subepithelial fibrosis. We did not observe a higher percentage of apoptotic bodies in HSCT patients with GVHD and rhinosinusitis, in contrast to the results of a previous study that showed a significant increase in the intraepithelially transplanted apoptotic bodies compared to those in immunocompetent patients (6x greater). Among patients with HSCT and with GVHD, this rate was 3 times that of those with transplants and without GVHD.^{11,20}

Contrary to expectations, the histological abnormalities found in the nasal mucosa of allogeneic recipients with and without GVHD in the occurrence of rhinosinusitis are similar to those of immunocompetent patients with chronic or recurrent rhinosinusitis, such as leukocyte infiltration, squamous metaplasia, glandular hyperplasia, increased goblet cells and the presence of microvilli.^{21,22,23,24,25} Although HSCT patients have a denser inflammatory infiltrate compared to immunocompetent patients, as in a previous study, this present study suggests that rhinosinusitis does not seem to trigger specific tissue damage in the respiratory epithelium, especially in those with GVHD. Thus, a higher

prevalence of rhinosinusitis in allogeneic recipients with GVHD does not seem to occur because of primary epithelial abnormalities but instead due to the immunosuppression triggered by GVHD and its treatment.

There were no significant epithelial abnormalities found, except for the microvilli increases in allogeneic recipients without GVHD and with rhinosinusitis. A recent study showed that pro-inflammatory cytokines released in the respiratory epithelium due to chronic rhinosinusitis can inhibit ciliogenesis, decreasing the formation of centrioles and basal bodies and thus halting the elongation of these centrioles to form microvilli and short or deformed cilia.²⁶ This would preclude the proper function of ciliary beating and mucociliary clearance. Other studies have shown that some infections can cause transient changes in the ciliary ultrastructure. Influenza, adenovirus, parainfluenza virus, respiratory syncytial virus and herpes can cause ciliary abnormalities that improve in approximately 10 weeks.¹ In chronic and recurrent sinusitis, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* and *Pseudomonas aeruginosa* cause more persistent abnormalities in the sinonasal mucosa. This is possibly due to the release of toxins and proteases by these bacteria, in addition to the release of elastase by the intraepithelial macrophages that decrease the ciliary beating and disorganize the cilia.^{26,27}

Unlike 50% of the abnormalities in the ciliary ultrastructure found in HSCT in a previous study¹¹, the current study found that approximately 20% of the compound cilia in both groups transplanted with rhinosinusitis mucosa did not differ from that in immunocompetent patients with chronic rhinosinusitis (17-45%). Compound cilia consist of multiple axonemes surrounded by a single membrane and can be found in patients with chronic diseases of the nasal mucosa, such as rhinitis, sinusitis and allergy. Compound cilia results from the prompt regeneration of the mucosal barrier after inflammatory damage, but it can also occur in mucosal regeneration post-sinus surgery in mice with decreased mucociliary clearance. However, the compound cilia found in the solitary cilia cell cannot be translated into changes in the mucociliary clearance. The effects of compound cilia on the nasal mucosa and its clearance are still unclear. As in rhinitis and rhinosinusitis, it is unclear whether the cilia are the cause or the consequence of the sinonasal disease.^{22,23,28,29,30}

Although there are sinonasal epithelial histological abnormalities in transplanted patients, there is a greater tendency to decrease the cilia in the respiratory epithelium in recurrent rhinosinusitis. It seems that the more frequent the rhinosinusitis, the more squamous metaplasia, fewer cilia on the surfaces of ciliated cells and fewer microvilli. Therefore, the recurrence of rhinosinusitis may be an aggravating factor for rhinosinusitis in HSCT patients. However, other factors triggering the higher prevalence and recurrence of nasosinusal infections in this group of patients should be considered, such as

immunosuppression, tissue damage caused by the transplant process (total body irradiation, chemotherapy) and/or possible sinonasal anatomical changes.³¹

Although not statistically significant, the myeloablative HSCT seems to contribute to a higher recurrence of rhinosinusitis, as 80% of transplant patients undergoing myeloablation have a higher recurrence of rhinosinusitis, compared to 20% of non-myeloablative. Similarly, although not significant, GVHD also contributed to the recurrence of rhinosinusitis, with 70% of patients with GVHD having more than 3 cases of rhinosinusitis, compared to only 30% of those without GVHD. These data and the insignificant findings of the histological changes of the nasal mucosa suggest that immunosuppression remains the most important causal factor for the recurrence of rhinosinusitis.

Conclusion:

Patients who received hematopoietic stem cell transplants do not differ in their sinonasal histological abnormalities in the presence of rhinosinusitis, except for an increased number of microvilli in those without chronic GVHD.

The recipients with and without chronic GVHD only had a decrease of the cilia in the nasal epithelium according to their increased rhinosinusitis recurrence.

Bibliografy

1. Francisco Lopez-Medrano, Jose M. Aguado, Manuel Lizasoain; et al. Clinical Implications of Respiratory Virus Infections in Solid Organ Transplant Recipients: A Prospective Study. *Transplantation*, Volume 84, Number 7, October 15, 2007.
2. Savage DG; Taylor P; Blackwell J; et al. Paranasal sinusitis following allogenic bone marrow transplant. *Bone Marrow Transplantation*, 1997, 19:55-59.
3. Carmen Mortellaro, Veronica Barat, Francesca Nesi et al. Intercurrent Infectious Diseases in PostYStem Cell Transplant Patients: Paranasal Sinusitis. *The Journal of Craniofacial Surgery*, Number 1, January 2012, (23): 153-7.
4. Belinger N. Sinusitis in imunodeficient and imunossupressed patients - *Laryngoscope* 1985; 95: 29-33.
5. Mirza N; Lanza DC. Diagnosis and Management of Rhinosinusitis before Schedule Immunosupression . *Otolaryngol. Clinics North America*, 2000, 33(2): 313-21.
6. A M Thompson, M Couch, M L Zahurak, C Johnson and G B Vogelsang. Risk Factors for post-stem cell transplant sinusitis. *BMT*; 2002 , 29(3):257-61.

7. Rizzieri DA, Koh LP, Long GD, et al. Partially matched, nonmyeloablative allogeneic transplantation: Clinical outcomes and immune reconstitution . *Journal Of Clinical Oncology*, 2007, 25 (6): 690-697.
8. Ricardo Pasquini; *Fundamentos e Biologia do Transplante de Células Hematopoiéticas - Fundamentos em Hematologia*, capítulo 81, PP 913-934.
9. Shulman HM, Kleiner D, Lee SJ, Morton T, Pavletic SZ, Farmer E, et al. Histopathologic diagnosis of chronic graft-versus-host disease: National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: II. Pathology Working Group Report. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2006; 12:31-47.
10. Rieger K, Loddenkemper C, Maul J, Fietz T, Wolff D, Terpe H, et al. Mucosal FOXP3+ regulatory cells are numerically deficient in acute and chronic GVHD. *Blood*, 2006 feb, 107(4): 1717-23.
11. Ortiz E, Sakano E, Meirelles LR, Vigorito AC, Cintra ML, Paschoal IA, Chone CT. Histological features of the nasal mucosa in hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Rhinol Allergy*. 2011 Sep-Oct;25(5):191-5.
12. Cordonnier C, Gilain L, Ricolfi F, Deforges L, Girard-Pipau F, Poron F, Millepied MC, Escudier E. Acquired ciliary abnormalities of nasal mucosa in marrow recipients. *Bone Marrow Transplant.*, 1996 Apr;17(4):611-6.
13. Diretrizes Brasileiras de Rinossinusite. *Suppl Brazilian J Otolaryngology*, 2008, 74 (2).
14. Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, Bachert C, Alobid I, Baroody F, Cohen N, Cervin A, Douglas R, Gevaert P, Georgalas C, Goossens H, Harvey R, Hellings P, Hopkins C, Jones N, Joos G, Kalogjera L, Kern B, Kowalski M, Price D, Riechelmann H, Schlosser R, Senior B, Thomas M, Toskala E, Voegels R, Wang de Y, Wormald PJ. European Position Paper on Rhinosinusitis and nasal polyps 2012. *Rhinology*. 2012 Mar; 50(1):1-12.
15. Mark Wake MB; Sachio Takeno; Michael Hawke. The uncinate process: a histological and morphological study. *Laryngoscope*, 1994 Mar, 104:364-69.
16. Ortiz E, Sakano E, De Souza CA, Vigorito A, Eid KA. Chronic GVHD: predictive feature factor for rhinosinusitis in Bone Marrow Transplant. *Braz. J. Otorhinolaryngology*, 2006 May-Jun;72(3):328-32.
17. Young-Woong Won; Seong Yoon Yi; Jun Ho Jang et al. Retrospective analysis of paranasal sinusitis in patients receiving hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Hematol*, 2011, 93:383–388.
18. Junghanss C; Marr ka;Carter RA; et al. Incidence and outcome of bacterial and fungal infections following nonmyeloablative compared with myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a matched control study. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2002; 8(9): 512-20.
19. Sherin W. Abdelmalik . Microscopic Study of Certain Age-Related Structural Changes of Maxillary Sinus Lining Epithelium in Albino Rats. *Archiv für Klinische und Experimentelle Ohren- Nasen- und ehlkopfheilkunde*, 1997, 254(1):39-42.
20. Gerard Socie, Jean-Yves Mary, Anne Janin et al. Prognostic value of apoptotic cells and infiltrating neutrophils in graft-versus-host disease of the gastrointestinal tract in humans: TNF and Fas expression. *Blood*, 2004 Jan, 103(1):50-7.

21. Shlomchik WD, Lee SJ, Couriel D, et al. Transplantation's greatest challenges: Advances in chronic graft-versus-host disease. *Biology Of Blood And Marrow Transplantation*, Suppl. 1 Jan 2007, 13 (1): 2-10.
22. Toskala E, Rautiainen M. Electron Microscopy assessment of the recovery of sinus mucosa after sinus surgery. *Acta Otolaryngol.*, 2003; 123:954-959.
23. Dorgam, JV; Melo, VR ; Anselmo-Lima, WT . Estudo histológico e ultra-estrutural da mucosa do seio maxilar em pacientes com rinosinusite crônica e polipose nasossinusal. *Brazilian Journal of Otolaryngology* , 2004, (70): 7-13.
24. Namba N, Shinagawa K, Fujii N, et al. Predominant infiltration of monocytes in chronic graft-versus-host disease. *Transplantation*, 2007 Jan, 83 (2): 220-224.
25. Jacopo Gain; Lea Calo; Fausta Ardito; Micaela Imperiali; Ezio Bassotti; Giulio Cesare Passali; Giuseppe La Torre; Gaetano Paludetti; Giovantii Fadda. Damage to Ciliated Epithelium in Chronic Rhinosinusitis: What Is the Role of Bacterial Biofilms? *The Annals of Otolaryngology, Rhinology, and Laryngology*, 2008, 117(12):902-908.
26. Lai Y, Chen B, Shi J, Palmer JN, Kennedy DW, Cohen NA. Inflammation-mediated upregulation of centrosomal protein 110, a negative modulator of ciliogenesis, in patients with chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2011 Dec;128(6):1207-1215.
27. Susanna Joki, Elina Toskala e col. Correlation between ciliary beat frequency and the structure of ciliated epithelia in pathologic human nasal mucosa. *Laryngoscope*, 1998 Mar; 108(3):426-30.
28. James R. Mcauley And Vinod K. Anand, Jackson, Mississippi. Clinical significance of compound cilia. *Otolaryngology Head Neck Surg.*, 1998 May, 118(5):685-687.
29. Paschoal IA; Altemani AMA; Arteta LMC; Palombini BC; Alves MRA; Neder F. Ultraestrutura ciliar à microscopia eletrônica de transmissão. *Jornal de Pneumologia*, 1992, 18:1145-160.
30. Mark J. Cowan; Mark T. Gladwin; James H. Shelhamer. Disorders of Ciliary Motility. *Am J Med Sci.* 2001 Jan;321(1):3-10.
31. Perspectives on the etiology of chronic rhinosinusitis: An immune barrier hypothesis. *Am J Rhinol.* 2008 Nov-Dec;22(6):549-59.

4. CONSIDERAÇÕES GERAIS

O primeiro estudo desta linha de pesquisa demonstrou que os pacientes transplantados de células tronco hematopoiéticas (TCTH) apresentam alterações em epitélio pseudoestratificado ciliado nasossinusal com menos cílios na superfície das células, a ultraestrutura ciliar danificada e diminuição de células caliciformes, independente da rinosinusite. Além disto, o grupo com a doença do enxerto contra o hospedeiro crônica (DECH) apresenta mais corpúsculo apoptótico, independente da rinosinusite. Estes danos possivelmente ocorrem devido à forma de condicionamento aplicada prévia ao TCTH.

Neste estudo, os pacientes submetidos ao TCTH não apresentam diferenças nestas alterações histológicas entre os grupos com e sem DECH crônica em vigência de rinosinusite; exceto, o aumento de microvilosidades naqueles sem a DECH.

Portanto, o aumento da prevalência da rinosinusite nos pacientes submetidos ao TCTH deve ocorrer principalmente pela imunossupressão, ainda mais naqueles que desenvolveram a DECH crônica cujo tratamento agrava a condição de imunossupressão sistêmica. Porém, deve-se considerar o dano epitelial na mucosa nasossinusal como possível fator agravante.

A maior recorrência das rinosinusites associou-se a diminuição dos cílios no epitélio nasossinusal nos dois grupos. Desta forma, os danos epiteliais em mucosa nasossinusal dos pacientes submetidos o TCTH pode ser considerado como um fator agravante para as recorrências da sinusite, assim como as variações anatômicas já descritas em literatura.

5. CONCLUSÃO GERAL

Os pacientes submetidos ao transplante de células tronco hematopoiéticas não apresentaram diferenças nas anormalidades histológicas nasossinusais em vigência de rinosinusite, exceto o aumento da microvilosidade naqueles sem a Doença do Enxerto contra o Hospedeiro crônica.

Os transplantados com e sem a Doença do Enxerto contra o Hospedeiro crônica apresentaram somente uma diminuição dos cílios no epitélio nasossinual conforme a recorrência da rinosinusite.

6. BIBLIOGRAFIA GERAL

1. Registro Brasileiro de Transplante, ano XIX, no. 1.
<http://www.abto.org.br/abtov03/Upload/file/RBT/2013/rbt20131tr-parcial.pdf>
2. Ricardo Pasquini; Fundamentos e Biologia do Transplante de Células Hematopoiéticas - Fundamentos em Hematologia, capítulo 81, PP 913-934
3. Rizzieri DA, Koh LP, Long GD, et al. Partially matched, nonmyeloablative allogeneic transplantation: Clinical outcomes and immune reconstitution. *Journal Of Clinical Oncology* 25 (6): 690-697 Feb 20 2007
4. Savage DG; Taylor P; Blackwell J; et al. Paranasal sinusitis following allogenic bone marrow transplant - *Bone Marrow Transplantation*, 1997, 19:55-59
5. Carmen Mortellaro, MD, DDS,*p Veronica Barat, MD,p Francesca Nesi,et al. Intercurrent Infectious Diseases in PostYstem Cell Transplant Patients: Paranasal Sinusitis *The Journal of Craniofacial Surgery & Volume 23, Number 1, January 2012* *The Journal of Craniofacial Surgery & Volume (23): 153-7, Number 1, January 2012*
6. Danilo da Silva Soares, Karen Freitas, Gabriela de Moraes Barbosa e Maria do Carmo dos Santos Araujo. *Graft-versus-host disease: a case report*. *Disc. Scientia. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 8, n. 1, p. 91-113, 2007*
7. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ, et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2005;11:945-956
8. Shulman HM, Kleiner D, Lee SJ, Morton T, Pavletic SZ, Farmer E, et al. Histopathologic diagnosis of chronic graft-versus-host disease: National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: II. Pathology Working Group Report. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2006;12:31-47
9. A M Thompson, M Couch, M L Zahurak, C Johnson and G B Vogelsang. Risk Factors for post-stem cell transplant sinusitis. *BMT*; 2002 feb, 29(3):257-61
10. Belinger N; Sinusitis in Immunodeficient and immunosuppressed patients - *Laryngoscope* 1985; 95: 29-33.

11. Mirza N; Lanza DC; Diagnosis and Management of Rhinosinusitis before Schedule Immunosuppression. *Otolaryngol. Clinics North America*, 2000, 33(2): 313-21
12. Young-Woong Won; Seong Yoon Yi; Jun Ho Jang et al. Retrospective analysis of paranasal sinusitis in patients receiving hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Hematol* (2011) 93:383–388
13. John M. DelGaudio, MD; Ron E. Swain Jr, MD; Todd T. Kingdom, MD; Susan Muller, DMD; Patricia A. Hudgins, MD. Computed Tomographic Findings in Patients With Invasive Fungal Sinusitis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003;129:236-240
14. Parikh SL, Venkatraman G, DelGaudio JM. Invasive fungal sinusitis: a 15-year review from a single institution. *Am J Rhinol*. 2004 Mar-Apr;18(2):75-81.
15. Verschraegen CF; Van Besien KW; Dignani C; Hester JP; Andersson BS; Anaisse E; Invasive Aspergillus sinusitis during Bone Marrow Transplantation - *Scand J Infect Dis.*, 2997, 29:436-38
16. Junghanss C; Marr ka; Carter RA; et al. Incidence and outcome of bacterial and fungal infections following nonmyeloablative compared with myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a matched control study. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2002; 8(9): 512-20.
17. Dvorak CC, Steinbach WJ, Brown JM, Agarwal R. Risks and outcome of invasive fungal infections in pediatric patients undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation *Bone Marrow Transplant*, 2005 Oct, 36(7):621-9.
18. Johnson PJ; Lydiatt WM; Huerter JV, et al. Invasive fungal sinusitis following liver or bone marrow transplantation. *Am J Rhinology*, 1994, 8:77-83.
19. Ortiz E, Sakano E, De Souza CA, Vigorito A, Eid KA. Chronic GVHD: predictive feature factor for rhinosinusitis in Bone Marrow Transplant. *Braz. J. Otorhinolaryngology*, 2006 May-Jun;72(3):328-32
20. Diretrizes Brasileiras de Rinossinusite. *Suppl Brazilian J Otolaryngology*, 2008, 74(2)
21. Fokkens W, Lund V, Mullol J; European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps. *Rhinol Suppl*. 2007;(20):1-136

22. Cordonnier C, Gilain L, Ricolfi F, Deforges L, Girard-Pipau F, Poron F, Millepied MC, Escudier E. Acquired ciliary abnormalities of nasal mucosa in marrow recipients. *Bone Marrow Transplant.*, 1996, Apr;17(4):611-6.
23. Ortiz E, Sakano E, Meirelles LR, Vigorito AC, Cintra ML, Paschoal IA, Chone CT. Histological features of the nasal mucosa in hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Rhinol Allergy.* 2011 Sep-Oct;25(5):191-5
24. Mark Wake MB; Sachio Takeno; Michael Hawke. The uncinat process: a histological and morphological study. *Laryngoscope*, march 1994, 104:364-69.
25. Charles A. Janeway, Paul Travers; Mark Walport; Mark Shlomchik. O sistema immune na saude e na doenca- *Imunologia.* Ed. Arned, 2002.
26. Perspectives on the etiology of chronic rhinosinusitis: An immune barrier hypothesis November–December 2008, Vol. 22, No. 6
27. Matsui, H., Randell, S.H., Peretti, S.W., Davis, C.W., Boucher, R.C., 1998. Coordinated clearance of periciliary liquid and mucus from airway surfaces. *J. Clin. Invest.* 102(6), 1125–1131.
28. Wilma Terezinha Anselmo-Lima. Estudo da regeneração da mucosa do seio maxilar pós-cirurgia endoscópica. Tese de livre docência – USP RIBEIRÃO PRETO, 2001
29. Paschoal IA; Altemani AMA; Arteta LMC; Palombini BC; Alves MRA; Neder F. Ultraestrutura ciliar à microscopia eletrônica de transmissão. *Jornal de Pneumologia*, 1992, 18:1145-160.
30. Susanna Joki, Elina Toskala e col. Correlation between ciliary beat frequency and the structure of ciliated epithelia in pathologic human nasal mucosa. *Laryngoscope.* 1998 Mar;108(3):426-30.
31. James R. Mcauley, Vinod K. Anand, Jackson, Mississippi. Clinical significance of compound cilia. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1998 May;118(5):685-7.
32. MARK J. COWAN, MD; MARK T. GLADWIN, MD; JAMES H. SHELHAMER, MD. Disorders of Ciliary Motility. *The American Journal of Medical Sciences*, January 2001 Volume 321 Number 1
33. SHERIN W. ABDELMALIK . Microscopic Study of Certain Age-Related Structural Changes of Maxillary Sinus Lining Epithelium in Albino Rats

34. Francisco López-Medrano,^{1,6} Jose M. Aguado,¹ Manuel Lizasoain ET AL. Clinical Implications of Respiratory Virus Infections in Solid Organ Transplant Recipients: A Prospective Study. *Transplantation* • Volume 84, Number 7, October 15, 2007
35. Lai Y, Chen B, Shi J, Palmer JN, Kennedy DW, Cohen NA. Inflammation-mediated upregulation of centrosomal protein 110, a negative modulator of ciliogenesis, in patients with chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 Dec;128(6):1207-1215
36. Jacopo Gain, MD, PhD; Lea Calo, MD, PhD; Fausta Ardito; Micaela Imperiali, MD, PhD; Ezio Bassotti; Giulio Cesare Passali, MD, PhD; Giuseppe La Torre, MD; Gaetano Paludetti, MD, PhD; Giovantii Fadda, MD, PhD. Damage to Ciliated Epithelium in Chronic Rhinosinusitis: What Is the Role of Bacterial Biofilms?
37. Sant'Angelo DB, Robinson E, Janeway CA Jr, Denzin LK. Recognition of core and flanking amino acids of MHC class II-bound peptides by the T cell receptor. *Eur J Immunol*. 2002 Sep;32(9):2510-20
38. TSUYOSHI, I. et al. Recent Advances in the Treatment of Graft-Versus-Host-Disease. *New England Journal of Medicine*, v. 15, n. 8, p. 243-252, 2004.
39. Rieger K, Loddenkemper C, Maul J, Fietz T, Wolff D, Terpe H, et al. Mucosal FOXP3+ regulatory cells are numerically deficient in acute and chronic GVHD. *Blood*, 2006 feb, 107(4): 1717-23.
40. Akpek G, Zahurak ML, Piantadosi S, Margolis J, Doherty J, Davidson R, Vogelsang GB. Development of a prognostic model for grading chronic graft-versus-host disease. *Blood*. 2001;97:1219-1226
41. Lee SJ, Klein JP, Barrett AJ, Ringden O, Antin JH, Cahn JY, et al. Severity of chronic graft-versus-host disease: association with treatment-related mortality and relapse. *Blood*. 2002;100:406-414
42. Cristina Cunha Villar. Análise comparativa das características microscópicas da lesão liquenóide na GVHD crônica e no líquen plano de boca. [Tese de Mestrado]. Campinas, SP: Universidade Estadual de Campinas; 2001.
43. Gerard Socie, Jean-Yves Mary, Anne Janin e col. Prognostic value of apoptotic cells and infiltrating neutrophils in graft-versus-host disease of the

gastrointestinal tract in humans: TNF and Fas expression. *Blood* 2004 Jan 1;103(1):50-7. Epub 2003 Jul 24

44. Imanguli MM, Atkinson JC, Harvey KE, et al. Changes in salivary proteome following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Experimental Hematology* 35 (2): 184-192 Feb 2007
45. Namba N, Shinagawa K, Fujii N, et al. Predominant infiltration of monocytes in chronic graft-versus-host disease. *Transplantation* 83 (2): 220-224 Jan 27 2007
46. Shlomchik WD, Lee SJ, Couriel D, et al. Transplantation's greatest challenges: Advances in chronic graft-versus-host disease. *Biology Of Blood And Marrow Transplantation* 13 (1): 2-10 Suppl. 1 Jan 2007
47. Maeda Y, Tawara I, Teshima T, et al. Lymphopenia-induced proliferation of donor T cells reduces their capacity for causing acute graft-versus-host disease. *Experimental Hematology* 35 (2): 274-286 Feb 2007
48. POLLOK, E. R. et al. *UICC MANUAL DE ONCOLOGIA CLÍNICA*, 8. ed. São Paulo: Fundação Oncocentro de SP, 2006.

ANEXOS

Consentimento informado para o Protocolo ORL x TMO: Prevenção de sinusite fúngica fulminante (linha de pesquisa)

Responsável: Dra. Erica Ortiz

Orientação: Dr. Carlos T. Chone

Eu _____, _____ anos,
RG _____, Residente _____ na
_____, cidade _____ sob
responsabilidade de _____,
RG _____, residente em _____,
cidade _____, documento _____.

Concordo com minha inclusão neste protocolo de prevenção de rinossinusite fungica fulminante nos pacientes candidatos a transplante de medula óssea (TMO).

Estou ciente de que meu ingresso implica na investigação de doença nasossinusal prévia ao TMO e tentativa de tratamento desta doença antes do TMO a fim de evitar uma possível complicação que é a sinusite fúngica fulminante, durante ou após o TMO, podendo ser letal.

Serei submetido(a) a questionário oral sobre minhas condições de saúde atual e pregressa, exame físico otorrinolaringológico geral, endoscopia nasossinusal e tomografia computadorizada de nariz e seios paranasais para investigação de rinossinusite. Estes procedimentos são ambulatoriais, não apresentando riscos de vida ao paciente ou piora a doença atual. Se houver indícios de doença nasossinusal, serei submetido a medicação adequada e/ou cirurgia endoscópica nasossinusal sob anestesia geral, para tratamento prévio ao TMO. A cirurgia é um procedimento endoscópico nasal sem necessidade de incisões externas. Os riscos são de sangramento nasal e reação adversa a medicamentos utilizados em anestesia e antibioticoterapia. Se o paciente apresentar riscos elevados para cirurgia, como sangramento e/ou alergia, será excluído imediatamente do protocolo.

O tratamento garante um baixo risco de desenvolvimento de sinusite fulminante no TMO ou tardio.

Garantimos manter o paciente e/ou responsável sempre informado quanto aos procedimentos, exames e tratamento, e nos dispomos a esclarecer qualquer dúvida durante e após a realização do protocolo.

Este protocolo não envolve qualquer indenização nem para pesquisado, nem pesquisador.

Assumimos o compromisso de proporcionar informação atualizada obtidos durante o estudo, ainda que esta possa afetar a vontade d indivíduo em continuar participando da pesquisa.

Os profissionais envolvidos são Dr.(a)s Érica Ortiz, Afonso Vigoritto, Eulália Sakano. Poderão ser encontrados nos Departamento de Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça-Pescoço, Hematologia -TMO e Radiologia, no Hospital das Clínicas da UNICAMP, no telefone 3788-7524.

As reclamações do paciente devem ser notificadas no Comitê de Ética em Pesquisa no telefone (19) 3788-8936.

Dra.
Data

Paciente ou responsável

**Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas
Universidade Estadual de Campinas
Linha de Pesquisa : rinossinusite em TMO (TCTH)**



CEP, 20/05/03
(Grupo III)

PARECER PROJETO: N° 088/2002

I-IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “PROTÓCOLO ORL VS TMO: PREVENÇÃO DE SINUSITES FÚNGICAS FULMINANTES NOS TRANSPLANTES DE MEDULA ÓSSEA”

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Erica Ortiz

INSTITUIÇÃO: Departamento de Otorrinolaringologia/FCM/HC/UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 14/02/2002

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 20/05/04

II - OBJETIVOS

Aplicação de protocolo preestabelecido para o diagnóstico e tratamento precoce de doenças nasossinusais em candidatos a transplante de medula óssea. Também diminuir as complicações por rinossinusites e aumentar o sucesso do transplante de medula óssea e qualidade de vida dos transplantados.

III - SUMÁRIO

Trata-se de um estudo prospectivo de avaliação e tratamento otorrinolaringológico nos pacientes de TMO conforme aplicação de protocolo preestabelecido, no período mínimo de 01 ano.

Serão analisados os sintomas e sinais nasossinusais, endoscopia nasal e tomografia computadorizada de nariz e seis paranasais no período pré-transplante. Se houver evidência de doença nasossinusal, será tratado com antibioticoterapia e/ou cirurgia preestabelecida.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

A pesquisadora atendeu às questões levantadas pelos assessores e o projeto apresenta os requisitos mínimos exigidos pela Resolução 196/96 e complementares. O Termo de Consentimento é adequado. Consideramos o projeto de pesquisa aprovado.

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, bem como ter aprovado o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, assim como todos os anexos incluídos na Pesquisa, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa supracitado.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

VII - DATA DA REUNIÃO

Homologado na V Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 20 de maio de 2003.


Prof. Dra. Carmen Silvia Bertuzzo
PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP

PARECER

I-IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “PROTÓCOLO ORL vs TMO: PREVENÇÃO DE SINUSITES FÚNGICAS FULMINANTES NOS TRANSPLANTES DE MEDULA ÓSSEA”

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Erica Ortiz

II - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP aprovou o Relatório Final, apresentado em novembro de 2005, do protocolo de pesquisa supracitado.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

Recomendação: quando da publicação enviar cópia ao CEP/FCM.


Prof. Dra. Carmen Silvia Bertuzzo
PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP

Campinas , 31 de março de 2010.

AO COMITE DE ETICA EM PESQUISA FCM-UNICAMP

RELATORIO DE ACOMPANHAMENTO DE PROTOCOLOS DE PESQUISA FINAL

Protocolo: 088-2002

Trabalho de mestrado pela Ciências Médicas em Otorrinolaringologia

Aluna : Erica Ortiz

RA: 920457

Titulo : Caracterização histopatológica da mucosa nasossinusal em pacientes transplantados de células tronco hematopoiéticas (TCTH) sem e com doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH)

O Título proposto ao CEP foi adequado ao acima referido e o estudo foi concluído e defendido como tese de mestrado em agosto de 2009.

O trabalho foi enviado para o American Journal of Rhinology and Allergy que pediu correção e reenvio para análise em setembro de 2009.

Também realizado, dentro deste tema, um estudo científico cujo título é “**Valor prognóstico da Tomografia Computadorizada de Seios Paranasais no transplante de células tronco hematopoiéticas**” que foi enviado para Revista Brasileira de Otorrinolaringologia em 2009 e está em correção.

Atualmente, estou matriculada no curso de pós-graduação em Ciências Médicas, nível doutorado na área de concentração em Otorrinolaringologia. A atual pesquisa fará parte da mesma linha de estudo em Rinologia e Transplante de células tronco hematopoiéticas, já aprovada pelo CEP (protocolo 088-2002). O novo título proposto será:

Alterações histológicas nasossinusais causadas por rinossinusites nos transplantados de células tronco hematopoiéticas

O projeto está descrito abaixo:

Pós-graduanda: Érica Ortiz

Orientador: Ester Maria Daniele Nicola

Co-orientadora: Prof. Dra. Eulália Sakano

Colaboradores: Luciana Rodrigues Meirelles, Afonso Celso Vigorito

Realização: Disciplina de Otorrinolaringologia e Cabeça-Pescoço da UNICAMP.

Érica Ortiz, médica otorrinolaringologista voluntária do Setor de Rinologia da Disciplina de Otorrinolaringologia e Cabeça-Pescoço do Hospital das Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP.

Londrina, 30 de agosto de 2009.

Autorização

Venho por meio desta, conceder autorização para utilização de imagem anatômica produzida pelo Dr. João Adolfo Caldas Navarro pela Dra. Érica Ortiz, em sua dissertação de Mestrado.

Atenciosamente,

Dr. Paulo de Lima Navarro

Dear Ms Ortiz,

Your submission entitled "Sinonasal Ultrastructure of the Hematopoietic Stem Cell Transplant and Chronic Graft-Versus-Host Disease with Rhinosinusitis" has been received by journal Life Sciences

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to Editorial Manager as an author. The URL is <http://lifesciences.edmgr.com/>.

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

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,
Life Sciences

OMICS Group Journals provides special and enhanced features which includes Digital Article, Audio Version, User friendly/ User feasible website translation to more than 50 languages and Social networking for each published article. For more details

PS: <http://omicsonline.org/special-features.php>

Ref.: Ms. No. LifeSci-13-454R1

Sinonasal Ultrastructure of the Hematopoietic Stem Cell Transplant and Chronic Graft-Versus-Host Disease with Rhinosinusitis
Life Sciences

Dear Ms Ortiz,

I am pleased to tell you that your work has now been accepted for publication in Life Sciences.

It was accepted on Jan 03, 2014

Thank you for submitting your work to this journal.

With kind regards,
Editor
OMICS Publishing Group/
Life Sciences

COPYRIGHT

Campinas, 10 de fevereiro de 2014

Journal of Stem Cell Research and Therapy

OMICS Publishing Group/ Life Sciences

PS: <http://omicsonline.org/special-features.php>

This is to request for copyright release of the following article published in Journal of Stem Cell Research and Therapy for purpose of including in my PhD thesis dissertation:

Ortiz É, Meirelles LR, Vigorito AC, Sakano E, Nicola EMD (2014) Sinonasal Ultrastructure of the Hematopoietic Stem Cell Transplant and Chronic Graft-versus-host Disease with Rhinosinusitis. J Stem Cell Res Ther 4:157. doi: 10.4172/2157-7633.1000157

Copyright: ©2014 Ortiz É, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

This thesis is for academic use only and it is not going to be used for commercial, advertising or promotion purposes. I am planning in making ten (10) copies of my thesis. One of these copies will be displayed in the University (Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas, SP, Brazil) library. In Addition, an electronic version of the thesis will be made available at the *University Thesis Database*.

I thank you very much in advance

Sincerely,



Érica Ortiz
Otolaryngology Head-Neck Department
FCM-UNICAMP

Article title: Rhinosinusitis in Hematopoietic Stem Cell-Transplanted patients: influence of nasosinus mucosal abnormalities?

MS ID : 1373563371124496

Authors : Erica Ortiz, Albina MAM Altemani, Afonso C Vigorito, Eulalia Sakano and Ester MD Nicola

Journal : Stem Cell Research & Therapy

Dear Dr Ortiz

Thank you for submitting your article. This acknowledgement and any queries below are for the contact author. This e-mail has also been copied to each author on the paper, as well as the person submitting. Please bear in mind that all queries regarding the paper should be made through the contact author.

A pdf file has been generated from your submitted manuscript and figures. We would be most grateful if you could check this file and let us know if any aspect is missing or incorrect. Any additional files you uploaded will also be sent in their original format for review.

http://stemcellres.com/imedia/1373563371124496_article.pdf (1318K)