Bruno Gabriel Nardini Fogo

AVALIAÇÃO DA RESPOSTA MEDULAR POR MEIO DOS PARÂMETROS DE IMATURIDADE CELULAR: fração imatura das plaquetas e fração imatura dos reticulócitos em pacientes submetidos a transplante de células-tronco hematopoiéticas

Dissertação apresentada à Faculdade Israelita de Ciências da Saúde Albert Einstein para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

São Paulo
2026

Bruno Gabriel Nardini Fogo

AVALIAÇÃO DA RESPOSTA MEDULAR POR MEIO DOS PARÂMETROS DE IMATURIDADE CELULAR: fração imatura das plaquetas e fração imatura dos reticulócitos em pacientes submetidos a transplante de células-tronco hematopoiéticas

Dissertação apresentada à Faculdade Israelita de Ciências da Saúde Albert Einstein para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. João Carlos de Campos Guerra

São Paulo
2026

Fogo, Bruno Gabriel Nardini

Avaliação da resposta medular por meio dos parâmetros de imaturidade celular : fração imatura das plaquetas e fração imatura dos reticulócitos em pacientes submetidos a transplante de células-tronco hematopoiéticas / Bruno Gabriel Nardini Fogo. -- São Paulo, 2026.

xiii, 49 f.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade Israelita de Ciências da Saúde Albert Einstein. Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

Título em inglês: *Evaluation of bone marrow response through cellular immaturity parameters: immature platelet fraction and immature reticulocyte fraction in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation.*

1. Contagem de plaquetas. 2. Contagem de reticulócitos. 3. Transplante de células-tronco hematopoéticas. 4. Contagem de células sanguíneas.

Elaborada pelo Sistema Einstein Integrado de Bibliotecas

FACULDADE ISRAELITA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE ALBERT EINSTEIN

Coordenador do curso de pós-graduação: Prof. Dr. Luciano Cesar Pontes de Azevedo

Bruno Gabriel Nardini Fogo

AVALIAÇÃO DA RESPOSTA MEDULAR POR MEIO DOS PARÂMETROS DE IMATURIDADE CELULAR: fração imatura das plaquetas e fração imatura dos reticulócitos em pacientes submetidos a transplante de células-tronco hematopoiéticas

Presidente da banca: Prof. Dr. João Carlos de Campos Guerra

BANCA EXAMINADORA

Membros titulares:
Profa. Dra. Luciana Cavalheiro Marti
Prof. Dr. Felipe Magalhães Furtado
Dra. Laiz Cameirão Bento

Membros suplentes:
Dra. Ana Paula Hitomi Yokoyama
Dr. Luiz Fernando Bazzo Catto

Aprovada em: 27/01/2026.

Dedicatória

Este trabalho é dedicado aos meus pais, Alex Fogo e Silvana Aparecida Nardini Fogo, como forma de agradecimento por sempre terem me incentivado a adquirir conhecimento e por terem trabalhado arduamente para me dar a oportunidade de estudar e desenvolver minhas plenas faculdades intelectuais.

Agradecimentos

A equipe técnica do Laboratório de Hemostasia e Coagulação do Hospital Israelita Albert Einstein, cujo trabalho diário manteve a qualidade analítica dos equipamentos utilizados no estudo.

Em especial agradeço à Andrea Villarinho, Iracema Steves e meu orientador, Dr. João Guerra, pelo suporte técnico e científico e por sempre estarem à disposição para ajudar neste projeto.

À minha família, por todo apoio e suporte.

A todos aqueles que de alguma forma colaboraram com o desenvolvimento deste estudo.

Sumário

Dedicatória v
Agradecimentos vi
Lista de figuras ix
Lista de tabelas x
Lista de abreviaturas xii
Resumo xiii
1 INTRODUÇÃO 1
1.1 Hemograma e seus parâmetros 1
1.1.1 Análise manual do hemograma 2
1.1.1.1 Eritrograma 2
1.1.1.2 Leucograma 3
1.1.1.2.1 Contagem global de leucócitos 3
1.1.1.2.2 Contagem diferencial de leucócitos 5
1.1.1.3 Contagem de plaquetas 5
1.1.2 Análise automatizada do hemograma 5
1.1.2.1 Impedância elétrica 6
1.1.2.2 Citometria de fluxo 7
1.1.3 Comparativo de metodologias 8
1.2 Parâmetros de imaturidade celular 9
1.2.1 Aquisição de dados 9
1.2.2 Novos parâmetros e suas aplicações 11
1.3 Transplante de células-tronco hematopoiéticas 11
1.4 O hemograma e transplante de células-tronco hematopoiéticas 13
1.5 Hipóteses 14
1.6 Objetivos 14
2 MÉTODOS 15
2.1 Tipo de estudo 15
2.2 Local de estudo 15
2.3 População e amostra 15
2.3.1 Divisão da amostra em grupos 15
2.3.1.1 Divisão de grupos para a análise do uso dos parâmetros de imaturidades como biomarcadores da enxertia plaquetária após TCTH 16

2.3.1.2 Divisão de grupos para a análise do uso dos parâmetros de imaturidades como gatilho transfusional para enxertia plaquetária 16
2.4 Aspectos éticos 17
2.5 Coleta de dados 17
2.6 Tipos de dados e análise estatística 17
2.6.1 Análise de interferentes 18
2.6.2 Análise de predição de enxertia plaquetária 19
2.6.2.1 Predição para enxertia independente do dia após transplante de células-tronco hematopoiéticas 19
2.6.2.2 Predição para enxertia antes da média da amostra 20
2.6.3 Avaliação da redução de transfusões plaquetárias profiláticas 21
2.6.4 Estimativa de quantidade de transfusões plaquetárias profiláticas até a enxertia plaquetária 22
3 RESULTADOS 23
3.1 Valores de referência 23
3.2 Harmonização de equipamentos 23
3.3 Amostra 25
3.4 Interferência de transfusões de hemocomponentes nos parâmetros de imaturidade 26
3.5 Comparação entre os grupos 28
3.5.1 Predição para enxertia independente do dia após transplante de células-tronco 28
3.5.2 Predição para enxertia antes da média da amostra 32
3.6 Transfusões plaquetárias 34
3.6.1 Redução de transfusões plaquetárias profiláticas durante transplante de células-tronco hematopoiéticas 34
3.6.2 Correlação entre A-IPF e quantidade de transfusões plaquetárias profiláticas até a enxertia plaquetária 37
4 DISCUSSÃO 39
5 CONCLUSÕES 45
6 REFERÊNCIAS 46
Abstract

Lista de figuras

Figura 1. Mensuração do hematócrito usando uma microescala.....2
Figura 2. Curva de calibração para determinação de concentração de hemoglobina 3
Figura 3. Câmara de Neubauer 4
Figura 4. Representação da câmara de Neubauer ao microscópio.....4
Figura 5. Representação da câmara de citometria por impedância elétrica 6
Figura 6. Representação da câmara de citometria de fluxo do.....7
Figura 7. Representação de dispersão obtido por citometria de fluxo 8
Figura 8. Canal PLT-F com distribuição normal.....10
Figura 9. Canal RET com distribuição normal 10
Figura 10. Gráfico de dispersão entre valores de PLT-F entre os dois equipamentos XN utilizados no estudo.....24
Figura 11. Gráfico de dispersão entre valores de IPF% entre os dois equipamentos XN utilizados no estudo.....24
Figura 12. Gráfico de dispersão entre valores de IRF entre os dois equipamentos XN utilizados no estudo.....25
Figura 13. Gráfico de dispersão entre valores de A-IPF entre os dois equipamentos XN utilizados no estudo.....25
Figura 14. Estabelecimento do valor de *cutoff* para enxertia plaquetária 29
Figura 15. Comparação entre grupos.....30
Figura 16. Comparação entre os grupos no dia enxertia plaquetária 30
Figura 17. Gráfico de incidência acumulada estratificando os pacientes por grupo de riscos segundo o valor de A-IPF entre o D+ e D+12 34
Figura 18. Comparação entre os grupos para redução de enxertia plaquetária.....35
Figura 19. Correlação com o A-IPF média por semana e a expectativa do número de transfusões plaquetárias 38

Lista de tabelas

Tabela 1. Comparativo entre as metodologias automatizadas e manuais, comparando quando são utilizadas e as vantagens e desvantagens de cada uma.....9
Tabela 2. Intervalos de referência para os parâmetros de imaturidade celular.....23
Tabela 3. Correlação entre valores obtidos nos dois equipamentos XN.....23
Tabela 4. Resultado de modelo misto para a interferência de transfusões de hemocomponentes nos parâmetros A-IPF, IPF% e IRF.....27
Tabela 5. Resultado de modelo misto para a interferência de transfusões de hemocomponentes nos parâmetros A-IPF, IPF% e IRF no dia seguinte a administração 27
Tabela 6. Resultado de modelo misto para a interferência de transfusões de hemocomponentes nos parâmetros A-IPF, IPF% e IRF dois dias após a administração 27
Tabela 7. Resultado de modelo misto para a interferência de transfusões de hemocomponentes nos parâmetros A-IPF, IPF% e IRF três dias após a administração 27
Tabela 8. Modelo de efeitos mistos para preditores da contagem absoluta de IPF.....28
Tabela 9. Análise de distribuição da amostra utilizada para a validação dos valores de referência.....28
Tabela 10. Comparação entre os grupos 5 e 2 dias antes e no dia da enxertia plaquetária 31
Tabela 11. Regressão logística de A-IPF com o desfecho enxertia em até 2 dias 31
Tabela 12. Valores de risco predito de enxertia plaquetária em até 2 dias para A-IPF.31
Tabela 13. Comparativo longitudinal entre os grupos ao longo dos dias para predição de enxertia até o dia +17 A-IPF.....32
Tabela 14. Comparativo longitudinal entre os grupos ao longo dos dias para predição de enxertia até o dia +17 IPF% 32
Tabela 15. Comparação entre AUC pelo método Delong.....33
Tabela 16. Para estratificação de riscos por incidência acumulada e modelo de Fine e Gray.....33
Tabela 17. Comparação de A-IPF para a redução de transfusões plaquetárias profiláticas 35

Tabela 18. Comparação de IPF% para a redução de transfusões plaquetárias profiláticas 35
Tabela 19. Comparação de IRF para a redução de transfusões plaquetárias profiláticas 36
Tabela 20. Modelo de Cox comparando o uso de A-IPF *versus* contagem de plaquetas para gatilho transfusional.....36
Tabela 21. Modelo de regressão de contagem com distribuição binomial negativa com A-IPF médio semanal com a predição do número de transfusões plaquetárias nos próximos 7 dias 37
Tabela 22. Comparativo entre valores de IPF% estabelecidos por outros estudos disponíveis na literatura com os dados obtidos na amostra estudada 41

Lista de abreviaturas

AABB	*Association for the Advancement of Blood & Biotherapies*
A-IPF	*Absolute immature platelet fraction*
CIF	Incidência acumulada
CTH	Células-tronco hematopoiéticas
EDTA	*Ethylenediaminetetraacetic acid*
FSC	*Forward scatter*
HIAE	Hospital Israelita Albert Einstein
HLA	Antígeno leucocitário humano (*Human leukocyte antigen*)
IPF	*Immature platelet fraction*
IPF%	*Relative immature platelet fraction*
IRF	*Immature reticulocyte fraction*
OMS	Organização Mundial da Saúde
PLT-F	Contagem de plaquetas fluorescente (*Platelet fluorescent counting*)
Ret-HE	*Reticulocyte hemoglobin equivalent*
ROC	*Receiver operating characteristic curve*
SFL	*Side fluorescence light*
sHR	*Subdistribution hazard ratios*
SSC	*Side scatter*
TCTH	Transplante de células-tronco hematopoiéticas
TMO	Transplante de medula óssea

Resumo

Introdução: A enxertia medular após o transplante de células-tronco hematopoiéticas requer monitoramento preciso para otimizar o suporte transfusional. Este estudo investigou o potencial de novos parâmetros hematológicos, como IPF%, A-IPF e IRF, como biomarcadores da recuperação plaquetária e da necessidade transfusional nesses pacientes. **Objetivo:** Avaliar o uso de IPF%, A-IPF e IRF como biomarcadores de enxertia medular pós-transplante de células-tronco hematopoiéticas e seu potencial para reduzir transfusões profiláticas de plaquetas durante o tratamento. **Métodos:** Foram analisados 60 receptores de transplante de células-tronco hematopoiéticas (média de idade de 50 anos), estabelecendo-se intervalos de referência específicos por sexo para IPF, A-IPF e IRF. A capacidade preditiva para recuperação plaquetária e necessidade transfusional foi avaliada por meio de análise ROC, regressão logística, modelo de riscos competitivos de Fine e Gray, regressão de Cox e modelagem binomial negativa. **Resultados:** Apenas o A-IPF apresentou diferença significativa entre os grupos. Um ponto de corte de A-IPF >1.450 previu recuperação plaquetária em até 2 dias, com sensibilidade de 82,1% e especificidade de 80%. A regressão logística demonstrou aumento de 2,3 vezes na chance de enxertia a cada incremento de 1.000 unidades no A-IPF, e a análise de Fine e Gray confirmou maior incidência cumulativa nos estratos intermediário e alto de A-IPF (sHR 2,71 e 3,58; p<0,001). Todos os pacientes necessitaram de transfusões (149 eventos). A regressão de Cox identificou o A-IPF como fator de risco independente (HR 1,0001; p=0,027), enquanto a contagem plaquetária mostrou efeito protetor (HR 0,959; p<0,001). A modelagem binomial negativa demonstrou que maiores médias semanais de A-IPF estão associadas a menor número de transfusões. **Conclusão:** O A-IPF constitui um biomarcador robusto para a recuperação plaquetária precoce e um preditor da necessidade de transfusões de plaquetas em pacientes submetidos ao transplante de células-tronco hematopoiéticas.

Descritores: Contagem de plaquetas; Contagem de reticulócitos; Transplante de células-tronco hematopoéticas; Contagem de células sanguíneas

1 INTRODUÇÃO

1.1 Hemograma e seus parâmetros

O hemograma é a análise multiparamétrica das células do sangue e pode ser utilizado no diagnóstico e prevenção de doenças, como doenças cardiovasculares,[1] leucemias, mielodisplasias e doenças linfoproliferativas,[2] infecções bacterianas,[3] anemias,[4] entre outras. As metodologias de contagem e análises de células do sangue evoluíram muito desde o primeiro equipamento automatizado criado por Coulter na década de 1950.[5] Recentemente, novos parâmetros disponíveis nos contadores de células automatizados vêm sendo estudados para o uso clínico. Um exemplo da utilização de novos analitos para o hemograma é o uso do parâmetro *reticulocyte hemoglobin equivalent* (Ret-HE) para o acompanhamento de pacientes com anemia ferropriva.[6] O parâmetro *immature platelet fraction* (IPF) tem mostrado resultados promissores para o uso deste como uma ferramenta para auxiliar o corpo clínico na avaliação de pacientes com doenças coronarianas, em pré-eclâmpsia e transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH).[7] A determinação de enxertia plaquetária e neutrofílica pós-TCTH, atualmente, é realizada utilizando apenas as contagens totais de plaquetas e leucócitos do paciente, que podem sofrer interferência devido transfusões de concentrados de plaquetas e hemácias. A validação destes novos parâmetros como biomarcadores é uma alternativa simples, rápida e barata que pode possibilitar o desenvolvimento de novos protocolos, que visam aumentar a qualidade e confiabilidade da determinação de enxertia plaquetária e medular de pacientes submetidos a TCTH.

A análise do hemograma é dividida em três partes principais, eritrograma, leucograma e contagem de plaquetas. Abaixo, segue um comparativo das metodologias manuais e automatizadas de cada segmento do hemograma, abordando suas vantagens e desvantagens.

1.1.1 Análise manual do hemograma

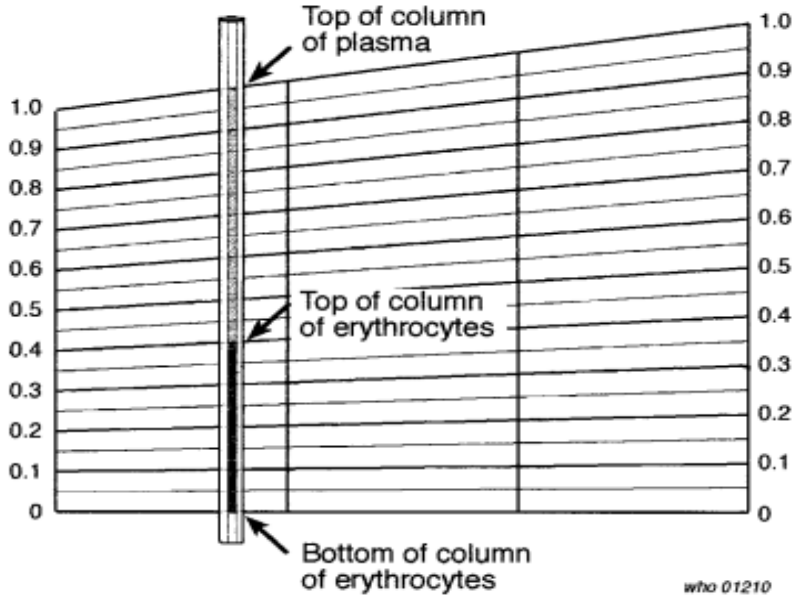
1.1.1.1 Eritrograma

Segundo o *Manual of basic techniques for a health laboratory* (2a edição) da Organização Mundial da Saúde (OMS)[8] o eritrograma se divide em três partes:

- Contagem de eritrócitos;
- Determinação de concentração de hemoglobina;
- Índices hematimétricos.

A metodologia de contagem de eritrócitos a partir de câmaras de microscopia (Neubauer), porém, possui baixa acurácia.

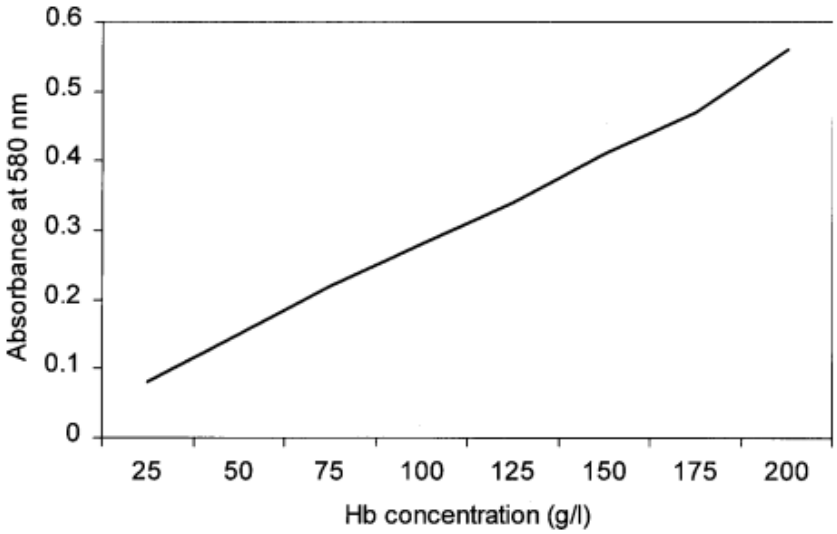
O hematócrito é feito a partir da centrifugação do sangue total em microtubos, a partir do sangue centrifugado realiza-se estimativa da porcentagem de células no volume total do sangue em um cartão com uma microescala (Figura 1).



Fonte: World Health Organization (WHO). Manual of basic techniques for a health laboratory. 2nd ed. Geneva: WHO; 2003 [cited 2025 Ago 31]. Available from: https://www.who.int/publications/i/item/9241545305. Fig. 9.35 Measuring the erythrocyte volume fraction using the micro scale; p. 283.[8]

Figura 1. Mensuração do hematócrito usando uma microescala

A determinação da concentração de hemoglobina é utilizada usando um espectrofotômetro, a concentração de hemoglobina é diretamente proporcional à absorbância de luz com filtro de 580 nanômetros, e os valores são obtidos segundo uma curva de calibração (Figura 2).



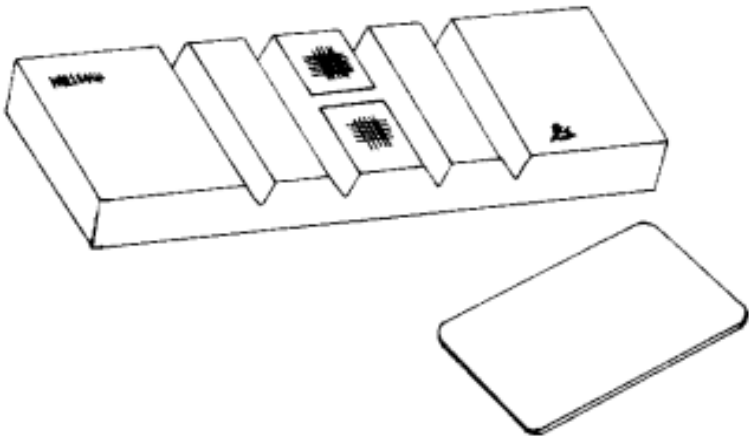
Fonte: World Health Organization (WHO). Manual of basic techniques for a health laboratory. 2nd ed. Geneva: WHO; 2003 [cited 2025 Ago 31]. Available from: https://www.who.int/publications/i/item/9241545305. Fig. 9.26 Calibration carve for determining haemoglobin concentration; p. 278.[8]
Figura 2. Curva de calibração para determinação de concentração de hemoglobina

Os outros índices hematimétricos (VCH, HCM e CHCM) são calculados a partir dos valores obtidos nos testes supracitados.

1.1.1.2 Leucograma

1.1.1.2.1 Contagem global de leucócitos

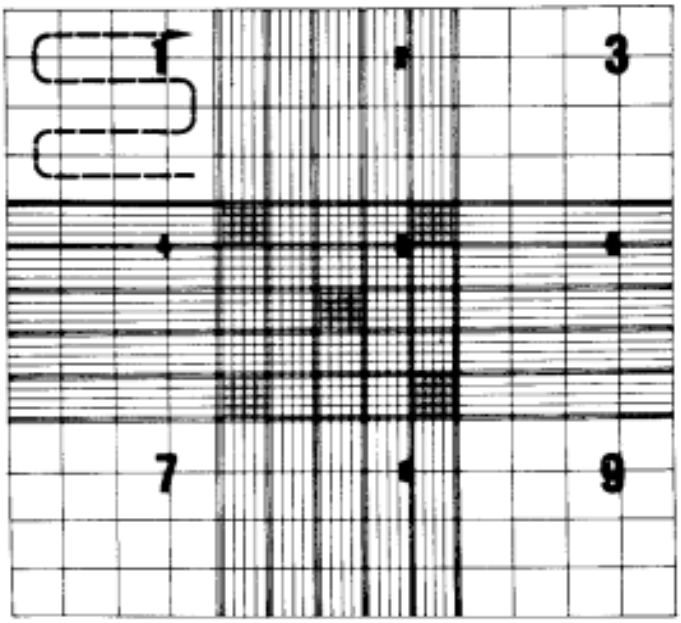
Segundo o *Manual of basic techniques for a health laboratory*[8] o procedimento para a realização de uma contagem global de leucócitos manual é feito da seguinte forma: sangue é diluído em um fluido de diluição (Türk) para leucócitos que hemolisa os eritrócitos, mas mantém os leucócitos intactos. Os leucócitos são então contados em uma câmara de contagem (Neubauer vide figuras 3 e 4).



Fonte: World Health Organization (WHO). Manual of basic techniques for a health laboratory. 2nd ed. Geneva: WHO; 2003 [cited 2025 Ago 31]. Available from: https://www.who.int/publications/i/item/9241545305 Fig. 9.40 Neubauer counting chamber; p. 288.[8]
Figura 3. Câmara de Neubauer

Sob o microscópio o número de células por litro de sangue é calculado, seguindo a fórmula:

- Leucócitos/L=Leucócitos contados×0,05×10^9.



Fonte: World Health Organization (WHO). Manual of basic techniques for a health laboratory. 2nd ed. Geneva: WHO; 2003 [cited 2025 Ago 31]. Available from: https://www.who.int/publications/i/item/
9241545305. Fig. 9.43 Using the improved Neubauer ruled chamber; p. 290.[8]
Figura 4. Representação da câmara de Neubauer ao microscópio

1.1.1.2.2 Contagem diferencial de leucócitos

A contagem diferencial manual de leucócitos, considerada padrão-ouro em casos de alterações morfológicas, inicia-se com a confecção de um esfregaço sanguíneo a partir de sangue e*thylenediaminetetraacetic acid* (EDTA), corado com Leishman ou Giemsa. Sob microscopia de imersão (100x), contam-se sistematicamente 100 leucócitos em monocamada, classificando-os em neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos. O resultado é expresso em percentagens e contagem absoluta (células/L).[8]

1.1.1.3 Contagem de plaquetas

Segundo estabelecido no *Body fluid analysis for cellular composition: approved guideline*[9] utiliza-se sangue diluído em fluidos isotônicos específicos (como Rees-Ecker ou Amies) na proporção de 1:100 ou 1:200. A contagem é realizada em câmara de Neubauer, com microscópio em aumento de 40x (condensador abaixado para contraste), avaliando 5 quadrados grandes (1 central + 4 cantos). O cálculo aplica a fórmula:

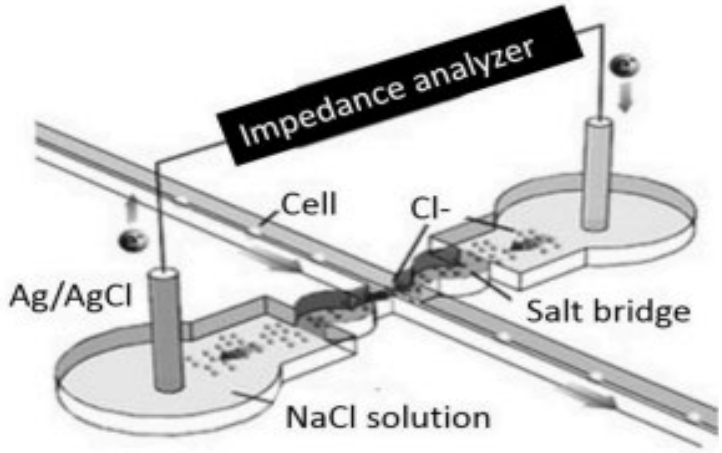
- Plaquetas/μL=(plaquetas contadas×fator de diluição×10)/Nº de quadrados.

Assegurando a contagem apenas de plaquetas íntegras, sem fragmentos ou aglomerados. Devido à alta variabilidade nos valores obtidos, é recomendado que contagens manuais de plaquetas se reservem apenas a confirmações de resultados onde não se pode avaliar a contagem de plaquetas por metodologia automatizada e sempre se realizar a contagem manual em duplicata.

1.1.2 Análise automatizada do hemograma

A análise automatizada do hemograma é feita por duas metodologias, a impedância elétrica e citometria de fluxo.

1.1.2.1 Impedância elétrica

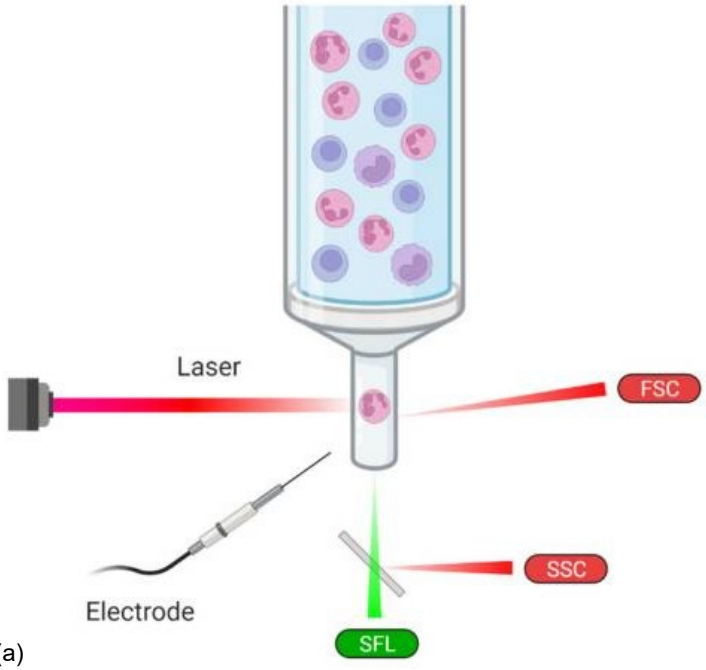


Fonte: Chun H, Chung TD, Kim HC. Cytometry and velocimetry on a microfluidic chip using polyelectrolytic salt bridges. Anal Chem. 2005;77(8):2490-5. Figure 2. dc impedance analysis of the microchannel with the PSBEs. dc bias of 0.4 V was applied between two Ag/AgCl electrodes that were electrochemically connected to two PSBEs through an isotonic NaCl solution. The impedance was calculated from the electric current that was measured under a fixed bias voltage. The amplified impedance signals were acquired and stored in a PC for further analysis.[10]
Figura 5. Representação da câmara de citometria por impedância elétrica

A contagem de células por impedância elétrica foi desenvolvida por Coulter, com sua patente publicada em 1953.[11] Coulter descobriu que as células do sangue são maus condutores elétricos comparados à solução salina e quando estas células passam suspensas em meio líquido (salina) por uma abertura ocorre diminuição da corrente elétrica causada por uma impedância elétrica induzida por partículas, como representado na figura 5. Este fenômeno foi batizado de efeito Coulter. A tecnologia original passou por melhorias ao longo dos anos, mas conservou o princípio de detecção.[12] A impedância elétrica gerada é proporcional ao volume de cada célula, e permite, além de contar, estimar o tamanho das células analisadas, permitindo a mensuração direta de volume corpuscular médio.[13]

1.1.2.2 Citometria de fluxo

Os citômetros de fluxo tradicionais possuem três sistemas: fluidos, ópticos e eletrônicos. A câmara de fluxo e seus sistemas estão representados na figura 6, o sistema de fluidos é composto geralmente por uma solução salina tamponada, que é pressurizada para transportar e focar as células no ponto de intercepção do laser, onde a amostra é analisada.



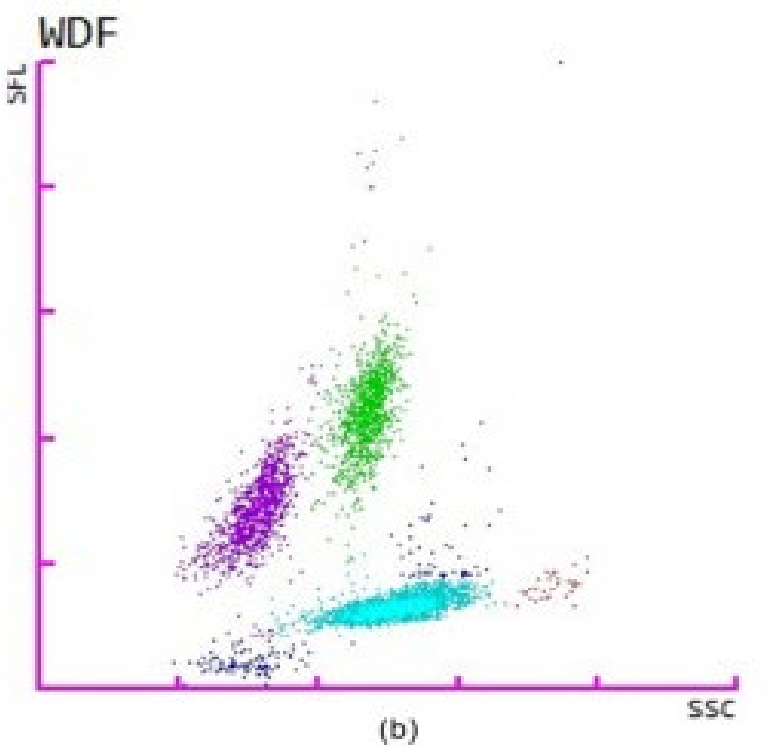
(a)

Fonte: Zhu J, Clauser S, Freynet N, Bardet V. Automated detection of dysplasia: data mining from our hematology analyzers. Diagnostics (Basel). 2022;12(7):1556. Figure 2. Illustration of the Sysmex technology. (a) The Sysmex-XN applies fluorescence-flow cytometry on cells to collect information on internal complexity (side scatter, SSC), nucleic acid content (fluorescence, SFL) and cell size (forward scatter, FSC. Created with BioRender.com.[14]

Figura 6. Representação da câmara de citometria de fluxo do equipamento Sysmex XN

O sistema óptico é formado pelos lasers e pelas lentes ópticas de coleta (tubos fotomultiplicadores e fotodiodos) que geram os sinais de luz visível e fluorescente usados para analisar a amostra. Uma série de filtros dicroicos direciona a

luz fluorescente para detectores específicos.[1] Os resultados são apresentados em gráficos de dispersão, como por exemplo o da figura 7.



Fonte: Zhu J, Clauser S, Freynet N, Bardet V. Automated detection of dysplasia: data mining from our hematology analyzers. Diagnostics (Basel). 2022;12(7):1556. Figure 4. Illustration of typical MDS cases on DxH 800 and Sysmex-XN. (b) Leukocyte differential plot from Sysmex-XN showing an increased Ne-WX (427) in this patient with normal neutrophil count (3.1 × 109/L). This patient had normocytic anemia (Hb 9.7 g/dL, MCV 90 fL) and thrombocytopenia (platelet count: 107 × 109/L), the MDS-CBC score was highly suggestive of MDS (0.755). This patient was diagnosed with MDS with multilineage dysplasia; p. 9,10.[14]
SFL*: side fluorescence light*; SSC: *side scatter*. WDF: *white cell differential*.
Figura 7. Representação de dispersão obtido por citometria de fluxo

1.1.3 Comparativo de metodologias

Ambas as metodologias continuam sendo utilizadas na prática clínica, porém, cada uma com particularidades. Na tabela 1 está um comparativo entre as metodologias manuais e automatizada de análise do hemograma.

Tabela 1. Comparativo entre as metodologias automatizadas e manuais, comparando quando são utilizadas e as vantagens e desvantagens de cada uma

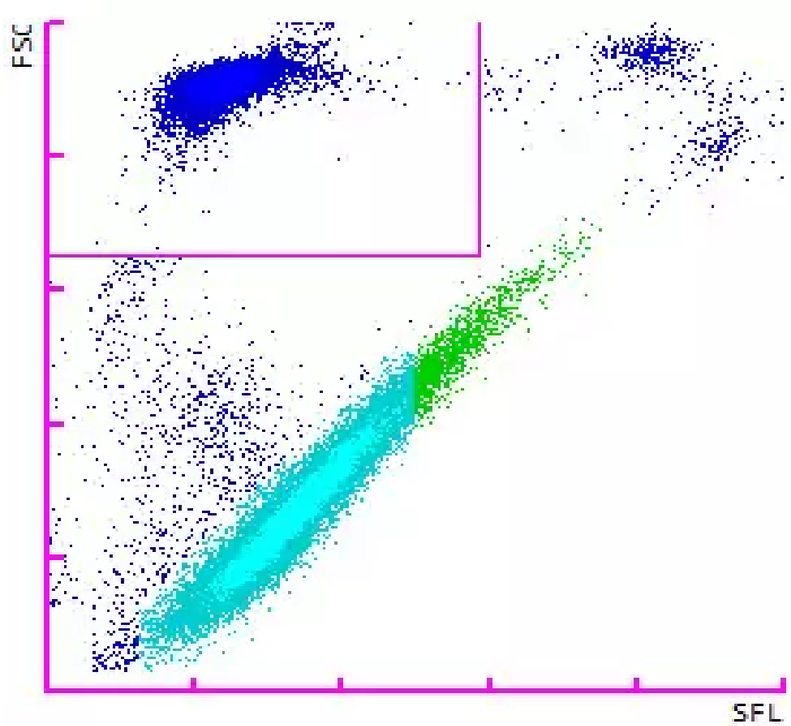
Comparativo	Técnica manual	Técnica automatizada
Método	Microscopia óptica	Citometria de fluxo e/ou impedância elétrica
Tempo de execução	10–30 min por amostra	Menos de 5 minutos por amostra
Precisão	Sujeita a variabilidade interpessoal	Alta reprodutibilidade
Vantagens principais	Avaliação morfológica detalhada Detecta células anômalas ou imaturas	Alta velocidade Processamento em larga escala Menor custo por amostra
Limitações	Demanda tempo e experiência Menor padronização Propensa a erros humanos	Limitações na identificação de células atípicas Pode exigir verificação manual

1.2 Parâmetros de imaturidade celular

1.2.1 Aquisição de dados

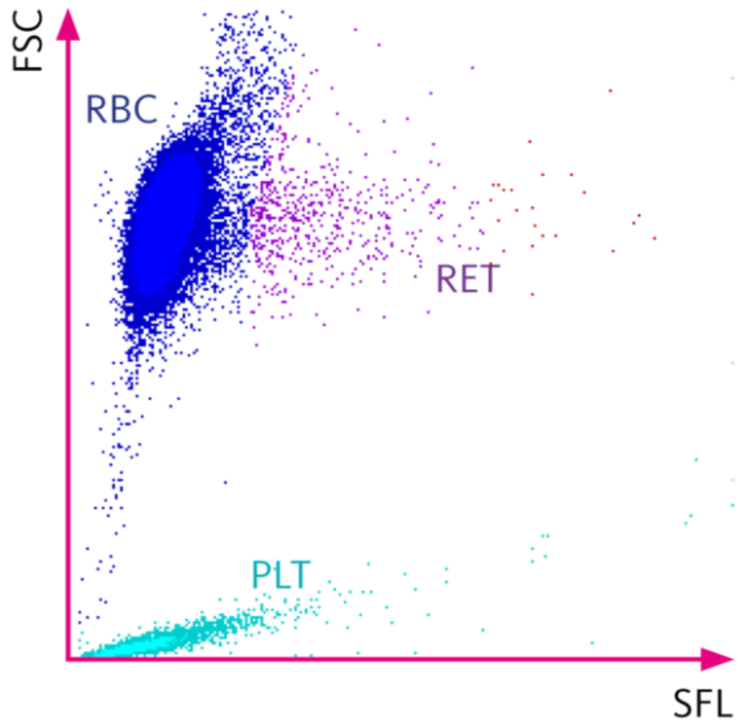
Os contadores XN-1000™ (Sysmex, Japão) realizam a contagem de células por citometria de fluxo, identificando as células a partir da dispersão de luz de um laser, incidido na célula dentro de uma câmara de fluxo e utiliza um corante fluorescente, com afinidade para ácidos nucléicos (sulfato de fluoresceína), detectados pelo *side fluorescence light* (SFL), sensor localizado na lateral da câmera de fluxo. O equipamento conta com mais dois sensores de dispersão de luz, localizados na lateral e de frente ao feixe de *laser*, chamados de *side scatter* (SSC) e *forward scatter* (FSC), que determinam o tamanho e o conteúdo intracelular, respectivamente.[14]

Para a determinação dos parâmetros IPF e *immature reticulocyte fraction* (IRF), as células coradas passam por um feixe de laser de diodo semicondutor e a luz refratada para frente (volume celular) e a intensidade da fluorescência (conteúdo de RNA) são medidas, gerando gráficos de dispersão óptica (fluorescência) de plaquetas com a luz espalhada para frente no eixo y e a fluorescência no eixo x,[15], representado nas figuras 8 e 9. Um algoritmo de computador discrimina as plaquetas maduras e as IPF pela intensidade da luz espalhada para frente e da fluorescência.[16]



Fonte: Sysmex. The optional fluorescence platelet count application 'PLT-F'. Germany: Sysmex Europe SE; 2025 [cited 2025 Feb 25]. PLT analysis with fluorescence flow cytometry. Available from: https://x.gd/Wkev0. XR-Series uses signals from the scatter of laser light at two angles (FSC and SSC) and fluorescence signals (SFL). Each detected blood cell has its individual x-, y- and z-coordinate values representing the FSC, SSC and SFL signal, respectively. Using advanced algorithms, XR-Series is able to identify and cluster cell types, especially abnormal cells, by their cell size, internal complexity and DNA/RNA content. The result of this analysis is reflected in the 3D scattergrams, which can be rotated in every direction to inspect the cell populations from different angles.[17]

Figura 8. Canal PLT-F com distribuição normal



Fonte: Sysmex. The optional reticulocyte application 'RET'. Germany: Sysmex Europe SE; 2025 [cited 2025 Feb 25]. Blood cell analysis including reticulocytes with fluorescence flow cytometry. Available from: https://x.gd/BcCGf. XR-Series uses signals from the scatter of laser light at two angles (FSC and SSC) and fluorescence signals (SFL). Each detected blood cell has its individual x-, y- and z-coordinate values representing the FSC, SSC and SFL signal, respectively. Using advanced algorithms, XR-Series is able to identify and cluster cell types, especially abnormal cells, by their size, internal complexity and DNA/RNA content. The result of this analysis is reflected in the 3D scattergrams, which can be rotated in every direction to inspect the cell populations from different angles.[18]

Figura 9. Canal RET com distribuição normal

As células são classificadas em populações, que são definidas por um algoritmo a partir da dispersão dos pontos em gráficos nos canais RET e contagem de plaquetas fluorescente (PLT-F - *platelet fluorescent counting*), que utilizam SFL e FSC e SSC para separar as populações de IPF e IRF de plaquetas e hemácias maduras.[19]

1.2.2 Novos parâmetros e suas aplicações

Existe uma gama de diferentes novos parâmetros disponíveis nos equipamentos Sysmex XN, que podem contribuir para a validação de novos protocolos de diagnósticos e acompanhamento de diversas condições clínicas, como o uso de Hypo-He para avaliar os níveis de ferro no sangue de doadores,[20] detecção de fragmentos de hemácias com o parâmetro *Fragmented Red Cells* (FRC%),[21] o uso de Ret-HE para diagnóstico de anemia ferropriva,[22] optimização do processo de leucoaferese para transfusão de CTH CD-34+,[23] dentre outras aplicações.

Os novos parâmetros não são exclusividade do fabricante Sysmex. Outros fabricantes como Vyttra (China), Abbott (Chicago, EUA), Siemens (Alemanha), Beckman Coulter (Califórnia, EUA) e Horiba Medical (Japão) possuem novos parâmetros disponíveis para estudo e validação, sendo que os parâmetros de imaturidade celular nestes estudos referidos não são exclusividade de um único fabricante, e contagens feitas a partir da mesma metodologia podem ter nomes diferentes, quando realizadas por equipamentos de fabricantes diferentes.[16] O desenvolvimento de novos parâmetros mostra que a tecnologia evoluiu muito desde os primeiros contadores de células automatizados da década de 1950, que realizavam medições por impedância elétrica, depois incorporando citometria de fluxo, e agora com advento de algoritmos sofisticados.[5]

1.3 Transplante de células-tronco hematopoiéticas

O TCTH é um procedimento complexo, que inclui desde a coleta de células-tronco hematopoiéticas (CTH), o regime de condicionamento, a infusão de CTH e a subsequente geração de um novo sistema hematopoiético e imunológico.[24] Diferentes doenças podem ser tratadas por TCTH, sendo a maioria delas, neoplasias

dos tecidos hematopoiéticos e linfoides. Outras doenças como tumores sólidos, síndrome mielodisplásica e anemias também podem ser indicações para este tratamento.[25]

Os estudos em transplante de medula óssea (TMO) começaram no século XX, com experimentos em animais. Em 1957, foi conduzido o primeiro estudo em humanos, quando Thomas et al. concluíram que a medula óssea poderia ser coletada de cadáveres e infundida em receptores por via endovenosa com segurança.[26] Dois anos mais tarde, em 1959, o mesmo pesquisador conseguiu realizar o primeiro TMO sem rejeição reportado, na tentativa de tratar uma leucemia aguda, uma paciente foi submetida a doses supra letais de radiação e recebeu a medula óssea doada de sua irmã gêmea homozigótica.[27]

Existem dois tipos de fontes doadoras de CTH para TMO: autólogo e alogênico. No TMO autólogo, as CTH são obtidas do próprio paciente; já no alogênico se recebe a medula óssea de um doador sadio compatível.[28] Esta compatibilidade se dá pela correspondência do antígeno leucocitário humano (HLA - *human leukocyte antigen*). O HLA pode ser classificado em classe I (A, B e C), ou classe II (DRB1, DQB1 e DPB1) e a correspondência entre o doador e o receptor pode se dar em baixa, média e alta resolução. O TMO alogênico também é subdividido, segundo o tipo de doador, podendo este ser: aparentado, não-aparentado ou haploidêntico.[29,30] As CTH podem ser obtidas do doador por punção direta da medula óssea, por sangue periférico (após mobilização de CTH), ou a partir de sangue de cordão umbilical.[31] O período de condicionamento do TMO é uma parte do processo, que se induz a aplasia medular do paciente pelo uso de altas doses de radiação e quimioterapia no paciente e a agressividade do período de condicionamento é definida pelas comorbidades, idade e diagnóstico do paciente.[32]

As complicações mais comuns relacionadas ao TMO são a doença do enxerto contra o hospedeiro e infecções durante o período de imunodepressão.[33] As taxas de mortalidade para pacientes submetidos a TMO alogênico podem chegar a 30% após um ano[34] e diversas comorbidades relacionadas a disfunções orgânicas são mais prevalentes em pacientes pós-TMO,[35] contudo, a longo prazo, se observa maiores benefícios que riscos para o TMO em pacientes com neoplasias do tecido hematopoiético,[36] e já existem protocolos de tratamentos estabelecidos para as principais complicações decorrentes do tratamento.[37]

O procedimento de TCTH é rotineiro em centros de oncohematologia. Em 2019 alcançou-se a marca de 1.500.000 TCTH realizados em países da OMS,[38] e, no Brasil, foram realizados mais de 30.000 TCTH entre 2013 e 2023, mostrando-se uma importante linha de tratamento para o manejo de certas doenças hematológicas.[39]

1.4 O hemograma e transplante de células-tronco hematopoiéticas

O diagnóstico de leucemias, sejam elas crônicas ou agudas, é feito por uma série de exames laboratoriais, que incluem técnicas especializadas em biologia molecular, citometria de fluxo e citogenética, contudo, o teste padrão de triagem é o hemograma. Achados como anemia, plaquetopenia, leucocitose e presença de células imaturas ou blasto são os principais achados que indicam leucemia.[40] O hemograma também é utilizado para definir a enxertia da medula óssea transplantada. É considerada enxertia neutrofílica, quando as contagens de neutrófilos em sangue periférico se mantêm >500 × 106/L por mais de três dias consecutivos[41] e quando há contagens de plaquetas que se mantém >20 × 109/L por sete dias consecutivos, sem a transfusão de plaquetas, consideramos que houve a enxertia plaquetária.[42]

A técnica utilizada para a contagem de células evoluiu de contagens manuais ao microscópio, utilizando câmaras de contagem, a equipamentos modernos que utilizam citometria de fluxo, com marcadores fluorescentes para fazer a diferenciação das populações celulares.[23] Os contadores automatizados mais modernos possuem novos parâmetros, que disponibilizam contagens de populações celulares antes impossíveis de se fazer à microscopia.[43] O IPF e IRF são contagens de plaquetas e reticulócitos com alta concentração de ácido nucléicos em seu citoplasma, realizadas pelo contador série XN (Sysmex, Japão). Identificadas com um marcador fluorescente para ácidos nucleicos por citometria de fluxo, essas populações são consideradas imaturas e o aumento em suas contagens em sangue periférico pode estar relacionado à enxertia da medula óssea pós-TCTH.[44] Diversos estudos buscam diferentes utilidades para estes parâmetros, como predizer a enxertia plaquetária antes das contagens celulares em sangue[45,46] ou predizer o tempo de internação do paciente.[47]

1.5 Hipóteses

Dado cenário apresentado, foi postulado que uma vez que o TCTH passa por um período de aplasia medular, a presença de células imaturas na corrente sanguínea pode estar relacionada à produção celular já realizada pela medula óssea implantada, sendo assim, avaliar biomarcadores que façam a detecção destas células de maneira precoce poderia trazer informação importantes a respeito do prognóstico do paciente submetido a TCTH. Uma vez que IPF e IRF são metodologias de detecção de células imaturas no sangue periférico, poderiam estes biomarcadores predizer a enxertia medular de maneira mais eficaz que a contagem global de plaquetas e neutrófilos?

1.6 Objetivos

1. Avaliar o uso dos parâmetros de imaturidade celular como biomarcadores de diagnóstico e prognóstico em pacientes submetidos a transplante de células-tronco hematopoiéticas;
2. Correlacionar os parâmetros de imaturidade: fração imatura das plaquetas (*immature platelet fraction*) e fração imatura dos reticulócitos (*immature reticulocyte fraction*), com a enxertia medular após transplante de medula óssea;
3. Estabelecer um valor de corte para os parâmetros de imaturidade, que possa predizer a enxertia plaquetária em 2 ou 5 dias antes da metodologia atualmente utilizada;
4. Avaliar o uso do *immature platelet fraction*, para reduzir o número de transfusões plaquetárias profiláticas após transplante de medula óssea;
5. Avaliar o uso do *immature platelet fraction*, como preditor do número de transfusões plaquetárias profiláticas após transplante de medula óssea.

2 MÉTODOS

2.1 Tipo de estudo

Este é um estudo prospectivo observacional em centro único.

2.2 Local de estudo

O estudo foi realizado no Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), com o recrutamento de pacientes e coletas de amostras realizadas no setor de oncohematologia e a análise dos hemogramas e contagem de IPF e IRF realizadas no laboratório clínico do HIAE.

2.3 População e amostra

No período entre 2018 e 2022, 60 pacientes submetidos a TCTH alogênico foram recrutados para o experimento e mais 70 amostras de doadores saudáveis para estabelecer-se o intervalo de referência da população sadia. A seleção de pacientes para o experimento foi sequencial e todos os participantes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Os pacientes foram separados em dois grupos não pareados, sendo: Grupo 1 os pacientes que atingiram a enxertia plaquetária e o Grupo 2 aqueles não tiveram enxertia medular após o TCTH.

2.3.1 Divisão da amostra em grupos

A amostra foi dividida em diferentes grupos para que fossem realizadas as devidas análises, para isso, houve dois tipos diferentes de divisões de grupos, sendo a primeira focada na análise do uso de parâmetros de imaturidade como biomarcadores de enxertia de medula óssea após TCTH e a segunda voltada para o uso dos parâmetros de imaturidade como gatilho transfusional de concentrados de plaquetas em pacientes submetidos a TCTH.

2.3.1.1 Divisão de grupos para a análise do uso dos parâmetros de imaturidades como biomarcadores da enxertia plaquetária após TCTH

Para esta análise a amostra foi dividida em dois grupos principais:

- Grupo 1: pacientes submetidos a TCTH que tiveram como desfecho a enxertia plaquetária;
- Grupo 2: paciente submetidos a TCTH que tiveram como desfecho a não enxertia (morte, ou necessidade de submissão a um segundo TCTH).

2.3.1.2 Divisão de grupos para a análise do uso dos parâmetros de imaturidades como gatilho transfusional para enxertia plaquetária

A divisão para esta análise foi diferente, sendo necessária a distribuição em três grupos diferentes:

- Grupo Controle: pacientes com contagem de plaquetas >20.000 plaquetas/mL, sem recomendação para transfusões plaquetárias profiláticas.
- Grupo 10-19 A: pacientes com contagens de plaquetas entre 10.000 - 19.999 plaquetas/mL sem indicação de transfusão plaquetária, seguindo as indicações da *Association for the Advancement of Blood & Biotherapies* (AABB),[48] excluindo o critério de contagem de plaquetas.
- Grupo 10-19 B: pacientes com contagens de plaquetas entre 10.000 - 19.999 plaquetas/mL com indicação de transfusão plaquetária, seguindo as indicações da AABB[48].

A comparação foi feita com o Grupo Controle e entre os Grupos A e B.

Para a segunda análise feita no âmbito de usar os parâmetros de imaturidade celular como biomarcadores de enxertia plaquetária, uma segunda divisão de grupos foi estabelecida. Para a proposta do uso da enxertia plaquetária até uma dia-alvo (Dx) a divisão da amostra foi feita da seguinte maneira:

- Grupo-AD+x: pacientes que enxertaram até o dia-alvo;
- Grupo-BD+x: pacientes que não tiveram enxertia ou que enxertaram após o dia-alvo estabelecido.

2.4 Aspectos éticos

Todos os pacientes assinaram o TCLE na presença de um profissional do HIAE apto para sanar todas as dúvidas que a ele pudessem apresentar, referentes à participação como voluntário no estudo.

Este estudo foi conduzido de acordo com os princípios da Declaração de Helsinque, seguindo as Boas Práticas de Laboratório Clínico e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HIAE, CAAE n.º 80893417.7.0000.0071, SGPP n.º 3107.

2.5 Coleta de dados

Para cada paciente do experimento, foram coletados hemogramas em todo o período de condicionamento e após o TCTH, até a alta hospitalar. Para os exames de hemograma foram coletadas amostras de sangue venoso em tubos S-Monovette® EDTA K3 (Sarstedt, Alemanha). As amostras foram analisadas pelo contador automatizado Sysmex® XN-1000 em até 2 horas após a coleta.

2.6 Tipos de dados e análise estatística

De cada hemograma foram computados os analitos: PLT-F, *relative immature platelet fraction* (IPF%), *absolute immature platelet fraction* (A-IPF) e IRF. Todos esses analitos apresentam-se como variáveis quantitativas restritas. Os dados foram armazenados de forma anonimizada no Microsoft Excel e a análise estatística foi realizada no IBM SPSS Statistics e no *software* R (versão 4.5.1, R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria).

Foi realizado uma validação dos valores de referência estabelecidos por Ko et al.,[49] para isso foi coletada uma amostra de 70 doadores sadios, cada amostra foi passada em duplicata em dois equipamentos XN-1000, cada doador concedeu permissão para acesso ao seu prontuário eletrônico para que pudesse ser averiguada a presença de alguma informação clínica que caracterizasse doença crônica ou latente

(Marcadores inflamatórios: proteína C reativa, VHS, alterações em exames de bioquímica, informações clínicas disponíveis em anotações).

Juntamente à validação de valores de referência, foram realizados testes de correlação de Pearson dos resultados de PLT-F, A-IPF, IPF% e IRF para a harmonização entre os dois equipamentos disponíveis no laboratório. A harmonização entre os equipamentos foi estabelecida com o valor de 0,9 para correlação de Pearson.

Foi realizada análise descritiva antes de qualquer teste estatístico para poder se escolher o melhor método de análise para os dados obtidos no estudo. Os dados de preparados para a análise de cada teste foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para a detecção de normalidade de distribuição da amostra e presença de *outliers* ($p<0,05$).

2.6.1 Análise de interferentes

Para avaliar o impacto dos principais interferentes, transfusão de hemocomponentes e inflamação sobre IPF%, A-IPF e IRF considerando a dependência entre medidas repetidas ao longo do tempo em um mesmo paciente, foram ajustados modelos lineares mistos tendo como desfechos contínuos separadamente cada parâmetro de imaturidade.

Foram utilizados os dados longitudinais diários, durante todo o período observado de cada paciente.

Em um primeiro modelo, a variável de interesse principal foi a exposição à transfusão plaquetária (categorizada como ocorrência ou não em cada dia de seguimento). Além do efeito imediato, foram também avaliados efeitos retardados, incluindo variáveis defasadas (lag de 1, 2 e 3 dias) para representar a influência da transfusão ocorrida no dia anterior. A mesma análise foi feita para inflamação em um segundo modelo, mudando apenas a variável de interesse.

Para acomodar a estrutura de medidas repetidas de A-IPF, IPF% e IRF, em cada modelo, foram incluídos como covariáveis:

- Transfusão plaquetária/ inflamação (efeito imediato e, em análises adicionais, efeito retardado de 1 dia);
- Contagem de plaquetas;
- Dia de seguimento (variável contínua representando tempo).

Os modelos foram ajustados por máxima verossimilhança restrita (REML) utilizando a função lmer do pacote lme4 no R (versão 4.5.1).

Para avaliar o efeito das transfusões/inflamação nos valores obtidos pelos parâmetros de imaturidade celular, o nível de significância adotado foi de 5% ($p<0,05$) e os resultados foram relatados separadamente para cada biomarcador (IPF%, A-IPF, IRF), comparando o impacto da transfusão imediata e retardada.

A avaliação da inflamação, feita somente nos parâmetros que não sofreram interferência significativa de transfusões, foi realizada por meio de um modelo misto linear que considerava temperatura >38ºC e os valores de proteína C reativa (PCR). Devido PCR ser uma variável numérica, foi estabelecido um ponto de quebra por regressão linear segmentada, para analisar quais valores de PCR poderiam vir a influenciar as contagens de A-IPF.

2.6.2 Análise de predição de enxertia plaquetária

2.6.2.1 Predição para enxertia independente do dia após transplante de células-tronco hematopoiéticas

Seguindo a subdivisão de grupos descrita na seção 2.3.1. Para a análise discriminatória entre os grupos, foi comparado os valores do intervalo interquartílico de IPF%, A-IPF e IRF do Grupo 1 no dia da enxertia plaquetária, e 2 e 5 dias antes da enxertia plaquetária com o intervalo interquartílico dos maiores valores de cada analito no Grupo 2. O teste de intervalo interquartílico foi escolhido devido a distribuição não-gaussiana da amostra, averiguada pelo teste de Shapiro-Wilk. Os analitos, que apresentarem diferença entre os intervalos estabelecidos, foram submetidos ao teste de Mann-Whitney para o teste de hipótese, sendo utilizado o nível de significância de 5% para a rejeição de hipótese nula. Para cada analito que possuir correlação com a enxertia plaquetária, foi estabelecido um ponto de corte para separar os pacientes do Grupo 1, dos pacientes do Grupo 2. Para isso utilizou-se o ponto de melhor *performance* entre sensibilidade *versus* especificidade (Youden), a partir de uma curva *receiver operating characteristic curve* (ROC).

A performance do ponto de corte estabelecido foi avaliada por uma regressão logística para a avaliação da predição do teste e a influência da enxertia plaquetária nos parâmetros de imaturidade celular.

A probabilidade de ocorrência da enxertia plaquetária ao longo do tempo foi estimada utilizando a função de incidência acumulada (CIF). O efeito das variáveis preditoras sobre a probabilidade cumulativa de enxertia plaquetária foi avaliado por meio de modelos de regressão de subdistribuição de riscos (modelos de Fine e Gray), expressando os resultados como *subdistribution hazard ratios* (sHR) e respectivos intervalos de confiança de 95% (IC95%).

A discriminação do modelo foi avaliada pelo índice de concordância adaptado a riscos concorrentes, enquanto a calibração foi examinada por gráficos de calibração e cálculo do Brier *score* para dados com censura.

2.6.2.2 Predição para enxertia antes da média da amostra

Foi analisada a possibilidade do uso dos marcadores de imaturidade celular para estabelecer uma predição de enxertia medular antes da média na amostra estudada. Para isso a média do dia da enxertia foi calculada, considerando que as metodologias utilizadas hoje para considerar-se enxertia medular do paciente levam no mínimo 7 dias de acompanhamento, o primeiro dia a ser analisado foi o D+7. Foram estabelecidos dias-alvo para a predição da enxertia a partir do dia médio de enxertia da amostra, sendo assim, a amostra foi separada por dia estudado em:

Para cada dia analisado, os Grupos A e B foram analisados segundo o teste de Mann-Whitney para analisar se há evidência de separação significante da amostra, as análises que retornaram diferenças significativas foram submetidas à curva ROC para estabelecer um ponto de corte utilizando o método de Youden. Em seguida, realizou-se uma regressão logística binária para estabelecer se há associação do valor de IPF com o desfecho e as probabilidades de ocorrência da enxertia até o dia estabelecido. Por fim, os riscos e incertezas associados a cada valor determinado foram analisados por meio da curva de CIF. Assim como na análise anterior, o efeito das variáveis preditoras sobre a probabilidade cumulativa de enxertia plaquetária foi avaliado por meio de modelos de regressão sHR, modelos de Fine e Gray, expressando os resultados como sHR e respectivos intervalos de confiança de 95% (IC95%).

A discriminação do modelo foi avaliada pelo índice de concordância adaptado a riscos concorrentes, enquanto a calibração foi examinada por gráficos de calibração e cálculo do Brier *score* para dados com censura.

Também foi avaliada a performance de um ponto de corte aplicado a um intervalo de tempo durante a recuperação medular do paciente, para isso foi realizado uma análise comparativa entre os pontos de corte estabelecidos pela comparação de curvas ROC pelo método Delong. Os dias escolhidos foram aqueles que obtiveram melhor performance para predição da enxertia até o dia-alvo. Estabelecida a correlação entre o ponto de corte para um intervalo de tempo, foram realizados modelos de sHR, com resultados expressos em sHR e IC95%.

2.6.3 Avaliação da redução de transfusões plaquetárias profiláticas

Para avaliar a capacidade do A-IPF e IPF% em reduzir transfusões plaquetárias profiláticas, os valores hematimétricos foram correlacionados com marcadores inflamatórios (febre, proteína C reativa >7mg/L, sangramentos ativos e plaquetopenia <20.000/μL). A análise seguiu a subdivisão de grupos descrita na seção 2.3.1.

Os dados das amostras foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para analisar a distribuição da amostra e presença de *outliers*, depois os grupos foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis entre os três grupos analisados para a verificação da diferenciação de valores estatisticamente significativa entre os Grupos A, B e Grupo Controle. Os Grupos A e B depois foram submetidos ao teste de Mann-Whitney.

Utilizou-se modelos de regressão de Cox com covariáveis dependentes do tempo para avaliar a associação entre o A-IPF e o risco de transfusão plaquetária. Para o modelo de Cox os dados longitudinais foram incorporadas covariáveis dependentes do tempo. Para cada paciente, criou-se múltiplas entradas representando intervalos de tempo entre medições sequenciais, onde as covariáveis permaneciam constantes. A análise de sensibilidade para determinar pontos de corte ótimos do A-IPF foi realizada utilizando o método de máxima verossimilhança e a capacidade discriminatória do modelo foi avaliada utilizando o Índice de concordância (estatística C), testes de razão de verossimilhança (Wald e *escore*).

Todas as análises foram realizadas utilizando o ambiente R versão 4.3.1, com os pacotes *survival*, *survminer*, *tidyverse* e *boot*. O nível de significância foi estabelecido em $\alpha = 0,05$.

2.6.4 Estimativa de quantidade de transfusões plaquetárias profiláticas até a enxertia plaquetária

Também foi avaliada a relação entre o IPF médio semanal e o número de transfusões plaquetárias necessárias na semana seguinte. Para isso, ajustou-se um modelo de regressão de contagem do tipo binomial negativa, incluindo efeito aleatório de paciente para considerar a variabilidade individual. O desfecho do modelo foi o número de transfusões por semana e o preditor foi o IPF médio da semana anterior. As variáveis contínuas foram padronizadas (média e desvio padrão) para facilitar a interpretação dos coeficientes, e a função de ligação logarítmica permitiu interpretar os efeitos como multiplicativos sobre o número esperado de transfusões.

Com base nesse modelo, foram calculadas as predições do número esperado de transfusões para diferentes valores de IPF médio. Para cada valor previsto, também foram estimados os intervalos de confiança de 95%, permitindo avaliar a incerteza das predições. Além disso, foi calculado o percentual de redução do número esperado de transfusões em relação ao menor valor de IPF avaliado, proporcionando uma medida quantitativa da relação entre o IPF e a necessidade de transfusão.

3 RESULTADOS

3.1 Valores de referência

A validação dos valores de referência contou com 70 pacientes, sendo 35 do sexo masculino e 35 do sexo feminino.

Estabeleceu-se o IC95% para os três parâmetros de imaturidade e separados por gênero. Sendo possível validar os valores de referência já estabelecidos anteriormente (Tabela 2).[49]

Tabela 2. Intervalos de referência para os parâmetros de imaturidade celular

Intervalo de referência	Masculino	Feminino
IPF%	1,6 – 11,0	1,1 – 11,0
A-IPF	3.800 – 22.500	2.900 – 24.100
IRF	2,4 – 14,3	2,0 – 10,0

IPF%: *relative immature platelet fraction*; A-IPF: *absolute immature platelet fraction*; IRF: *relative immature reticulocyte fraction*.

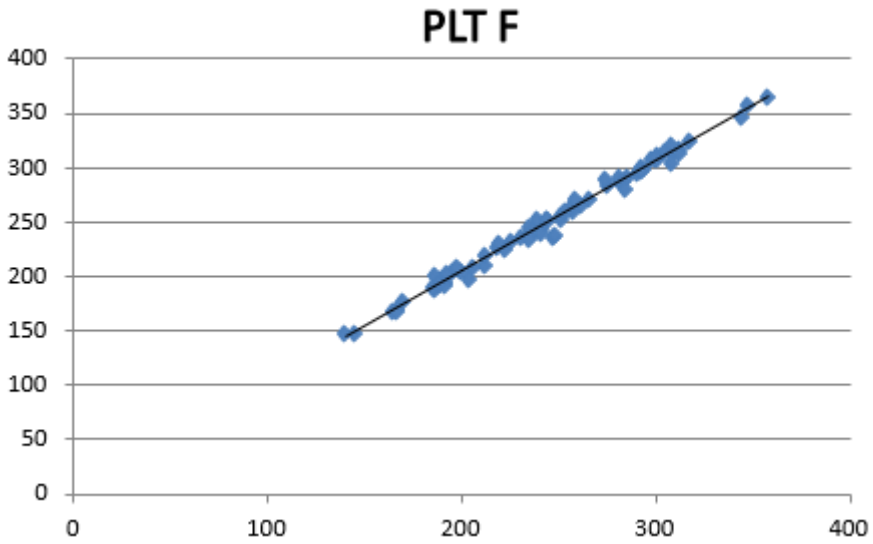
3.2 Harmonização de equipamentos

Foi estabelecida a correlação fortíssima entre os dois equipamentos em todos os analitos analisados (Tabela 3 e Figuras 10 a 13).

Tabela 3. Correlação entre valores obtidos nos dois equipamentos XN

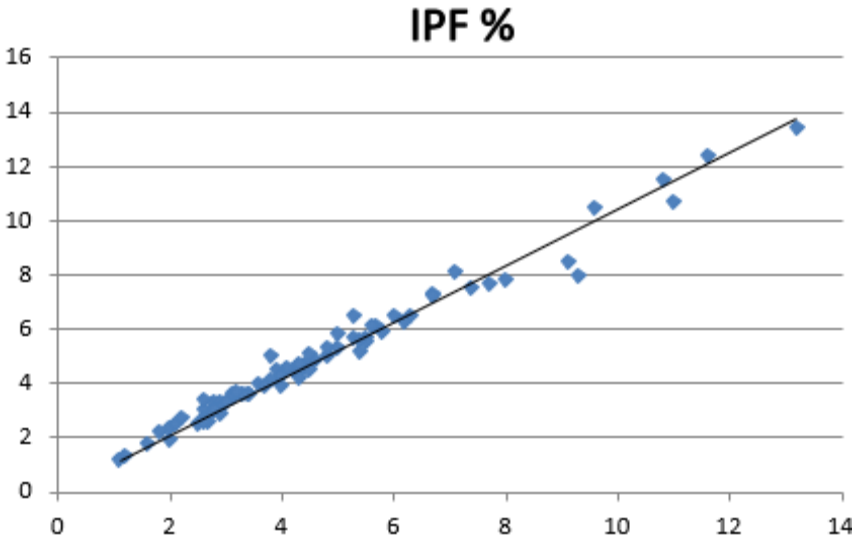
Parâmetro	Correlação	R^2
PLT F	0,9950	0,9996
IPF %	0,9894	0,9949
IPF #	0,9749	0,9912
IRF %	0,9043	0,9701

PLT F: contagem de plaquetas fluorescente; IPF%: *relative immature platelet fraction*; A-IPF: *absolute immature platelet fraction*; IRF: *relative immature reticulocyte fraction*.



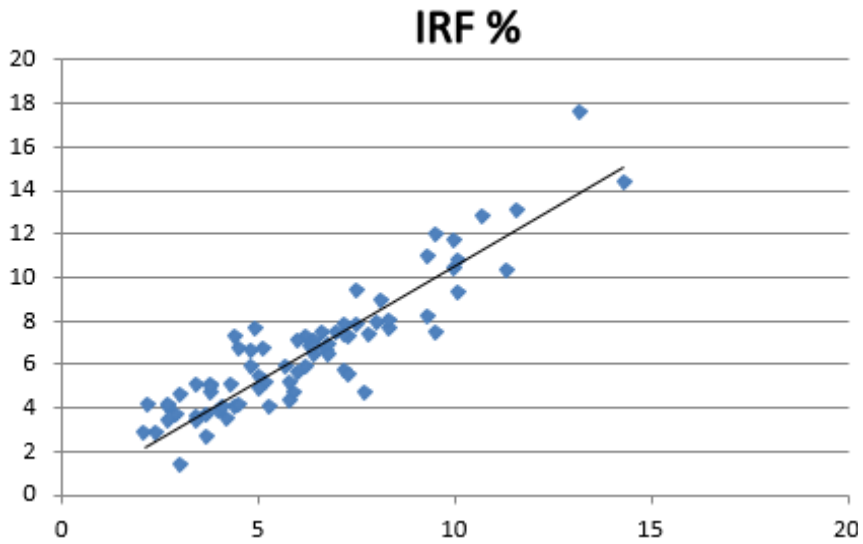
PLT F: contagem de plaquetas fluorescente.

Figura 10. Gráfico de dispersão entre valores de PLT-F entre os dois equipamentos XN utilizados no estudo



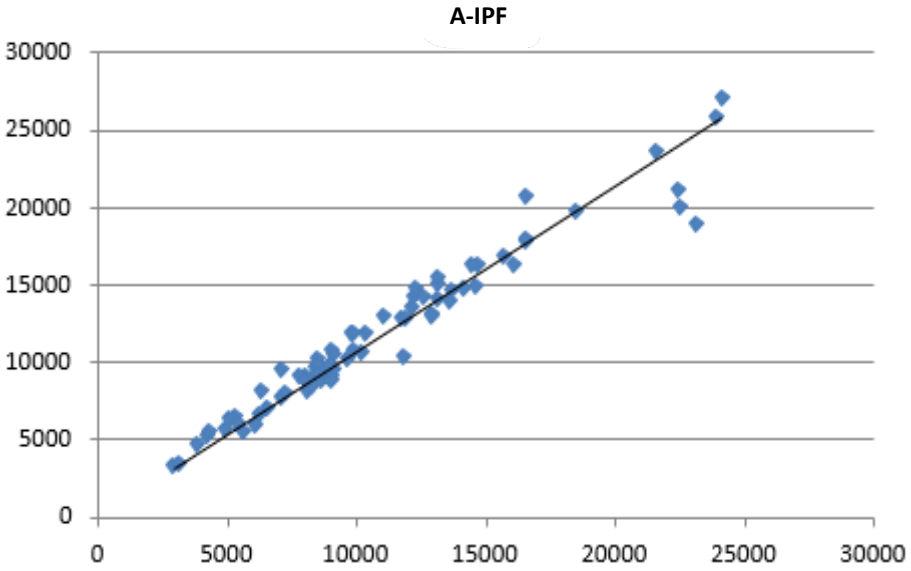
IPF%: relative immature platelet fraction.

Figura 11. Gráfico de dispersão entre valores de IPF% entre os dois equipamentos XN utilizados no estudo



IRF: relative immature reticulocyte fraction.

Figura 12. Gráfico de dispersão entre valores de IRF entre os dois equipamentos XN utilizados no estudo



A-IPF: absolute platelet fraction.

Figura 13. Gráfico de dispersão entre valores de A-IPF entre os dois equipamentos XN utilizados no estudo

3.3 Amostra

Um total de 65 pacientes foram convidados para participar do estudo, destes, 5 se recusaram a participar do estudo e não foram relacionados, 60 pacientes foram recrutados sendo 27 do sexo feminino e 33 do sexo masculino; com idade média de 49,96 anos (entre 19 e 71 anos), 16 participantes não tiveram coletas completas de

hemograma dois dias antes do enxerto de plaquetas. Dos 44 pacientes restantes, 3 não tinham dados sobre o IRF dois e cinco dias antes da enxertia de plaquetária. Foi observada morte precoce em 1 paciente ao longo do estudo devido a choque hemorrágico, este foi categorizado no Grupo 2 devido a não enxertia do paciente.

Para as indicações de TCTH, foram:

- 21 leucemia mieloide aguda;
- 7 síndrome mielodisplásica;
- 5 leucemia mieloide crônica;
- 4 mielofibrose;
- 4 leucemia linfoblástica aguda – B;
- 4 leucemia linfoblástica aguda – T;
- 4 linfoma de células do manto;
- 1 neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas;
- 1 leucemia linfoide não especificada;
- 1 leucemia promielocítica aguda;
- 1 linfoma de Burkitt;
- 1 linfoma de Hodgkin;
- 1 linfoma não-Hodgkin - células B;
- 1 linfoma não-Hodgkin células T/NK;
- 1 leucemia mielomonocítica crônica;
- 1 micose fungoide;
- 1 mieloma múltiplo;
- 1 sarcoma mieloide aleucêmico.

3.4 Interferência de transfusões de hemocomponentes nos parâmetros de imaturidade

Conforme descrito nas tabelas 4 a 7, os modelos mistos longitudinais mostraram que ocorre interferência de transfusões plaquetárias nos valores de IPF%, tendo sua influência por até três dias. Os índices de A-IPF e IRF não sofrem alterações significativas após transfusões plaquetárias.

Tabela 4. Resultado de modelo misto para a interferência de transfusões de hemocomponentes nos parâmetros A-IPF, IPF% e IRF

Efeito imediato			
Variável	**Transfusão (coef.)**	**(Erro padrão)**	**Valor-p**
IPF%	-0,84	(0,36)	0,022
A-IPF	-454,8	(324,8)	0,162
IRF	-0,48	(0,80)	0,545

IPF%: *relative immature platelet fraction*; A-IPF: *absolute immature platelet fraction*; IRF: *immature reticulocyte fraction*.

Tabela 5. Resultado de modelo misto para a interferência de transfusões de hemocomponentes nos parâmetros A-IPF, IPF% e IRF no dia seguinte a administração

Efeito tardio (+1dia)			
Variável	**Transfusão (coef.)**	**(Erro padrão)**	**Valor-p**
IPF%	-1,28	(0,36)	<0,001
A-IPF	-346,4	(303,2)	0,253
IRF	-0,50	(0,83)	0,6546

IPF%: *relative immature platelet fraction*; A-IPF: *absolute immature platelet fraction*; IRF: *immature reticulocyte fraction*.

Tabela 6. Resultado de modelo misto para a interferência de transfusões de hemocomponentes nos parâmetros A-IPF, IPF% e IRF dois dias após a administração

Efeito tardio (+2dias)			
Variável	**Transfusão (coef.)**	**(Erro padrão)**	**Valor-p**
IPF%	-0,56	(0,34)	0,099
A-IPF	-267,7	(252,8)	0,290
IRF	0,13	(1,15)	0,908

IPF%: *relative immature platelet fraction*; A-IPF: *absolute immature platelet fraction*; IRF: *immature reticulocyte fraction*.

Tabela 7. Resultado de modelo misto para a interferência de transfusões de hemocomponentes nos parâmetros A-IPF, IPF% e IRF três dias após a administração

Efeito tardio (+3dias)			
Variável	**Transfusão (coef.)**	**(Erro padrão)**	**Valor-p**
IPF%	-0,401	(0,322)	0,2133
A-IPF	-0,40	(0,32)	0,213
IRF	1,6	(1,19)	0,181

IPF%: *relative immature platelet fraction*; A-IPF: *absolute immature platelet fraction*; IRF: *immature reticulocyte fraction*.

Os resultados indicam que há interferência de transfusões plaquetárias no parâmetro IPF% estatisticamente relevante ($p<0,05$) e que esta interferência pode afetar seus valores por até dois dias, sendo estabilizado a partir do terceiro dia após a administração dos hemocomponentes.

O parâmetro A-IPF não sofreu interferência significativa nem imediatamente e nem nos três dias consecutivos após transfusão de plaquetas, e o IRF

não sofreu interferência estatisticamente relevante após transfusão de concentrados de hemácias.

Devido a prévia interferência de transfusões de hemocomponentes nas contagens de IPF% e IRF, o único parâmetro submetido a análise de interferência por inflamação foi A-IPF, analisado se há correlação entre o valor de PCR (como marcador inflamatório isolado) e os valores dos parâmetros estudados. Para isso, foi feita a análise via modelo misto linear (Tabela 8) e correlação de Pearson (r^2:-0,2).

Tabela 8. Modelo de efeitos mistos para preditores da contagem absoluta de IPF

Variável	Coeficiente (β)	Erro padrão	GL	Valor-t	Valor-p
Intercepto	-28,42	239,80	160,2	-0,119	0,906
PCR	-0,687	1,084	1063,0	-0,634	0,527

PCR: proteína C reativa; GL: graus de liberdade.

O modelo de regressão segmentada obteve o ponto de quebra de PCR>124,3mg/dL.

3.5 Comparação entre os grupos

3.5.1 Predição para enxertia independente do dia após transplante de células-tronco

Para estabelecer os valores de referência de cada grupo, foi realizado o teste de Shapiro-Wilk para a detecção de *outliers.* Foi observado a presença de *outliers* para os três parâmetros, como representado na tabela 9.

Tabela 9. Análise de distribuição da amostra utilizada para a validação dos valores de referência

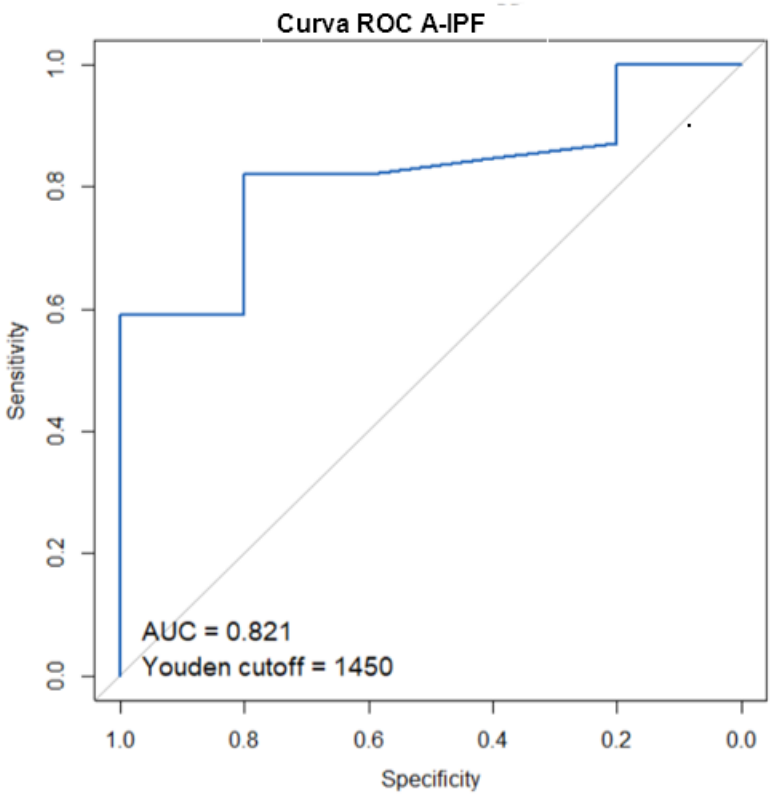
	Shapiro-Wilk
Parâmetro	**Valor-p**
IPF%	<0,0001
A-IPF	0,0002
IRF	0,0005

IPF%: *relative immature platelet fraction*; A-IPF: *absolute immature platelet fraction*; IRF: *relative immature reticulocyte fraction*.

Para se excluir a interferência de *outliers* (1 paciente com plaquetopenia já antes do TCTH e que manteve valores mais baixos de contagens de

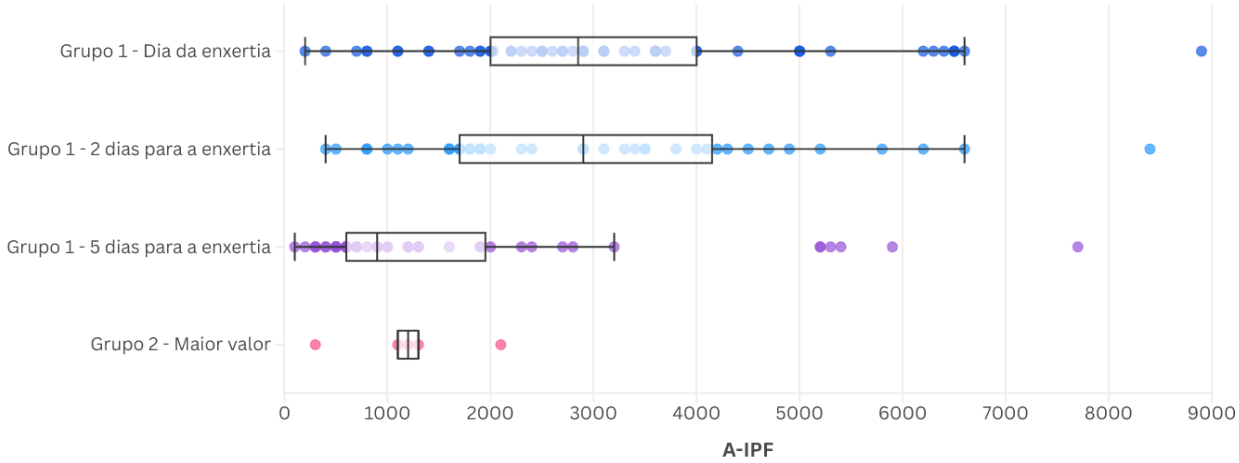
plaquetas e 2 pacientes que tiveram reações inflamatórias exacerbadas, com valores de PCR>124,3mg/dL que obtiveram valores muito mais altos de contagem de A-IPF), o teste estatístico utilizados para estabelecer os valores dos parâmetros de imaturidade de cada grupo foi não-parâmetrico, sendo assim, o valor de referência de cada analito por grupo foi estabelecido pelo intervalo interquartílico.

O único parâmetro que apresentou diferença entre os grupos foi o A-IPF, sendo este submetido ao teste de Mann-Whitney (p=0,011), e foi estabelecido um *cutoff* de maior eficiência em curva ROC de A-IPF>1450, com sensibilidade de 85,5% e especificidade de 80% (Figura 13). A análise gráfica mostra significante diferença entre o grupo 1 e 2 no dia da enxertia e em dois dias antes da enxertia. Contudo, não é possível observar a mesma diferença entre grupos 5 dias antes da enxertia (Figura 14). Já para os parâmetros IPF% e IRF não foi possível observar os mesmos resultados (Figura 15).

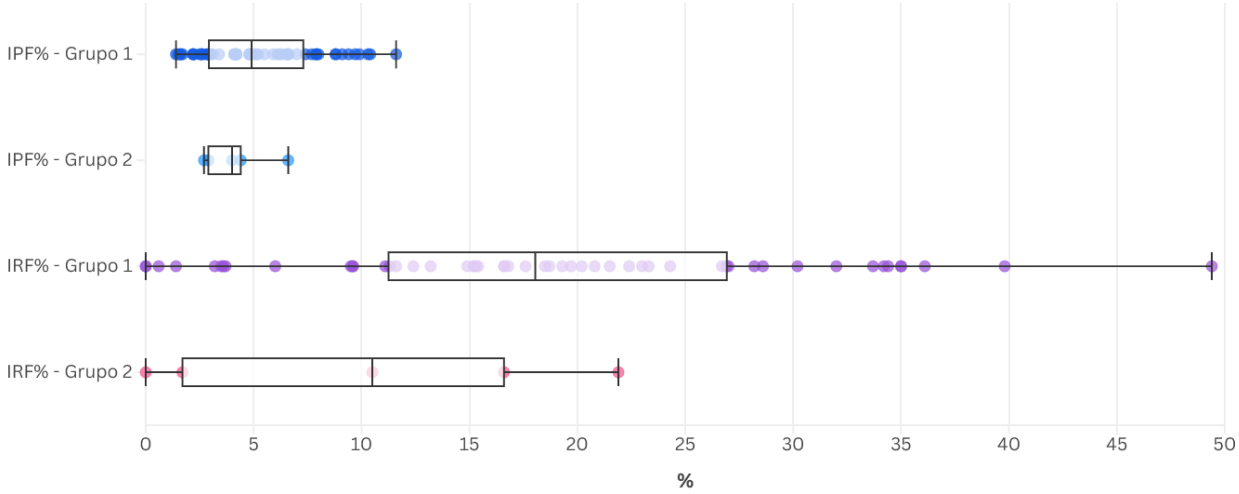


Curva ROC para estabelecimento do valor de *cutoff* de A-IPF para enxertia plaquetária. ROC: receiver operating characteristic curve;
A-IPF: absolute immature platelet fraction. AUC: area under the curve.
Figura 14. Estabelecimento do valor de *cutoff* para enxertia plaquetária

O *cutoff* de A-IPF>1450 pode predizer a enxertia plaquetária em 2 dias com 82,1% de sensibilidade e 80% de especificidade, obtendo uma acurácia de 82,82% (p=0,02), inicialmente apresentou um ótimo valor preditivo positivo de 97%, porém, um valor preditivo negativo de 36,4%. Nenhum parâmetro pode predizer a enxertia plaquetária em mais de 2 dias (Tabela 10).



Cinco e dois dias antes e no dia de enxertia plaquetária do Grupo 1 contra o maior valor dos parâmetros de imaturidade do Grupo 2. A-IPF: a*bsolute immature platelet fraction.*
Figura 15. Comparação entre grupos



Valor de IPF% e IRF do Grupo 1, *versus* o maior valor de IPF% e IRF do Grupo 2. IPF%: *relative immature platelet fraction*; IRF: *immature reticulocyte fraction.*
Figura 16. Comparação entre os grupos no dia enxertia plaquetária

Tabela 10. Comparação entre os grupos 5 e 2 dias antes e no dia da enxertia plaquetária

#dias	Intervalo de referência	Grupo 1	Grupo 2	Valor-p
5	IPF%	2,2 – 4,65	2,8 – 5,5	0,4630
	A-IPF	600 – 2.075	700 – 1.700	0,8642
	IRF	1,6 – 23,35	0,85 – 19,25	0,7816
2	IPF%	2,8 – 6,375	2,8 – 5,5	0,9656
	A-IPF	1.700 – 4.225	700 – 1.700	0,0218
	IRF	14,22 – 28,95	0,85 – 19,25	0,3328
0	IPF%	2,9 – 7,48	2,8 – 5,5	0,8583
	A-IPF	1.990 – 4.100	700 – 1.700	0,0110
	IRF	11,15 - 27	0,85 – 19,25	0,5098

IPF%: *relative immature platelet fraction*; A-IPF: *absolute immature platelet fraction*; IRF: *immature. reticulocyte fraction.*

A regressão logística binária mostrou associação marginalmente significativa entre A-IPF e a predição de enxertia plaquetária em até dois dias (p=0,0576), a análise das razões de chance (OR) = 2,32 (IC95% 1,35 – 18,1) mostrou que há aumento de 232% de chances de enxertia em até dois dias a cada 1.000 unidades de A-IPF (Tabela 11).

Tabela 11. Regressão logística de A-IPF com o desfecho enxertia em até 2 dias

Variável	β (Estimativa)	Erro padrão	Valor-z	Valor-p	OR (IC95%)
Intercepto	-0.2659	10.173	-0,261	0,7938	0,77 (0,09–5,43)
A-IPF	0.0012	0.0007	1.898	0.0576	1,001 (1.000–1.003)

A-IPF: *absolute immature platelet fraction.*

Utilizando a regressão logística, foram estabelecidos valores para risco predito da enxertia plaquetária em dois dias (Tabela 12):

Tabela 12. Valores de risco predito de enxertia plaquetária em até 2 dias para A-IPF

A-IPF	Risco predito (%)	Erro padrão	IC95%
1.000	72,8	0,1117	50,9–94,7
1.500	83,3	0,0741	68,8–97,8
2.000	90,3	0,06	78,6–100

A-IPF: *absolute immature platelet fraction.*

3.5.2 Predição para enxertia antes da média da amostra

Foi analisada a possibilidade do uso dos marcadores de imaturidade celular para estabelecer uma predição antes da média da amostra. O dia médio de enxertia plaquetária da amostra estudado foi no D+22, e a mediana no D+19.

Durante os dias analisados, houve distinção para os dois parâmetros de IPF entre os grupos, sendo assim, todos foram submetidos à curva ROC para se estabelecer pontos de corte (Tabelas 13 e 14).

Tabela 13. Comparativo longitudinal entre os grupos ao longo dos dias para predição de enxertia até o dia +17 A-IPF

Predição de enxertia até D+17 A-IPF					
Dia	**Mann-Whitney**	***Cutoff* estabelecido**	**AUC**	**VPP**	**VPN**
7	p 0,002	250	0,739	69	86,7
8	p 0,1512	550	0,691	60	76,9
9	p<0,001	350	0,846	76,9	93,3
10	p<0,001	1550	0,78	100	56,1
11	p<0,001	1000	0,851	87	85,7
12	p<0,001	750	0,932	93,1	92

A-IPF: *absolute immature platelet fraction;* IPF%: *relative immature platelet fraction*; AUC: *area under curve*; VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo.

Tabela 14. Comparativo longitudinal entre os grupos ao longo dos dias para predição de enxertia até o dia +17 IPF%

Predição de enxertia até D+17 IPF%					
Dia	**Mann-Whitney**	***Cutoff* estabelecido**	**AUC**	**VPP**	**VPN**
7	p 0,002	3,25	0,748	88,9	61,5
8	p 0,01455	3,4	0,693	92,9	54,8
9	p<0,001	2,05	0,809	78,8	76,2
10	p 0,0011	3,25	0,759	93,8	55
11	p<0,001	2,25	0,819	74,1	84,2
12	p<0,001	2,75	0,932	82,8	80

IPF%: *relative immature platelet fraction*; AUC: *area under curve*; VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo.

As análises de AUC pelo método Delong retornaram os resultados (Tabela 15):

Tabela 15. Comparação entre AUC pelo método Delong

Comparativo de AUC	
Comparação	**Valor-p**
D+9/D+10	0,581
D+9/D+11	0,433
D+9/D+12	0,223
D+10/D+11	0,187
D+10/D+12	0,085
D+11/D+12	0,626

AUC: *area under curve.*

As comparações mostram que não existem diferenças estatisticamente significativas entre os dias, sendo assim, não pode afirmar que um modelo é melhor que o outro. Considerando os valores preditivos de cada ponto de corte estabelecido, foi definido o ponto de corte do D+12 (A-IPF>750 VPP: 93,1%; VPN:92%) para a avaliação do uso deste ponto de corte no intervalo de dias entre D+9 e D+12.

A validação foi feita por modelos de incidência acumulada e teste de Fine e Gray para a estratificação de risco de enxertia até o D+17 e a análise pelo método De Long mostrou que o *cutoff* A-IPF>750 pode ser usado entre D+9 e D+12 com a mesma performance que apenas no D+12 (Tabela 16).

Tabela 16. Para estratificação de riscos por incidência acumulada e modelo de Fine e Gray

Estrato A-IPF	n pacientes	Incidência acumulada (%)	HR Fine e Gray	IC95%	Valor-p
Baixo (<750)	15	41	1,6	1,03 – 2,48	0,035
Intermediário (750-1000)	4	62	2,71	1,97 – 3,74	<0,001
Alto (>1000)	41	76	3,58	2,82 – 4,54	<0,001

A-IPF: *absolute immature platelet fraction*.

Interpretando o HR, observa-se que o grupo de baixo risco apresenta um risco de enxertia 1,6 vezes maior em comparação ao grupo de referência (nenhuma incidência de A-IPF>750 entre os D+9 e D+12), enquanto o grupo intermediário tem um risco 2,7 vezes maior, e o grupo alto, 3,6 vezes maior, sendo todos esses estratos estatisticamente significativos; portanto, conclui-se que existe um efeito forte e crescente do A-IPF sobre a probabilidade de enxertia, de modo que os estratos de risco definidos pelo modelo são preditores independentes e robustos de enxertia plaquetária até o D+17 (Figura 17).

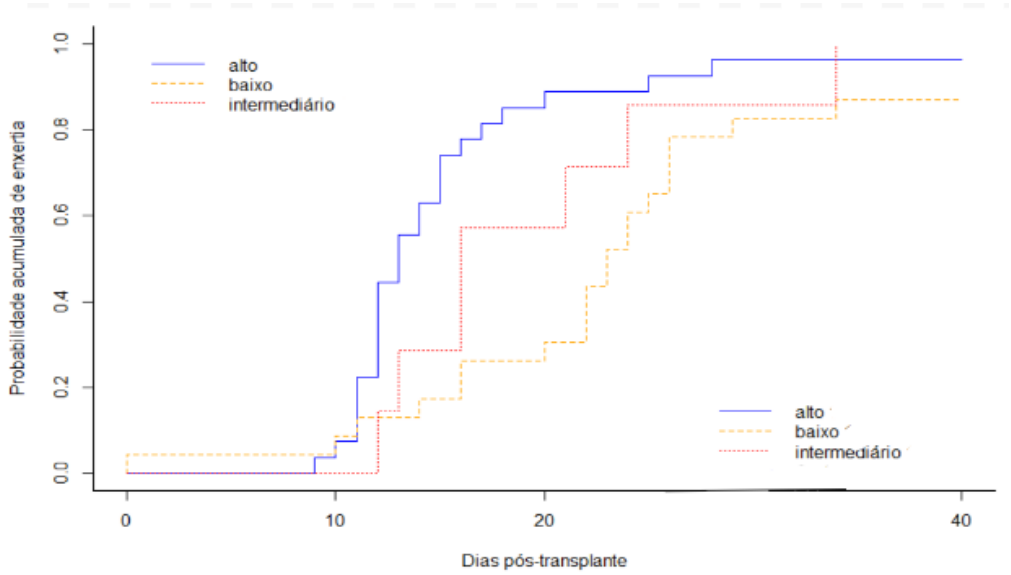


Figura 17. Gráfico de incidência acumulada estratificando os pacientes por grupo de riscos segundo o valor de A-IPF entre o D+ e D+12

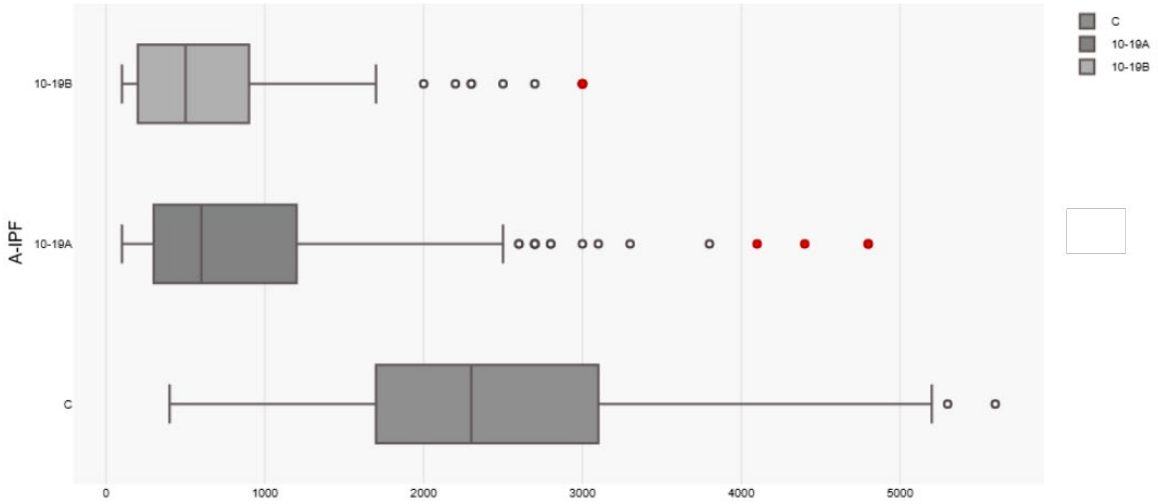
3.6 Transfusões plaquetárias

3.6.1 Redução de transfusões plaquetárias profiláticas durante transplante de células-tronco hematopoiéticas

Todos os pacientes submetidos ao TCTH na amostra deste estudo necessitaram de transfusões plaquetárias durante o tratamento, sendo assim, não foi possível realizar a comparação com pacientes que se submetem ao TCTH e não necessitam de transfusões plaquetárias.

Não foi possível estabelecer nenhum parâmetro para definir se é possível utilizar os parâmetros de imaturidade para estimar a quantidade de transfusões plaquetárias profiláticas que o paciente vai receber até a enxertia medular.

O teste de Kruskal-Wallis apresentou uma diferença significativa entre os Grupos Controle e os Grupos 10-19ª e 10-19B ($p<0,0001$) conforme figura 18.



A-IPF: *absolute immature platelet fraction.*
Figura 18. Comparação entre os grupos para redução de enxertia plaquetária

Ao realizar a análise pelo teste de Mean-Whitney entre os grupos 10-19ª e 10-19B não houve diferença estatística relevante (Tabela 17). O parâmetro de IPF% não demonstrou nenhuma diferenciação entre o grupo controle ou entre os dois subgrupos (Tabela18) e o IRF apresentou diferenciação entre os grupos 10-19ª e 10-19B e o grupo controle, mas também não houve diferença entre os dois subgrupos (Tabela 19).

Tabela 17. Comparação de A-IPF para a redução de transfusões plaquetárias profiláticas

Grupos	A-IPF	Comparação Controle	Comparação 10-19A x 10-19B
Controle >20	2.400 - 5.300		
10-19 A	200 - 875	p<0,001	p=0,741
10-19 B	200 - 900	p<0,001	

A-IPF: *absolute immature platelet fraction.*

Tabela 18. Comparação de IPF% para a redução de transfusões plaquetárias profiláticas

Grupos	IPF%	Comparação Controle	Comparação 10-19A x 10-19B
Controle >20	2,2 - 5,4		
10-19 A	1,7 - 5,425	p=0,79	p=0,878
10-19 B	2,05 - 5,45	p=0,533	

IPF%: *relative immature platelet fraction.*

Tabela 19. Comparação de IRF para a redução de transfusões plaquetárias profiláticas

Grupos	IRF	Comparação Controle	Comparação 10-19A x 10-19B
Controle >20	6,4 - 24,35		
10-19 A	0,825 - 12,275	p<0,001	p=0,6606
10-19 B	0,8 - 13,15	p<0,001	

IRF: *immature reticulocyte fraction.*

O parâmetro A-IPF não possui interferência estatisticamente relevante de transfusões, este foi o único parâmetro a ser submetido ao modelo de Cox para correlação e predição do risco de necessidade de transfusão plaquetária durante a recuperação do paciente após TCTH. A análise do modelo Cox para correlacionar o valor de A-IPF retornou os resultados apresentados na tabela 20:

Tabela 20. Modelo de Cox comparando o uso de A-IPF *versus* contagem de plaquetas para gatilho transfusional

Variável	A-IPF	Plaquetas
Coeficiente	0,00008901	-0,04143
Hazard ratio	1,0001	0,9594
Valor-p	0,027319	0,0004
IC95%	1,0000 – 1,0002	0,9378 – 0,9816

A-IPF: *absolute immature platelet fraction*.

O modelo possui índice de concordância (C-Index): 0,752 e os testes de significância do modelo foram todos altamente significativos (p<0,001).

O IPF mostra uma associação positiva e estatisticamente significativa (p=0,027) com o risco de transfusão. Para cada unidade de aumento no IPF, há um aumento de 0,01% no risco de transfusão (HR=1,0001), embora estatisticamente significativo, o efeito é clinicamente muito pequeno em termos absolutos. O ponto de corte ótimo identificado foi de A-IPF>600.

A contagem de plaquetas mostra uma associação negativa e altamente significativa (p=0,0004) com o risco de transfusão, sendo que para cada unidade de aumento na contagem de plaquetas, há uma redução de 4,06% no risco de transfusão.

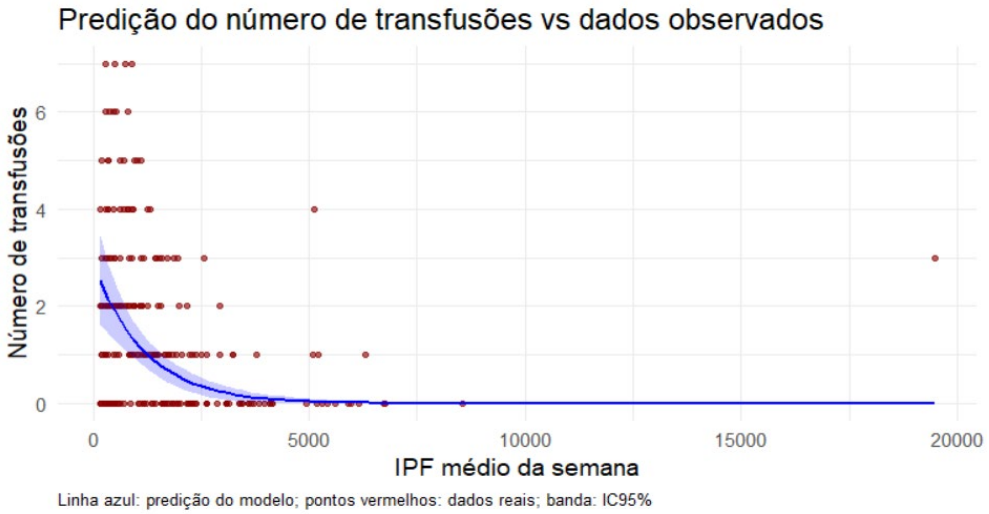
3.6.2 Correlação entre A-IPF e quantidade de transfusões plaquetárias profiláticas até a enxertia plaquetária

Tabela 21. Modelo de regressão de contagem com distribuição binomial negativa com A-IPF médio semanal com a predição do número de transfusões plaquetárias nos próximos 7 dias

A-IPF médio	Nº transfusões preditas por semana	IC95%	Redução de transfusões por semana (%)
155	2,53	1,62 – 3,44	0
1173	1,08	0,77 – 1,4	57,30
2192	0,46	0,25 – 0,67	81,8
3210	0,2	0,06 – 0,33	92,2
4228	0,08	0 – 0,17	96,7

A-IPF: *absolute immature platelet fraction.*

O número esperado de transfusões na semana seguinte apresentou uma relação inversa com o IPF médio semanal (Tabela 21). De acordo com o modelo, pacientes com IPF médio baixo (155) apresentaram um número esperado de transfusões de 2,53 (IC95% 1,62–3,44). À medida que o IPF médio aumentou para 1.173, 2.192 e 4.228, o número esperado de transfusões diminuiu progressivamente para 1,08 (IC95% 0,77–1,40), 0,46 (IC95% 0,25–0,67) e 0,08 (IC95% 0,00–0,17), correspondendo a reduções de 57,3, 81,8, 92,2 e 96,7% em relação ao valor de referência (Figura 19). Esses resultados indicam que níveis mais elevados de IPF estão fortemente associados a menor necessidade de transfusão, com efeito crescente em pacientes com valores mais altos de IPF.



A curva azul indica o número esperado de transfusões em função do IPF médio, a banda sombreada em azul claro representa o intervalo de confiança de 95%. IPF: *immature platelet fraction*.

Figura 19. Correlação com o A-IPF média por semana e a expectativa do número de transfusões plaquetárias

A análise gráfica reforçou essa tendência, mostrando que a curva de predição diminui de forma quase exponencial com o aumento do IPF médio, enquanto a banda sombreada indica o intervalo de confiança de 95%, evidenciando a robustez das predições. Pontos estratégicos ao longo da curva foram anotados com os percentuais de redução, fornecendo uma representação visual clara da magnitude do efeito e permitindo interpretação tanto intuitiva quanto quantitativa. Esta abordagem integrada, combinando predição numérica e visualização gráfica, facilita a compreensão do impacto do IPF sobre a necessidade de transfusões na prática clínica.

4 DISCUSSÃO

Ainda não há consenso a respeito do uso de IPF e IRF para predizer a enxertia plaquetária após o TCTH. Alguns estudos, como o de Park et al.,[50] concluíram que não se pode predizer enxertia plaquetária após TCTH utilizando IPF devido à alta variabilidade dos valores e falta de estabilidade durante a evolução do quadro clínico do paciente. Outro efeito observado em outro estudo é a de diluição da população imatura das plaquetas após transfusão sanguínea.[51] Outra abordagem falha foi a de estabelecer um *cutoff* para predição da enxertia plaquetária ainda na primeira quinzena após o TCTH,[52,53] porém, alguns estudos apresentaram resultados divergentes dos resultados obtidos neste estudo.

Diversos autores utilizaram diferentes metodologias para estabelecer um valor de *cutoff* para A-IPF, IPF% e IRF predizerem a enxertia plaquetária. Morkis et al.[45] compararam seus resultados com o de mais cinco estudos anteriores e estabeleceram o valor de *cutoff* de IPF% >10 e IRF >12% para predizerem a enxertia medular em pacientes submetidos a TCTH. Contudo, estes valores não podem ser aplicados à nossa amostra, pois apenas 3 dos 60 pacientes estudados obtiveram valores de IPF%> 10 dois dias antes da enxertia plaquetária. Este mesmo *cutoff* também foi estabelecido por outros estudos,[50,51] apresentando uma especificidade de 100%, porém a sensibilidade seria de 5%, resultando em uma acurácia de 12,3%. Já o *cutoff* de IRF >12% em 32 dos 37 pacientes que tiveram resultado de IRF dois dias antes da enxertia plaquetária ($p<0,01$) acurácia de 83,33%, sensibilidade: 86,49% e especificidade: 60%, devido à alta taxa de falso-positivos (40%), o que faz com que o teste apresente baixa especificidade, porém, é necessário ressaltar a assimetria do tamanho dos grupos, sendo o Grupo 2 composto apenas por 5 indivíduos. Valores mais baixos de IPF% foram propostos por outros autores, Sakuragi et al.[44] estabeleceram um *cutoff* de 5,8% para predizerem a enxertia plaquetária em até 8 dias antes da metodologia padrão, porém, este valor de *cutoff* não demonstrou boa performance nem com dois dias antes da enxertia, apresentando uma acurácia de 45,45%, sensibilidade de 41% e especificidade de 80%. Outro valor de *cutoff* de IPF% foi estabelecido por van der Linden et al.[52] propuseram um *cutoff* de IPF% >5,3; contudo, para nossa população, este *cutoff* apresentaria uma acurácia de 50%, sensibilidade: 46,15% e especificidade: 80%. A principal diferença entre o presente estudo e os demais estudos que chegaram

a conclusões similares é que nos outros casos não há padronização utilizando A-IPF e sim o IPF%.

Neste estudo ficou clara a interferência de transfusões plaquetárias no valor de IPF% por até dois dias após a infusão, esta influência não foi observada no A-IPF. A imediata alteração no valor de IPF% por transfusões plaquetárias já era esperada uma vez que este parâmetro representa uma contagem relativa à contagem de plaquetas do paciente, qualquer mudança por fator exógeno na contagem de plaquetas irá alterar a proporção de plaquetas imaturas na população global de plaquetas. O A-IPF possui uma conta absoluta, sendo assim, está menos suscetível as variações abruptas nas contagens de plaquetas globais do paciente, outra contagem que é relativa é a de IRF, entretanto, o efeito de diluição não é observado como no IPF%, mesmo assim os testes não demonstraram correlação do valor de IRF com enxertia plaquetária, sendo assim, o teste de A-IPF se mostrou o mais robusto para ser utilizado como biomarcador para a predição de enxertia plaquetária.

A interferência dos valores de PCR como um marcador quantitativo para inflamação no A-IPF é pequena e irrelevante estatisticamente, o *breakpoint* estabelecido de 124,3mg/dL de PCR mostra que apenas valores muito altos de PCR estabelecem algum tipo de influência na população de plaquetas imaturas (-85,4 nos valores de A-IPF), mas irrelevante estatisticamente, sendo seguro afirmar que o A-IPF é um marcador que pode ser usado mesmo em pacientes com processos inflamatórios intensos, sem sofrer alterações significativas em suas contagens.

As análises mostraram que mesmo com maior robustez, devido à disposição dos grupos da amostra, o valor preditivo negativo de 36,4% demonstrou que este marcador sozinho não pode ser usado como um preditor específico de enxertia após TCTH independente do dia após o TCTH e que seu uso deve ser feito considerando todo o contexto do paciente. Utilizar uma estratificação dos valores de A-IPF para avaliar a probabilidade predita de enxertia pode ser uma abordagem mais útil ao parâmetro, uma vez que este tipo de interpretação considera o contexto completo do paciente. O comparativo entre os *cutoffs* estabelecidos na literatura com os valores de IPF% da amostra deste estudo estão presentes na tabela 22.

Tabela 22. Comparativo entre valores de IPF% estabelecidos por outros estudos disponíveis na literatura com os dados obtidos na amostra estudada

Estudo	Cutoff IPF%	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)
van der Linden et al.[52]	5,3	46,15	80
Sakuragi et al.[44]	5,8	41	80
Briggs et al.[19]	7,4	46,15	100
Grabek et al.[47]	7,4	46,15	100
Yamaoka et al.[55]	10	5	100
Hennel et al.[51]	10	5	100
Morkis et al.[45]	10	5	100
Gonçalo et al.[53]	10	5	100

IPF%: relative *immature platelet fraction.*

A outra abordagem do uso dos parâmetros de imaturidade celular analisada foi estabelecer valores de *cutoff* em dias específicos do tratamento, para predizer se o paciente poderá evoluir para um quadro de enxertia. Ghias et al.[54] utilizou desta abordagem e não conseguiu estabelecer um *cutoff* de IPF ou IRF no d+14 para predizer a enxertia medular em crianças pós TCTH até o D+30. Já Grabek et al.,[47] estabeleceram que é possível estabelecer correlação moderada entre o IPF>2% entre D+11-D+15 com a enxertia plaquetária até D+30, porém, para IPF>2% entre D+11 e D+15 todos os pacientes do Grupo 2 apresentaram resultado falso-positivo, sendo assim, impossível de calcular a acurácia, especificidade e sensibilidade do teste, e para IPF>7,4% entre D+16-D+20 com a enxertia até o D+30, assim como no estudo citado, foi apresentado 100% de especificidade, contudo com sensibilidade de 46,15%, assim a acurácia do teste é de 52,27%. Contudo, a quantidade de pacientes no Grupo 2 é pequena, o que pode ser limitador no momento de identificação de falsos-positivos e verdadeiros-negativos. No presente estudo, o uso do A-IPF mostrou-se uma ferramenta útil para esta finalidade, uma vez que não sofre alterações significantes a cada transfusão plaquetária, este parâmetro se manteve mais estável, apresentando assim a possibilidade de se usar o *cutoff* de A-IPF>750 do D+12 para predizer a enxertia até o D+17, mostrando ótima correlação e valores preditivos positivos e negativos, uma vez que a separação do grupos foi feita entre pacientes que enxertaram até o D+17 (n=25) e pacientes enxertaram após o D+17 mais os pacientes que não enxertaram (n=35), o poder de predição negativa aumentou em relação às análises que se utilizavam apenas o comparativo entre pacientes que enxertaram (n=55) e pacientes que não enxertaram

(n=5), o corte de A-IPF>750 também se mostrou aplicável em um intervalo de tempo entre o D+9 e D+12, a estratificação baseada no valor máximo de IPF entre D+9 e D+12 mostrou associação significativa com a probabilidade de enxertia plaquetária até D+17. Pacientes com IPF > 1000 apresentaram taxas de enxertia de até 95%, enquanto aqueles com IPF ≤ 750 tiveram apenas 60% de enxertia. A análise com o A-IPF isolado no dia D+12 demonstrou resultados consistentes, sugerindo que este parâmetro pode ser utilizado como marcador precoce e independente para predição da enxertia.

Outra aplicabilidade dos parâmetros abordada na literatura é para a redução de transfusões plaquetárias profiláticas, sendo que alguns estudos recomendam o uso de IPF% para este fim[45,5,55] ou não.[51] Contudo, na amostra estudada, não foi encontrada nenhuma evidência que poderia corroborar com esta hipótese. A comparação entre os grupos revelou que não há diferença relevante de valores de A-IPF, IPF% e IRF entre o Grupo Controle e o Subgrupo 10-19A e os resultados também nos mostram, que não há nenhuma diferenciação entre os valores de IPF obtidos em qualquer contagem abaixo de 20.000 plaquetas/mm^3. Portanto, não é possível utilizar IPF como um biomarcador para abaixar o valor de contagens de plaquetas sugerido pela AABB, para que se realize a transfusão plaquetária.

Foi descartada a possibilidade de se utilizar o parâmetro IPF% para se estabelecer um gatilho transfusional, uma vez que parâmetros com contagens relativas sofrem interferência significante após transfusão de hemocomponentes. A grandeza dos valores de A-IPF é na casa das centenas, entretanto, mesmo levando em consideração este fator, a influência de 100 unidades de A-IPF continua apresentando HR=1,01 (para cada 100 unidades de A-IPF se aumenta as chances de necessidade de transfusão plaquetária em 1%), sendo assim, mesmo que apresentando um valor estatisticamente significativo para a predição da necessidade de enxertia plaquetária a aplicação prática do parâmetro não se demonstra mais efetiva do que a contagem de plaquetas que apresentou HR=0,9596 (considerando as contagens de plaquetas sempre é reportada na ordem dos milhares, a cada 1.000 unidades de plaquetas a chance de necessidade de transfusão plaquetária se altera em 4,06%), método utilizado atualmente. Devido à baixa influência que o parâmetro exerceu durante o período de recuperação dos pacientes.

Contudo, foi possível utilizar o valor médio de A-IPF para predizer a futura necessidade de transfusões plaquetárias de um paciente durante a recuperação após TCTH. A análise dos modelos indicou que a cada 1000 unidades de A-IPF a

redução de aproximadamente 1 unidade de concentrado de plaquetas nos próximos 7 dias de acompanhamento do tratamento. Fornecer esta informação é útil para o planejamento de demanda de bancos de hemocomponentes, bem como auxilia no prognóstico de recuperação do paciente.

A amostra utilizada no presente estudo não foi randomizada, tampouco houve pareamento entre os Grupos 1 e 2. Outro fator limitante foi a ausência de controles de qualidade específicos para os parâmetros IPF%, A-IPF e IRF nos equipamentos analisadores hematológicos da série Sysmex XN utilizados. A calibração dos equipamentos atualmente é realizada apenas com base em parâmetros hematimétricos tradicionais (como plaquetas, leucócitos e eritrócitos), não contemplando as variáveis de imaturidade celular, o que compromete a confiabilidade dos dados obtidos com IPF, A-IPF e IRF.

No caso específico do IPF e do IRF, a inexistência de controles internos e externos padronizados evidencia uma lacuna metodológica importante. Não há calibração sistematizada nem testes de proficiência interlaboratoriais que permitam aferir a acurácia e reprodutibilidade desses parâmetros em diferentes contextos analíticos. Esta ausência de padronização limita tanto a reprodutibilidade dos resultados quanto sua aplicabilidade em cenários clínicos diversos, reduzindo a robustez das conclusões e inviabilizando sua adoção como biomarcadores clínicos confiáveis em larga escala. Com isso, erros sistemáticos e aleatórios, que possivelmente podem ocorrer, não seriam notados por qualquer tipo de análise.

A introdução de parâmetros avançados como IPF e IRF, apesar de representar um avanço no escopo diagnóstico do hemograma, carece de uniformidade metodológica e validação externa. Sem uma padronização internacional mínima, a comparação entre estudos realizados em diferentes centros torna-se inviável, impedindo a consolidação de diretrizes clínicas baseadas em evidência robusta. Além disso, a ausência de protocolos harmonizados compromete diretamente o desenvolvimento de estudos multicêntricos e metanálises com validade externa.[56]

A análise da performance dos equipamentos também fica prejudicada, uma vez que não se pode realizar um histórico do registro da qualidade dos resultados obtidos pelo equipamento e, com isso, a análise em relação a valores obtidos em outros centros de pesquisa, também estará prejudicada. Possivelmente, um dos motivos para grande variabilidade nos valores de *cutoff* e intervalos de referência apresentados entre os diferentes estudos, poderia ser a falta de harmonização e

padronização entre os equipamentos utilizados em diferentes centros, onde os estudos foram conduzidos. Neste cenário, é fundamental a implementação de sistemas específicos de controle de qualidade para os parâmetros avançados do hemograma.[57] A existência de protocolos padronizados e validados permitiria a integração segura dos dados em múltiplos laboratórios, promovendo confiabilidade diagnóstica, segurança clínica e a viabilidade de análises comparativas com poder estatístico adequado. A falta de tais medidas aumenta o risco de erros sistemáticos ou aleatórios permanecerem não identificados, impactando diretamente a acurácia dos resultados e a segurança do paciente. Assim, torna-se imperativa a priorização de iniciativas que promovam padronização e validação técnica no uso clínico dos novos parâmetros hematológicos.

Mais estudos serão necessários para estabelecer protocolos válidos utilizando marcadores de imaturidade celular para predição de enxertia plaquetária ou neutrofílica após TCTH ou para o uso destes parâmetros como gatilhos transfusionais para hemocomponentes. Por ser um estudo observacional, não houve controle na frequência de dados coletados, um estudo controlado ofereceria evidências mais robustas em relação à verdadeira utilidade dos parâmetros de imaturidade celular e o poder de predição à enxertia plaquetária após TCTH. Comparado a trabalhos similares, este foi o primeiro a focar os valores de ponto de corte no teste A-IPF, também foi o primeiro em classificar o risco de enxertia plaquetária em diferentes cenários utilizando A-IPF e o primeiro a utilizar o A-IPF como um biomarcador para predizer a quantidade de transfusões plaquetárias durante a recuperação do paciente após TCTH.

5 CONCLUSÕES

1. O parâmetro A-IPF pode ser utilizado como biomarcador para enxertia plaquetária após transplante de células-tronco hematopoiéticas, utilizando uma estratificação de probabilidade predita para enxertia em até dois dias independente do dia após o transplante de células-tronco hematopoiéticas, sendo esta: A-IPF>1000 de 72,8%; A-IPF>1500 de 83,3% e A-IPF>2000 de 90,3%;

2. O parâmetro de A-IPF pode ser utilizado como preditor de enxertia plaquetária até o D+17 no com valores >750 entre D+9 e D+12;

3. Os testes IPF% e IRF não podem ser utilizados como biomarcadores para indicar a enxertia após transplante de células-tronco hematopoiéticas;

4. O valor médio de A-IPF dos últimos sete dias está correlacionado com a quantidade de concentrados de plaquetas que serão recebidos pelo paciente durante os próximos sete dias de acompanhamento após transplante de células-tronco hematopoiéticas;

5. Os parâmetros de imaturidade celular não podem auxiliar na redução de transfusões profiláticas de concentrados de plaquetas.

6 REFERÊNCIAS

1. Kounis NG, Soufras GD, Tsigkas G, Hahalis G. White blood cell counts, leukocyte ratios, and eosinophils as inflammatory markers in patients with coronary artery disease. Clin Appl Thromb Hemost. 2015;21(2):139-43.

2. Chabot-Richards DS, George TI. Leukocytosis. Int J Lab Hematol. 2014;36(3):279-88.

3. Honda T, Uehara T, Matsumoto G, Arai S, Sugano M. Neutrophil left shift and white blood cell count as markers of bacterial infection. Clin Chim Acta. 2016;457:46-53.

4. Vieth JT, Lane DR. Anemia. Emerg Med Clin North Am. 2014;32(3):613-28.

5. Simson E. Wallace Coulter's life and his impact on the world. Int J Lab. Hematol. 2013;35(3): 230-36.

6. Brugnara C, Schiller B, Moran J. Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret He) and assessment of iron-deficient states. Clin Lab Haematol. 2006;28(5):303-8.

7. Balassa K, Danby R, Rocha V. Haematopoietic stem cell transplants: principles and indications. Br J Hosp Med (Lond). 2019;80(1):33-9.

8. World Health Organization (WHO). Manual of Basic Techniques for a Health Laboratory. 2nd ed. Geneva: WHO; 2003 [cited 2025 Ago 31]. Available from: https://www.who.int/publications/i/item/9241545305.

9. Szamosi, DI, Bautista, JM, Cornbleet J, Glasser L, Rothe G, Sandhaus L, et al.; Clinical and Laboratory Standards Institute. H56-A: body fluid analysis for cellular composition; approved guideline. Vol. 26. No. 26. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); 2006 [cited 2025 Feb 25]. Available from: https://clsi.org/shop/standards/h56/.

10. Chun H, Chung TD, Kim HC. Cytometry and velocimetry on a microfluidic chip using polyelectrolytic salt bridges. Anal Chem. 2005;77(8):2490-5.

11. Coulter WH, inventor. Means for counting particles suspended in a fluid. United States patent US 2656508. 1953 Oct 20.

12. Bacall NS. [Automated hematology analyzer and the importance of validation of new equipment in the clinical laboratory]. Rev Bras Hematol Hemoter. 2009;31(4):218–20. Portuguese.

13. Vembadi A, Menachery A, Qasaimeh MA. Cell cytometry: review and perspective on biotechnological advances. Front Bioeng Biotechnol. 2019;7:147.

14. Zhu J, Clauser S, Freynet N, Bardet V. Automated detection of dysplasia: data mining from our hematology analyzers. Diagnostics (Basel). 2022;12(7):1556.

15. McKinnon KM. Flow cytometry: an overview. Curr Protoc Immunol. 2018;120:5.1.1-5.1.11.

16. Buttarello M, Mezzapelle G, Freguglia F, Plebani M. Reticulated platelets and immature platelet fraction: clinical applications and method limitations. Int J Lab Hematol. 2020;42(4):363-70.

17. Sysmex. The optional fluorescence platelet count application ‘PLT-F’. Germany: Sysmex Europe SE; 2025 [cited 2025 Feb 25]. PLT analysis with fluorescence flow cytometry. Available from: https://x.gd/Wkev0.

18. Sysmex. The optional reticulocyte application ‘RET’. Germany: Sysmex Europe SE; 2025 [cited 2025 Feb 25]. Blood cell analysis including reticulocytes with fluorescence flow cytometry. Available from: https://x.gd/BcCGf.

19. Briggs C, Kunka S, Hart D, Oguni S, Machin SJ. Assessment of an immature platelet fraction (IPF) in peripheral thrombocytopenia. Br J Haematol. 2004;126(1):93-9.

20. Amir N, Md Noor S, Subbiah I, Osman M, Seman Z. Percentage of hypochromic red cells as a potential screening test to evaluate iron status in blood donors. Int J Lab Hematol. 2019;41(3):418-23.

21. Hisasue M, Ai T, Kimura K, Matsuzaki A, Nishibe K, Tabe Y, et al. Modification of the algorithm used by automated hematology analyzer XN-3000 improves specificity in the detection of schistocytes. Clin Lab. 2021;67(1).

22. Almashjary MN, Barefah AS, Bahashwan S, Ashankyty I, ElFayoumi R, Alzahrani M, et al. Reticulocyte hemoglobin-equivalent potentially detects, diagnoses and discriminates between stages of iron deficiency with high sensitivity and specificity. J Clin Med. 2022;11(19):5675.

23. Reberšek K, Furlan T, Zver S, Podgornik H. Hematopoietic progenitor cell counting can optimize peripheral blood stem cell apheresis process. J Clin Apher. 2021;36(6):870-7.

24. Bazinet A, Popradi G. A general practitioner's guide to hematopoietic stem-cell transplantation. Curr Oncol. 2019;26(3):187-91.

25. Hallek M, Al-Sawaf O. Chronic lymphocytic leukemia: 2022 update on diagnostic and therapeutic procedures. Am J Hematol. 2021;96(12):1679-705.

26. Thomas ED, Lochte HL Jr, Lu WC, Ferrebee JW. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. N Engl J Med. 1957;257(11):491-6.

27. Thomas ED, Lochte HL Jr, Cannon JH, Sahler OD, Ferrebee JW. Supralethal whole body irradiation and isologous marrow transplantation in man. J Clin Invest. 1959;38(10 Pt 1-2):1709-16.

28. Jabbour E, Kantarjian H. Chronic myeloid leukemia: 2022 update on diagnosis, therapy, and monitoring. Am J Hematol. 2022;97(9):1236-56.

29. Wolff SN. Second hematopoietic stem cell transplantation for the treatment of graft failure, graft rejection or relapse after allogeneic transplantation. Bone Marrow Transplant. 2002;29(7):545-52.

30. Petersdorf EW. Optimal HLA matching in hematopoietic cell transplantation. Curr Opin Immunol. 2008;20(5):588-93.

31. Barriga F, Ramírez P, Wietstruck A, Rojas N. Hematopoietic stem cell transplantation: clinical use and perspectives. Biol Res. 2012;45(3):307-16.

32. Gulbas Z. Haploidentical stem cell transplantation-bone marrow vs peripheral blood. Transfus Apher Sci. 2018;57(2):168-70.

33. Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host disease. Lancet. 2009;373(9674):1550-61.

34. Kassim AA, Chinratanalab W, Ferrara JL, Mineishi S. Reduced-intensity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for acute leukemias: 'what is the best recipe?'. Bone Marrow Transplant. 2005;36(7):565-74.

35. Juric MK, Ghimire S, Ogonek J, Weissinger EM, Holler E, van Rood JJ, et al. Milestones of hematopoietic stem cell transplantation - from first human studies to current developments. Front Immunol. 2016;7:470.

36. Arnaout K, Patel N, Jain M, El-Amm J, Amro F, Tabbara IA. Complications of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Cancer Invest. 2014;32(7):349-62.

37. Savani BN, Griffith ML, Jagasia S, Lee SJ. How I treat late effects in adults after allogeneic stem cell transplantation. Blood. 2011;117(11):3002-9.

38. Niederwieser D, Baldomero H, Bazuaye N, Bupp C, Chaudhri N, Corbacioglu S, et al. One and a half million hematopoietic stem cell transplants: continuous and differential improvement in worldwide access with the use of non-identical family donors. Haematologica. 2022;107(5):1045-53.

39. Belarmino MC, Belarmino ME, Junior MA, Henriques IG, Alves AF. Análise epidemiológica do transplante de medula óssea no Brasil na última década. Hematol Transfus Cell Ther. 2024;46(S4):S1038.

40. Blackburn LM, Bender S, Brown S. Acute leukemia: diagnosis and treatment. Semin Oncol Nurs. 2019;35(6):150950.

41. Teltschik HM, Heinzelmann F, Gruhn B, Feuchtinger T, Schlegel P, Schumm M, et al. Treatment of graft failure with TNI-based reconditioning and haploidentical stem cells in paediatric patients. Br J Haematol. 2016;175(1):115-22.

42. Hutt D. Engraftment, graft failure, and rejection. In: Kenyon M, Babic A, editors. The European Blood and Marrow Transplantation Textbook for Nurses: under the auspices of EBMT. Cham (CH): Springer; 2018 [cited 2025 Ago 31]. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK543659.

43. Lecompte TP, Bernimoulin MP. Novel parameters in blood cell counters. Clin Lab Med. 2015;35(1):209-24.

44. Sakuragi M, Hayashi S, Maruyama M, Kiyokawa T, Nagamine K, Fujita J, et al. Immature platelet fraction (IPF) as a predictive value for thrombopoietic recovery after allogeneic stem cell transplantation. Int J Hematol. 2018;107(3):320-6.

45. Morkis IV, Farias MG, Rigoni LD, Scotti L, Gregianin LJ, Daudt LE, et al. Assessment of immature platelet fraction and immature reticulocyte fraction as predictors of engraftment after hematopoietic stem cell transplantation. Int J Lab Hematol. 2015;37(2):259-64.

46. Saigo K, Sakota Y, Masuda Y, Matsunaga K, Takenokuchi M, Nishimura K, et al. Automatic detection of immature platelets for decision making regarding platelet transfusion indications for pediatric patients. Transfus Apher Sci. 2008;38(2):127-32.

47. Grabek J, D'Elia N, Kelsey G. Immature platelet fraction as a predictor of platelet count recovery following allogeneic bone marrow transplantation. Pathology. 2021;53(4):493-7.

48. Ko YJ, Hur M, Kim H, Choi SG, Moon HW, Yun YM. Reference interval for immature platelet fraction on Sysmex XN hematology analyzer: a comparison study with Sysmex XE-2100. Clin Chem Lab Med. 2015;53(7):1091-7.

49. Kaufman RM, Djulbegovic B, Gernsheimer T, Kleinman S, Tinmouth AT, Capocelli KE, et al.; AABB. Platelet transfusion: a clinical practice guideline from the AABB. Ann Intern Med. 2015;162(3):205-13.

50. Park SH, Park CJ, Kim MJ, Han MY, Lee BR, Cho YU, et al. Evaluation of parameters obtained from the Sysmex XN-2000 for predicting the recovery of the absolute neutrophil count and platelets after hematopoietic stem cell transplantation. Int J Lab Hematol. 2016;38(2):198-208.

51. Hennel E, Kentouche K, Beck J, Kiehntopf M, Boeer K. Immature platelet fraction as marker for platelet recovery after stem cell transplantation in children. Clin Biochem. 2012;45(10-11):749-52.

52. van der Linden N, Klinkenberg LJ, Meex SJ, Beckers EA, de Wit NC, Prinzen L. Immature platelet fraction measured on the Sysmex XN hemocytometer predicts thrombopoietic recovery after autologous stem cell transplantation. Eur J Haematol. 2014;93(2):150-6.

53. Gonçalo AP, Barbosa IL, Campilho F, Campos A, Mendes C. Predictive value of immature reticulocyte and platelet fractions in hematopoietic recovery of allograft patients. Transplant Proc. 2011;43(1):241-3.

54. Ghias Z, Zaidi U, Borhany M, Samad SA, Durrani N, Fatima M, et al. Is post-transplant day +14 immature reticulocyte fraction (IRF) a reliable surrogate marker for predicting early platelet engraftment in pediatric hematopoietic stem cell transplant? Transl Med Commun. 2023;8(6):1-8.

55. Yamaoka G, Kubota Y, Nomura T, Inage T, Arai T, Kitanaka A, et al. The immature platelet fraction is a useful marker for predicting the timing of platelet recovery in patients with cancer after chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation. Int J Lab Hematol. 2010;32(6 Pt 1):e208-16.

56. Briggs C. Quality counts: new parameters in blood cell counting. Int J Lab Hematol. 2009;31(3):277-97.

57. McCafferty R, Cembrowski G, de la Salle B, Peng M, Urrechaga E. ICSH review of internal quality control policy for blood cell counters. Int J Lab Hematol. 2024;46(2):216-26.

Abstract

Introduction: Bone marrow engraftment following hematopoietic stem cell transplantation requires precise monitoring to optimize transfusion support. This study investigated the potential of novel hematological parameters, including IPF%, A-IPF, and IRF, as biomarkers of platelet recovery and transfusion requirements in these patients. **Purpose:** To evaluate the use of IPF%, A-IPF, and IRF as biomarkers of bone marrow engraftment after hematopoietic stem cell transplantation and their potential to reduce prophylactic platelet transfusions during treatment. **Methods:** Sixty hematopoietic stem cell transplantation recipients (mean age: 50 years) were analyzed, and sex-specific reference intervals were established for IPF, A-IPF, and IRF. Predictive ability for platelet recovery and transfusion requirements was assessed using ROC curve analysis, logistic regression, Fine and Gray competing risk models, Cox regression, and negative binomial modeling. **Results:** Only A-IPF showed a significant difference between groups. An A-IPF cutoff value >1450 predicted platelet recovery within two days, with 82.1% sensitivity and 80% specificity. Logistic regression revealed a 2.3-fold increase in the likelihood of engraftment for every 1000-unit increase in A-IPF, and Fine and Gray analysis confirmed higher cumulative incidence in intermediate and high A-IPF strata (sHR 2.71 and 3.58; $p<0.001$). All patients required transfusions (149 events). Cox regression identified A-IPF as an independent risk factor (HR 1.0001; $p=0.027$), whereas platelet count showed a protective effect (HR 0.959; $p<0.001$). Negative binomial modeling demonstrated that higher weekly mean A-IPF values were associated with fewer transfusions. **Conclusion:** A-IPF is a robust biomarker for early platelet recovery and a strong predictor of platelet transfusion requirements in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation.

Keywords: Platelet count; Reticulocyte count; Hematopoietic stem cell transplantation; Blood cell count