



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIRURGIA TRANSLOCACIONAL**

Coordenador: Prof. Dr. Alfredo Gagnani Filho

Vice-coordenador: Prof. Dr. Marcel Jun Sugawara Tamaoki

RELATÓRIO FINAL DE PÓS-DOCTORADO

**FRAÇÃO VASCULAR ESTROMAL NO TRATAMENTO DE
DOENÇAS RESPIRATÓRIAS GRAVES POR SARS-CoV-2 (COVID19)
PLANEJAMENTO DE VIABILIDADE**

José da Conceição Carvalho Júnior

Supervisora: Profa. Dra. Lydia Masako Ferreira

São Paulo

2021

1. RESUMO

Contexto: Pacientes com Síndrome da Angústia Respiratória Aguda (SARA) causado pelo Vírus SARS-Cov 2 apresentam uma intensa inflamação pulmonar e sistêmica. A fração vascular estromal (FVE) é um *pool* celular que contém células-tronco e células do sistema imunológico com potencial atividade imunomodulatória. **Objetivo:** Descrever o planejamento de viabilidade do uso da FVE no tratamento de pacientes com doença pulmonar grave por COVID-19. **Métodos:** Foram relatados todos os passos envolvendo a aprovação ética do estudo (Plataforma Brasil), do Conselho Nacional Ética Pesquisa (CONEP), as etapas para concretizar a execução da terapia proposta desde o Comitê Independente até o treinamento operacional do processo. Foi relatado o caso piloto. **Resultados.** Foi apresentado todos os passos e todos os documentos para a submissão e o aceite do CEP e do CONEP. Foi feito o Regimento do Comitê Independente de Monitoramento de Dados de Segurança (*Data and Safety Monitoring Board* - DSMB) com as regras de indicação de membros, funcionamento e funções específicas. Foi constituído o DMSB e foram apresentadas todos os check-lists e fichas de avaliação que serão utilizadas no estudo. Foi realizado um caso piloto antes da alteração da RDC 255, que não necessitava de regulamentação pela ANVISA, tendo o paciente evoluído sem intercorrências e com alta hospitalar, mostrando ser factível o estudo. **Conclusão:** O planejamento de viabilidade do uso da fração vascular estromal no tratamento de pacientes com doença pulmonar grave por COVID-19 foi organizado e realizado em todas as etapas de terapia celular avançada.

PALAVRAS-CHAVE: COVID-19; Síndrome da Angústia Respiratória Aguda; SARS-CoV-2; fração vascular estromal;

2. CONTEXTO

Em dezembro de 2019, uma série de casos de pneumonia de causa desconhecida surgiram em Wuhan, Hubei, China e os pacientes avaliados apresentavam alterações clínicas muito semelhantes a uma pneumonia viral. A análise de sequenciamento profundo de amostras do trato respiratório inferior indicou um novo coronavírus, que foi nomeado SARS-CoV-2 (HUANG *et al.*, 2020).

Diversos estudos vinculam o surgimento da doença a partir de uma transmissão zoonótica naquela região, mais especificamente em um grande mercado de frutos do mar que também comercializava animais selvagens vivos (TAY *et al.*, 2020).

Pouco mais de 2 meses após o surgimento do primeiro caso, a doença já acometia dezenas de milhares de pessoas em mais de uma centena de países. Frente a esse cenário, Tedros Adhanom Ghebreyesus, diretor geral da Organização Mundial de Saúde, em 11 de março de 2020, declarou pandemia. (<https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>).

No Brasil, até o dia 17 de setembro de 2021, 21.102.536 casos foram confirmados, bem como 589.744 mortes relacionadas à doença. (<https://www.worldometers.info/coronavirus/>). Em São Paulo, estado tido como epicentro da doença em nosso país, 4.330.087 casos e 148.108 óbitos já foram confirmados até a mesma data (<https://covid.saude.gov.br>). Dados que contribuem para a compreensão do cenário devastador que tem sido enfrentado pelo sistema de saúde brasileiro e que sugerem a importância da pesquisa no desenvolvimento e na adoção de novas medidas terapêuticas.

A inflamação do SARS CoV 2 é associada a liberação de citocinas que se espalha por todo o corpo pela circulação sistêmica. Os pulmões e outros órgãos são acometidos e danificados por uma inflamação progressiva (GENTILE & STERODIMAS, 2020; LENG, ZHU, HOU, 2020; SOHRAIB *et al.*, 2020; ZHOU *et al.*, 2020).

Inúmeros medicamentos antivirais, incluindo rendesivir, lopinavir-ritonavir ou lopinavir-ritonavir e interferon beta-1, estão sendo utilizados em ensaios clínicos, mas a segurança e eficácia permanecem pouco claras (MUNSTER, *et al.*, 2020; SOHRAIB *et al.*, 2020; ZHOU *et al.*, 2020). A taxa de mortalidade geral é de 2%. (FAUCI, LANE, REDFIELD, 2020).

A descrição da presença de células-tronco derivado de tecido adiposo (CTTA) transformou este tecido antes considerado apenas com função de volume, em uma fonte potencial para terapias de Medicina Regenerativa. (GAIBA *et al.*, 2012; ZIMMERMANN *et al.*, 2015; SOARES *et al.*, 2018).

Após o processamento do tecido adiposo por digestão enzimática é obtido um precipitado celular denominado fração vascular estromal (FVE) que é constituído predominantemente por células-tronco mesenquimais, células progenitoras endotelial vascular, pericitos, fibroblastos, macrófagos M2 e linfócitos. Além disso, o tecido adiposo humano pode ser colhido em quantidades significativas com baixa morbidade usando anestesia local e técnicas de lipoaspiração minimamente invasivas (HUSS & KRATZ, 2002; BEAHM, WALTON, PATRICK, 2003; REHMAN *et al.*, 2004; YOSHIMURA *et al.*, 2008; ATALAY, CORUH, DENIZ, 2014; GENTILE *et al.*, 2014; TAN *et al.*, 2018; VAN DONGEN *et al.*, 2018; GENTILE & GARCOVICH, 2019; GENTILE *et al.*, 2019).

As células da FVE são ricas em células-tronco e podem ter um papel terapêutico significativo na regeneração de tecidos (ABDALLAH & KASSEM, 2008; KARAGERGOU *et al.*, 2018; ZANATA *et al.*, 2018). Assim sendo, as células da FVE oferecem o potencial de tratar a infecção viral diretamente e por meio da redução da resposta imune ao vírus. Desempenham um papel imunomodulador, e pode ser considerada uma terapia segura por diversos ensaios clínicos (BANFI *et al.*, 2002; GUREVITCH *et al.*, 2003; LUCARELLI *et al.*, 2004; HORWITZ *et al.*, 2005; GOMILLION & BURG, 2006; HASHIMOTO, KARIYA, MIYAZAKI, 2006; CERRUTI *et al.*, 2007; CLARKE *et al.*, 2007; SMILER, SOLTAN, LEE, 2007; SAKAI *et al.*, 2008;

SOLTAN, SMILER, CHOI, 2009; COSTA *et al.*, 2011; LIU *et al.*, 2011; DIDANGELOS *et al.*, 2018; GENTILE *et al.*, 2019).

Até o momento têm sido realizados 22 ensaios clínicos confirmando os efeitos imunomoduladores e anti-inflamatórios de células tronco mesenquimais no tratamento de doenças respiratórias e mais de 70 ensaios clínicos em andamento registrados no clinicaltrials.gov (GENTILE & STERODIMAS, 2020). ZENG *et al.* (2020) utilizaram Células-tronco halógena de forma intravenosa no tratamento de 7 pacientes com Covid-19 e demonstraram melhora da função pulmonar e dos sintomas respiratórios, sem apresentarem qualquer efeito adverso. Além disso, houve diminuição de TNF-alfa e aumento de Il-10. A tomografia computadorizada pós-tratamento mostrou que a pneumonia diminuiu significativamente, e a maior parte dos pacientes tratados apresentou resultados negativos para o teste de ácido nucleico da SARS-CoV-2 em média 1,5 semanas após o tratamento (GENTILE & STERODIMAS, 2020; LENG, ZHU, HOU, 2020).

A melhora da função pulmonar e de outros órgãos após administrações de CTM no estudo do grupo de ZENG, pode ser atribuída tanto ao efeito imunomodulador, quanto aos efeitos anti-inflamatórios das CTM, pois essas células liberam muitos fatores parácrinos, que interagem com células resultando em imunomodulação e diminuição da inflamação (CAPLAN, 1991; JAISWAL *et al.*, 1997; SOUKUP *et al.*, 2004; KIM *et al.*, 2008; KIM *et al.*, 2012; PROCKOP & OH, 2012; DENG *et al.*, 2018; DIDANGELOS *et al.*, 2018; LENG, ZHU, HOU, 2020). Esses efeitos foram confirmados pelo aumento da quantidade de linfócitos periféricos, pelo declínio da proteína C-reativa e das células imunes secretoras de citocinas superativadas (células T CXCR3 + CD4 + Células T CXCR3 + CD8 + e células CXCR3 + NK) no sangue dos pacientes tratados, com média de 4,5 dias depois da infusão intravenosa. Além disso, análises de sequenciamento de RNA mostraram que CTM administradas eram negativas para ACE2 e TMPRSS2, o que confirmou que essas células estavam livres da infecção por COVID-19. (GENTILE &

STERODIMAS, 2020; LENG, ZHU, HOU, 2020).

Frente a este cenário e a busca por novos tratamentos para os pacientes com a apresentação grave do COVID-19, o grupo de pesquisa do Laboratório de Cirurgia Translacional I da Unifesp, por meio de sua coordenadora Profa Lydia Masako Ferreira, idealizou uma nova proposta terapêutica utilizando a FVE. O grupo vem desenvolvendo diversos estudos dentro da linha de pesquisa em Cultura e terapia celular e células-tronco aplicada a cirurgia dentro do Programa de Pós Graduação em Cirurgia Translacional da Unifesp (nota 6 Capes), todos sob a orientação da Profa Lydia .

O primeiro trabalho envolvendo CTTA desenvolvido no Laboratório de Cirurgia Translacional I da Unifesp foi de GAIBA et al., 2012 que caracterizaram as células tronco derivadas de tecido adiposo, comprovando suas características imunofenotípicas, sua propriedade de adesão à placa e o seu potencial de diferenciação. Na sequência ZIMMERMANN et al., 2015 utilizaram CTTA juntamente com xenoenxerto para guiar a regeneração óssea de defeitos críticos em calota craniana de coelhos. SOARES et al. 2018 utilizaram CTTA para regeneração de mandíbulas irradiadas de coelho submetidos à distração osteogênica. ZANATA et al. 2018 avaliou o efeito da criopreservação na viabilidade das CTTA e da FVE. E mais recentemente CARVALHO-JUNIOR et al., 2021 associaram FVE à matriz dérmica acelular para auxiliar na cicatrização cutânea de coelhos.

Após 20 anos de experiência com CTTA e mais recentemente com a FVE e diante de um cenário de pandemia o Grupo de pesquisadores liderados pela Profa Lydia Masako Ferreira entende que em casos graves, o processo da cultura celular para obtenção das células-tronco tomaria tempo excessivo e tornar-se-ia não eficaz para tratamento de doenças agudas como o caso do Covid-19. Com isso, a FVE, que não necessita de cultura, pode se apresentar como uma opção viável.

As regras e a legislação relativas à Terapia Celular Avançada (TCA) não são universais e tem suas especificações em cada país. No Brasil, até 26 de maio de 2021 as

normativas estabelecidas para estudos envolvendo TCAs eram regidas pela Resolução de Diretoria Colegiada – (RDC) nº 255 que exigia que essas terapias deveriam ser aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) e em caso de ensaio clínico randomizado seria obrigatório o acompanhamento por um Comitê Independente de Monitoramento de Dados de Segurança. Posteriormente com a RDC 506 e RDC 512 de 27 de maio de 2021 foi inserida a necessidade de regulamentação pela ANVISA.

Dessa forma torna imperioso um planejamento minucioso de cada etapa e processo regulatório que possibilite a investigação dos efeitos imunomodulares da FVE em patologias pulmonares graves e agudas, como é o caso da pneumonia por Covid-19.

3. OBJETIVO

Realizar o planejamento para viabilizar o estudo do uso da fração vascular estromal no tratamento de pacientes com doença pulmonar grave por COVID-19

4. MÉTODOS

4.1. Desenho do estudo:

Trata-se de um estudo primário, intervencional, longitudinal e descritivo sobre o planejamento de viabilidade de uma nova proposta terapêutica para pacientes com a forma grave de COVID-19

4.2. Local e Considerações éticas:

Estudo realizado no Programa de Pós-graduação em Cirurgia Translacional da Unifesp, nos Laboratórios de Cirurgia Translacional I (PI: Profa Lydia Masako Ferreira)

e da COLSAN – Associação Beneficente de Coleta de Sangue e nas Disciplinas de Cirurgia Plástica e Terapia Intensiva da EPM/Unifesp.

O projeto foi idealizado pela Profa Lydia Masako Ferreira, que selecionou um grupo de pesquisadores com expertise em células-tronco e FVE e realizou a primeira reunião no dia 04 de maio de 2020. Após dois meses de reuniões on-line semanais o projeto foi finalizado e encaminhado ao CEP/Unifesp.

4.2.1 Comitê de Ética em Pesquisa da Unifesp

Para a submissão do projeto ao CEP/Unifesp foram necessários os documentos de ciência e autorização da Coordenadoria de Ensino e Pesquisa do Hospital São Paulo- HU da Unifesp, obtido em 04 de junho de 2020 e da autorização do Chefe do Departamento de Cirurgia da Unifesp. O projeto foi enviado ao CEP da Unifesp por meio da inscrição na Plataforma Brasil no dia 23 de julho de 2020.

Por se tratar de estudo clínico envolvendo uma nova terapia avançada para uma patologia grave causadora de uma doença pandêmica, ainda sem tratamento específico o CEP da Unifesp encaminhou o projeto para apreciação do Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) em 31 de julho de 2020.

4.2.2 Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

Ao ser avaliado pelo CONEP, a comissão julgou que a proposta terapêutica contida no projeto apresentava potencial de riscos moderados a severos, incluindo risco de óbito. Para segurança dos pacientes e de todos os envolvidos o CONEP, em 21 de agosto de 2020, exigiu que se constituísse um Comitê Independente de Monitoramento de Dados de Segurança (*Data and Safety Monitoring Board* - DSMB) para acompanhar e balizar todas as etapas da pesquisa.

4.2.3 Comitê Independente de Monitoramento de Dados de Segurança (DSMB)

Para a constituição do DSMB foram seguidos todos os passos das Diretrizes Operacionais para o Estabelecimento e o Funcionamento de Comitês de Monitoramento de Dados e de Segurança, implementadas pelo Ministério da Saúde e Organização Mundial da Saúde.

Foi elaborado o Estatuto normativo regendo todas as atribuições específicas do comitê e apresentado ao CONEP no dia 20 de setembro de 2020. O DSMB tem a função de avaliar e revisar sistematicamente os dados de segurança clínica durante todo o estudo; avaliar relatórios cumulativos sobre efeitos adversos sérios; apresentar recomendações sempre que o Comitê constituído com total independência entender como pertinente, necessário e até mesmo urgente.

O DSMB é um grupo multidisciplinar independente, constituído por, pelo menos, três membros. Para a seleção dos membros do comitê foram seguidos os seguintes critérios de elegibilidade:

Critérios de inclusão:

- Possuir vasta experiência clínica
- Possuir vasta experiência em pesquisa clínica
- Ser reconhecido no meio acadêmico por sua contribuição à ciência
- Ser um profissional libado
- Possuir conhecimento de ética em pesquisa
- Possuir conhecimento de estatística

Critérios de não inclusão

- Sem vínculo com o patrocinador
- Sem vínculo com o comitê de ética em pesquisa,
- Sem vínculo com autoridades regulatórias
- Sem vínculo com os participantes dos centros de pesquisa.

- Sem qualquer tipo de conflito de interesse envolvendo a pesquisa

Após a constituição do DSMB e elaboração do Estatuto do DSMB, foi enviado ao CONEP obtendo sua aprovação em 30 de outubro de 2020 (Apêndice 1). O estudo seguiu rigorosamente as determinações da Resolução 466/12, do Conselho Nacional de Saúde, que dispõe sobre diretrizes e normas que regulamentam a pesquisa envolvendo seres humanos, e o paciente piloto foi incluído no estudo após concordância e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) por seus familiares.

4.3 Treinamento de lipoaspiração

Para a determinação dos pontos de referência da área doadora de gordura e para padronização da técnica de lipoaspiração, foi realizado um treinamento no dia 22 de agosto de 2020 no Laboratório de Cirurgia Translacional I da Unifesp. Para padronização da técnica de lipoaspiração foi utilizado uma peça de porco. Foram realizadas simulações de infiltração de solução de SF 0,9% com adrenalina em plano subcutâneo e na sequência a simulação e padronização dos movimentos em leque e o plano de passagem da cânula para a coleta da gordura. Foi determinado a coxa como área doadora e estabelecido os pontos de incisão, de 0,5 cm até o plano subcutâneo com bisturi lâmina nº15 na prega inguinal bilateral, no ponto médio entre a espinha ilíaca antero-superior e o pube para possibilitar a lipoaspiração do tecido adiposo da região interna da coxa. Foi criado um *check-list* com todos os materiais e insumos necessários para a coleta da gordura na UTI a ser checado um dia antes da coleta.

4.4 Treinamento para obtenção da FVE

No dia 27 de setembro de 2020 foi realizado treinamento no Laboratório de Cirurgia Translacional I da Unifesp para padronizar todas as etapas do processo de digestão enzimática da gordura até a obtenção da FVE. Foram cronometrados os tempos

de cada etapa, as quantidades de cada agente envolvido na digestão enzimática, diagnosticados as falhas e dificuldades encontradas durante o processo e criado um *check-list* de todos os materiais e etapas necessários para o processamento da gordura e obtenção da FVE.

4.5. Casuística do estudo

Serão selecionados 36 pacientes, divididos em dois grupos:

Grupos estudo: 1. Grupo FVE (18 pacientes): Os pacientes elegíveis serão submetidos à coleta de gordura (lipoaspiração) sob anestesia local e administração das células da FVE, via endovenosa.

Grupo tratamento padrão: (18 pacientes): mesmas condições clínicas dos pacientes, sem procedimento cirúrgico e sem administração da FVE.

4.5.1. Randomização e aleatorização

A randomização será realizada através do site *randomization.com*. A razão de alocação será de 1:1 e restritiva por blocos. O tamanho dos blocos será mantido em sigilo. O sigilo de alocação será mantido através do uso de envelopes opacos, selados, numerados em série, revelados após a inclusão do paciente no estudo.

4.5.2. Seleção:

Para a seleção do paciente serão considerados os seguintes critérios de elegibilidade:

Critérios de inclusão:

- Infecção por SARS-CoV-2 (COVID-19) comprovada por RT-PCR
- Idade entre 18 e 75 anos;
- Necessidade de ventilação mecânica;
- Apresentação da forma crítica da COVID-19

1) Tempo: Paciente com piora dos sintomas respiratórios resultando em intubação orotraqueal há no máximo 1 semana.

- 2) Radiografia ou tomografia de tórax: Opacidades bilaterais – não completamente explicadas por derrames pleurais, colapso lobar ou pulmonar ou nódulos
- 3) Origem do edema: Insuficiência respiratória não totalmente explicada por falência cardíaca ou sobrecarga de volume
- 4) Oxigenação:

Critérios de não inclusão:

- Alta esperada da UTI dentro de 48 horas após o segundo dia;
- Gravidez ou lactação;
- Participação em outro estudo clínico intervencionista capaz de alterar a resposta do paciente à aplicação de FVE;
- Pacientes com infecções virais por outros agentes etiológicos que não são SARS-CoV-2;
- Outras doenças de acometimento do trato respiratório com testagem negativa para COVID-19;
- IMC < 20 ou > 40 kg/m²;
- Presença de neoplasia maligna ativa (exceto câncer de pele não melanoma);
- Tromboembolismo venoso recebendo anticoagulação atualmente ou nos últimos 3 meses;
- Paciente recebendo suporte de vida extracorpóreo (ECMO);
- Paciente com plaquetopenia . Plaquetas < 100.000 plaq/μL;
- Pacientes com doença hepática crônica grave (Child-Pugh > 12);
- Pacientes em cuidados paliativos;
- Pacientes em que os familiares recusam assinar o TCLE;
- Paciente imunossuprimido;
- Paciente em diálise;

Critérios de exclusão:

- Pacientes que evoluírem para extubação, alta da UTI, alta hospitalar ou óbito antes da realização da coleta da gordura;
- Previsão de extubação, alta da UTI ou alta hospitalar em menos de 24h após a injeção de FVE.
- Pacientes em que os familiares retirem seu consentimento em qualquer etapa do estudo.

4.6 Autorização dos familiares

Por se tratar de uma terapia aplicada a pacientes graves que estarão sedados e em intubação orotraqueal, o consentimento para inclusão no estudo será feita pelos familiares do paciente. Devido a pandemia será proibido a visitação presencial dos familiares na UTI. Assim que o paciente preencha os critérios de elegibilidade, o pesquisador fará contato telefônico com os familiares explicando o estudo com seus potenciais riscos e benefícios. Caso os familiares aceitassem a inclusão do paciente, eles receberão o TCLE por e-mail, assinarão e o reenviarão. Recebido o e-mail com o aceite dos familiares o paciente era incluído no estudo.

4.7. Procedimentos:

4.7.1. Procedimento operatório

O paciente será submetido à coleta da gordura por meio da lipoaspiração sob anestesia local com infiltração prévia de solução de 120 ml de soro fisiológico contendo 10 ml de lidocaína a 2% e 0,25ml de 1 ampola de adrenalina de 1mg/ml. O procedimento será realizado pelo mesmo cirurgião plástico membro especialista da Sociedade Brasileira de Cirurgia Plástica e com treinamento adequado para a realização de lipoaspirações. Será realizada incisão de 0,5 cm até o plano subcutâneo com bisturi lâmina nº15 na prega inguinal bilateral, no ponto médio entre a espinha íliaca antero-superior e o pube para possibilitar a lipoaspiração do tecido adiposo da região interna da coxa. A lipoaspiração será realizada após 10 minutos da infiltração com cânula de 3 mm acoplada a seringa de 60 ml. Serão coletados 120ml de lipoaspirado. O fechamento da incisão cutânea será realizado com nylon 5-0 por meio de 2 pontos separados e realizado um curativo compressivo com *opside*.

A cicatrização das incisões e a área de coleta serão avaliadas diariamente por 7 dias, realizando higiene da ferida com soro fisiológico 0,9% e curativos diários, observando desenvolvimento de qualquer intercorrência relacionada ao procedimento (hematoma, seroma, irregularidades cutâneas, trombose, infecção). Os pontos serão retirados no 7º dia após o procedimento.

As seringas serão colocadas em saco estéril, transportadas em caixa de transporte de material biológico em posição vertical, por um tempo aproximado de 40 minutos e entregues ao pesquisador responsável pelo processamento, que aguardará no laboratório *Good Manufacturing Practices (GMP) (Colsan)*.

4.7.2. Processamento e Extração das células da FVE

O tecido adiposo será processado, aproximadamente, 1 hora após sua coleta. As seringas serão levadas para laboratório GMP e o tecido processado de forma estéril em cabine de fluxo laminar (*Class IIA B3, Form Scientific*) de acordo com as boas práticas da Colsan para pesagem e manipulação. O lipoaspirado, será transferido para um tubo cônico (Corning®) estéril de 50ml. Após aferição de peso e volume da gordura obtida, será realizada lavagem com solução de PBS pré-aquecida a 37⁰C de na proporção de 2:1. Para a digestão enzimática será utilizada colagenase tipo I a 0,02% que será preparada no momento do processamento (1mg de colagens tipo I para 1ml de tecido) e colocado em incubadora/agitadora (Tecnal, TE-420) a 37⁰C por 60min. Após este período, o material digerido será centrifugado a 1300rpm (Centrífuga Excelsa II – Fanem - 206BL) por 5 minutos. Após, a solução será ressuspensa e agitada levemente na agitadora (Vortex-Genie 2 – *Scientific Industries*) e a centrifugação repetida. A seguir será realizada a aspiração do sobrenadante e coletada a FVE representada pelo precipitado celular. O número de células de FVE células/ml será determinado por contador automático (Contess – Thermo Scientific, FL, EUA), após técnica de exclusão por Azul de Tripan (10µl suspensão celular com 10µl azul de tripan) e transferido para o contador automático. O número médio de células (número de células/ ml), porcentagem de viabilidade, rendimento ou produção celular total (número total de células / ml de tecido adiposo) e porcentagem de produção de células vivas (número de células vivas/ ml tecido adiposo) de cada amostra serão analisados de forma independentes em triplicada. O precipitado será então ressuspensa em 2ml do soro do paciente e transferido dentro da seringa de 5 ml em temperatura ambiente para uso clínico.

4.7.3. Injeção endovenosa das células da FVE

Uma bolsa de 250 mL de SF0,9% será posicionada em suporte de soro 1 metro acima da altura do leito do paciente e a seringa de 5 ml contendo a FVE será injetada na bolsa de soro.

A seguir será realizada a retirada da tampa de oclusão de cateter venoso central e feita antisepsia da via de administração do cateter com álcool 70%. Equipo de soro estéril será conectado à bolsa contendo FVE e ao acesso venoso. A infusão da solução se dará em 30 minutos.

Será realizada observação presencial contínua do paciente nas primeiras 24 horas seguintes ao procedimento avaliando o desenvolvimento de efeitos adversos: reação de hipersensibilidade, febre, necessidade de aminas vasoativas, arritmias cardíacas, eventos tromboembólicos, necessidade de alteração de parâmetro ventilatório, óbito.

4.7.4. Riscos da injeção endovenosa de FVE e da lipoaspiração

O paciente será monitorizado após a injeção de FVE para detecção de possíveis efeitos adversos. Os riscos nas primeiras 24 horas da infusão endovenosa de células-tronco mesenquimais são a adição de um terceiro vasopressor ou um aumento da dose de vasopressores; a hipoxemia que possa vir a levar a um aumento na fração de oxigênio inspirado $\geq 0,2$ e um aumento do nível de pressão positiva expiratória final das vias aéreas de ≥ 5 cmH₂O para manter saturações transcutâneas de oxigênio na faixa de 88 a 95%; uma nova arritmia cardíaca que possa requerer cardioversão; nova taquicardia ventricular, fibrilação ventricular ou assistolia; um cenário clínico consistente com incompatibilidade transfusional; parada cardíaca ou morte dentro de 24 horas após a infusão da FVE.

Outro evento que pode acontecer é a trombose vascular, pois as células-tronco estimulam a produção endotelial de fatores pró-coagulantes, podendo ocorrer embolia pulmonar (MOLL *et al.*, 2012; MOLL *et al.*, 2015). Eventos trombóticos podem acometer

outros órgãos, como cérebro (acidente cerebrovascular isquêmico) e coração (infarto agudo do miocárdio) (TOYSERKANI *et al.*, 2017).

O procedimento de lipoaspiração também configura um risco para eventos tromboembólicos, bem como para formação de seroma, hematoma, irregularidades e infecções (SOUZA *et al.*, 2018).

O desenvolvimento de efeitos adversos será avaliado diariamente seguindo a graduação definida pelo *U.S. Department Of Health And Human Services* no *Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 5.0* que contempla a avaliação de todas as intercorrências citadas.

4.8. Desfechos do estudo:

4.8.1. Desfechos primários

- 1) Avaliar a aceitabilidade dos familiares dos pacientes quanto a inclusão no estudo.
- 2) Identificar as barreiras e normas para a não aceitação de participação no estudo
- 3) Identificar as dificuldades encontradas com a logística da coleta, preparação e infusão da FVE

4.8.2. Desfechos secundários

Os desfechos secundários p este estudo de viabilidade/piloto foram definidos de acordo com a publicação do *Working Group on the Clinical Characterisation and Management of COVID-19 infection* da Organização Mundial de Saúde (OMS) que preconiza a análise de três itens:

- 1) Negativação do RT-PCR para SARS-CoV-2 coletado por swab nasofaríngeo
- 2) Mortalidade
- 3) Escala de Progressão Clínica da OMS, avaliada com 7 e 28 dias (Quadro1)

Parâmetros clínicos: tempo de hospitalização, tempo livre de ventilação mecânica, tempo de permanência na UTI, dados vitais (aferição de temperatura axilar; frequência cardíaca, frequência respiratória e oximetria de pulso e parâmetros da ventilação mecânica (PEEP, pO₂ e FiO₂)

Parâmetros laboratoriais: função renal, hepática e enzimas cardíacas, marcadores de inflamação (leucocitose, linfopenia, ferritina, D-dímero, PCR, lactato desidrogenase) e gasometria arterial.

Parâmetros radiológicos: Achados tomográficos conforme descrito previamente.

Quadro 1. Escala de Progressão Clínica da OMS

Estado clínico do paciente	Descritor	Escore
Não infectado	Não infectado, RNA viral não detectado	0
Doença leve, ambulatorial	Assintomático, RNA viral detectado	1
	Sintomático, independente	2
	Sintomático, necessita de assistência	3
Doença moderada, paciente hospitalizado	Hospitalizado, sem oxigênio suplementar	4
	Hospitalizado, oxigênio por máscara ou cateter nasal	5
	Hospitalizado, oxigênio por ventilação não invasiva ou em alto fluxo	6
	Intubação e ventilação mecânica pO ₂ /FiO ₂ ≥150 ou SpO ₂ /FiO ₂ ≥200	7
	Ventilação mecânica pO ₂ /FIO ₂ <150 (SpO ₂ /FiO ₂ <200) ou droga vasoativa	8
	Ventilação mecânica pO ₂ /FIO ₂ <150 e droga vasoativa, diálise ou ECMO	9
Óbito	Óbito	10

4.7. Registro:

O ensaio clínico foi registrado na plataforma International Clinical Trials Registry Platform com identificador WHO ICTRP (UTN): U1111-1264-4415, disponível em: www.apps.who.int/utn/utnvalid.aspx.

5. RESULTADOS

Foram desenvolvidos *check-lists* de todas as etapas para realizar o procedimento com a terapia proposta, incluindo o *check-list* dos materiais necessários para a coleta da gordura na UTI (Quadro 1), *check-list* dos equipamentos (Quadro 2) e materiais e insumos necessários para o processamento da gordura no laboratório GMP (Quadro 3), *check-list* para acessórios e insumos utilizados para a injeção da FVE no paciente da UTI (Quadro 4). Foram criadas também fichas de avaliações incluindo a ficha de avaliação clínica diária (Quadro 5), ficha de avaliação das intercorrências da lipoaspiração (Quadro 6) e avaliação de efeitos adversos da injeção da FVE (Quadro 7).

Quadro 1. *Check-list* de materiais para coleta de gordura do paciente na UTI

ITEM VERIFICADO	Checado
Caneta de marcação cirúrgica de cor preta	
4 Campos estéreis	
2 Capotes estéreis	
2 Luvas estéreis	
2 Gorros cirúrgicos	
2 Máscaras N95	
2 Face shields	
3 pacotes de gaze estéril 7,5 x 7,5cm (10un)	
1 Frasco de clorhexidina alcóolica	
1 Caixa de cirurgia de pequeno porte	
1 Cânula de Klein esterilizada	
1 Microcânula de aspiração número 2 esterilizada	
1 Seringa de 3ml	
3 Seringas de 60ml	
1 Agulha 40 x12	
1 Agulha 13 x 4,5	
1 Fio de Nylon 5.0	
1 Lâmina de bisturi número 15	
1 Frasco de soro fisiológico 0,9% 250ml	
1 Ampola de adrenalina 1mg/ml 1ml	
2 Frascos de lidocaína 2% sem vasoconstritor	
1 Rolo de micropore	
2 Tubos de coleta de sangue	

Quadro 2. *Check-list* para equipamentos necessários para o processamento da gordura no laboratório GMP

ITEM VERIFICADO	Checado
Balança analítica de precisão	
Capela de Fluxo laminar classe II/A2	
Centrífuga para tubos 15 e 50mL	
Micropipetas automáticas (200uL)	
Pipetador automático	
Microscópio óptico	
Hemocitometro automático	
Banho-maria (37°C) com beads	
Freezer -20°C	
Freezer -80°C	

Quadro 3. *Check-list* de materiais e insumos necessários para o processamento da gordura no laboratório GMP

ITEN VERIFICADO	Checado
Tubos fundo cônico estéreis de 15 e 50mL	
Pipetas sorológicas estéreis (5 e 10mL)	
Seringa de 10 e 50mL	
Filtro para seringa 0,22um	
<u>Cell strainer</u> 100um	
Pipetas Pasteur descartáveis e estéreis	
Ponteiras de 1000 e 200uL estéreis	
<u>Criotubos</u>	
Etanol 70%	
<u>Colagenase</u> Tipo I liofilizada	
Solução de Albumina humana 20%	
Cloreto de Cálcio <u>di-hidratado</u> em pó	
Tampão fosfato (PBS) pH 7,4 estéril	
Di-metil-sulfóxido (DMSO)	
Solução de <u>Azul de Tripán</u>	

Quadro 4. *Check-list* para acessórios e insumos utilizados para a injeção da FVE no paciente da UTI

MATERIAIS	Verificado
2 Capotes estéreis	
2 Luvas estéreis	
2 Gorros cirúrgicos	
2 Máscaras N95	
2 <u>Face shields</u>	
1 <u>un</u> de SF0,9% 250 ml	
Agulha 30x12mm	
1 seringa de 5 ml	
<u>Alcool</u> 70%	

Quadro 5. Ficha de avaliação clínica diária

IDENTIFICAÇÃO		
Nome:		RH:
Data de Nascimento:	Idade:	Sexo:
Peso:	Altura:	IMC:
Raça:		
Município de <u>residência</u> :		Profissão:
Data de inclusão no estudo:		
Data de internação:		
Data de admissão na UTI:		
Data de início dos sintomas:		
<u>Comorbidades</u> :		
Medicamentos em uso:		
Tabagismo	Sim ()	Não ()

PROPEDEÚTICA	
<u>Hb</u>	
<u>Htc</u>	
GL	
Linfócitos	
Monócitos	
Segmentados	
Bastões	
Plaquetas	
Creatinina	
<u>Uréia</u>	
TGP	
TGO	
PCR	
<u>Blirrubinas</u> (total e direta)	
D-dímero	
<u>Ferritina</u>	
CK	
<u>Troponina</u>	
Potássio	
Sódio	
RNI	
<u>TTPa</u>	
LDH	

AVALIAÇÃO CLÍNICA	
Frequência respiratória (<u>irpm</u>)	
Frequência cardíaca (<u>bpm</u>)	
Saturação de oxigênio (%)	
Temperatura corporal (mínima e máxima)	
Droga vasoativa (sim ou não e dose)	
PEEP	
FiO2	
pH	
pCO2	
PaO2	
HCO3	
Lactato	
paO2/FiO2	
<u>Extubação</u> (sim ou não)	
Óbito (sim ou não)	
Alta da UTI (sim ou não)	
Alta hospitalar (sim ou não)	

Quadro 6. Ficha de avaliação das intercorrências da lipoaspiração

INTERCORRÊNCIAS APÓS LIPOASPIRAÇÃO						
	Ausente	Grau 1	Grau2	Grau 3	Grau 4	Grau 5
Hematoma	()	() Sintomas leves; intervenção não indicada	() Evacuação minimamente invasiva ou aspiração indicada	() Transfusão; intervenção invasiva indicada	() Intercorrências com risco de vida; indicação de intervenção urgente	() Morte
Seroma	()	() Assintomático; Observação clínica ou diagnóstica apenas; intervenção não indicada	() Sintomático; aspiração simples indicada	() Sintomático, intervenção invasiva indicada	-	-
Irregularidades	()	() Assintomático ou Sintomas leves; Observação clínica ou diagnóstica apenas; intervenção não indicada	() Moderado; intervenção não invasiva mínima ou local indicada	() Grave ou clinicamente significativo mas não imediatamente fatal; hospitalização ou prolongamento da internação, intervenção indicada	() Com risco de vida consequências; urgente intervenção indicada	() Morte
Evento tromboembólico	()	() Intervenção médica não indicada (por exemplo, trombose superficial)	() Intervenção médica indicada	() Intervenção médica urgente indicada (por exemplo, embolia pulmonar ou intracardíaca)	() Com risco de vida, instabilidade hemodinâmica ou neurológica	() Morte
Infecção de partes moles	()	()	() Localizada: tratamento oral (antibiótico, antifúngico ou antiviral)	() Indicação de tratamento endovenoso ou invasivo	() Ameaça à vida, necessidade de intervenção urgente	() Morte

Quadro 7. Ficha de avaliação das intercorrências da injeção da FVE

INTERCORRÊNCIAS APÓS INJEÇÃO ENDOVENOSA DE FVE						
	Ausente	Grau 1	Grau2	Grau 3	Grau 4	Grau 5
Evento tromboembólico	()	() Intervenção médica não indicada (por exemplo, trombose superficial)	() Intervenção médica indicada	() Intervenção médica urgente indicada (por exemplo, embolia pulmonar embolia ou intracardiaca)	() Com risco de vida; instabilidade hemodinâmica ou neurológica	() Morte
Reação de hipersensibilidade	()	() Sem necessidade de tratamento sistêmico	() Indicação de intervenção via oral	() Broncoespasmo; necessidade de intervenção endovenosa	() Risco de vida; necessidade de intervenção urgente	() Morte
Febre	()	() 38-39° C	() 39,1-40° C	() >40° C por <24h	() >40° C por >24h	() Morte
Arritmias cardíacas	()	() Assintomática; sem indicação de intervenção	() Intervenção indicada sem urgência	() Sintomática ou não controlada com medicação; intervenção urgente indicada	() Risco de vida; necessidade de intervenção urgente	() Morte
Necessidade de aminas vasoativas ou de alteração de dose	Amina vasoativa (antes da FVE): Noradrenalina Dose: 3ml/h _____ Dose _____ _____ Dose _____			Amina vasoativa (após injeção de FVE): Noradrenalina Dose: 3- 1- 0 ml/h _____ Dose _____ _____ Dose _____		
Necessidade de alteração de parâmetros ventilatórios	Antes do procedimento: PEEP: 12 FiO2: 45 Relação PaO2/FiO2: 378			Após o procedimento: PEEP: 12- 10- 8 FiO2: 40 Relação PaO2/FiO2: 194		

Após o convite feito pela Profa Lydia Masako Ferreira e o aceite para participarem como membros do DSMB e ter estabelecido o Estatuto (Apêndice 2) o DSMB teve a seguinte composição e as seguintes competências:

- 1. Presidente do DSMB:** Representado pelo Médico Endocrinologista Prof. Dr. Luiz Armando Cunha de Marco responsável pela coordenação das reuniões e atividades, comunicação oficial com o Pesquisador Responsável, voto de Minerva nos pleitos em que se seja necessário um desempate para tomada de decisão do DSMB, designar atividades aos membros auxiliares e assinar como representante principal os documentos, relatórios e recomendações (pareceres) emitidos pelo

DSMB;

2. **Membro Auxiliar do DSMB:** Representado pelo Médico Pneumologista, Prof Dr. José Roberto Lapa e Silva que analisa os dados dos pacientes incluídos no presente estudo clínico, e reporta ao DSMB as informações necessárias para orientar e direcionar a conduta do DSMB;
3. **Membro Auxiliar do DSMB:** Representado por Médica com extensa experiência em pesquisa clínica, Profa Dra. Iscia Terezinha Lopes Cendes que tem a responsabilidade de organizar todas as informações e apresentá-las ao DSMB como documento a ser validado para apresentação ao CONEP.
4. **Membro Auxiliar do DSMB:** Representado pela Bioestatística, Profa Dra. Yara Julia tem a responsabilidade realizar a validação estatística de todos os dados a serem considerados na elaboração dos relatórios, e ainda secretariar as reuniões do DSMB e formalizá-las através de ata oficial, que deverá ser revisada, aprovada e assinada por todo os integrantes do DSMB.
5. **Membro Auxiliar do DSMB:** Representado por Médico, Prof. Dr. Virgínio Cândido Tosta de Souza com extensa experiência em Bioética, que avalia os aspectos bioéticos no decorrer da pesquisa, tais como manutenção do estudo ou interrupção do mesmo.

Foi realizado uma reunião no dia 26 de fevereiro de 2021 com todos os membros do DSMB e os integrantes do grupo de pesquisa. Foram questionados alguns pontos de eventual viés e ajustado o projeto conforme determinação do DSMB.

No dia 05 de maio de 2021 foi incluído o primeiro paciente do grupo intervenção. Nesta época as diretrizes para terapia avançada eram regidas pela RDC n⁰

255 que exigia apenas a aprovação do CONEP, não sendo necessário a aprovação pela ANVISA.

A primeira família abordada, via telefone, não autorizou a inclusão do paciente alegando ser arriscado realizar um tratamento novo e invasivo em um paciente grave. A segunda família abordada autorizou a inclusão do paciente após o esclarecimento de todos os riscos e benefícios inerentes à nova terapia.

O paciente incluído no estudo foi internado no Hospital São Paulo no dia 05/05/2021 com diagnóstico confirmado de COVID-19 por exame RT-PCR e a Tomografia de Tórax realizada em 06/05/2021 mostrava múltiplas opacidades em vidro fosco difusas e bilaterais acometendo 25-50% dos pulmões. Foi intubado e admitido na UTI no dia 08/05/2021. Foi administrado a FVE intravenosa no dia 12/05/2021.

Com relação à logística para a realização da terapêutica, não houve dificuldade de coleta da gordura na parte interna da coxa do paciente e houve pequena equimose no local da coleta da coxa direita um dia após coleta, com regressão espontânea no sétimo dia. Após a obtenção de 120 ml de gordura o transporte do material até o Laboratório GMP foi de 35 minutos sem intercorrências e todo o processamento enzimático foi efetivo resultando em $4,2 \times 10^6$ células viáveis. O tempo entre coleta, transportes e infusão foi de quatro horas.

Não houve eventos tromboembólicos, alteração no ritmo e frequência cardíaca e houve diminuição das doses de vasopressores até a suspensão do mesmo devido à estabilidade hemodinâmica. Foi avaliado diariamente e seus dados tabulados na Ficha Catalográfica de Avaliação Clínica e Laboratorial Diária (Apêndice 3). Seguindo a Escala de Progressão Clínica da OMS o paciente foi de um score de 9/10 para 1/10 em 8 dias após a terapia com FVE. O paciente evoluiu com melhora dos padrões respiratórios e foi extubado cinco dias após o tratamento no dia 17/05/2021, recebeu alta da UTI no dia 19/05/2021 e alta hospitalar dia 22/05/2021. Apesar da melhora clínica não houve

alteração no padrão tomográfico realizado no dia 20/05/2021 e o RT PCR se manteve-se positivo no dia da alta hospitalar.

6. DISCUSSÃO

A COVID-19, doença causada pelo vírus SARS-Cov-2 trouxe uma pandemia sem precedentes na atualidade, causando, até o momento, 4,4 milhões de mortes em todo o mundo (<https://www.worldometers.info/coronavirus/>).

O SARS-Cov-2 promove uma inflamação sistêmica ocasionada pela liberação de múltiplas citocinas e mediadores inflamatórios como TNF α , Interleucinas 1 e 6. Os pulmões estão entre os principais órgãos acometidos e caso o processo inflamatório persista há a formação de uma membrana hialina que prejudica a troca gasosa levando o paciente a Síndrome da Angústia Respiratória Aguda (SARA) consequentemente necessitando de intubação e UTI (GENTILE & STERODIMAS, 2020; LENG, ZHU, HOU, 2020; SOHRAIB *et al.*, 2020; ZHOU *et al.*, 2020).

Apesar dos avanços alcançados com o desenvolvimento das vacinas, os pacientes que contraem a doença e evoluem para um quadro de SARA não possuem tratamentos específicos que não o suporte respiratório e uso de corticoides (HALPIN *et al.*, 2020)

A FVE é um *pool* de células extraído do tecido adiposo por processo enzimático e contém células-tronco mesenquimais, pericitos, células progenitoras endoteliais, macrófagos M2 anti-inflamatórios e linfócitos T. As principais ações da FVE são pró-angiogênicas, antiapoptótica, antifibrótica, imunomoduladora, anti-inflamatória e trófica. Algumas dessas ações podem ser atribuídas à presença de células-tronco (2-10%), enquanto outros estão associados ao nicho vascular e, alternativamente, às interações e *crossstalk* entre todos os fenótipos celulares presentes no FVE (ANDIA & BURGOS, 2019).

Devido à presença de células-tronco e diversas células do sistema imunológico a FVE passou a ser investigada em diversas situações clínicas como no infarto do miocárdio, Doença de Peyronie, incontinência urinária, esclerose sistêmica e doenças pulmonares (CHOI et al., 2016; COMELLA et al., 2016; COMELLA et al., 2017; DAUMAS et al., 2017; HENRY et al., 2017)

O primeiro relato do uso endovenoso da FVE ocorreu em 2009. Foi realizado terapêutica intravenosa e intratecal da FVE em três pacientes com Esclerose Múltipla sintomáticos. Não houve nenhum efeito adverso relatado durante ou após a infusão. Apesar do resultado não ser conclusivo devido ao pequeno número de participantes, todos envolvidos apresentaram melhora clínica dos sintomas neurológicos. (RIORDAN et al., 2009)

Tzouvelekis et al., administraram FVE em 14 pacientes portadores de Fibrose Pulmonar Idiopática e foram os primeiros a relatar o uso da FVE em uma patologia pulmonar. Administraram nos lobos inferiores dos pulmões, por meio de um broncoscópio flexível, $0,5 \times 10^6$ células/kg de FVE em dose única. Ao observar os efeitos adversos constataram que dois pacientes apresentaram piora da tosse e dispneia acompanhada de azia, dessaturação de oxigênio e aumento da frequência cardíaca logo após a primeira infusão. Sete dos pacientes apresentaram febre transitória (24hrs) após cada infusão. Apesar das intercorrências relatadas não houve nenhum evento fatal e não houve piora da performance respiratória dos pacientes, concluindo os autores que esta modalidade terapêutica se mostrava segura e replicável. (TZOUVELEKIS et al., 2013)

Em 2017 COMELLA et al., administraram pela primeira vez a FVE de forma endovenosa em 12 pacientes com Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica. Foram injetadas $150-300 \times 10^6$ células 1 vez por semana no 1º mês; 1 vez por mês durante 11 meses. Não foram relatadas reações adversas durante e após a aplicação da FVE e os pacientes

referiram melhora da qualidade de vida após 3 e 6 meses segundo St. George Respiratory Questionnaire (SGRQ).

Alguns estudos até o momento mostraram a viabilidade da administração intravenosa de células-tronco derivadas de tecido adiposo em patologias pulmonares (ZHENG et al., 2014; NEJAD-MOGHADDAM et al., 2016; MARZOUNI et al., 2020) e estudos pré-clínico já demonstraram o tropismo dessas células para a circulação pulmonar (DETANTE, 2009)

O estudo em questão é o primeiro a propor utilização da FVE endovenosa para tratamento de pacientes intubados com SARA devido a COVID-19. Trata-se de um estudo de planejamento de viabilidade para se testar esta nova terapia com o potencial imunomodulador.

Para se realizar um estudo clínico envolvendo novas terapias com risco incerto ao ser humano, os comitês de ética cobram um extremo rigor de segurança pensando no bem-estar e segurança do paciente, em consonância com a Declaração de Helsinque. Para que se possa iniciar um estudo envolvendo FVE endovenoso em um paciente crítico deve-se passar por uma série de avaliações éticas por órgãos competentes. Além do Comitê de ética local há também a necessidade de aprovação de órgão de competência nacional, que é o CONEP. Adicionalmente, é necessário a criação e a supervisão de um Comitê Independente de Monitoramento de Dados de Segurança (*Data and Safety Monitoring Board- DSMB*). Os DSMBs são exigidos sempre que a pesquisa envolva terapias para salvar vidas, prevenir a progressão de doenças graves ou reduzir o risco de um efeito adverso sério.

Para a constituição do DSMB foram selecionados pesquisadores prementes nas áreas de atuação clínica, ética e estatística. A contribuição de cada membro é fundamental para apontar possíveis vieses antes mesmo do início do estudo e principalmente identificar algum evento que possa ser danoso ou letal para o paciente em tratamento ou que se

submeterá ao tratamento. O recrutamento só foi iniciado após a reunião dos pesquisadores com os membros do DSMB e alguns pontos esclarecidos. Uma das questões levantadas por um dos membros do DSMB foi com relação a possível interferência positiva ou negativa que a corticoterapia, usada de rotina em todos os pacientes intubados com SARA na UTI do HSP/Unifesp, poderia ter na ação imunomoduladora da FVE. O caráter da influência não será respondido com este tipo de estudo, porém como ambos os grupos irão receber o mesmo tratamento padrão que inclui o corticoide, essa influência, caso haja, se fará tanto nos pacientes do grupo controle quanto nos pacientes que receberem a FVE.

Em ensaios clínicos a criação de *check-lists* são essenciais para a organização e a garantia de que tudo transcorrerá de acordo com o planejamento e para facilitar a tabulação dos dados coletados. No presente estudo foram mostrados todos os *check-lists* e formulários que serão usados na coleta da gordura, na extração da FVE, na injeção da FVE endovenosa e no acompanhamento clínico e de intercorrências relacionadas à lipoaspiração e à injeção da FVE. Todos os *check-lists* devem ser conferidos 2 dias antes do estudo à fim de se prevenir qualquer falha ou falta de insumo ou material, o que pode levar a perda da inclusão do paciente no estudo. No único caso realizado do grupo intervenção todos os *check-lists* foram checados previamente possibilitando a execução de todas as etapas da terapia sem qualquer imprevisto ou dificuldade. E com as fichas de avaliações todos os dados foram tabulados facilitando a análise que será feita a posteriori.

O treinamento e simulações prévias são partes essenciais de todo estudo clínico. É na simulação realística dos passos que se detecta falhas que passaram despercebidas na idealização e na escrita do projeto. Foi na simulação do processamento da gordura para extração da FVE, realizada no Laboratório de Cirurgia Translacional I da Unifesp que foi possível detectar alguns gargalos do projeto. O primeiro deles foi com relação à pesagem dos agentes utilizados para a digestão enzimática, onde foi padronizados kits de cada agente colocados dentro de *ependorfs* facilitando a preparação da solução. Segundo

ponto foi a adição de uma peneira estéril para facilitar a separação da gordura e da solução de PBS utilizado na lavagem da gordura. E outra alteração foi com relação a proporção de solução do FVE e do azul de tripan que era de 1:4 e foi alterado para 1:1 para que as células nucleadas viáveis pudessem ser visualizadas de forma mais nítida no microscópio e no contador automático para a contagem do número de células e da viabilidade celular.

Por se tratar de uma doença pandêmica afetou e afeta emocionalmente a toda população, em especial os familiares dos pacientes que precisam ser internados em UTI sob ventilação mecânica. Uma das preocupações do estudo será com relação à aceitação dos familiares para a inclusão dos pacientes no protocolo. Isso difere dos outros tipos de estudo de viabilidade como de COMELLA et al., 2017 e TZOUVELEKIS et al., 2013 que por atuarem em Doenças pulmonares crônicas não necessitaram de autorização de familiares, já que os próprios pacientes podiam consentir sua participação. Após a explicação de todos os riscos e dos potenciais benefícios de imunomodulação e dos indícios de segurança de estudos prévios que utilizaram FVE endovenosa (RIORDAN et al., 2009; COMELLA et al., 2017) será avaliado a porcentagem de aceitação de inclusão dos pacientes no estudo. Estes dados serão importantes para a programação de estudos com casuísticas maiores à fim de se estimar o número aproximado de familiares que se deve abordar para obter o número de pacientes determinados pelo estudo.

Será utilizado como local de coleta de tecido adiposo a coxa por ser, juntamente com a camada areolar do abdome, a região do corpo que possui maior concentração de células-tronco derivadas de tecido adiposo e de células da FVE (TSEKOURAS et al., 2017). Outra vantagem da coxa, em especial para pacientes graves, é ser uma área com menor risco de complicações advindas da aspiração dessa região, já que não apresenta estruturas potencialmente vitais tal como é o abdome. Dos estudos envolvendo FVE em patologias pulmonares, apenas o estudo de COMELLA et al. 2017 cita o local de coleta

da gordura, sendo o abdome e a coxa os locais de escolha sem explicitar o motivo da alternância das fontes da FVE.

Por se tratar de uma terapêutica ainda muito recente, não há na literatura uma dose padronizada e estabelecida para o número de células da FVE que se deva usar em patologias pulmonares para um efeito terapêutico esperado. Os dois estudos que utilizaram FVE neste tipo de condição clínica administraram $0,5 \times 10^6$ cel/kg (TZOUVELEKIS et al., 2013) e $150-300 \times 10^6$ células no total (COMELLA et al. 2017). Para calcular a dose a ser utilizada no estudo atual, será usada como referência a quantidade de gordura utilizada por Comella et al. por ser o trabalho com a metodologia mais parecido com o estudo proposto.

Para determinar a quantidade de soro fisiológico a ser infundido com a FVE e o tempo de infusão, utilizou-se como base o estudo de NEJAD-MOGHADDAM et al., 2016. Por se tratar de pacientes graves ambos os estudos se atentaram quanto ao balaço hídrico do paciente, devendo-se fazer volume de forma segura à fim de evitar sobrecarga hídrica e edema pulmonar. No presente estudo serão utilizados 250 ml de SF 0,9% infundidos durante 30 min e para se evitar sobrecarga hídrica. Diferentemente, no estudo de COMELLA et al., 2017, por se tratar de paciente ambulatoriais com DPOC foram administrados 1 litro de SF 0,9% no período de 2 horas.

Durante a infusão endovenosa da FVE no paciente piloto e durante todo o período de internação não foram observadas reação adversas. Não houve eventos tromboembólicos, alteração no ritmo e frequência cardíaca e houve diminuição das doses de vasopressores até a suspensão do mesmo devido à estabilidade hemodinâmica. Os padrões respiratórios melhoraram levando à extubação após 5 dias da infusão da FVE. Os achados de segurança deste estudo corroboram estudos com terapia avançada em patologias pulmonares endovenosa (MOGHADDAM et al., 2016; COMELLA et al., 2017; NTOLIOS et al., 2018; MARZOUNI et al., 2010). Diferente do estudo de

TZOUVELEKIS et al., 2013 cuja administração endobrônquia de FVE por meio de broncoscópico em 14 pacientes ocasionou piora da tosse e dispneia acompanhada de azia, dessaturação de oxigênio e aumento da frequência cardíaca logo após a primeira infusão em dois pacientes. E sete dos pacientes apresentaram febre transitória (24hrs) após cada infusão.

A utilização de FVE de forma clínica se configura como Terapia Avançada e até dia 26 de maio de 2021 era regida pela RDC nº 255, que previa a autorização de estudos com esse tipo de terapia assim que tivesse o aceite do CONEP. Dessa forma o caso piloto realizado em 12 de maio de 2020 estava amparado pela RDC citada. Porém, a partir de 27 de maio de 2021 houve uma atualização para a RDC nº 512 que prevê a necessidade de que todo estudo envolvendo Terapia avançada deva ser regulado pela ANVISA. A partir dessa atualização o grupo de pesquisa está reunindo toda documentação e dossiês necessários para submissão à ANVISA para que, após sua aprovação, o recrutamento dos pacientes restantes possam continuar.

A partir da experiência do caso piloto mostrando a factibilidade em se realizar a infusão endovenosa da FVE em pacientes com acometimento pulmonar grave por COVID-19, abre-se uma perspectiva otimista para a continuação do estudo realizando esta nova terapia nos pacientes restantes após aprovação da ANVISA.

7. CONCLUSÃO

Foi relatado o planejamento de viabilidade do uso da fração vascular estromal no tratamento de pacientes com doença pulmonar grave por COVID-19.

8. REFERÊNCIAS

Abdallah BM, Kassem M. Human mesenchymal stem cells: from basic biology to clinical applications. *Gene Therapy*. 2008; 15:109-16.

Andia I, Maffulli N, Burgos-Alonso N. Stromal vascular fraction technologies and clinical applications. *Expert Opin Biol Ther*. 2019;19(12):1289-1305.

Atalay S, Coruh A, Deniz K. Stromal vascular fraction improves deep partial thickness burn wound healing. *Burns*. 2014; 40(7):1375-83.

Banfi A, Bianchi G, Notaro R, Luzzatto L, Concedda R, Quarto R. Replicative aging and gene expression in long-term cultures of human marrow stromal cells. *Tissue Engineering*. 2002; 8:901-10.

Beahm EK, Walton RL, Patrick CW Jr. Progress in adipose tissue construct development. *Clin Plast Surg*. 2003;30(4):547-58

Caplan AL. Mesenchymal stem cells. *Journal of Orthopaedics Research*. 1991; 9:641-50

Carvalho-Júnior JDC, Zanata F, Aloise AC, Ferreira LM. Acellular dermal matrix in skin wound healing in rabbits - histological and histomorphometric analyses. *Clinics (Sao Paulo)*. 2021;(76):23-48

Cerruti Filho H, Kerkis I, Kerkis A, Tatsui NH, Costa Neves A, Bueno DF, da Silva MCP. Allogeneous bone grafts improved by bone marrow stem cells and platelet growth factors: clinical case reports. *Artificial Organs*. 2007; 31:268-73.

Choi JY, Kim TH, Yang JD, et al. adipose-derived regenerative cell injection therapy for postprostatectomy incontinence: A phase I clinical study. *Yonsei Med J*. 2016;57(5):1152-58.

Clarke AS, Hoskins NL, Jordan GR, Marsh DR. Healing of an ulnar defect using a proprietary TCP bone graft substitute, JAX, in association with autologous osteogenic cells and growth factors. *Bone* 2007; 40:939-47.

Comella et al. Effects of the intramyocardial implantation of stromal vascular fraction in patients with chronic ischemic cardiomyopathy. *J Transl Med.* 2016; 14:158-68.

Comella et al. Autologous Stromal Vascular Fraction in the Intravenous Treatment of End-Stage Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A Phase I Trial of Safety and Tolerability. *J Clin Med Res.* 2017(a) Aug;9(8):701-8

Comella et al. Safety Analysis of Autologous Stem Cell Therapy in a Variety of Degenerative Diseases and Injuries Using the Stromal Vascular Fraction. *J Clin Med Res.* 2017(b) Nov; 9(11):935-42

Costa CES, Pelegrine AA, Fagundes DJ, Simões MJ, Taha MO. Use of corticocancellous allogeneic bone blocks impregnated with bone marrow aspirate: A clinical, tomographic, and histomorphometric study. *General Dentistry.* 2011; 59:200-05.

Daumas A, Magalon J, Jouve E, Truillet R, Casanova D, Giraud L, Veran J, et al. Long-term follow-up after autologous adipose-derived stromal vascular fraction injection into fingers in systemic sclerosis patients. *Curr Res Transl Med.* 2017;65(1):40-43.

Halpin DMG, Singh D, Hadfield RM. Inhaled corticosteroids and COVID-19: a systematic review and clinical perspective. *Eur Respir J.* 2020;55(5):201-14.

Deng C, Wang L, Feng J, Lu F. Treatment of human chronic wounds with autologous extracellular matrix/stromal vascular fraction gel: A STROBE-compliant study. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(32):116-23

Didangelos T, Koliakos G, Kouzi K, Arsos G, Kotzampassi K, Tziomalos K, Karamanos D, Hatzitolios AI. Accelerated healing of a diabetic foot ulcer using autologous stromal vascular fraction suspended in platelet-rich plasma. *Regen Med.* 2018 Apr;13(3):277-81.

Fauci AS, Lane HC, Redfield RR. Covid-19 - Navigating the Uncharted. *N Engl J Med.* 2020 Mar 26;382(13):1268-69.

Fioretto JR, de Carvalho WB. Temporal evolution of acute respiratory distress syndrome definitions. *J Pediatr (Rio J).* 2013;89:523-30

Gaiba S, França LP, França JP, Ferreira LM. Characterization of human adipose-derived stem cells. *Acta Cir Bras*. 2012 Jul;27(7):471-6.

Gentile P, De Angelis B, Pasin M, et al. Adipose-derived stromal vascular fraction cells and platelet-rich plasma: basic and clinical evaluation for cell-based therapies in patients with scars on the face. *J Craniofac Surg*, 2014;25:267-72.

Gentile P, Casella D, Palma E, et al. Engineered Fat Graft Enhanced with Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction Cells for Regenerative Medicine: Clinical, Histological and Instrumental Evaluation in Breast Reconstruction. *J Clin Med*, 2019;12:8-23

Gentile P, Garcovich S. Concise Review: Adipose-Derived Stem Cells (ASCs) and Adipocyte-Secreted Exosomal microRNA (A-SE-miR) Modulate Cancer Growth and promote Wound Repair. *J Clin Med*, 2019;15:8-21

Gentile P & Sterodimas A. Adipose stem cells and stromal vascular fraction as potential therapy in combating (COVID19)-Disease. *Aging & Disease*. 2020;11(3):123-132

Gomillion CT, Burg KJ. Stem cells and adipose tissue engineering. *Biomaterials*. 2006;27(36):6052-63.

Gurevitch O, Kurkalli BGS, Prigozhina T, Judith K, Gaft A, Slavin S. Reconstruction of cartilage, bone, and hematopoietic microenvironment with demineralized bone matrix and bone marrow cells. *Stem Cells*. 2003; 21:588-97.

Hashimoto H, Kariya K, Miyazaki K. Regulation of proliferation and chondrogenic differentiation of human mensechymal stem cells by laminin-5. *Stem Cell* 2006; 24:2346-54.

Henry TD, Pepine CJ, Lambert CR, et al. The Athena trials: Autologous adipose-derived regenerative cells for refractory chronic myocardial ischemia with left ventricular dysfunction. *Catheter Cardiovasc Interven*. 2017;89(2):169-177.

Horwitz EM, Le Blanc K, Dominic M, Mueller J, Slaper-Cortenbach I, Marini FC. Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy

position statement. *Cytotherapy* 2005; 7:303-5

Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020; published online 24 January.

Huss FR, Kratz G. Adipose tissue processed for lipoinjection shows increased cellular survival in vitro when tissue engineering principles are applied. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 2002; 35(3):166-71.

Jaiswal N, Hayneswoth SE, Caplan AL, Bruder SP. Osteogenic differentiation of purified, culture-expanded human mesenchymal stem cells in vitro. *Journal of Cell Biochemistry.* 1997; 64:295-312.

Karagergou E, Dionyssopoulos A, Karayannopoulou M, Psalla D, Theodoridis A, Demiri E, Koliakos G. Adipose-derived stromal vascular fraction aids epithelialisation and angiogenesis in an animal model. *Wound Care.* 2018 Oct 2;27(10):637-44.

Kim SY, Kim MJ, Jung H, Kim WK, Kwon SO, Son MJ, Jang IS, Choi JS, Park SG, Park BC, Han YM, Lee SC, Cho YS, Bae BH. Comparative proteomic analysis of human somatic cells induced pluripotent stem cells, and embryonic stem cells. *Stem Cells Devices.* 2012; 20:1272-86

Kim WS, Park BS, Kim HK, Park JS, Kim KJ, Choi JS, Chung SJ, Kim DD, Sung J H. Evidence supporting antioxidant action of adipose-derived stem cells: protection of human dermal fibroblasts from oxidative stress. *J Dermatol Sci.* 2008; 49(2):133-42.

Leng Z, Zhu R, Hou W, et al. Transplantation of ACE2-mesenchymal stem cells improves the outcome of patients with COVID-19 pneumonia. *Aging Disease,* 2020;11:216-28.

Liu S, Zhang H, Zhang X, Lu W, Huang X, Xie H, Zhou J, Wang W, Zhang Y, Liu Y, Deng Z, Jin Y. Synergistic angiogenesis promoting effects of extracellular matrix scaffolds and adipose-derived stem cells during wound repair. *Tissue Eng Part A.* 2011; 17(6):725-39.

Lucarelli E, Donati D, Cenacchi A, Fornasari PM. Bone reconstruction of large defects using bone marrow derived autologous stem cells. *Transfusion and apheresis science.*

2004; 30:169-74

Marzouni ET, Dorcheh SP, Nejad-Moghaddam A, Ghanei M, Goodarzi H, Esmat SH, Madani H. Adipose-derived mesenchymal stem cells ameliorate lung epithelial injury through mitigation of oxidative stress in mustard lung. *Regen Med.* 2020;15(7):1861-1877

Moll G, Rasmusson-Duprez I, von Bahr L, Connolly-Andersen AM, Elgue G, Funke L, et al. Are therapeutic human mesenchymal stromal cells compatible with human blood? *Stem Cells* 2012;30:1565–74

Moll G, Ignatowicz L, Catar R, Luecht C, Sadeghi B, Hamad O, et al. Different procoagulant activity of therapeutic mesenchymal stromal cells derived from bone marrow and placental decidua. *Stem Cells Dev* 2015;24: 2269–79.

Munster VJ, Koopmans M, van Doremalen N, et al. A novel coronavirus emerging in China - key questions for impact assessment. *N Engl J Med*, 2020 in press.

Ntolios P, Manoloudi E, Tzouvelekis A, Bouros E, Steiropoulos P, Anevlavis S, Bouros D, Froudarakis ME. Longitudinal outcomes of Patients Enrolled in a Phase Ib Clinical Trial of the Adipose Derived Stromal Cells-Stromal Vascular Fraction in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Clin Respir J.* 2018;12(6):2084-89.

Pan F, Ye T, Sun P, Gui S, Liang B, Li L, Zheng D, Wang J, Hesketh RL, Yang L, Zheng C. Time Course of Lung Changes On Chest CT During Recovery From 2019 Novel Coronavirus (COVID-19) Pneumonia. *Radiology.* 2020 Feb 13 : 200370.

Prockop DJ, Oh JY. Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs): role as guardians of inflammation. *Mol Ther*, 2012;20:14-20.

Rehman J, Traktuev D, Li J, Merfeld-Clauss S. Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cell. *Circulation.* 2004; 109(10):1292-8.

Sakai S, Mishima H, Ishii T, Akaogi H, Yoshioka T, Uemura T, Ochiai N. Concentration of bone marrow aspirate for osteogenic repair using simple centrifugal methods. *Acta orthopaedical.* 2008; 79:445-8.

Smiler D, Soltan M, Lee JW. A histomorphogenic analysis of bone grafts augmented with adult stem cells. *Implant Dentistry*. 2007; 16:42-50

Soares M, Segreto H, Aloise A, Ferreira LM. Adipose derived stem cell on the regeneration of irradiated mandible of adult rabbit submitted to distraction osteogenesis. *Jour of Phar and Pharma*. 2018; 6:113-22.

Soltan M, Smiler D, Choi J. Bone marrow: orchestrated cells, cytokines, and growth factors for bone regeneration. *Implant Dentistry*. 2009; 18:132-41.

Sohrabi C, Alsafi Z, O'Neill N, et al. World Health Organization declares Global Emergency: A review of the 2019 Novel Coronavirus (COVID-19). *Int J Surg*, 2020;76:71-6.

Soukup T, Morky J, Karbanova J, Pytik R, Suchomel P, Kucerova L. Mesenchymal stem cells isolated from the human bone marrow: cultivation, phenotypic analysis and changes in proliferation kinetics. *Acta Medica*. 2004; 49:27-33

Souza GMC; Costa SM; Resende MHL; Sobral CS; Ferreira LM. Conduas em lipoaspiração entre cirurgiões brasileiros. *Rev. Bras. Cir. Plást*. 2018;33(2):181-6

Stephenne X, Nicastro E, Eeckhoudt S, Hermans C, Nyabi O, Lombard C, et al. Bivalirudin in combination with heparin to control mesenchymal cell procoagulant activity. *PLoS ONE* 2012;7:e42819

Tamri P, Hemmati A, Boroujerdnia MG. Wound Healing Properties of Quince Seed Mucilage: In Vivo Evaluation in Rabbit Full-Thickness Wound Model. *Int J Surg*. 2014;12(8):843-7.

Tan SS, Yeo XY, Liang ZC, Sethi SK, Tay SSW. Stromal vascular fraction promotes fibroblast migration and cellular viability in a hyperglycemic microenvironment through up-regulation of wound healing cytokines. *Exp Mol Pathol*. 2018 Jun;104(3):250-5.

Tay MZ, Poh CM, Renia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol*. 2020;20(6):363-374.

Toyserkani MN, Jørgensen MG, Tabatabaeifar S, Jensen CH, Sheikh SP, Sørensen JA. Concise Review: A Safety Assessment of Adipose-Derived Cell Therapy in Clinical Trials: A Systematic Review of Reported Adverse Events. *Stem Cells Translational Medicine*. 2017;6:1786–94

Tsekouras A, Mantas D, Tsilimigras DI, Moris D, Kontos M, Zografos GC. Comparison of the Viability and Yield of Adipose-Derived Stem Cells (ASCs) from Different Donor Areas. *In Vivo*. 2017 Nov-Dec;31(6):1229-34

Tzouvelekis A, Paspaliaris V, Koliakos G, et al. A prospective, non-randomized, no placebo-controlled, phase Ib clinical trial to study the safety of the adipose derived stromal cells-stromal vascular fraction in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Transl Med*. 2013;11:1-13.

U.S. Department Of Health And Human Services. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 5.0. 2017.

van Dongen JA, Harmsen MC, van der Lei B, Stevens HP. Augmentation of Dermal Wound Healing by Adipose Tissue-Derived Stromal Cells (ASC). *Bioengineering (Basel)*. 2018 Oct 26;5(4). pii: E91.

Wilson JG, Liu KD, Zhuo H, Caballero L, McMillan M, Fang X, Cosgrove K, Vojnik R, Calfee CS, Lee JW, Rogers AJ, Levitt J, Wiener-Kronish J, Bajwa EK, Leavitt A, McKenna D, Thompson BT, Matthay MA. Mesenchymal stem (stromal) cells for treatment of ARDS: a phase 1 clinical trial. *Lancet Respir Med*. 2015 Jan;3(1):24-32.

Yoshimura K, Sato K, Aoi N, Kurita M, Inoue K, Suga H, Eto H, Kato H, Hirohi T, Harii K. Cell-assisted lipotransfer for facial lipoatrophy: efficacy of clinical use of adipose-derived stem cells. *Dermatol Surg*. 2008; 34(9):1178-85.

Zanata, F.; Bowles, A.; Frazier, T.; Curley, J.L.; Bunnell, B. A.; Wu, X.; Wade, J.; Devireddy, R.; Gimble, J. M.; Ferreira, L. M. Effect of Cryopreservation on Human Adipose Tissue and Isolated Stromal Vascular Fraction Cells. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2018; 141:232-43

Zheng G, Lanfang H, Tong H, Shu Q, Hu Y, Ge M, Deng K, Zhang L, Zou B, Cheng B, Xu J. Treatment of acute respiratory distress syndrome with allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells: a randomized, placebo-controlled pilot study. *Respir Res.* 2014;15(1):1-10

Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 2020; 579:270-3. Nejad-Moghaddam A, Ajdary S, Tahmasbpour E, Rad FR, Panahi Y, Ghanei M. Immunomodulatory Properties of Mesenchymal Stem Cells Can Mitigate Oxidative Stress and Inflammation Process in Human Mustard Lung. *Biochem Genet.* 2016;54(6):769-83.

Zimmermann A, Pelegri AA, Peruzzo D, Martinez EF, de Mello e Oliveira R, Aloise AC, Ferreira LM. Adipose mesenchymal stem cells associated with xenograft in a guided bone regeneration model: a histomorphometric study in rabbit calvaria. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2015 Nov-Dec;30(6):1415-22.

Apêndice 1. Aprovação do estudo pelo CONEP

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: FRAÇÃO VASCULAR ESTROMAL NO TRATAMENTO DE DOENÇAS RESPIRATÓRIAS GRAVES POR SARS-CoV-2 (COVID19)

Pesquisador: Lydia Masako Ferreira

Área Temática: Novos procedimentos terapêuticos invasivos;

Versão: 3

CAAE: 35517120.7.0000.5505

Instituição Proponente: Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP/EPM

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.371.362

2.11. Solicita-se informar o participante de pesquisa sobre as providências e cautelas que serão empregadas para evitar e/ou reduzir danos ou riscos, garantindo que danos previsíveis sejam evitados (Resolução CNS nº 466 de 2012, itens IV.3.b e IV.3.c).

RESPOSTA: Foi inserido no TCLE que todos os pacientes serão monitorizados rigorosamente para detecção de qualquer intercorrência clínica ou cirúrgica e o seu tratamento precoce, visando reduzir quaisquer danos aos pacientes incluídos no estudo.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Considerações Finais a critério da CONEP:

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - Conep, de acordo com as

atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação: Protocolo aprovado.

Apêndice 2. Regimento do DSMB

CONSTITUIÇÃO DE UM COMITÊ INDEPENDENTE DE MONITORAMENTO DE DADOS DE SEGURANÇA (DSMB).

ESTUDO CLÍNICO: FRAÇÃO VASCULAR ESTROMAL NO TRATAMENTO DE DOENÇAS RESPIRATÓRIAS GRAVES POR SARS-CoV-2 (COVID19)

PESQUISADOR: Lydia Masako Ferreira

CAAE: 35517120.7.0000.5505

INSTITUIÇÃO PROPONENTE: Universidade Federal de São Paulo

PATROCINADOR PRINCIPAL: Financiamento Próprio

OBJETIVOS:

- Avaliar e Revisar sistematicamente os dados de segurança clínica propostos na brochura do presente estudo clínico;
- Avaliar Relatórios Cumulativos sobre efeitos adversos sérios;
- Apresentar Recomendações sempre que o Comitê constituído com total independência entender como pertinente, necessário e até mesmo urgente.

PREMISSAS DO DSMB:

- Resguardar os interesses dos participantes, preservando a integridade e a credibilidade do Ensaio Clínico e garantindo que os resultados sejam confiáveis e estejam disponíveis no tempo adequado para a comunidade médica;
- Possuir uma representatividade multidisciplinar. A composição dos membros deve ser determinada de acordo com a natureza do estudo;
- Ter a composição limitada a indivíduos livres de conflitos significativos de interesse, sejam eles financeiros, intelectuais ou profissionais, e atuar com

total independência para o exercício das atividades determinadas de modo a cumprir integralmente com os objetivos propostos;

- Os membros do DSMB devem ser os únicos indivíduos a receberem os dados de segurança e eficácia durante a condução do Ensaio Clínico para evitar vieses;
- Caberá ao DSMB recomendar continuação, modificação ou interrupção do projeto, a partir de sua avaliação relativa a segurança dos pacientes, potencial de eficácia do estudo e cumprimento das etapas do projeto em consonância com o planejamento descrito e aprovado junto ao CEP e CONEP.

DESCRIÇÃO:

- **Responsável pela seleção dos membros do DSMB:** O Pesquisador Responsável Técnico pelo Estudo Clínico, Profa Dra. Lydia Masako Ferreira
- **Organograma Indicando a relação entre o DSMB e os demais envolvidos no estudo:** O DSMB será assim constituído:
 - 1- **Presidente do DSMB:** Representado pelo Médico Endocrinologista Prof. Dr. Luiz Armando Cunha de Marco responsável pela coordenação das reuniões e atividades, comunicação oficial com o Pesquisador Responsável, voto de Minerva nos pleitos em que se fizer necessário um desempate para tomada de decisão do DSMB, designar atividades aos membros auxiliares e assinar como representante principal os documentos, relatórios e recomendações (pareceres) emitidos pelo DSMB;
 - 2- **Membro Auxiliar do DSMB:** Representado pelo Médico Pneumologista, Prof Dr. José Roberto Lapa e Silva que irá analisar os dados dos pacientes incluídos no presente estudo clínico, e reportar ao DSMB as informações necessárias para orientar e direcionar a conduta do DSMB;
 - 3- **Membro Auxiliar do DSMB:** Representado por Médica com extensa experiência em pesquisa clínica, Profa Dra. Iscia Terezinha Lopes Cendes que terá a responsabilidade de organizar todas as informações e apresentá-las ao DSMB como documento a ser validado para apresentação ao Patrocinador e ao CONEP.
 - 4- **Membro Auxiliar do DSMB:** Representado pela Bioestatística, Profa Dra. Yara Juliano,

terá a responsabilidade realizar a validação estatística de todos os dados a serem considerados na elaboração dos relatórios, e ainda secretariar as reuniões do DSMB e formaliza-las através de ata oficial, que deverá ser revisada, aprovada e assinada por todos os integrantes do DSMB.

5- Membro Auxiliar do DSMB: Representado por Médico, Prof Dr. Virgínio Cândido Tosta de Souza com extensa experiência em Bioética, que irá avaliar os aspectos bioéticos no decorrer da pesquisa, tais como manutenção do estudo ou interrupção do mesmo.

REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA CADA MEMBRO DO DSMB:

1 – Médico pesquisador com experiência em pesquisa clínica, submissões regulatórias e liderança organizacional para o presente Estudo, em acordo com as recomendações estabelecidas pelo Ministério da Saúde, em consonância com as práticas previstas pela Organização Mundial de Saúde;

2 - Médico Pneumologista com experiência no manejo de pacientes com COVID-19 em acordo com as recomendações estabelecidas pelo Ministério da Saúde, em consonância com as práticas previstas pela Organização Mundial de Saúde;

3 – Médico com experiência em pesquisa envolvendo terapia Celular e expertise em Estudos Clínicos e Análise Estatística.

4 - Bioestatístico com experiência em análises aplicadas à Estudos Clínicos

5 – Médico com vasta experiência em aspectos Bioéticos em pesquisa clinica.

ACORDO PARA AUDITORIAS E INSPEÇÕES SISTEMÁTICAS:

As auditorias e inspeções para o presente estudo, deverão ser conduzidas de acordo com cada etapa:

Etapa 1:

Processamento e validação das células da fração vascular estromal obtidas de dos próprios pacientes, para aplicação no Estudo Clínico:

- Auditoria Inicial, sete dias antes do início da etapa laboratorial de preparo das células para as infusões, para averiguar toda a conformidade Documental, Regulatória e de Boas Práticas de Manipulação Celular referente ao Centro de Processamento Celular.

Durante a etapa laboratorial, o DSMB se compromete a realizar no mínimo uma visita mensal para inspeção do processo através de relatórios referentes

Etapa2:

Seleção dos pacientes, registros para inclusão no Estudo Clínico, anamnese e exames iniciais, acompanhamento, registros ao longo de 30 dias e exames finais. Análise dos resultados e preparo do relatório final de conclusão do Estudo Clínico a ser realizado em até 60 dias após a conclusão da etapa clínica experimental de 30 dias envolvendo as infusões e acompanhamento dos pacientes:

- Todos os passos dessa etapa deverão ao processo de expansão celular e controle ser monitorados pelo DSMB, através de relatórios emitidos diariamente pela Equipe de Pesquisa, sob a responsabilidade de envio pelo Responsável Técnico pelo Estudo, Dra. Lydia Masako Ferreira;
- A partir da primeira sessão de infusões, o DSMB deverá ser informado a cada 24h acerca do monitoramento dos pacientes participantes do Estudo Clínico;
- Qualquer evento adverso classificado como severo, deverá ser comunicado imediatamente ao DSMB e ao CONEP em um prazo máximo de 24h através de e-mail. CONEP: conep@saude.gov.br de qualidade.

- Todos os Relatórios descritos pela Equipe de Pesquisa, através do Pesquisador Responsável, Dra. Lydia Masako Ferrira e também pelo DSMB, deverão ser encaminhados ao CONEP por e-mail, através do endereço: conep@saude.gov.br, e também através de documentação física para Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – ConepSRTV 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar – Asa Norte CEP: 70719-040, Brasília/DF
- A comunicação oficial entre a Equipe de Pesquisa e o DSMB deverá acontecer sempre através de e-mail corporativo, criado para atender especificamente ao presente Estudo Clínico. É imperativo que os contatos telefônicos pessoais de todos os membros do DSMB sejam disponibilizados para o Responsável Técnico pela Pesquisa Clínica, para comunicação sempre que houver necessidade ou urgência. Do mesmo modo, o contato pessoal do Responsável Técnico deverá ser disponibilizado aos membros do DSMB.

➤ **Definição e Avaliação de Eventos Adversos (Graves) e Outros Eventos Relacionados à Segurança**

Um evento adverso (EA) é qualquer ocorrência médica desfavorável em um paciente ou participante de uma investigação clínica e que não tem necessariamente uma relação causal com o procedimento de estudo. Um EA pode, portanto, ser qualquer sinal desfavorável e não intencional (incluindo um achado laboratorial anormal), sintoma ou doença associada temporalmente ao uso de um produto medicinal (sob investigação), relacionado ou não ao produto medicinal (sob investigação).

Um evento adverso grave é classificado como qualquer ocorrência médica desfavorável que:

- Resultar em morte,
- Apresentar risco de vida,
- Requerer internação hospitalar ou prolongamento da hospitalização existente,
- Resultar em incapacidade / incapacidade persistente ou significativa, ou
- Ser uma anomalia congênita / defeito de nascimento.

Além disso, eventos médicos importantes que podem não ser imediatamente fatais ou resultar em morte, ou exigir hospitalização, mas podem comprometer o paciente ou podem exigir intervenção para evitar um dos outros resultados listados acima, também devem geralmente ser considerados graves.

Os eventos adversos graves devem ser seguidos até a resolução ou estabilização. Os participantes com eventos adversos graves em andamento no término do estudo (incluindo visita de segurança) serão seguidos até a recuperação ou a estabilização da doença após o término.

➤ **Notificação de Eventos Adversos Graves e Outros Eventos Relacionados à Segurança**

Relatório de Eventos Adversos (Graves)

Todas as informações sobre eventos adversos deverão ser coletadas e registradas na página de Evento Adverso da Ficha Clínica, e deverão ser acompanhados. Para garantir a segurança do paciente, a notificação de eventos adversos graves deverá ser feita pelo Pesquisador ao DSMB, ao Patrocinador e ao CONEP, no prazo de 24 horas após se tomar conhecimento de sua ocorrência, independentemente de haver indícios ou não de relação com o tratamento. Após a notificação deve-se fazer o seguimento do evento adverso grave relatado e subsequente notificação. Para o relato, o Pesquisador deve preencher o formulário de relato de Evento Adverso Grave (EAG), avaliar a relação com o tratamento em estudo, e enviar o formulário preenchido e assinado via eletrônica, no prazo de 24 horas, ao DSMB, ao Patrocinador e ao CONEP. O mesmo procedimento deve ser realizado com as informações de seguimento, que incluem ocorrências, complicações, progressão de um evento original, estabilização ou melhora clínica. As informações de seguimento devem descrever se o evento foi resolvido ou persiste, qual tipo de conduta, e se o paciente encerrou ou não sua participação no estudo. Os relatórios de pesquisa que serão enviados ao CEP/CONEP devem comunicar a ocorrência de eventos adversos esperados ou não esperados. O CEP/CONEP assumirá, com o pesquisador, a corresponsabilidade pela preservação de condutas eticamente corretas no estudo e no desenvolvimento da pesquisa.

- Todos os eventos adversos graves devem ser relatados imediatamente e no prazo máximo de 24 horas ao DSMB, ao Patrocinador do estudo e ao CONEP para acompanhamento, avaliação e orientação sobre o evento e também sobre a condução do Estudo, a partir do parecer emitido pelo DSMB;
- Os eventos adversos graves que resultem em morte, ou mesmo suspeita de reação adversa grave inesperada, deverão também ser relatados sob as mesmas premissas e objetivos ao DSMB, ao Patrocinador e ao CONEP;

➤ **Acompanhamento de Eventos Adversos (Graves):**

Todos os eventos adversos sérios não resolvidos relacionados aos protocolos experimentais propostos por esse estudo serão seguidos até a recuperação ou estabilização da doença após o término.

PROCEDIMENTOS PARA GUARDA E ARQUIVAMENTO DOS REGISTROS: CONTROLE E GARANTIA DA QUALIDADE

Tratamento de Dados e Arquivamento/ Manutenção de Registros

Todos os documentos relacionados ao estudo serão arquivados (documentos essenciais e documentos de origem) em cada local participante, sob a responsabilidade do Investigador local.

➤ **Formulários de Relatório de Casos:**

Os dados clínicos relevantes para o estudo serão inseridos em um Formulário de Relatório Eletrônico de Casos criado especificamente para este estudo, usando um software validado para captura remota de dados, cumprindo os requisitos de proteção de dados, controle de acesso e rastreabilidade. A entrada de dados pode ser realizada apenas pela equipe de estudo autorizada, usando uma senha pessoal confidencial. Os dados inseridos serão verificados duas vezes e corrigidos por uma pessoa designada pelo patrocinador-investigador, diferente da pessoa que inseriu os dados. Quaisquer inconsistências detectadas e dados ausentes relevantes serão consultados no respectivo local do estudo.

Os pacientes do estudo não serão identificados no banco de dados do estudo por nome ou iniciais e data de nascimento. Um número de identificação exclusivo do paciente será usado. Somente os membros do DSMB deverão ter acesso aos dados de segurança e eficácia durante a condução do Ensaio Clínico para evitar vieses.

TERMO DE CONFIDENCIALIDADE:

Toda equipe envolvida no presente estudo clínico, assim como todos os membros integrantes da DSMB deverão concordar em assinar um Termo de Confidencialidade que possa assegurar, além da própria confidencialidade do estudo em curso, a privacidade e segurança de todos os envolvidos, principalmente pacientes voluntários participantes e documentação utilizada no estudo.

INDICAÇÃO DOS MEMBROS DO DSMB:

Os membros participantes do DSMB serão indicados pelo Pesquisador Responsável por meio de Convite Formal. Os candidatos deverão atender aos requisitos de formação, declarar formalmente a ausência de quaisquer conflitos de interesse que possam criar algum viés ao estudo, estar de acordo em dar sua contribuição de maneira participativa e comprometida com o cumprimento dos objetivos do DSMB com excelência e imparcialidade, estando disponível sempre que necessário para cumprimento das atividades.

O não cumprimento das responsabilidades previstas ao membro do DSMB, deverá implicar em seu desligamento e substituição. Caberá ao Pesquisador Responsável pelo Estudo, acompanhar o desempenho do DSMB através do cumprimento do plano de trabalho estabelecido e acordado previamente.

FUNCIONAMENTO DO DSMB:

- Todo reembolso ou despesas decorrentes do trabalho (se couber) relacionado ao DSMB deverá ser registrado e estar disponível ao público se isso for solicitado;
- O DSMB deverá seguir o manual de procedimentos operacionais padrão (POPs) de acordo com as necessidades descritas no regimento, em acordo com o os objetivos, premissas e descrições previstos no presente documento;
- As reuniões entre os membros do DSMB poderão ocorrer por teleconferência e será necessário a participação de no mínimo 2/3 dos membros para que possa haver reunião e votação;
- Todas as reuniões deverão ser registradas gerando uma ata oficial:
- As atas das sessões abertas deverão descrever os procedimentos das reuniões do DSMB, resumindo todos os achados, incluindo as recomendações para continuação, modificação, suspensão ou encerramento do estudo. Estas atas não deverão conter informações consideradas como cegas, uma vez que as atas serão distribuídas ao pesquisador e aos grupos de revisão;

- Atas das sessões fechadas deverão descrever os procedimentos de ambas sessões, abertas e fechadas. Esta parte da ata deverá ser distribuída somente aos membros do DSMB, exceto quando especificado no regimento.

- Caberá ao Pesquisador Responsável, prover todos os recursos necessários para treinamento dos membros do DSMB para realização de seu trabalho no comitê. O treinamento e a capacitação devem incluir uma introdução sobre o estudo que será monitorado e o regimento sob o qual o DSMB funcionará.

FORMATO DAS REUNIÕES DO DSMB

O DSMB deverá assegurar a confidencialidade e, ao mesmo tempo, fornecer comunicação apropriada de maneira a incrementar a integridade e a credibilidade do estudo. As reuniões serão divididas em duas sessões, uma aberta e outra fechada. Essa divisão permitirá ao DSMB interagir com grupos ou indivíduos que assumem responsabilidades pelo estudo enquanto assegura a independência e integridade das recomendações do DSMB.

- **Sessões Abertas**

O DSMB poderá requisitar a presença de especialistas da equipe que conduz o estudo, do comitê gestor ou de pesquisadores para providenciar esclarecimentos específicos ou respostas às questões levantadas. Essas sessões devem focalizar a condução e o progresso do estudo, com especial atenção aos dados gerados sobre eficácia e segurança.

- **Sessões Fechadas**

Somente os membros do DSMB deverão estar presentes a estas reuniões nas quais o DSMB irá revisar os dados de segurança e de eficácia, por vezes no formato não-cego (aberto). Deve-se considerar os dados em relação à condução e ao progresso do estudo e, ainda, o protocolo do estudo. O DSMB deve decidir em sessão fechada sobre a recomendação por escrito que será enviada ao Pesquisador Responsável.

PROFISSIONAIS CONVIDADOS PARA COMPOR O DSMB:

1. Presidente do DSMB:

Prof Dr. Luiz Armando Cunha De Marco possui graduação em Medicina pela Universidade de Brasília (1976). Doutorado em Medicina pela Royal Postgraduate Medical School , University of London (1982)(atualmente (Imperial College). Pós-doutor no National Institutes of Health e Professor Visitante no St Jude Childrens Hospital. Professor Titular por concurso de Títulos e Provas desde 1996. Ex-professor titular do Departamento de Farmacologia da UFMG, atualmente professor titular do Departamento de Cirurgia da UFMG. Coordenador do Programa de Pós-graduação em Medicina Molecular. Tem experiência nas áreas de Endocrinologia, Farmacologia Bioquímica e Molecular, e Biologia Molecular, atuando principalmente nas linhas de pesquisa em Oncogenética.

2. Membro Auxiliar do DSMB:

Prof Dr. Jose Roberto Lapa e Silva possui graduação em Medicina pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) em 1973, obteve mestrado em Pneumologia e Fisiologia pela UFRJ (1982) e doutorado em Imunopatologia Pulmonar pelo National Heart and Lung Institute /Imperial College London (1991). Realizou dois estágios de pós-doutorado no Institut Pasteur de Paris (1991-1992 e 1999), além de 14 estágios seniors entre 1993 e 2002 no Institut Pasteur e na Cornell University. Atualmente é Cientista do Nosso Estado da FAPERJ (2000-2021), coordenador-adjunto do Programa de PG em Clínica Médica da UFRJ (2000-2005 e 2018-2020, Coordenador 2005-2018) , nota 7 da CAPES (Avaliação Trienal 2017), onde já orientou mais de 70 alunos de mestrado e doutorado, além de dois alunos de pós-doutorado. Diretor-Adjunto de PG da FM/UFRJ (2018-2024). É pesquisador 1D do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, 1994-2021), Adjunct Professor of Immunology in Medicine (Professor Titular Honorário), Weill Medical College, Cornell University, New York (desde 2003), Pesquisador principal de projetos financiados por agências nacionais e internacionais, inclusive dos National Institutes of Health/NIH dos Estados Unidos e membro de comitês revisores do NIH. Captou ou participou da captação de mais de 50 projetos financiados por agências nacionais e internacionais no período de 2005 a 2020. É Professor da UFRJ desde 1977, Prof. Titular de

Pneumologia da Faculdade de Medicina da UFRJ (desde 1997) e foi Diretor da Divisão de Pesquisa do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho/UFRJ (2007-2010) e Diretor-Executivo do Instituto de Doenças do Tórax/UFRJ (2001-2005). É chefe do Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa/HUCFF/UFRJ desde 1993. Foi Coordenador da Área de Medicina I da CAPES (2008-2011, Coordenador-Adjunto 2006-2008). É membro do Comitê de Assessoramento em Medicina (CA-MD) do CNPq (2014-2020). Tem grande experiência em avaliação acadêmica. No período de 2000 a 2020 participou de 19 comissões de julgamento de projetos (study sections) a convite dos NIH/EUA e de mais de 400 bancas e comissões julgadoras de trabalhos de conclusão de pós-graduação, de concursos públicos e avaliações de cursos. Atua na área de Medicina, com ênfase em Pneumologia, principalmente nos seguintes temas: imunologia pulmonar, patogenia da asma e da DPOC, inflamação broncopulmonar alérgica e não-alérgica e tuberculose.

3. Membro Auxiliar do DSMB:

Profa Dra Iscia Teresinha Lopes Ceddes possui graduação em Medicina pela Universidade Estadual de Campinas (1987), Residência Médica em Pediatria pela Universidade Estadual de Campinas (1990), Mestrado em Neurociências pela McGill University, Canadá (1993); Doutorado em Neurociências pela McGill University, Montreal, Canadá (1999) , Livre Docência pela Universidade Estadual de Campinas (2003) e Professor Titular pela Universidade Estadual de Campinas (2009). Atualmente é Chefe do Laboratório de Genética Molecular da FCM-UNICAMP. É autora de mais de 250 artigos científicos em periódicos especializados. Já orientou mais de 50 teses e dissertações, sendo mais de 25 teses de doutorado. Participa também ativamente na orientação de alunos de iniciação científica e de pós-doutorandos. Atua na área de neurogenética e biologia molecular aplicada à medicina. Integra os grupos de pesquisa em Epilepsia e Neuroimagem e coordena o Grupo de Pesquisa em Neurogenética. É pesquisadora principal do Brazilian Instituto of Neuroscience and Neurotechnology (www.brainn.org.br) and membro do Comitê Gestor da Brazilian Initiative of Precision Medicine (www.bipmed.org). Já recebeu vários prêmios nacionais e internacionais por sua contribuição na pesquisa sobre as epilepsias e doenças neurodegenerativas. Presta serviços à comunidade nos ambulatórios dos serviços de Genética Clínica e Neurologia do HC-Unicamp. É membro eleito da Academia Brasileira de Ciências (ABC) e da Academia de Ciências do Estado de São Paulo (ACIESP).

4. Membro Auxiliar do DSMB:

Profa Dra. Yara Juliano possui graduação em Administração de Empresas pela Faculdade de Administração e Estatística Paes de Barros - São Paulo em 1976. Pós-Graduação em Administração Hospitalar pela Faculdade São Camilo. Bolsista da Organização Mundial da Saúde em Administração Hospitalar. Doutor em Ciências pela Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP/EPM no ano de 1986. Orientação estatística à trabalho de publicação, congressos e teses (Mestrado, Doutorado e Docência) para pesquisadores do campo biológico. Professora titular da disciplina de Saúde Coletiva da Faculdade de Medicina da Universidade de Santo Amaro.(1995) Docente permanente do Programa de Pós-Graduação em Saúde Materno - Infantil da Universidade de Santo Amaro de 1999 a 2011. Atualmente é docente e pesquisador da Pós Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Santo Amaro vinculado às linhas de pesquisa: Saúde no contexto ambiental, social e biológico e Vigilância em saúde, diagnóstico e tratamento. lecionando a Disciplina de Bioestatística tanto para o Curso de Pós Graduação quanto para a Graduação em Medicina da UNISA

5. Membro Auxiliar so DSMB:

Prof Dr. Virgínio Cândido Tosta de Souza Possui graduação em Medicina pela Universidade Federal do Triângulo Mineiro (1963), doutorado em Medicina pela Universidade Federal de São Paulo (1991), doutorado em Clínica Cirúrgica pela Faculdade de Ciências Médicas Dr José Antônio Garcia Coutinho (1970) e doutorado em Bioética pelo Centro Universitário São Camilo (2012). Atualmente é Professor de Bioética e Clínica Cirúrgica da Universidade José do Rosário Vellano, Professor Titular de Clínica Cirúrgica, no Curso de Medicina, da Faculdade de Ciências da Saúde, da Universidade do Vale do Sapucaí. Tem experiência na área de Medicina, com ênfase em Coloproctologia (Cirurgia Colorretal) e Bioética. Membro Titular da Academia Mineira de Medicina

CONFLITOS DE INTERESSE:

Todos os membros convidados para constituição desse DSMB, concordaram em participar de forma voluntária, se comprometendo a atuar com absoluta isenção em benefício da segurança dos pacientes voluntários envolvidos no Estudo Clínico. Todos os membros estão cientes de que não há relação de qualquer natureza com a equipe de profissionais envolvidos com a pesquisa bem como com o Patrocinador, que possam caracterizar conflito de interesse e assim, gerar algum tipo de viés para a Pesquisa.

