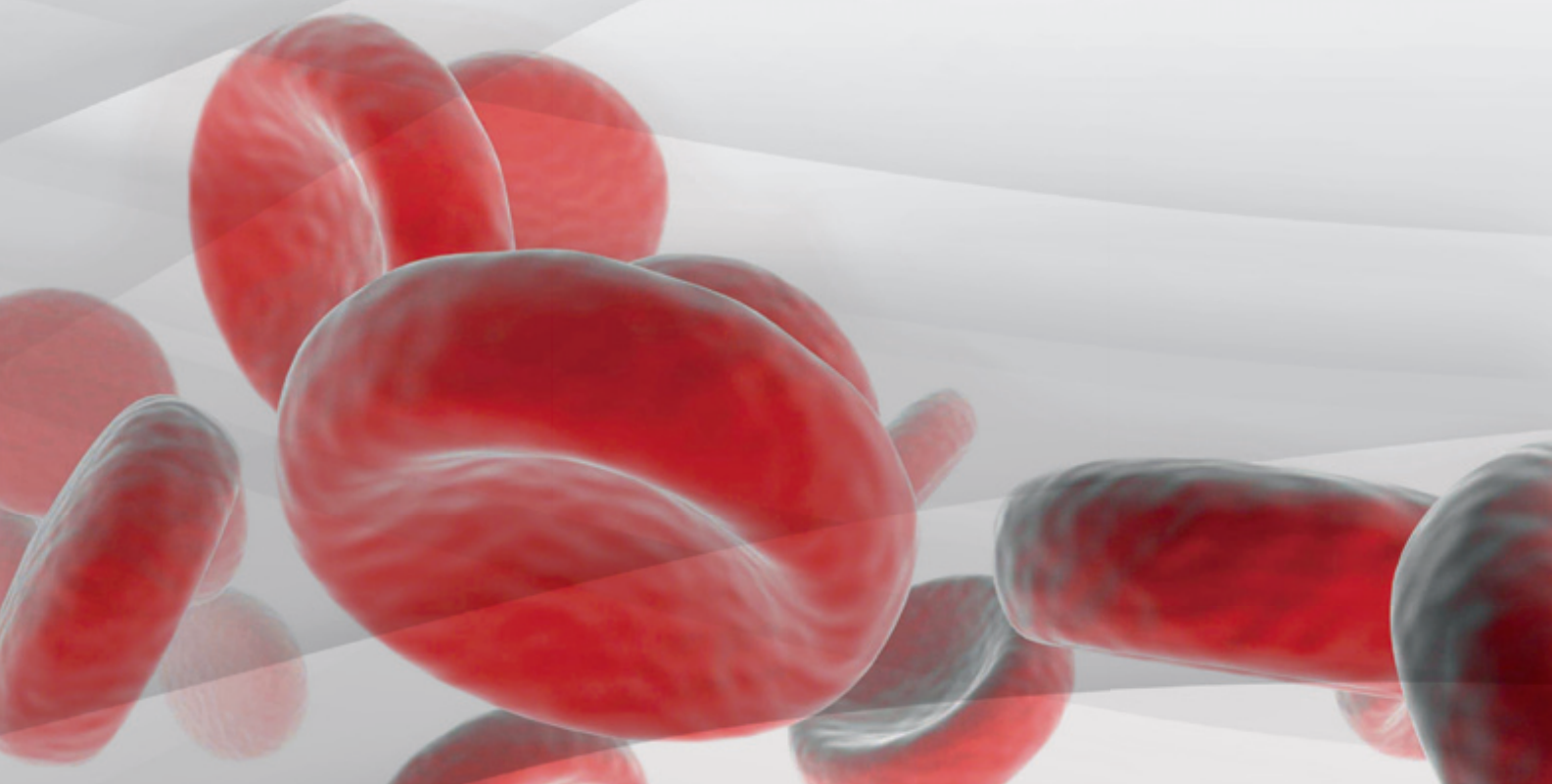


Ministério da Saúde
Instituto Nacional José Alencar Gomes da Silva (INCA)



Tópicos em Transplante de
**Células-Tronco
Hematopoéticas**



Ministério da Saúde
Instituto Nacional José Alencar Gomes da Silva (INCA)

Tópicos em Transplante de
Células-Tronco
Hematopoéticas



Rio de Janeiro, RJ
INCA
2012

© 2012 Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva/ Ministério da Saúde.

Todos os direitos reservados. A reprodução, adaptação, modificação ou utilização deste conteúdo, parcial ou integralmente, são expressamente proibidas sem a permissão prévia, por escrito, do INCA e desde que não seja para qualquer fim comercial. Venda proibida. Distribuição gratuita.

Esta obra pode ser acessada, na íntegra, na Área Temática Controle de Câncer da Biblioteca Virtual em Saúde - BVS/ MS (http://bvsm.sau.gov.br/bvs/controle_cancer) e no Portal do INCA (<http://www.inca.gov.br>).

Tiragem: 500 exemplares

Elaboração, distribuição e informações

MINISTÉRIO DA SAÚDE
INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR
GOMES DA SILVA (INCA)
Centro de Transplante de Medula Óssea (CEMO)
Praça Cruz Vermelha, 23/7º andar
Centro – Rio de Janeiro – RJ
Cep 20231-130
Tel.: (21) 3207-1215
www.inca.gov.br

Edição

COORDENAÇÃO-GERAL DE PREVENÇÃO E VIGILÂNCIA
Serviço de Edição e Informação Técnico-Científica
Rua Marquês de Pombal, 125
Centro – Rio de Janeiro – RJ
Cep 20230-240
Tel.: (21) 3207-5500

Supervisão Editorial

Letícia Casado

Edição e Produção Editorial

Taís Facina

Copidesque e Revisão

Rita Rangel de S. Machado

Capa, Projeto Gráfico e Diagramação

Mariana Fernandes Teles

Ficha Catalográfica

Mônica de Jesus Carvalho/CRB: 7/6421

Coordenação de Elaboração

Eliana Abdelhay

Equipe de Elaboração

Luis Fernando da Silva Bouzas (Capítulo I)
Daniela de Oliveira Pinto (Capítulo II)
Maria Cláudia Rodrigues (Capítulo III)
Simone Maradei (Capítulo IV)
Marta Collares (Capítulo V)
Rita de Cássia Tavares (Capítulo VI)
Elias Hallack Atta (Capítulo VII)

Impresso no Brasil/ *Printed in Brazil*

Flama

FICHA CATALOGráfICA

I59t	Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva Tópicos em transplante de células-tronco hematopoéticas/ Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva – Rio de Janeiro: INCA, 2012. 192p.: il. ISBN 978-85-7318-217-0 (versão impressa) ISBN 978-85-7318-216-3 (versão eletrônica) 1. Células-tronco hematopoéticas. 2. Medula óssea. 3. Genética 4. Histocompatibilidade. 5. Comunicação em saúde. I. Título. CDD 617.95
------	---

Catálogo na fonte – Serviço de Edição e Informação Técnico-Científica

Títulos para indexação

Em inglês: Contents About Hematopoietic Stem Cell Transplantation

Em espanhol: Temas en Transplante de Células Madre Hematopoyéticas

DEDICATÓRIA

Ao Dr. Luis Fernando da Silva Bouzas dedicamos este livro por todo o incentivo na busca de soluções para melhorar o cuidado ao paciente.

APRESENTAÇÃO

O transplante de células-tronco hematopoéticas é, muitas vezes, a única esperança de cura de um paciente. Vários são os obstáculos que eles têm de enfrentar durante todo o processo de busca de um doador: a remissão da doença para possibilitar o procedimento, a neutropenia decorrente do condicionamento, além de todas as complicações no pós-transplante. Esse é o dia a dia de pacientes e médicos em uma unidade de transplante: lidar com tais problemas, tornando possível não só a cura de um percentual de pacientes, mas também a qualidade de vida após o transplante.

O comprometimento e o preparo da equipe multidisciplinar que atua nesse acompanhamento diário é fundamental para o bom resultado, e manter essa equipe sempre atuante e decidida a continuar na busca de melhores soluções não é uma tarefa simples. No Centro de Transplante de Medula Óssea (CEMO) do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), os profissionais são estimulados a procurar o aprofundamento de conhecimentos em trabalhos que investigam as questões mais preocupantes na área do transplante de células-tronco hematopoéticas.

Este livro é o resultado dessas investigações. Espera-se que essa revisão de assuntos tão importantes na área seja útil a outros transplantadores.

Centro de Transplante de Medula Óssea (CEMO)

SUMÁRIO

Dedicatória	3
Apresentação	5
CAPÍTULO 1 - A questão da compatibilidade no transplante de células-tronco hematopoéticas	17
CAPÍTULO 2 - A doença do enxerto-contrá-hospedeiro.....	45
CAPÍTULO 3 - A doença do enxerto-contrá-hospedeiro crônica.....	71
CAPÍTULO 4 - Associação entre hiperferritinemia e risco de síndrome de obstrução sinusoidal em transplante de células-tronco hematopoéticas.....	79
CAPÍTULO 5 - Complicações associadas ao transplante de células-tronco hematopoéticas: citomegalovírus.....	107
CAPÍTULO 6 - A síndrome metabólica no pós-transplante de células-tronco hematopoéticas.....	135
CAPÍTULO 7 - Comparação entre as globulinas antitimócito de cavalo e de coelho na terapia de imunossupressão e no transplante de medula óssea para anemia aplástica severa.....	169

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Critérios para o estadiamento dos órgãos com doença do enxerto-contra-hospedeiro aguda.....	48
Tabela 2 – Graduação da doença do enxerto-contra-hospedeiro aguda.....	49
Tabela 3 – Fatores de risco para síndrome da obstrução sinusoidal em diferentes estudos.....	82
Tabela 4 – Sumário de diferentes definições da síndrome metabólica.....	144
Tabela 5 – Valores da circunferência abdominal para grupos étnicos específicos (International Diabetes Federation).....	145

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadros

Quadro 1 – Propriedades das moléculas do complexo maior de histocompatibilidade de Classes I e II.....	22
Quadro 2 – Nomenclatura do antígeno leucocitário humano segundo a classificação de 2002.....	30
Quadro 3 – Características demográficas e doenças de base de pacientes com síndrome de obstrução sinusoidal, relatadas em diversos estudos.....	81
Quadro 4 – Fatores de risco para síndrome de obstrução sinusoidal já descritos.....	92
Quadro 5 – Diferentes preparações de globulina antitimócito.....	177

Figuras

Figura 1 – Principais etapas de desenvolvimento do transplante de células-tronco hematopoéticas no mundo.....	17
Figura 2 – As moléculas do complexo maior de histocompatibilidade são ancoradas na membrana celular e podem se ligar a receptores de células imunológicas.....	21
Figura 3 – Estrutura detalhada das moléculas do complexo maior de histocompatibilidade Classes I (a) e II (b) quanto à composição das cadeias.....	22
Figura 4 – Esquema representativo da disposição dos genes para o complexo maior de histocompatibilidade Classes I e II em humanos e camundongos.....	23
Figura 5 – Nomenclatura atual do antígeno leucocitário humano.....	30
Figura 6 – Lesões eritomasas observadas na palma da mão e na planta dos pés de pacientes submetidos ao transplante de células-tronco hematopoéticas, caracterizando estadiamento de pele graus I e II.....	49
Figura 7 – Lesões eritodérmicas com formação de bolhas observadas na face de um paciente submetido ao transplante de células-tronco hematopoéticas, caracterizando estadiamento de pele grau IV.....	50

Figura 8 – Fluxograma do tratamento da doença do enxerto-contra-hospedeiro aguda após o seu diagnóstico (Dia 0).....	51
Figura 9 – Quimiocinas inflamatórias e seus receptores.....	56
Figura 10 – O modelo de três fases da doença do enxerto-contra-hospedeiro aguda.....	57
Figura 11 – Quimiocinas e seus receptores nos órgãos-alvo da doença do enxerto-contra-hospedeiro aguda.....	60
Figura 12 – Mecanismos de injúria pela infiltração tissular de células T alorreativas.....	62
Figura 13 – (a) Demonstração esquemática do fluxo sanguíneo dos sinusoides hepáticos e (b) espaço de Disse.....	86
Figura 14 – O ácino hepático.....	87
Figura 15 – Circulação hepática.....	87
Figura 16 – Cascata da coagulação.....	89
Figura 17 – Corte histopatológico de fígado demonstrando desorganização difusa da zona 3 e necrose hemorrágica centrilobular, característicos de síndrome de obstrução sinusoidal.....	92
Figura 18 – Fragmento de biópsia hepática de paciente com síndrome de obstrução sinusoidal mostrando proeminente fibrose perivenular.....	93
Figura 19 – Fisiopatologia da síndrome de obstrução sinusoidal.....	94
Figura 20 – Fonte de células-tronco.....	108
Figura 21 – Citomegalovírus.....	115
Figura 22 – Modelo fisiopatológico sugerido para a relação de resistência insulínica e componentes da síndrome metabólica com doença cardiovascular e diabetes tipo 2.....	142
Figura 23 – Sobreposição da anemia aplástica com outras entidades nosológicas.....	170
Figura 24 – Fisiopatologia da anemia aplástica.....	173

LISTA DE SIGLAS

- β_2m – Cadeia β_2 microglobulina
AA – Anemia aplástica
AACE – American Association of Clinical Endocrinologists
AAS – Anemia aplástica severa
AGL – Ácidos graxos livres
Agnes – Ácidos graxos não esterificados
Aids – Síndrome da imunodeficiência adquirida
APC – *Antigen presenting cells* (células apresentadoras de antígenos)
apoB – Apolipoproteína B
ATIII – Antitrombina III
ATG – *Antithymocyte globulin* (globulina antitimocítica)
ATP III – Adult Treatment Panel III
AUDC – Ácido ursodesoxicólico
BKV –Vírus BK
BrasilCord – Rede Nacional de Bancos Públicos de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário para Transplantes de Células-tronco Hematopoéticas
BSCUP – Banco de sangue do cordão umbilical e placentário
CAL – Contagem absoluta de linfócitos
CAN – Contagem absoluta de neutrófilos
CDC – Centers for Disease Control
CEMO – Centro de Transplante de Medula Óssea
CES – Células endoteliais sinusoidais
CIBMTR – Center for International Blood and Marrow Transplant Research
CMV – Citomegalovírus
CSA – Ciclosporina A
CSF – Fator estimulador de colônias
CSP – Ciclosporina
CTH – Células-tronco hematopoéticas
CTL – Linfócitos T citotóxicos
CTX – Ciclofosfamida
CVC – Cateter venoso central
dCTP – Deoxicitidina
DCV – Doenças cardiovasculares
DECH – Doença do enxerto-contra-hospedeiro

DECHa – Doença do enxerto-contrá-hospedeiro aguda
DECHc – Doença do enxerto-contrá-hospedeiro crônica
Desir – *Data from an Epidemiological Study on the Inulin Resistance Syndrome*
DHPG – Antiviral cujo princípio ativo é o glanciclovir
DLP – Doença linfoproliferativa pós-transplante
DNA – Ácido desoxirribonucleico
DVOH – Doença veno-oclusiva hepática
EBV – Vírus Epstein-Barr
ECH – Enxerto-contrá-hospedeiro
ECP – *Extracorporeal photopheresis* (fotofereze extracorpórea)
Egir – European Group for the Study of Insulin Resistance
EPT – Estrogênio e progesterona
ET – Estrogênio
EVM – Enxerto-versus-malignidade
FasL – Fas ligante
FDA – Food and Drug Administration
FOP – Falência ovariana prematura
FSH – Hormônio folículo-estimulante
FT – Fator tecidual
FvW – Fator de von Willebrand
GAT – Globulina antitimócito
G-CSF – Fator estimulante de colônias de granulócitos
GH – Hormônio do crescimento
HAS – hipertensão arterial sistêmica
HCE – Hospedeiro-contrá-enxerto
HDL – Lipoproteína de alta densidade
HERS – *Heart and Estrogen/ progestin Replacement Study*
HGF – *Hepatocyte growth factor* (fator de crescimento de hepatócito)
HHA – Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
HHV6 – Herpes-vírus *hominí* 6
HIV – Vírus da imunodeficiência humana
HLA – *Human leukocyte antigen* (antígeno leucocitário humano)
Homa-IR – *Homeostasis model assessment insulin resistance*
HPN – Hemoglobinúria paroxística noturna
HU-1 – *Human-1*
HW – Equilíbrio de *Hardy-Weinberg*
IC – Intervalo de confiança
ICT – Irradiação corporal total

IDF – *International Diabetes Federation*
IFI – Infecção fúngica invasiva
IFN – Interferon
IFN- α – Interferon alfa
IFN- γ – Interferon gama
Ig – Imunoglobulina
IgM – Imunoglobulina M
IL – Interleucina
IMC – Índice de massa corporal
INCA – Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva
LA – *Leukocyte antigen*
LDL – Colesterol de baixa densidade
LH – Hormônio luteinizante
LMA – Leucemia mieloide aguda
Lp(a) – Lipoproteína (a)
LPS – Lipopolissacarídeo
Mb – Megabases
mHA – Antígeno menor de histocompatibilidade
MHC – *Major histocompatibility complex* (complexo maior de histocompatibilidade)
MMF – Micofenolato mofetil
MP – Metilprednisolona
MPA – Ácido micofenólico
MTX – Metotrexato
NCEP – National Cholesterol Education Program
NFAT1 – *Nuclear factor activating T cell 1* (Proteína fator de transcrição)
NH₂ – Terminal amino
NIH – National Institutes of Health
NK – Célula *natural killer*
NO – Óxido nítrico
NTBI – *Non transferrin-bound iron* (ferro não ligado à transferrina)
OH – Oxidril
OMS – Organização Mundial da Saúde
OR – *Odds ratio* (razão de risco)
PAI – Inibidor do ativador do plasminogênio
PCR – Reação da cadeia de polimerase
PCRt – Proteína C-reativa
P-III-P – Propeptídeo pró-colágeno tipo III
PGE2 – Prostaglandina E2

PGI2 – Inibidor de prostaglandina E2
Prosper – *Prospective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk*
RC – Razão de chance
Redome – Registro Brasileiro de Doadores Voluntários de Medula Óssea
Renacord – Registro Nacional de Sangue de Cordão Umbilical
Rereme – Registro Nacional de Receptores de Medula Óssea
RNA – Ácido ribonucleico
RNAm – Ácido ribonucleico mensageiro
RT-PCR – Transcrição reversa seguida de cadeia da polimerase
SBT – *Sequence based Typing* (tipificação baseada em sequenciamento)
SCUP – Sangue do cordão umbilical e placentário
SDS – Síndrome de Schwachman-Diamond
SHBG – Globulina transportadora de hormônios sexuais
SM – Síndrome metabólica
SMD – Síndrome mielodisplásica
SNC – Sistema Nervoso Central
SOS – Síndrome de obstrução sinusoidal
Treg – Linfócitos T reguladores
TAC – *T cell activating complex* (complexo ativador de células T)
TAPH – Transplante alogênico de progenitores hematopoéticos
TCPH – Transplante de células precursoras hematopoéticas
TCR – *T cell receptor* (receptor de células T)
TCTH – Transplante de células-tronco hematopoéticas
TGI – Trato gastrointestinal
TH – Terapia hormonal
Th1 – Perfil T helper 1
TIS – Terapia de imunossupressão
TNF – Fator de necrose tumoral
TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa
TNF- β – Fator de necrose tumoral beta
t-PA – Ativador do plasminogênio tecidual
TRM – Morte relacionada ao transplante
VLDL – Lipoproteínas de densidade muito baixa
WHI – *Women's Health Initiative*
Wise – *Women's Ischemia Syndrome Evaluation*
Woscops – *West of Scotland Coronary Prevention Study*

CAPÍTULO 1

A questão da compatibilidade no transplante de células-tronco hematopoéticas

A toxicidade à medula óssea é uma séria limitação do tratamento do câncer em geral. O transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH) permite a administração de doses elevadas e potencialmente curativas de drogas quimioterápicas associadas ou não à radioterapia. Sob essas circunstâncias, a terapêutica estaria limitada principalmente pela toxicidade não hematopoética¹⁻⁴.

Há cerca de sessenta anos, pesquisadores demonstraram a capacidade da medula óssea de proteger animais previamente irradiados com doses letais através da reconstituição do sistema hematopoético¹⁻³.

As principais etapas do desenvolvimento do TCTH no mundo estão representadas esquematicamente na Figura 1, mostrando as conquistas científicas e tecnológicas que permitiram avanços nos resultados e na aplicação dos transplantes.

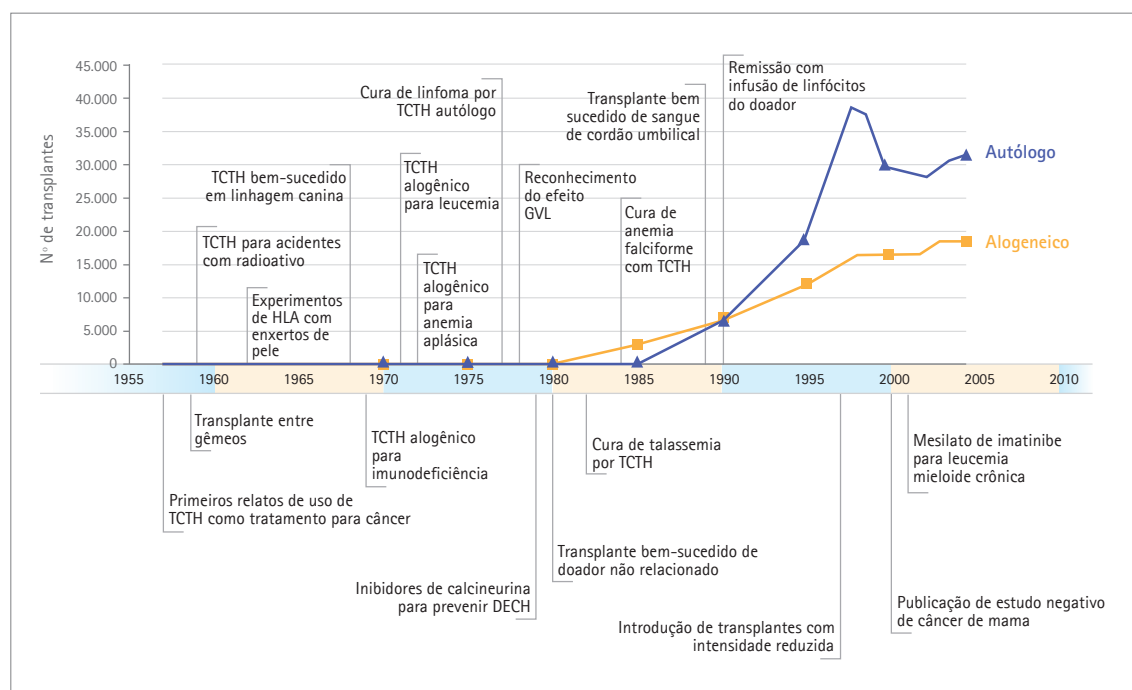


Figura 1 – Principais etapas de desenvolvimento do transplante de células-tronco hematopoéticas no mundo
Fonte: adaptado de Appelbaum F. Hematopoietic-cell transplantation at 48. N Eng J M. 2007; 357: 1472-5.

A evolução da prática clínica do TCTH somente foi possível no final da década de 1960, após inúmeros insucessos, com os conhecimentos adquiridos nas áreas de imunologia e histocompatibilidade (sistema de antígenos leucocitários humanos – HLA, do inglês *human leukocyte antigen*)^{1,4,5}.

Nessa época, um pequeno número de crianças portadoras de imunodeficiência grave e com leucemia avançada recebeu infusões de medula óssea de doadores familiares HLA idênticos^{1,4}. Assim surgiram os primeiros resultados bem-sucedidos que impulsionaram o método.

Inicialmente, o TCTH foi usado como derradeira e desesperada medida em pacientes que não respondiam ao tratamento convencional existente, porém os avanços nos cuidados de suporte e a compreensão ampla do método, que estabeleceu suas principais indicações, bem como as suas limitações e complicações, tornaram esse procedimento uma estratégia terapêutica cada vez mais utilizada para diversas enfermidades. Entre as principais limitações, pode-se destacar a escolha do doador que, preferencialmente, além de estar saudável, deve ser compatível com o receptor¹⁻⁶.

São tipos de doador de medula óssea:

- singênico (irmão gêmeo);
- alogênico;
 - relacionado ou aparentado (irmão ou familiar);
 - não relacionado ou não aparentado (não familiar, por exemplo, os do Registro Brasileiro de Doadores Voluntários de Medula Óssea – Redome);
- autólogo ou autogênico (medula óssea originária do próprio paciente com ou sem tratamento *in vitro*).

As fontes de células-tronco hematopoéticas (CTH), com padrão de compatibilidade ideal (exemplo: singênicas), são raras e nem sempre podem ser utilizadas. A maioria dos transplantes alogênicos realizados tem como doador os membros da família geneticamente idênticos para o HLA. Em geral, são irmãos com os três *loci* HLA-A, -B, -DR idênticos com o receptor. A probabilidade de um indivíduo obter um irmão compatível é de 25%, sendo influenciada pelo número de irmãos existentes em cada família. Para outros membros da família, a probabilidade é inferior a 5%¹⁻⁶.

As complicações relacionadas ao TCTH aumentam na proporção da disparidade de compatibilidade, que inclui o risco de rejeição, de desenvolvimento tardio ou incompleto do enxerto e de doença do enxerto-contra-hospedeiro (DECH)².

1.1 Complexo maior de histocompatibilidade

A importância do complexo maior de histocompatibilidade (MHC, do inglês *major histocompatibility complex*) foi primeiramente observada em camundongos, em estudos de rejeição de tecidos entre diferentes membros da mesma espécie. Posteriormente, verificou-se que todos os vertebrados possuem genes do MHC e seus produtos e que as respostas de rejeição a transplantes eram mediadas por células T14. Trata-se de uma família gênica que inclui vários genes altamente polimórficos e que participa ativamente na defesa de vertebrados contra parasitas e outros patógenos. Os antígenos codificados pelos genes do MHC estão expressos virtualmente em todas as células nucleadas do organismo. O MHC controla a atuação do sistema imune em todos os vertebrados e tem-se mantido durante a evolução dessas espécies. Foi inicialmente identificado na década de 1950, seguindo observações de que soro de pacientes com reações febris pós-transfusionais poderia causar a aglutinação de leucócitos oriundos de seus doadores bem como de outros indivíduos. Estudos subsequentes também demonstraram que anticorpos contra proteínas leucocitárias (glicoproteínas) de outros indivíduos da população poderiam estar presentes em soro de mulheres múltiparas^{1,7-9}.

O MHC de organismos distintos recebe denominação específica para cada espécie. O humano, localizado no braço curto do cromossomo 6, é conhecido como HLA. Esse termo é derivado da combinação *human-1* (HU-1) e *leukocyte antigen* (LA), designações usadas por Dausset e Payne para descrever o novo sistema de antígenos leucocitários descoberto²¹. Até hoje, o termo HLA é usado como sinônimo de proteínas do MHC humano. Desde 1964, uma série de 13 reuniões colaborativas internacionais ampliou os conhecimentos do sistema HLA e contribuiu para a padronização dos métodos de tipificação bem como da nomenclatura^{7,8,10-14}.

Durante a resposta imune, células do sistema imunológico interagem através do reconhecimento de moléculas da superfície celular codificadas por genes do MHC humano. células T reconhecem antígenos estranhos presentes como fragmentos de peptídeos em associação a moléculas do MHC. Para que ocorra o reconhecimento de um antígeno,

esse deve ser processado por células apresentadoras de antígenos (APC, do inglês *antigen presenting cells*), ligadas às moléculas do próprio MHC, e transportado para a superfície celular. Muitos antígenos (peptídeos) diferentes⁴ podem ser processados e apresentados às células T, incluindo aqueles derivados de bactérias, vírus, toxinas, tecidos e células de outros organismos, bem como aqueles oriundos de produtos celulares e tissulares autólogos. A definição das características da ligação da molécula de HLA com os peptídeos fornece importante subsídio para o papel do sistema HLA na apresentação de antígenos, resposta imune e susceptibilidade a doenças. O papel do MHC na apresentação de antígenos, por sua vez, explica seu extenso polimorfismo em nível populacional, ou seja, quanto maior o polimorfismo do MHC, maior a gama de peptídeos estranhos que serão apresentados ao sistema imune. Dessa forma, os genes MHC podem influenciar a resposta imune mediada por células T pela seleção de antígenos que podem ser ligados e apresentados para o seu reconhecimento^{4,7,8}.

As moléculas do MHC têm um efeito importante nos transplantes de órgãos, tecidos e células, devido ao papel fundamental que exercem sobre a ativação de células T e a iniciação da resposta alogênica.

Com o advento de métodos de tipificação por ácido desoxirribonucleico (DNA), tornou-se possível definir cada classe de molécula HLA pela identificação de sua sequência específica.

A diversidade significativa entre os genes do sistema HLA ultrapassou as expectativas. Portanto a análise do seu polimorfismo é claramente importante para o entendimento de como os antígenos de histocompatibilidade funcionam como determinantes nos transplantes^{8,10,11,13}.

1.2 Estrutura das proteínas do complexo maior de histocompatibilidade

Existem dois tipos de moléculas do MHC:

- MHC de Classe I – presentes em todas as células nucleadas, ligam-se aos peptídeos para apresentá-los aos linfócitos T CD8⁺ (Figura 2a).
- MHC de Classe II – presentes em linfócitos B, macrófagos e células dendríticas (APC), ligam-se aos peptídeos para apresentá-los aos linfócitos T CD4⁺ (Figura 2b).

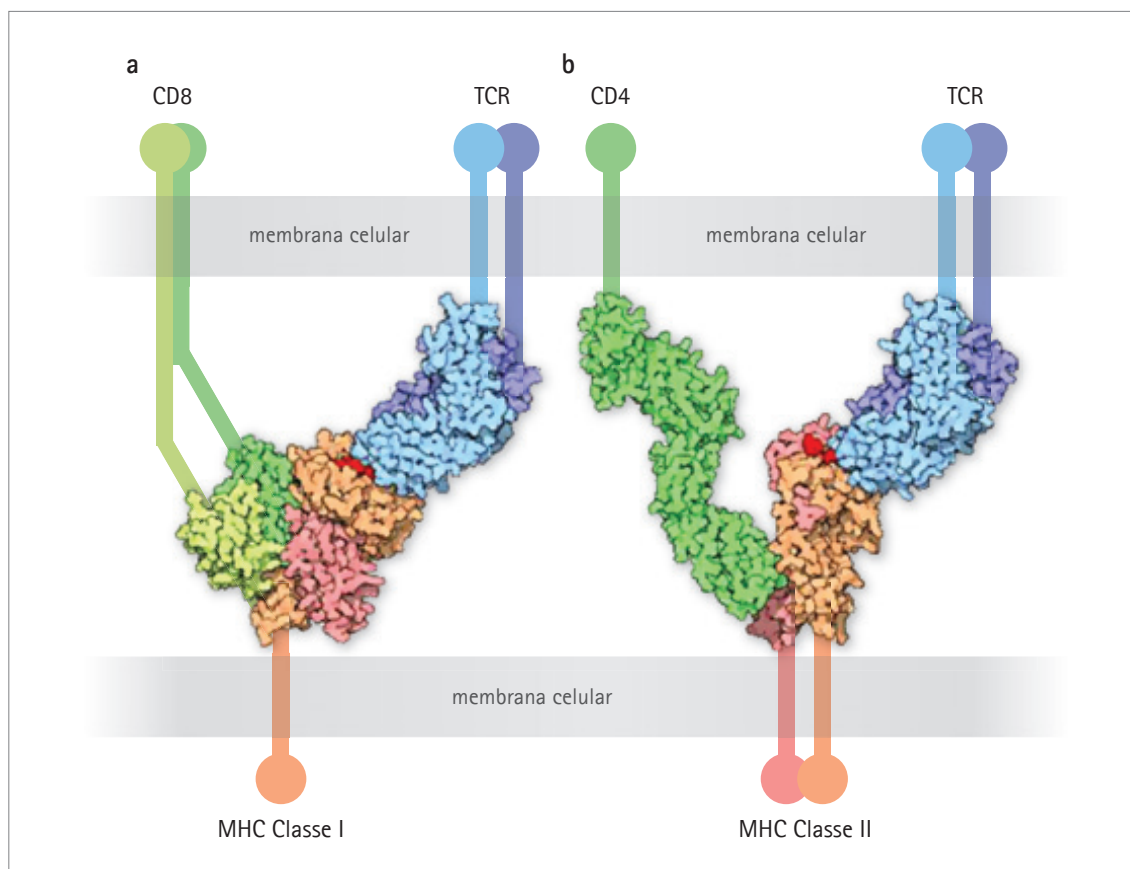


Figura 2 – As moléculas do complexo maior de histocompatibilidade são ancoradas na membrana celular e podem se ligar a receptores de células imunológicas. As de Classe I ligam-se a receptores de célula T (TCR) CD8⁺; as de Classe II ligam-se a TCR CD4⁺

Fonte: adaptado de http://en.wikipedia.org/wiki/Major_histocompatibility_complex. Acesso em 25/ 01/ 2011.

A molécula de Classe I do MHC apresenta três cadeias $\alpha 1$, $\alpha 2$ e $\alpha 3$ e é expressa na superfície de uma célula em associação com a cadeia β_2 microglobulina (β_2m) que é codificada por genes localizados fora do complexo HLA. Assim, essa molécula apresenta quatro domínios, sendo que $\alpha 3$ e β_2m se justapõem à membrana, e $\alpha 1$ e $\alpha 2$ formam uma fenda que constitui o local de ligação do peptídeo. Essa abertura, composta por oito ou nove aminoácidos, é fechada em ambas terminações (Figura 3a).

Cada molécula de MHC pode se ligar a vários peptídeos diferentes, mas apenas a um por vez. Toda molécula do MHC, tanto Classe I quanto Classe II, apresenta uma região não polimórfica ou não variante (semelhante a todas as formas alélicas das Classes I e II) e uma região variável ou polimórfica, que apresenta uma sequência única àquele alelo. A molécula CD8, expressa na membrana do linfócito T, liga-se à região não variante de todas as moléculas de Classe I do MHC, do mesmo modo que a molécula CD4 liga-se a essa região nas moléculas de Classe II^{7,8}.

A molécula de Classe II do MHC apresenta duas cadeias (a e b) formando quatro domínios: α_1 , α_2 , β_1 e β_2 . A fenda de ligação ao peptídeo é formada por interações entre os domínios α_1 e β_1 , com o receptor de célula T (TCR, do inglês *T cell receptor* – Figura 3b)⁷.

Quadro 1 – Propriedades das moléculas do complexo maior de histocompatibilidade de Classes I e II

	CLASSE I	CLASSE II
Locus genético	Humanos: HLA-A, -B, -C	Humanos: DP, DQ, DR ...
Estrutura da cadeia	Cadeia α + β_2 microglobulina	Cadeia α + cadeia β
Distribuição celular	Maioria das células nucleadas	Células apresentadoras de antígeno (macrófago, células dendríticas entre outras)
Envolvidas em apresentar antígeno	Células T citotóxicas	Células T <i>helper</i>
Fontes de fragmentos peptídicos	Proteínas produzidas no citosol	Membrana plasmática endocitada e proteínas extracelulares
Domínios polimórficos	$\alpha_1 + \alpha_2$	$\alpha_1 + \beta_1$

Fonte: adaptado de Mackay e Rosen, 2000

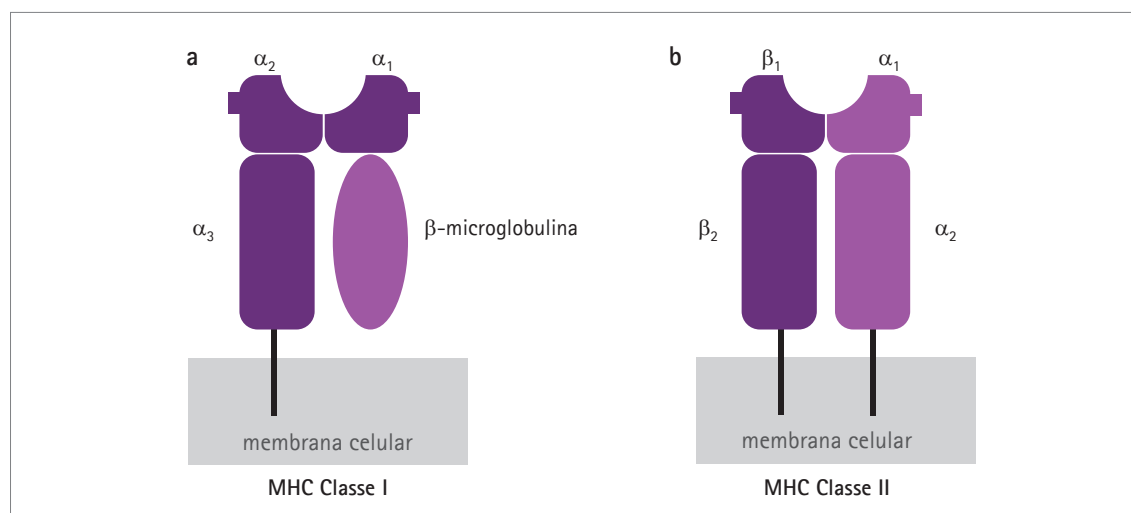


Figura 3 – Estrutura detalhada das moléculas do complexo maior de histocompatibilidade Classes I (a) e II (b), quanto à composição das cadeias

Fonte: adaptado de http://en.wikipedia.org/wiki/Major_histocompatibility_complex. Acesso em 25/ 01/ 2011.

1.3 Genética dos *loci* do complexo maior de histocompatibilidade humano

Os antígenos HLA são codificados por uma série de genes estritamente ligados e localizados na região p21.3 do braço curto do cromossomo 6. Esse complexo gênico ocupa aproximadamente 4 mil kb de DNA, equivalente a 0,1% do genoma humano. Os genes

são distribuídos em três regiões distintas denominadas Classes I, II e III. Os três *loci* α da Classe I (HLA-A,-B e -C) estão juntos em um lado dessa região, enquanto os três da Classe II (HLA-DR,-DQ, -DP, cada um com seus sete genes a e b) ocupam o outro lado (Figura 4). A combinação particular de alelos encontrados nesses seis *loci*, em qualquer um dos cromossomos do par, é herdada em conjunto e é denominada haplótipo. A combinação de dois haplótipos parentais herdados por um indivíduo compreende o genótipo HLA desse indivíduo. Em função do polimorfismo extenso, a maioria das pessoas é heterozigoto em cada *locus* HLA^{7,8,11,13-15}.

Os genes do MHC são expressos de forma codominante, ou seja, cada célula expressa as proteínas que são traduzidas a partir das mensagens contidas nos cromossomos maternos e paternos. Os seis alelos de Classe I são expressos juntos na superfície de cada célula nucleada. Entretanto, o HLA-C é geralmente mostrado num nível mais baixo do que o HLA-A e o HLA-B. Os *loci* da Classe II também são expressos de forma codominante, porém são apenas ativos no subgrupo de células que expressam a Classe II bem como a Classe I. O HLA-DR tende a ser expresso em níveis mais altos do que o HLA-DP ou HLA-DQ^{7,15}.

O polimorfismo proporcionado pelos genes HLA, associado à sua tendência de estar fortemente ligados uns aos outros, tem implicação importante na identificação de histocompatibilidade entre doador e receptor em TCTH^{7,15-17}.

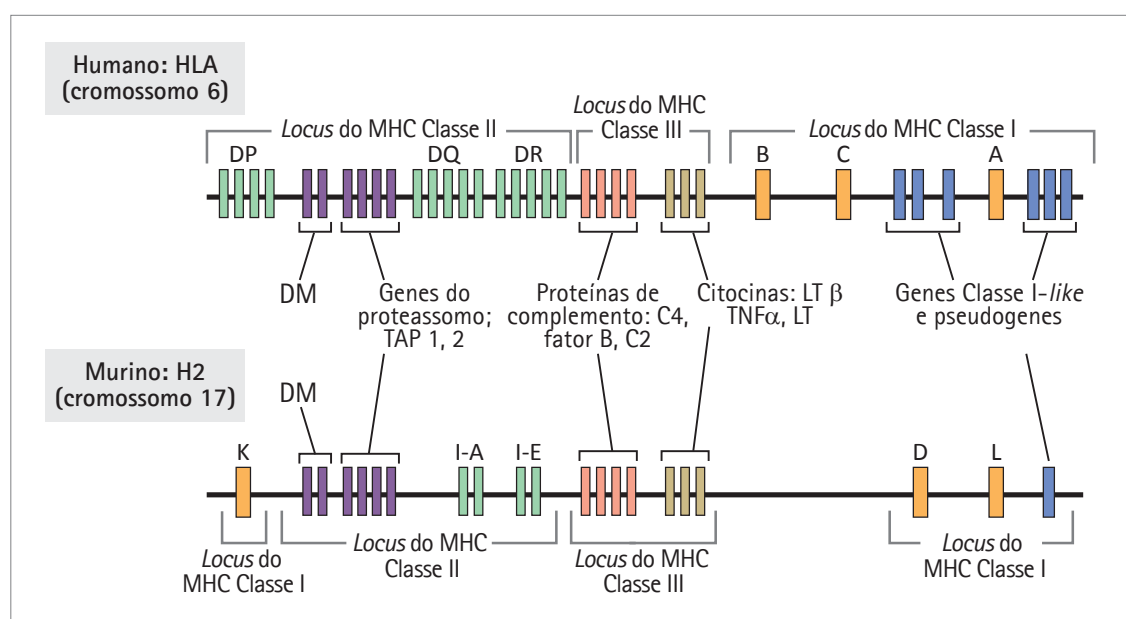


Figura 4 – Esquema representativo da disposição dos genes para o complexo maior de histocompatibilidade Classes I e II em humanos e camundongos

Fonte: adaptado de <http://www.ufpe.br/biolmol/Aula-Imunogenetica/aula-imuno-05.htm>. Acesso em 25/ 01/ 2011.

1.3.1 Polimorfismo genético do complexo maior de histocompatibilidade

O polimorfismo genético é a variabilidade em um *locus* gênico, isso é, existem muitas versões alternativas de cada gene que codificam proteínas ligeiramente distintas⁷.

O MHC é o sistema genético mais polimórfico no organismo, por conseguinte, na população. Esse polimorfismo extenso torna pouco provável que dois indivíduos escolhidos aleatoriamente expressem grupos de moléculas MHC idênticas. É ele a base para a rejeição rápida de enxerto entre indivíduos geneticamente diferentes⁸.

Mais de 2.800 variantes alélicas já foram identificadas até o momento nesses múltiplos *loci* MHC humanos (HLA), incluindo cerca de 2.187 de Classe I e acima de 800 de Classe II^{10-13,15,18}. Entre os *loci* HLA Classe I, o HLA-B é o mais polimórfico, com 1.109 alelos. Os *loci* HLA-A e HLA-C apresentam 697 e 381 alelos, respectivamente. O *locus* HLA Classe II que tem maior variabilidade é o DRB1, com 690 alelos, enquanto HLA-DQA1 tem 34, e DQB1 95 alelos já identificados. Essa variabilidade alélica, que cresce continuamente pela descoberta de novos alelos, resulta na codificação de proteínas que diferem umas das outras em um ou mais resíduos de aminoácidos¹⁹. Segundo o banco de dados www.hla.alleles.org, até 25 de janeiro de 2011, já haviam sido cadastrados 6.189 alelos. Os antígenos HLA mostram ainda variações características de um grupo racial para outro. As frequências de alelos HLA individuais variam fortemente dentro de uma população e entre populações distintas. Por exemplo, o alelo que codifica HLA-B8 é muito comum em populações caucasianas (frequência gênica de 7,7% a 16,3%), mas muito pouco frequente em populações asiáticas (frequência gênica de 0% a 0,2%). Por outro lado, o alelo que codifica HLA-B46 é comum em populações asiáticas (frequência gênica de 4,7% a 12,5%), mas virtualmente ausente em caucasianos. Essa diversidade mais uma vez reforça a necessidade do conhecimento das frequências de alelos e haplótipos em populações específicas^{7,8,20-22}.

1.3.2 Desequilíbrio de ligação

O fato de certas combinações de alelos (haplótipos) serem encontradas com uma frequência significativamente diferente da esperada, a qual corresponde ao produto da

frequência gênica dos alelos na população, deve-se ao fenômeno do desequilíbrio de ligação. Ele é definido como a diferença (Δ) entre a frequência observada de uma determinada combinação de alelos em *loci* ligados e a frequência esperada, podendo ser positivo ou negativo conforme a frequência observada seja maior ou menor que a esperada, respectivamente.

Certos alelos de HLA são encontrados associados a outros mais frequentemente que o esperado isoladamente. Em contrapartida, outros alelos são raramente ou nunca encontrados associados a outros. O desequilíbrio de ligação é, portanto, uma associação não randomizada de alelos HLA. As bases exatas para explicar esse fenômeno são desconhecidas. Por exemplo, uma determinada população apresenta a frequência gênica de 0,14 (14%) para o HLA-A1 e 0,09 (9%) para o HLA-B8, então, espera-se que HLA-A1 e HLA-B8 estejam presentes, no mesmo haplótipo, com uma frequência de 0,0126 (1,26% ou $0,14 \times 0,09$). Entretanto, a frequência de 0,08 (8%), observada nessa população, é muito mais elevada do que a esperada, caracterizando um desequilíbrio de ligação positivo¹⁹.

As explicações possíveis incluem mutações, migrações, miscigenação racial e seleção positiva. Uma hipótese mais remota propõe que alguma vantagem evolutiva é derivada da associação de certos alelos de HLA e que essa vantagem seria suficiente como justificativa para que os mecanismos habituais randômicos e de recombinação genética não ocorram. Os pacientes que possuem haplótipos com alelos com ligações mais fracas terão mais dificuldades para encontrar doadores⁷.

1.4 O sistema de antígenos leucocitários humanos e a histocompatibilidade

1.4.1 Tipificação do sistema de antígenos leucocitários humanos

Nos últimos trinta anos, ocorreram avanços significativos nos métodos de laboratório usados para definir a tipificação de genes e aloantígenos HLA. A evolução tecnológica culminou na disseminação do uso de técnicas de tipificação baseadas no DNA para a definição dos alelos HLA^{7,8,23}.

1.4.1.1 Método sorológico

Historicamente, antígenos HLA Classe I foram definidos por métodos sorológicos, utilizando um ensaio de microcitotoxicidade dependente de complemento e painéis de antissoros alogênicos contendo anticorpos anti-HLA.

Esses antissoros foram altamente selecionados por especificidade HLA e foram geralmente obtidos de gestantes imunizadas a antígenos HLA durante a gravidez. O conjunto de antissoros utilizados deve ser capaz de reconhecer todas as especificidades sorológicas oficialmente aceitas pela Organização Mundial da Saúde (OMS). A tipificação HLA demonstrou que aloantígenos HLA expressam múltiplas especificidades ou epítomos. Os epítomos comuns a mais de um antígeno são denominados públicos, enquanto os que são específicos de um único antígeno, particulares ou privativos. As especificidades particulares são também denominadas *splits*. Em geral, detectam-se duas especificidades para cada *locus* analisado, em razão da frequência de indivíduos heterozigotos, por exemplo: HLA-A68, -A3, -B7 e -B44. Se o indivíduo for homozigoto para um determinado *locus*, será identificada apenas uma especificidade para tal *locus*, por exemplo: HLA-A68, -B7 e -B44. A falta de identificação de uma segunda especificidade em um *locus* (Ax ou *blank*) pode ser em razão da falta de expressão do antígeno (alelo nulo), de sua baixa expressão, ou da inexistência de anticorpos, no painel, capazes de caracterizar uma determinada especificidade. A homozigose é comprovada somente pelo estudo da família, que permite a determinação do genótipo do indivíduo, por exemplo, HLA-A3, -B7 (haplótipo paterno) e HLA-A3, -B44 (haplótipo materno)¹⁹.

Um número cada vez maior de alelos de Classes I e II tem sido definido por métodos de tipificação por DNA e não por sorologia, a qual identifica várias especificidades sorológicas (antígenos), mas não discrimina todo o polimorfismo das proteínas HLA. A fim de criar uma transição na nomenclatura da sorologia para os métodos baseados em DNA, uma designação "equivalente sorológica" foi estabelecida^{7,13}.

1.4.1.2 Tipificação celular

Um segundo método de tipificação HLA envolve o teste de células T *in vitro* para sua habilidade em reconhecer certos antígenos HLA. O ensaio celular⁷ mais utilizado é a reação

cultura mista de linfócitos (CML), na qual disparidades para antígenos Classe II da região HLA-D induzem ativação e proliferação de linfócitos. As células que proliferam nesse ensaio são do tipo Th e a medida quantitativa correlaciona-se com o grau de incompatibilidade¹¹.

Outro método baseado em atividade celular é a chamada linfólise mediada por células que correlaciona a resposta a antígenos de Classe I de células citotóxicas CD8⁺.

O método denominado *crossmatch* ou prova cruzada de linfócitos, realizado por citotoxicidade dependente de complemento (método clássico) ou por citometria de fluxo, investiga a presença de anticorpos pré-formados no receptor que tenham especificidade para antígenos expressos nas células do doador. Esse método complementar deve ser analisado com cautela em função da variedade de antígenos expressos na membrana dos linfócitos e da possibilidade de existirem autoanticorpos, fatores que podem falsear os resultados²⁴.

1.4.1.3 Métodos de tipificação por ácido desoxirribonucleico

O desenvolvimento de métodos de tipificação baseados em DNA para a análise de genes HLA aumentou o conhecimento da diversidade do MHC, do papel das moléculas de Classes I e II na resposta imune e dos fatores importantes na seleção de doadores voluntários não aparentados de CTH^{11,25}.

A maioria dos métodos atualmente em uso em laboratórios clínicos ou de pesquisa é baseada em amplificação de genes HLA específicos do DNA genômico usando a reação da cadeia de polimerase (PCR, do inglês, *polymerase chain reaction*). Os métodos baseados em PCR fornecem tanto a determinação direta da sequência inteira da região de codificação de um alelo (SBT – *Sequence based Typing* ou tipificação baseada em sequenciamento) quanto a informação parcial da sequência, a qual permite a inferência do alelo HLA (SSOP – *sequence-specific oligonucleotide probe* por hibridização, ou tipificação por *sequence-specific primer* – SSP)^{7,11}.

Esses métodos esclareceram a relação entre os genes HLA e os antígenos codificados por eles. Para um dado *locus* HLA (exemplo HLA-A), o gene variante nele é denominado alelo (exemplo A*0201), e os alelos expressos pelos dois haplótipos parentais constituem o genótipo (exemplo A*0201,*0301). Cada alelo HLA consiste em¹² uma sequência única de

nucleotídeos, que codifica a molécula de HLA específica expressa na superfície celular. As moléculas são caracterizadas e classificadas pela sua reação com anticorpos anti-HLA e denominadas antígenos HLA. A combinação de dois antígenos em um dado *locus*, codificada por alelos dos dois cromossomos parentais, é denominada fenótipo (exemplo: HLA-A2, -A3). Em razão da ampla reatividade dos anticorpos HLA, duas ou mais sequências específicas (exemplo: HLA-A*0201, A*0205 e A*0213) podem ser definidas por sorologia como o mesmo fenótipo (exemplo HLA-A2)⁷.

Os métodos baseados em DNA variam de acordo com o nível de discriminação que fornecem na definição da sequência de nucleotídeos de um gene HLA. Quando o método de tipificação por DNA permite a identificação de um antígeno com equivalência sorológica (exemplo: HLA-A2), é denominado de baixa resolução. Os métodos que fornecem informações sobre o nível sorológico, porém com definição menor que o nível de alelos, são denominados métodos de resolução intermediária. Finalmente, os que geram a informação da sequência de nucleotídeos, permitindo a precisa identificação de um alelo HLA (exemplo HLA-A*0201), são denominados de alta resolução. A tipificação de alta resolução pode ser obtida por sequenciamento direto automatizado de um gene HLA (SBT) ou pelo uso de amplos painéis de sondas para oligonucleotídeos que testam todas as regiões conhecidas de um determinado gene.

No sentido de interpretar os resultados da tipificação HLA e de selecionar doadores para transplantes, é necessário saber qual é o nível de resolução utilizado nos testes. Um paciente e um doador que são compatíveis nos antígenos HLA-A e -B por método de baixa resolução podem não ser idênticos para alelos HLA-A e/ ou -B em métodos de alta resolução.

Os estudos populacionais que fornecem informações antropológicas, essenciais para fins de transplante, são básicos para as abordagens de predisposição genética e dos mecanismos moleculares relacionados ao desenvolvimento de enfermidades. As análises profundas do polimorfismo do sistema HLA em populações miscigenadas podem revelar diferentes frequências de alelos e haplótipos de HLA, em comparação com outros grupos raciais e étnicos, o que pode influenciar as associações entre HLA e doenças. Essas diferenças contribuem para a discriminação entre alelos diretamente envolvidos no desenvolvimento de doenças e aqueles apenas intimamente ligados.

Nesse sentido, alguns estudos já foram conduzidos em populações da América do Sul. Pesquisas realizadas entre mestiços, na Venezuela, que representam uma mistura de

aborígenes mongoloides primitivos, imigrantes caucasoides europeus e negros trazidos da África ocidental, incluíram análises moleculares de HLA-DRB1, -DQA1 e -DQB1 e respectivas frequências de alelos e haplótipos. Os alelos mais frequentes foram HLA-A*02, -B*35, -CW*7, -DRB1*0407, -DRB1*1407 e -DRB1*0411. Entre os haplótipos, foram encontrados o HLA-A*29B*44 e o HLA-B*44 DRB1*0701³⁰.

Em outro estudo realizado no Uruguai em 2003, com 346 receptores de TCTH, 298 foram analisados quanto ao polimorfismo do HLA-A, -B e -DR, observando-se as respectivas frequências dos alelos. Os mais prevalentes foram: -A*02 (28,97%), -B*35 (12,49%) e -DRB1*04 (15,24%). Somente para o *locus* HLA-DRB1 o desvio do equilíbrio de *Hardy-Weinberg* (HW) foi altamente significativo. Os haplótipos mais comuns foram A*02B*51 e A*02B*07 para HLA-A, -B, e A*02DRB1*01 e A*02- DRB1*04 para HLA-A-DRB1^{27,28}.

Já no Brasil, em 2002, o Centro de Hematologia e Hemoterapia do Paraná (Hemepar) publicou análise de 1.600 doadores voluntários de medula óssea cadastrados no Registro Brasileiro de Doadores Voluntários de Medula Óssea (Redome), caracterizados como caucasoides (1.183), orientais (13), e negroides (333) que incluíam negros, mulatos e cafuzos, além de um grupo de 71 indivíduos não identificados por etnia. Os haplótipos mais frequentes na amostra total foram HLA-A*01B*08DR*03 (0,02%), HLA-A*29B*44DR*07 (0,01%) e HLA-A*03B*07DR*15 (0,01%). Para essa análise, foi considerado um *cut off* de 0,001 para as frequências dos haplótipos mais prevalentes. Nesse estudo, foi ainda ressaltado que o grupo oriental apresentou distribuição peculiar, não sendo verificado nenhum dos 20 haplótipos mais frequentes encontrados em outros grupos étnicos. Entre os orientais, o haplótipo mais frequente foi o HLA-A*33B*44DR*13²².

Adicionalmente, em concordância com estudos anteriores realizados na população paranaense, foi verificado que os grupos alélicos HLA-A*02 (0,229) e HLA-B*35 (0,114) são os mais frequentes, diferindo, no entanto, dos estudos de Prado et al., no qual HLA-B*05 (0,132) foi o mais frequente²².

Esses estudos populacionais são importantes porque, conhecendo as frequências HLA, podem-se estimar as chances de se encontrar um doador compatível para um paciente de um grupo étnico específico. Contudo, apenas esse conhecimento da frequência não é suficiente e depende da existência de um amplo registro de doadores voluntários com diversidade genética, suficientemente abrangente e com frequências igualmente prevalentes.

A nomenclatura das especificidades HLA é definida por um comitê internacional que se reúne periodicamente para nomear alelos recentemente descobertos e rever a nomenclatura vigente, e está exemplificada no Quadro 2 e na Figura 5.

Quadro 2 – Nomenclatura do antígeno leucocitário humano segundo a classificação de 2002

Exemplos de Nomenclaturas	Significado
CLASSE I	
HLA-A, -B, -C	Genes do HLA de Classe I que codificam as moléculas de Classe I clássicas
HLA-A2, -B1, -Cw2	Moléculas ou antígenos do HLA de Classe I definido por sorologia, mostrando exemplos de antígenos em cada tipo
HLA-A*, -B*, -C*	HLA de Classe I, definido por biologia molecular
HLA-A*02	HLA de Classe I, <i>locus</i> A, antígeno 02 (codificado por vários alelos), anteriormente definido pela sorologia como HLA-A2
HLA-A*0201	HLA de Classe I, <i>locus</i> A, grupo alélico 02, alelo específico 01
CLASSE II	
HLA-DR, -DQ, -DP	Principais regiões do HLA de Classe II
HLA-DR1	HLA de Classe II, <i>locus</i> -DR, antígeno 1, definido por sorologia
HLA-DRB1*	HLA de Classe II, <i>locus</i> -DR, cadeia β, gene 1, definido por biologia molecular
HLA-DRB1*13	HLA de Classe II, <i>locus</i> -DR, cadeia β, gene 1, grupo alélico 13 (codificado por vários alelos), antes definido pela sorologia como HLA-D
HLA-DRB1*1301	HLA de Classe II, <i>locus</i> -DR, cadeia β, gene 1, grupo alélico 13, alelo 1 (representa um alelo específico e não um grupo de alelos)
HLA-DRB1*1301N	Alelo nulo
HLA-DRB1*130102	Alelo que difere por uma mutação sinônima
HLA-DRB1*13010102	Alelo que contém uma mutação fora da região codificadora
HLA-DRB1*13010102N	Alelo nulo com uma mutação fora da região codificadora

Fonte: adaptado de Marsh et al., 2002.

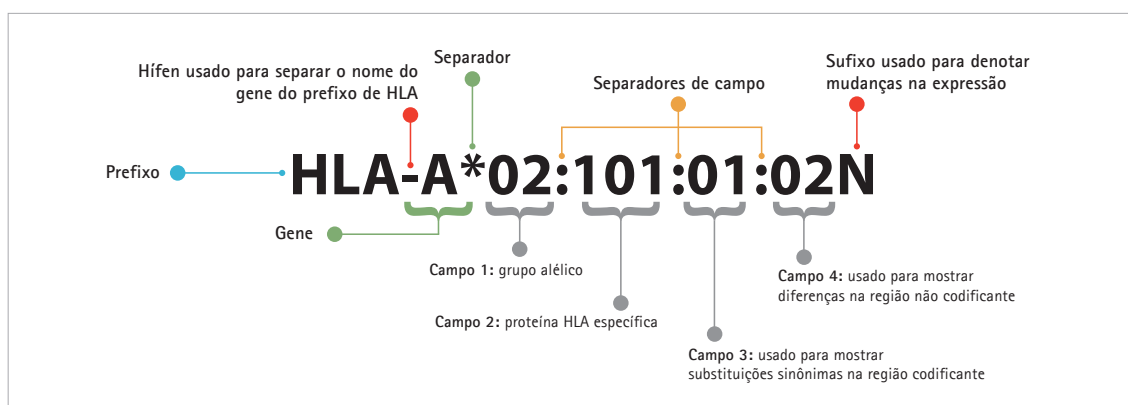


Figura 5 – Nomenclatura atual do antígeno leucocitário humano. Cada alelo de HLA tem um número único, correspondendo a até 4 campos de dígitos separados por ":". O tamanho da designação do alelo é dependente da sequência do alelo e genes próximos. Todos os alelos recebem pelo menos um nome de 4 dígitos, que correspondem aos campos 1 e 2; os campos 3 e 4 só são designados quando necessário

Fonte: adaptado de <http://hla.alleles.org/announcement.html>. Acesso em 25/ 01/ 2011.

1.5 Identificação de doadores voluntários não aparentados para transplante de células-tronco hematopoéticas

Um doador compatível pode ser identificado para, aproximadamente, de 50% a 80% dos pacientes para os quais uma busca de doador não aparentado foi iniciada.

A probabilidade de se identificar um doador aumenta se ele e o paciente possuem a mesma origem étnica ou racial. As chances de encontrar um doador idêntico também aumentam quando o paciente tem dois haplótipos e genótipo de HLA estendido comuns. Um desequilíbrio de ligação fortemente positivo entre HLA-B e -C e entre HLA-DR e -DQ aumenta as possibilidades que um doador HLA-A, -B, -DR idêntico seja também para HLA-C e -DQ. Por outro lado, a falta de identidade em HLA-B e -DR aumenta as chances de HLA-C e -DQ também serem incompatíveis, respectivamente.

Quando um doador compatível HLA-A, -B, -DR não estiver disponível, a seleção será feita entre doadores parcialmente idênticos. Nesse caso, deve-se evitar a incompatibilidade em HLA-B e -DR, pelo risco de aumento do número total de incompatibilidades. A importância da tipificação HLA-DP e -DQ ainda precisa ser explicitada na seleção de doadores para TCTH.

Em 1994, Anasetti e Hansen demonstraram a relevância do vetor da compatibilidade HLA no risco de falência do enxerto e DECH aguda (DECHA) em TCTH haploidêntico aparentado. O vetor (direção) pode ser definido por: enxerto-contra-hospedeiro (ECH) ou hospedeiro-contra-enxerto (HCE) alorreação. A presença de antígenos e alelos no doador não compartilhados pelo receptor determina o reconhecimento HCE. Por outro lado, a presença de antígenos e alelos no receptor não compartilhados pelo doador determina o vetor no sentido ECH. A falta de identidade entre paciente e doador pode ser ainda bidirecional se ambas as situações estão presentes. A incompatibilidade unidirecional em que prevalece o vetor ECH ocorre quando o doador é homozigoto e o receptor é heterozigoto e compartilha um alelo ou um antígeno com o doador (exemplo: paciente A*0201,*0205 e doador A*0201,*0201). O sentido inverso (HCE) ocorre quando o paciente é homozigoto e o doador é heterozigoto e compartilha um alelo com o paciente (exemplo: paciente A*0201,*0201 e doador A*0201,*0205)^{11,25,29-32}.

Enquanto os genes do MHC e suas proteínas representam a maior barreira para os transplantes de órgãos e tecidos, a disparidade para antígenos codificados por genes localizados fora do MHC, denominados antígenos menores de histocompatibilidade (mHA), também pode provocar significativa resposta imune alogênica. Os mHA são pequenos peptídeos endógenos polimórficos que são reconhecidos pelas células T de uma forma MHC restrita.

O sistema gênico HLA não é o único que codifica moléculas que se comportam como marcadores da histocompatibilidade. Os antígenos secundários de histocompatibilidade (MiAgs), H-Y e ABO, também se relacionam com o sucesso e o insucesso de um transplante. No entanto, o sistema HLA é considerado um dos mais importantes fatores genéticos, pois seus produtos, fortemente imunogênicos, são de maior impacto no processo de rejeição. Já os antígenos secundários são codificados por genes muito menos polimórficos em comparação com o MHC e não foram abordados com detalhes nesta revisão^{22,25,33-35}.

O impacto da compatibilidade entre o doador e o receptor na evolução clínica após os TCTH assumiu vital importância, principalmente nos transplantes com doadores não aparentados. O desenvolvimento do conhecimento tem produzido informações detalhadas para a escolha do melhor doador possível no que concerne à prevenção tanto das complicações imediatas quanto das tardias e ao aumento significativo dos indivíduos que passam a ser beneficiados com essa técnica^{29,30,32}.

A utilidade clínica da tipificação por método baseado em DNA para a seleção de doadores está bem clara em pelo menos dois aspectos:

- A identificação e a priorização de doadores com a melhor compatibilidade possível (a compatibilidade acurada e completa reduz os riscos de falência do enxerto e de DECH, com impacto positivo na sobrevida).
- A identificação e a não utilização de doadores incompatíveis para inúmeros alelos (disparidades em vários *loci* estão associadas com o aumento dos riscos de falência do enxerto, de DECH e de mortalidade).

Os requisitos mínimos para a compatibilidade HLA podem variar com a situação clínica. Existem dados comprovando que, na ausência de doadores compatíveis em nível alélico, o uso de um doador com um único alelo diferente não necessariamente reduz a sobrevida³⁶. Os fatores que regem em que situações a incompatibilidade genética será ou

não tolerada são extremamente complexos e dependentes das diferenças entre os alelos ou antígenos do binômio doador-receptor, do procedimento relacionado ao transplante (regime de condicionamento e imunossupressão) e de outras variáveis não ligadas ao HLA.

As análises para a compreensão das disparidades de Classes I e II em populações etnicamente diversas submetidas aos transplantes são necessárias no sentido de entender como diferenças em qualidade e quantidade, no que concerne às incompatibilidades, podem ser adicionadas às permissividades identificadas sem comprometer os resultados^{10,13,14,35,37-40}.

1.6 Os registros brasileiros de doadores voluntários para os transplantes de células-tronco hematopoéticas – uma Política de Saúde

A constituição de registros internacionais de doadores não aparentados permitiu a expansão do número de pacientes que se beneficiam com o procedimento de TCTH. Contudo, as limitações ainda são grandes, já que esses registros, com cerca de 14.500 milhões de doadores voluntários, têm, em sua maioria, uma grande representação de indivíduos caucasianos (85%), não atendendo adequadamente, portanto, às populações mais miscigenadas e às minorias étnicas, como orientais, negros e indígenas^{21,23,36,41}.

As alternativas viáveis para populações como a brasileira, com características tão peculiares quanto à miscigenação, são o estabelecimento de um¹⁷ Registro Brasileiro de Doadores Voluntários de Medula Óssea (Redome) representativo e de uma Rede Nacional de Bancos Públicos de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário para Transplantes de Células-tronco Hematopoéticas (BrasilCord)^{6,22,36,41}.

1.6.1 O Registro Brasileiro de Doadores Voluntários de Medula Óssea

O Redome foi criado em 1993, na Fundação Pró-Sangue, em São Paulo. Entretanto, somente a partir de 1999, com sua incorporação, por determinação do Ministério da Saúde, ao Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), foi possível a ampliação e a aplicação de recursos específicos na busca de doadores. Para tal, foi fundamental a

contribuição do Ministério da Saúde por meio da regulamentação e do ressarcimento dos procedimentos envolvidos com o cadastro e a seleção de doadores, pesquisas em registros nacionais e internacionais, testes laboratoriais, coleta e transporte de unidades de CTH.

Nesse período de transição, de 2000 a 2003, cerca de 45 mil doadores foram cadastrados no registro, e apenas dois centros de referência (Hospital Universitário da Universidade Federal do Paraná – HCUFPR e INCA), realizavam os transplantes proporcionados pelo sistema Redome.

Em função da crescente demanda de doadores não aparentados no país e da complexidade que envolve o procedimento, foram iniciados esforços no sentido de reestruturar e ordenar o Sistema Nacional de Transplantes de Células-tronco Hematopoéticas, conferindo a ele, principalmente, equidade, agilidade e confiabilidade. Dessa forma, através de regulamentação específica, foi centralizada a gerência técnica dessa atividade no INCA, estabelecida uma divisão estrutural e operacional do Redome e do Registro Nacional de Receptores de Medula Óssea (Rereme), bem como o credenciamento de oito novos centros de transplante.

Como estratégia operacional para o crescimento do Redome em número de doadores, na abrangência das características populacionais e na agilidade da disponibilidade para busca, foi desenvolvido, em 2005, o sistema Redome-net, através de cooperação entre o Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde (DATASUS) e o Setor de Tecnologia da Informação do INCA. Esse sistema permite a inclusão de doadores no cadastro através de conexão direta com hemocentros e laboratórios de imunogenética em todo o país. Essa ação, somada à intensa atividade na área de comunicação e às campanhas estruturadas envolvendo empresas, organizações públicas, privadas e representantes da sociedade em geral, modificou o cenário existente, proporcionando, em apenas seis anos, uma evolução do cadastro para mais de 2 milhões de doadores, até dezembro de 2010.

1.6.2 A Rede Nacional de Bancos Públicos de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário para Transplantes de Células-tronco Hematopoéticas

Na última década, vários estudos demonstraram o potencial das células obtidas do sangue do cordão umbilical e placentário (SCUP) que, contendo número suficiente de células

progenitoras, pode ser utilizado como fonte para reconstituição hematopoética. Essas células são menos imunorreativas que as da medula óssea, permitindo a sua utilização num projeto de banco ou registro de SCUP e proporcionando transplantes não aparentados idênticos ou parcialmente idênticos com menos complicações⁶⁻⁴².

Nos últimos 15 anos, o SCUP de irmão recém-nascido ou existente em um Banco foi utilizado como fonte de células progenitoras em mais de 10 mil transplantes. Para seu uso, é necessário, portanto, o estabelecimento de um amplo painel de doadores ou um Banco de SCUP (BSCUP).

No mundo inteiro, existem mais de 450 mil unidades de SCUP armazenadas. A proporção de células-tronco por volume no SCUP pode ser maior do que nas coletas de medula óssea. Quanto às doenças infecciosas, recomenda-se muita cautela, processando as amostras com testes de rastreamento para as principais afecções prevalentes no âmbito materno-fetal e as transmitidas pelo sangue. Da mesma forma, a principal maneira de se reduzir a possibilidade de transmissão de doenças genéticas é, além dos testes disponíveis, a obtenção de questionários bem delineados e aplicados a fim de identificá-las na história familiar^{6,45,46}.

Quanto aos aspectos éticos, trata-se de material de fácil obtenção e descartável. É necessária a obtenção de consentimento materno para sua coleta e armazenamento, bem como para a utilização no BSCUP. No sentido de preservar possíveis solicitações futuras, todas as informações são confidenciais e a identificação nos questionários e nos prontuários maternos é substituída por códigos logo que a unidade seja liberada para uso do registro.

A menor reatividade imunológica das CTH do SCUP facilita a utilização em transplantes com maior grau de disparidade entre doador e receptor, o que aumenta a potencialidade de utilização de cada amostra, fazendo com que um estoque muito menor de doadores possa atender à população. Duas grandes desvantagens desses bancos, no entanto, em relação aos registros de doadores não aparentados, são a limitação representada pela necessidade de um número mínimo de CTH (portanto esses bancos atendem preferencialmente a crianças, pelo baixo peso corporal) e a necessidade de estabelecer um banco com armazenamento físico de amostras. Nos registros, há apenas a coleta de amostras e o armazenamento de dados. A coleta de CTH ocorre apenas no momento do transplante, quando o doador e o receptor já foram identificados.

Desde o primeiro transplante de SCUP bem-sucedido em um paciente com anemia de Fanconi, em 1988, os conhecimentos na área evoluíram e bancos se desenvolveram em todo o mundo. A Associação Eurocord foi organizada para padronizar métodos de coleta, testes e criopreservação de SCUP de doadores aparentados ou não aparentados, para estudar as propriedades dessas células e para criar um registro próprio para esses transplantes na Europa. Até 2002, vários centros faziam parte desse registro com 650 transplantes já realizados^{6,46,47}.

Em 2001, foi inaugurado no INCA, no Rio de Janeiro, o primeiro Banco público de SCUP do país que, desde então, vem contribuindo para o desenvolvimento dessa área com treinamento de pessoal; difusão de conhecimentos e tecnologia; apoio aos órgãos competentes como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa); desenvolvimento da regulamentação específica; projeto-piloto para o estabelecimento da BrasilCord.

Esse Banco possui a capacidade instalada para armazenar 10.600 unidades e encontra-se em pleno funcionamento. Os procedimentos de captação de doadores, coleta, transporte, processamento, criopreservação e fornecimento de unidades de SCUP estão bem estabelecidos e seguem as normas vigentes nacionais e internacionais. A média de unidades coletadas é de 100 por mês, e cerca de 4.500 unidades foram armazenadas até setembro de 2010.

O estabelecimento da BrasilCord se concretizou pela publicação da Portaria do Gabinete Ministerial do Ministério da Saúde (GM/MS) nº 2.381, em outubro de 2004, incorporando imediatamente os Bancos do Hospital Israelita Albert Einstein, do Hemocentro de Campinas e do Hemocentro de Ribeirão Preto. A rede prevê o estabelecimento de um total de 13 Bancos em diferentes capitais do país a fim de atender a diversidade étnica. Para cumprir essa meta, o INCA, responsável pela organização, pelo desenvolvimento e pela implantação da BrasilCord, obteve financiamento através de projeto de cunho social do Banco Nacional do Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES) e, até dezembro de 2010, 11 BSCUP já foram inaugurados, contemplando as seguintes cidades: Rio de Janeiro, São Paulo (2), Campinas, Belém, Recife, Brasília, Florianópolis, Fortaleza, Porto Alegre, restando ainda Curitiba e Belo Horizonte a inaugurar.

As unidades de SCUP armazenadas também farão parte do Redome por meio do Registro Nacional de Sangue de Cordão Umbilical (Renacord), que reúne as informações das unidades armazenadas pela BrasilCord. A distribuição geográfica dos BSCUP não deve ser

uma preocupação, em virtude de o acesso estar disponível a qualquer centro de transplante que necessite. O transporte das células para transplante em qualquer ponto do país não representa dificuldade operacional maior.

A rede pode ser expandida futuramente, de duas maneiras: aumentando o número de centros de captação e processamento, e criando um ou mais centros de grande capacidade de armazenamento. Isso deverá ocorrer depois que a rede inicial de 13 centros for implantada e sua viabilidade técnica e econômica demonstrada.

1.6.3 O Registro Nacional de Receptores de Medula Óssea

Em 2 de maio de 2006, foi publicada a Portaria nº 931 do Ministério da Saúde, que aprova o Regulamento Técnico para Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas e controla toda a atividade no Brasil. Ressalta-se que cerca de 90% desses procedimentos no país ocorrem em instituições públicas, credenciadas ou filantrópicas, com recursos públicos.

A portaria estabeleceu as regras necessárias, considerando a importância de organizar o acesso com equidade e otimizar a aplicação dos recursos para a manutenção e a atualização do cadastro nacional de doadores não aparentados de CTH.

Em seu art. 6º, Parágrafo Único, estabeleceu que o Sistema Nacional de Transplantes contará com a assessoria técnica do INCA²² nas atividades relacionadas ao TCTH. Estabeleceu ainda o programa informatizado de gerenciamento do Rereme, que contribuirá para o cadastro único de pacientes candidatos ao TCTH alogênico. Dessa forma, o INCA, que desenvolveu esse sistema de registro, manterá os cadastros do Redome, que incluem os dados da BrasilCord e do Rereme, atualizados com as situações clínicas dos receptores e dos doadores.

1.7 Planejamento estratégico dos registros

A pesquisa de doadores e a obtenção de uma unidade de CTH não aparentada no Redome vem superando anualmente o procedimento com unidades de procedência internacional. Com o crescente número de doadores cadastrados, será alcançada, em um futuro breve, a possibilidade de encontrar um doador compatível para a maioria dos pacientes

necessitados. Trata-se de uma alternativa concreta à necessidade de doadores internacionais, reduzindo o custo de obtenção e distribuição por unidade, que atualmente é, em média, 60 mil reais (sem incluir o valor referente ao TCTH propriamente dito). Tratando-se de procedimento que, em geral, envolve maiores complicações e complexidade em razão das possíveis disparidades imunológicas existentes (DECH, rejeição, etc), torna-se fundamental buscar outras soluções para a aplicação adequada de recursos no país.

Esse crescimento foi alcançado com o auxílio de políticas públicas que acarretaram um esforço multiplicador de diversas instituições públicas no sentido de ampliar a captação de novos doadores e melhorar a infraestrutura dos registros de modo a atender a demanda crescente.

Além disso, a constituição da BrasilCord, que levou a um aumento de unidades de SCUP armazenadas e disponibilizadas através do Renacord, tem possibilitado uma progressiva utilização de CTH de SCUP, principalmente no contexto de uma população jovem e com grande diversidade étnica¹³.

A partir de agora, faz-se necessário um planejamento estratégico que gere ações integradas para um crescimento dos Registros que levem à autossuficiência. Uma dessas ações é o estudo das frequências dos alelos e haplótipos detectados nos cadastros do Redome, do Renacord e do Rereme, por etnia e por naturalidade do doador, o que pode encurtar a procura de um doador ideal, pois a busca inicial poderá ser efetuada dentro do próprio grupo étnico do paciente no qual há, teoricamente, maiores possibilidades de encontrar-se um doador compatível. Por outro lado, o conhecimento dessas frequências permite estimar as reais chances de um paciente em lista de espera encontrar um doador HLA idêntico não relacionado, além de facilitar e direcionar o planejamento do crescimento do Registro.

Nesse sentido, a análise das frequências dos alelos e dos haplótipos encontradas para os doadores inscritos no Redome, representa uma excelente amostragem da constituição genética da população brasileira. Esses dados podem servir de controle para a análise e para pesquisas de inúmeros segmentos de uma população a ser estudada.

Torna-se importante, para a abrangência do Registro, que mais centros de captação sejam agregados em todas as regiões do país, o que contribui para a maior diversidade genética representativa da população brasileira. Isso é especialmente importante no planejamento

de novas unidades de coleta de SCUP, pois o conhecimento da origem de haplótipos raros necessários para a população doente permitirá o direcionamento para o estabelecimento de novos bancos em diferentes regiões do país, onde esses haplótipos sejam mais frequentes.

Referências

1. THOMAS ED. A History of Bone Marrow Transplantation. In: Blume KG, Forman SJ, Appelbaum FR, eds. Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation. 3rded. Malden: Blackwell Publishing 2004: 3-8.
2. HOROWITZ MM. Uses and Growth of Hematopoietic Cell Transplantation. In: Blume KG, Forman SJ, Appelbaum FR, eds. Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation. 3rded. Malden: Blackwell Publishing 2004: 9-15.
3. O'REILLY RJ e PAPADOULOS EB. Allogeneic Transplantation. In: Holland JF, Frei III E, Bast Jr. RC, Kufe DW, Morton DL, Weichselbaum RR eds. Cancer Medicine. 4thed. Baltimore: Williams e Wilkins 1997: 1295-1324.
4. MARTIN PJ. Overview of Hematopoietic Cell Transplantation. In: Blume KG, Forman SJ, Appelbaum FR eds. Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation. 3rded. Malden: Blackwell Publishing 2004: 16-30.
5. MIDDLETON D, WILLIAMS F, MEENAGH A et al. Analysis of the distribution of HLA-A alleles in populations from five continents. Hum Immunol 2000; 61 (10): 1048-1052.
6. BOUZAS LFS. Transplante de Medula Óssea em Pediatria e Transplante de Cordão Umbilical. Medicina Ribeirão Preto 2000; 33: 241-263.
7. MICKELSON E e PETERSDORF EW. Histocompatibility. In: Blume KG, Forman SJ, Appelbaum FR eds. Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation. 3rded. Malden: Blackwell Publishing 2004: 31-42.
8. FERREIRA AP e TEIXEIRA HC. Complexo de histocompatibilidade principal. In: Ferreira AP e Teixeira HC eds. Tópicos de Imunologia Básica. 1aed. Juiz de Fora: Central Formulários 2005: 41-50.

9. BEATTY PG, MORI M, MILFORD E. Impact of racial genetic polymorphism on the probability of finding an HLA-matched donor. *Transplantation* 1995; 60 (8): 778-783.
10. PETERSDORF EW, HANSEN JA, MARTIN PJ et al. Major-histocompatibility-complex class I alleles and antigens in hematopoietic cell transplantation. *N Engl J Med* 2001; 345(25): 1794-800.
11. HURLEY CK, WADE JA, OUDSHOORN M et al. Histocompatibility testing guidelines for hematopoietic stem cell transplantation using volunteer donors: report from the World Marrow Donor Association. *Bone Marrow Transplant* 1999; 24: 119-121.
12. PETERSDORF EW, GOOLEY TA, ANASETTI C et al. Optimizing outcome after unrelated marrow transplantation by comprehensive matching of HLA class I and II alleles in the donor and recipient. *Blood* 1998; 92(10): 3515-20.
13. SCHREUDER GM, HURLEY CK, MARSH SG et al., World Marrow Donor Associations Quality Assurance and IT Working Groups, WHO Nomenclature Committee for factors of the HLA system, 13th International Histocompatibility Workshop Serology Components, International Cell Exchange, UCLA, US national Marrow Donor Program. The HLA dictionary 2004: a summary of HLA-A, -B, -C, -DRB1/ 3/ 4/ 5 and -DQB1 alleles and their association with serologically-defined HLA-A, -B, -C, -DR, and -DQ antigens. *Tissue Antigens* 2005; 65(1):1-55.
14. SIMPSON E, ROOPENIAN D. Report of the Second International Symposium on Minor Histocompatibility Antigens: Seattle 2002. In: Hansen JA, Dupont B, eds. *HLA 2002: Immunobiology of the Human MHC (Proceedings of the 13th International Histocompatibility Workshop and Conference)*. Seattle, WA: IHWG Press 2002.
15. MARSH SG, ALBERT ED, BODMER WF et al. Nomenclature for factors of the HLA system, 2004. *Tissue Antigens* 2005; 65(4): 301-69.
16. MORAES ME, FERNANDEZ-VIÑA M, SALATIEL I et al. HLA class II DNA Typing in two Brazilian populations. *Tissue Antigens* 1993; 41: 238-242.
17. MULLALLY e RITZ J. Beyond HLA: the significance of genomic variation for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2007; 109:1355-62.

18. D'ALFONSO S, BORELLI I, DALL'OMO A et al. The natural history of an HLA haplotype and its recombinants. *Immunogenetics* 1998; 48: 8-15.
19. PEREIRA NF, MORAES ME, LIMA MG. Imunogenética no Transplante de Células-tronco Hematopoéticas. In: Voltarelli JC, Pasquini R, Ortega ET. *Transplante de Células-tronco Hematopoéticas*. 1a ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2009: 93-113.
20. PIMENTA JR, ZUCCHERATO LW, DEBES AA et al. Color and genomic ancestry in Brazilians: a study with Forensic microsatellites. *Hum Hered* 2006; 62(4): 190-5.
21. PENA SD. Reasons for banishing the concept of race from Brazilian medicine. *Hist Cienc Saude Manguinhos* 2005; 12(2): 321-46.
22. BICALHO MG, RUIZ TM, COSTA SMC, ZACARIAS FR. Haplótipos HLA mais frequentes em doadores voluntários de medula ósea de Curitiba, Paraná. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2002; 24 (4): 306-309.
23. PARRA C, AMADO RC, LAMBERTUCCI JR et al. Color and genomic ancestry in Brazilians. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100:177-82.
24. MURPHY K, TRAVERS P, WALPORT. *Immunobiology*. 7th Ed. Garland: New York, 2008. 27. Lonjou C, Clayton J, Cambon-Thomsen A, Raffoux C. HLA -A, -B, -DR haplotype frequencies in France – Implications for recruitment of potential bone marrow donors. *Transplantation* 1995; 60: 375-383.
25. FERRARA GB, BACIGALUPO A, LAMPARELLI T et al. Bone marrow transplantation from unrelated donors: the impact of mismatches with substitutions at position 116 of the human leucocyte antigen class I heavy chain. *Blood* 2001; 98:3150-5.
26. BENGOCHEA M, ALVAREZ I, HIDALGO PC et al. HLA-A, -B, -DR em receptores de transplante de medula ósea em Uruguay. *Rev Med Uruguay* 2003; 19:149-58.
27. Raimondi E. Argentine Normal. In: *HLA 1997*. P Terasaki and D W Gjertson, eds.. Los Angeles: UCLA Tissue Typing Laboratory, 327-328.
28. GRUMET FC, HIRAKI DD, BROWN BWM et al. CD31 mismatching affects marrow transplantation outcome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2001; 7: 503-12.

29. Schneider S, Kuefer JM, Roesli D, Excofier L, Arlequin L. A software for population genetics analysis. 2000. University of Geneva.
30. PROBST CM, BOMPEIXE EP, PEREIRA NF et al. *Hum Biol* 2000; 72 (4): 597-617.
31. Dempster AP, Laird NM, Rubin DB. Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. *J. Royal Statistical Society (Series B – Methodological)* 1977; 39(1): 1-38.
32. BROWN J, POLES A, BROWN CJ et al. HLA-A, -B, and -DR antigen frequencies of the London Cord Blood Bank units differ from those found in established bone marrow donor registries. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25(5): 475-481.
33. HENSLEE-DOWNEY PJ e GLUCKMAN E. Allogeneic transplantation from donors other than HLA-identical siblings. *Hematology/ Oncology Clin N Am* 1999; 13(5): 1017- 39.
34. ANASETTI C, HANSEN JA. Effect of HLA incompatibility in marrow transplantation from unrelated and HLA-mismatched related donors. *Transfus Sci* 1994; 15:221-30.
35. DAVEY S, ARMITAGE S, ROCHA V e col. The London Cord Blood Nbank: analysis of banking and transplantation outcome. *Br J Haematol* 2004; 125 (3): 358-365.
36. SOUZA CA, MARQUES JUNIOR JFC, BOUZAS LFS. Fontes, Mobilização e Coleta de Células-Tronco Hematopoéticas para Transplante. In: Voltarelli JC, Pasquini R, Ortega ETT. *Transplante de Células-tronco Hematopoéticas*. 1a ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2009; p, 565-88.
37. MARTIN PJ. Applicability of matching for minor histocompatibility antigens in human bone marrow transplantation. In: Roopenian DC, Simpson E, eds. *Minor Histocompatibility Antigens: from the Laboratory to the Clinic*. Georgetown, Washington DC: Landis Bioscience 2000: 97-103.
38. HURLEY CK, FERNANDEZ-VINA M, SETTERHOLM M. Maximizing optimal hematopoietic stem cell donor selection from registries of unrelated adult volunteers. *Tissue Antigens* 2003; 61:415-24.
39. HURLEY CK, BAXTER-LOWE LA, BEGOVICH AB et al. The extent of HLA class II allele level disparity in unrelated bone marrow transplantation: analysis of 1259 National Marrow Donor Program donorrecipient pairs. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25:385-93.

40. Müller CR, Ehninger G, Goldmann SF. Gene and haplotype frequencies for the loci HLA-A, HLA-B, and HLA-DR based on over 13,000 German blood donors. *Human Immunology* 2003; 64: 137-51.
41. Makhatadze NJ, Franco MT, Layrissa Z. HLA Class I and Class II Allele and Haplotype Distribution in Venezuelan Population. *Hum Immunology* 1997;55: 53-8
42. SASASUKI T, JUJ G, MORISHIMA Y e col. Effect of matching of class I HLA alleles on clinical outcome after transplantation of hematopoietic stem cells from unrelated donor. *N Engl J Med* 1998; 339:1177-85.
43. RENDINE S, CURTONI ES, DI CELLE PF et al. Analysis of the Turin umbilical cord blood bank registry. *Transfusion* 2000; 40 (7): 813-816.
44. COHEN Y e NAGLER A. Umbilical cord blood transplantation – how, when and for whom. *Blood Rev* 2004; 18 (3): 167-179.
45. ARMITAGE S, WARWICK R, FEHILY D, NAVARRETE C, CONTRERAS M. Cord blood banking in London: the first 1000 collections. *Blood Marrow Transplant* 1999; 24: 139-45
46. HURLEY CK, WAGNER JE, SETTERHOLM MI, CONFER DL. Advances in HLA: practical implications for selecting adult donors and cord blood units. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12: 28-33.

CAPÍTULO 2

A doença do enxerto-contra-hospedeiro

O TCTH vem sendo utilizado há pouco mais de 50 anos como terapia para o tratamento de doenças hematológicas benignas e malignas, autoimunes e diversas outras, inclusive em alguns tipos de tumores sólidos.

Esse transplante consiste em injetar células-tronco em pacientes imunossuprimidos. Essas células podem ter origem na medula óssea, no sangue periférico mobilizado ou no sangue de cordão umbilical. Quanto ao tipo de doador, o TCTH pode ser autólogo, no qual o doador é o próprio paciente, alogênico, em que o doador é alguém compatível geneticamente (sistema HLA) com o paciente, podendo ser um parente ou alguém não relacionado, e, por fim, singênico, que ocorre entre irmãos gêmeos.

Um dos problemas que persistem no TCTH é a DECH. A maioria dos receptores do transplante alogênico desenvolve algum grau da DECHa após o transplante. A DECH é mediada por fatores imunológicos e é definida como uma enfermidade sistêmica que rapidamente progride, caracterizada por imunossupressão e injúria tissular em vários órgãos como pele, fígado e intestinos^{1,2}.

A doença pode se manifestar da forma aguda ou crônica. A DECHa ocorre nas primeiras semanas após o transplante, sendo mais frequente e severa quando os HLA não são idênticos ou no transplante não relacionado. A DECH crônica (DECHc) é uma doença ainda pouco conhecida. Antigamente, o paciente que apresentasse a doença depois de 100 dias pós-transplante, ou uma DECHa continuada até depois do dia 100 pós-transplante, era classificado como DECHc. Na verdade, hoje em dia, sabe-se que a DECHa pode se manifestar após três meses do transplante, assim como os sintomas da DECHc podem se desenvolver juntamente com a aguda, ou seja, as duas formas podem ocorrer concomitantemente³.

A primeira descrição da DECH veio de experimentos documentados em roedores que tiveram reconstituição hematopoética após irradiação letal da medula⁴. Animais que receberam enxertos de células-tronco singenéticas, ou seja, células retiradas de animais isogênicos, recuperaram-se da toxicidade da radiação (doença primária) e aparentaram normalidade. Animais que receberam os enxertos de células-tronco de descendência diferente,

ou seja, com diferentes MHC, recuperaram-se da doença primária, porém desenvolveram uma doença secundária, que hoje é conhecida como DECH. Esses animais desenvolveram eritema, diarreia, doença hepática, e todos esses sintomas levavam a uma destruição severa que resultava em morte. Anos antes, outros pesquisadores descreveram o efeito enxerto-*-versus-leucemia* em animais. Animais que receberam células-tronco alogênicas e células leucêmicas conseguiram se livrar da leucemia após o transplante, enquanto os animais que receberam células singênicas não ficaram curados da leucemia.

Billingham⁵ postulou as condições necessárias para a indução da DECH. Primeiro, o enxerto deve conter células imunologicamente competentes. Segundo, o hospedeiro tem que parecer estranho para o enxerto e deve ser capaz de estimular as células do doador. Finalmente, o sistema imune do hospedeiro deve ser incapaz de gerar resposta imune (evitando assim a rejeição do enxerto), por um tempo suficiente para que o enxerto seja sensibilizado e o ataque imunológico ao hospedeiro seja aumentado. Diferenças antigênicas estimulam os linfócitos do doador a atacar primeiramente as células epiteliais e as membranas mucosas na pele, no trato gastrointestinal (TGI) e nos ductos biliares.

Ainda que Billingham tenha desenvolvido esse modelo para descrever as observações vistas após o TCTH, existem outras descrições para apresentações incomuns da DECH. Por exemplo, pacientes imunoincompetentes, tais como pacientes que tenham recebido quimioterapia intensiva produzindo aplasia, ou crianças que nasceram com imunodeficiências, desenvolveram DECH após receberem transfusões de sangue contaminadas com linfócitos viáveis⁶. Esses pacientes não podem aumentar a resposta imunológica suficientemente para rejeitar esses linfócitos e, por isso, podem desenvolver DECH. A transfusional difere da seguida ao transplante alogênico em um aspecto significante: a primeira causa aplasia da medula e muitos pacientes apresentam não somente *rashes*, diarreia e elevada função hepática, mas também pancitopenia. A DECH causada pela transfusão de sangue pode ser prevenida com a remoção ou a destruição dos linfócitos que são recolhidos através de irradiação ou filtração. Existem ainda outros casos de DECH não relacionadas com o TCTH, tais como DECH relacionada aos transplantes de fígado ou de pâncreas^{7,8}. Em ambos os casos, dois fatores de risco são considerados os principais: a idade do receptor do órgão e a correlação dos HLA.

O MHC é uma região genética definida inicialmente pela rejeição dos enxertos de pele entre camundongos geneticamente incompatíveis. Em humanos, o MHC, conhecido como região do HLA, compreende cerca de 3 megabases (Mb) localizadas no braço curto do cromossomo 6. Essa região contém cerca de 200 genes, dos quais muitos estão envolvidos

com resposta imune e alguns exibem um extensivo polimorfismo genético. Os genes que codificam moléculas HLA Classe I (A, B e C) e Classe II (DR, DQ e DP) são os *loci* com maior polimorfismo humano, nos quais cada *locus* (por exemplo o HLA-B ou -DRB1) tem mais de 300 alelos. Os HLA de Classe I estão envolvidos na apresentação de peptídeos para as células T CD8⁺, e as moléculas de Classe II apresentam antígenos para as células T CD4⁺.

Na DECH, o ataque aos tecidos do receptor do enxerto de células-tronco é mediado pelas células T alorreativas⁹. Moléculas de HLA têm um efeito maior no transplante, devido ao papel fundamental que desenvolvem na ativação das células T e na alorresposta. Uma quantidade significativa das células T circulantes são alorreativas, isso é, elas reconhecem HLA estranhos, ou "*nonsel*". As diferenças estruturais codificadas pelas sequências de polimorfismos no HLA de Classes I e II induzem a ativação das células T e as reações imunológicas mediadas pelas células T alorreativas e pelos anticorpos anti-HLA produzidos pelas células B.

Mesmo com HLA idênticos entre pacientes e doadores, um grande número de pacientes ainda desenvolve DECH. Isso está relacionado a diferenças nos antígenos de histocompatibilidade menor. A existência de sistemas de antígenos segregados não HLA tem sido mostrada em diversos modelos animais. Entretanto, esses não foram precisamente definidos em humanos. A maioria dos antígenos menores é expressa na superfície celular como peptídeos degradados ligados a moléculas de HLA específicas. Por isso, a seleção de um doador sem familiares é limitada. O paciente tem cerca de 20% a 30% de chances de encontrar um doador compatível entre sua família. Quando esses não existem, há a possibilidade de se recorrer a um banco de doadores voluntários ou banco de sangue de cordão umbilical¹⁰. Contudo, transplantes alogênicos não aparentados aumentam ainda mais a chance de o paciente desenvolver a DECH.

2.1 A doença do enxerto-contrá-hospedeiro aguda

Mesmo com uma terapia imunossupressora adequada no pós-transplante, a DECHa é ainda a maior causa de morbidade e mortalidade no pós-TCTH, mesmo em pacientes que receberam enxertos com HLA idêntico¹¹. Mais de 30% dos pacientes que recebem o TCTH de doadores relacionados, ou seja, com HLA idêntico, e a maioria dos pacientes que recebem enxertos de outras fontes, ou seja, doadores não aparentados, desenvolvem DECHa grau II, independente da profilaxia imunossupressiva¹².

A disparidade entre os HLA é o fator de maior predisposição dos pacientes a desenvolverem a DECHa. Entretanto, outros fatores relevantes têm sido identificados como de predisposição para o desenvolvimento da doença, por exemplo, idade do paciente, idade do doador, diferenças de sexo (doadora feminina e paciente masculino), antígeno de histocompatibilidade menor em transplantes HLA relacionados, fonte e dose das CTH, intensidade do regime de condicionamento e profilaxia da DECH¹³.

O modelo proposto para o aparecimento da DECHa tem três fases¹⁴. Na primeira, o regime de condicionamento produz injúria tissular, em que quimiocinas e citocinas inflamatórias são liberadas e as células dendríticas do receptor são ativadas no baço e nos tecidos periféricos. Após a infusão das CTH, as células T do doador reconhecem antígenos do receptor manifestados pelas APC ativadas e fazem uma expansão clonal. Assim, mais quimiocinas e citocinas são liberadas e as células efetoras não específicas, como células NK, monócitos e macrófagos, são ativadas. Na terceira fase, a injúria do tecido ocorre. Queratinócitos morrem por apoptose na pele, no fígado e nos intestinos, em razão do desequilíbrio entre as citocinas, e as células T autorreativas do doador atacam o restante do sistema imune do receptor.

As manifestações clínicas da DECHa são, basicamente, dermatite, enterite e hepatite. A graduação clínica da doença é obtida de acordo com o grau de comprometimento da pele, volume de diarreia e níveis de bilirrubina encontrados no sangue¹⁵. A Tabela 1 mostra o sistema de estadiamento da DECHa, e a Tabela 2 mostra a graduação da doença de acordo com o acometimento dos órgãos.

Tabela 1 – Critérios para o estadiamento dos órgãos com doença do enxerto-contra-hospedeiro aguda

Estágio	Pele	Fígado	TGI
O	Nada	Bilirrubina < 2 mg/dl	Nada
I	Rash macropapular < 25% da superfície corporal sem outros sintomas associados	Bilirrubina de 2 mg/dl a 3 ml/dl	Diarreia > 500-1000 ml/dia, náusea e emese
II	Rash macropapular ou eritema com prurido ou outro sintoma associado cobrindo de > 25% a < 50% da superfície corporal	Bilirrubina de 3 mg/dl a 6 ml/dl	Diarreia > 1000-1500 ml/dia, náusea e emese
III	Eritroderma generalizado ou erupção vesicular com formação de bolhas cobrindo > 50% da área da superfície corporal	Bilirrubina de 6 mg/dl a 15 ml/dl	Diarreia >1500 ml/dia, náusea e emese
IV	Dermatite esfoliativa generalizada ou dermatite ulcerativa ou formação de bolhas	Bilirrubina >15 ml/dl	Dor abdominal severa e paralização do íleo

Fonte: adaptado de Przespiorka et al., 1995.

Tabela 2 – Graduação da doença do enxerto-contra-hospedeiro aguda

Grau	Estágio			
	Pele	Fígado	TGI	Debitamento funcional
0 (nenhuma)	0	0	0	0
I (leve)	1 a 2	0	0	0
II (moderada)	1 a 3	1	1	1
III (severa)	2 a 3	2 a 3	2 a 3	2
IV (risco de vida)	2 a 3	2 a 3	2 a 3	2 a 4

Fonte: adaptado de Przespiorka et al., 1995.

A pele é um alvo inicial da doença e geralmente é o órgão mais comprometido, começando pelas palmas, mãos, planta dos pés, orelhas e mucosa oral (Figura 6). Em geral, os achados na pele precedem aos achados no fígado e no TGI. Inicialmente lesões eritematosas são vistas. Em casos mais severos, as manchas se juntam em um eritema confluyente (grau III) e pode haver comprometimento da subepiderme, levando à formação de bolhas (grau IV – Figura 7). O principal sinal do envolvimento do TGI é a diarreia, com ou sem sintomas de acometimento do TGI alto, como anorexia, náuseas e emese. A forma mais severa de DECH nesse trato se manifesta com câimbras abdominais, sangramento ocasional e paralisção do íleo¹⁶.

A DECHa no fígado se manifesta por uma hiperbilirrubinemia e um aumento da fosfatase alcalina¹⁷, e, em menor grau, níveis de transaminases¹⁸. No entanto, a elevação isolada dos níveis de fosfatase alcalina pode ser a única manifestação do envolvimento do fígado.



Figura 6 – Lesões eritomasas observadas na palma da mão e na planta dos pés de pacientes submetidos ao transplante de células-tronco hematopoéticas, caracterizando estadiamento de pele graus I e II

Fonte: banco de imagem CEMO.



Figura 7 – Lesões eritodérmicas com formação de bolhas observadas na face de um paciente submetido ao transplante de células-tronco hematopoéticas, caracterizando estadiamento de pele grau IV
Fonte: banco de imagem CEMO.

O diagnóstico e o gerenciamento da DECHa são realizados através de biópsias dos tecidos envolvidos na doença. Embora esteja descrito que são desprovidas de sensibilidade e especificidade, quando as biópsias são positivas, podem ser utilizadas para a confirmação do diagnóstico, mesmo com manifestações não específicas, predizendo resultados e guiando a terapia imunossupressiva¹⁹.

Tanto o tratamento como a prevenção da DECHa são baseados na tentativa de interromper o ciclo patofisiológico da doença (modelo de três fases). Todos os tratamentos atuais para a doença afetam mais de um evento nesse ciclo por meio da imunossupressão não específica relativa e de mecanismos anti-inflamatórios. Deve existir sempre o constante balanço e a revisão dos benefícios da terapia contra as duas principais complicações que são resultantes da imunossupressão e dos efeitos anti-inflamatórios: infecção e recaída da doença maligna. A recorrência da doença maligna é resultante do bloqueio do efeito benéfico do enxerto-*versus*-leucemia, que está associado à DECH. Então, os benefícios e a duração de todas essas terapias precisam ser balanceados constantemente contra as complicações que elas trazem para o paciente, colocando sua vida em risco. Os principais tratamentos contra a DECHa são divididos em duas fases, conforme visualizados na Figura 8 e explicados mais adiante.

2.1.1. Terapia primária

O gerenciamento inicial da DECHa usualmente é realizado com esteroides. Esteroides em combinação com ciclosporina²⁰ ou com tacrolimus²¹ têm sido considerados como terapia padrão para a administração da DECHa. Seus mecanismos de ação ainda não são claros, mas estão relacionados à supressão da atividade de citocinas. A maioria dos centros utiliza metilprednisolona (MP) em doses de 2,0 mg/kg. Altas doses também são efetivas, porém causam diversos efeitos colaterais e danos metabólicos severos, incluindo hiperglicemia, retenção de líquidos, enfraquecimento muscular e aumento na taxa de complicações infecciosas. Entretanto, uma vez que seja notada melhora clínica, não existe nenhum consenso relativo à melhor forma de diminuir os esteroides nos pacientes responsivos, mas uma rápida diminuição, pode resultar em uma menor complicação relacionada aos esteroides.

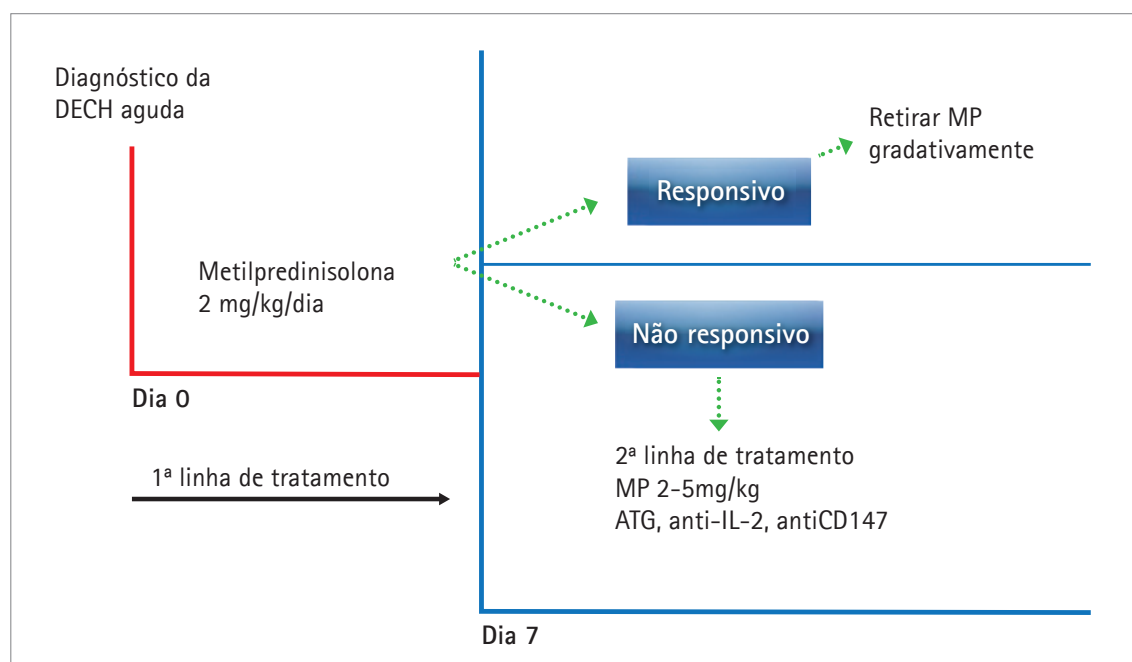


Figura 8 – Fluxograma do tratamento da doença do exerto-contra-hospedeiro aguda após o seu diagnóstico (Dia 0). Primeira linha de tratamento consiste na administração de MP 2 mg/kg/dia. No Dia 7, se não houver resposta do paciente, é iniciada uma segunda linha de tratamento, na qual, além da MP continuada, são associadas uma ou mais terapias, conforme discussão a seguir
Fonte: adaptado de Bacigalupo, 2007.

Aproximadamente 50% dos pacientes que são tratados com esteroides na fase inicial da doença alcançam uma resposta parcial ou completa à terapia. O restante dos pacientes necessita de uma terapia secundária para o tratamento da DECHa refratária a esteroides.

2.1.2. Terapia secundária

Atualmente, não existe nenhum consenso sobre a definição da DECHa refratária a esteroides, nem sobre a melhor forma de administrá-la. Numerosos agentes têm sido testados, mas, infelizmente, com baixos resultados uniformes. A globulina antitimocítica (ATG, do inglês *antithymocyte globulin*) tem sido a forma mais comum de imunossupressão. A ATG une-se aos linfócitos T circulantes, originando linfopenia e diminuição das respostas imunológicas das células T. Diferentes trabalhos têm mostrado a sua eficácia^{22,23}, porém com morbidade e mortalidade significantes, principalmente em razão de complicações infecciosas. A ATG pode causar reações febris, hipotensão, trombocitopenia e, em casos raros, reações anafiláticas. Pacientes pré-tratados com ATG podem desenvolver desordens linfoproliferativas no pós-transplante, geralmente associadas ao vírus Epstein-Barr (EBV). Entretanto, cerca de 20% a 50% dos pacientes melhoram com a administração do ATG, e, no caso da DECH cutânea, são observadas respostas em cerca de 60% a 75% dos pacientes²⁴.

Anticorpos monoclonais tais como daclizumab, visilizumab, infliximab e alemtuzumab têm sido avaliados no tratamento e na prevenção da DECHa. Daclizumab é um anticorpo monoclonal imunoglobulina G1 (IgG1) que se liga diretamente ao CD25, que é o receptor de interleucina 2 (IL-2). Assim, esse anticorpo compete com o IL-2 na ligação ao seu receptor (CD25). O infliximab é um anticorpo monoclonal quimera (camundongo-humano) IgG1 que se liga tanto à subunidade solúvel quanto ao precursor de ligação na membrana do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)²⁵, o maior mediador da terceira fase na patogenia da DECHa. Infliximab inibe uma larga quantidade de atividades biológicas do TNF- α pelo bloqueio da interação dessas moléculas com os seus receptores. Ele também pode causar a lise das células que produzem o TNF- α ²⁵. Outro anticorpo humanizado, visilizumab, liga-se à cadeia ϵ de CD3, o receptor de células T. Visilizumab induz seletivamente a apoptose das células T ativadas²⁶, afetando predominantemente a segunda fase (fase efetora) na patogenia da DECHa. O anticorpo antiCD52, alemtuzumab, utilizado para a depleção de células T, também tem sido usado para o tratamento da DECHa. Como esse anticorpo é reativo tanto com células T quanto com células B, o risco de desordens linfoproliferativas associadas à EBV é baixo^{27,20}. Esse anticorpo é muito utilizado no tratamento da DECHc.

Uma estratégia para aumentar a eficácia dos anticorpos monoclonais ou ligantes biológicos tem sido associá-los a uma toxina (imunotoxina) que pode se grudar na célula-alvo apropriada. Denileucina diftitox, que se liga ao receptor da IL-2, tem recebido considerável

atenção. Seguida a ligação do CD25, o fragmento catalítico A da toxina é translocado para o citoplasma, interferindo na síntese proteica da célula, levando-a à morte²⁸.

Em paralelo com as variadas experiências com anticorpos monoclonais e imunotoxinas, velhas e novas drogas quimioterapêuticas ou imunomodulatórias têm sido utilizadas no tratamento da DECHa refratária. Micofenolato mofetil (MMF) é o etiléster morfolino do ácido micofenólico (MPA) e possui atividade imunossupressora, assim como atividades antibactericida, antiviral e antifúngica. O composto ativo MPA inibe a iosina monofosfato desidrogenase, interferindo assim na síntese de guanosina trifosfato. Como os linfócitos não possuem uma via alternativa para a síntese de guanosina trifosfato, eles preferencialmente são atacados pelo MMF²⁴.

Outras drogas também são utilizadas no tratamento da DECHa, de acordo com os diferentes centros. Pentostatina, um análogo de nucleosídeo que inibe a adenosina desaminase, é outro imunossupressor que tem sido utilizado para o controle da DECHa²⁹. Sua administração leva a um acúmulo de 2'desoxiadenosina 5'trifosfato, que leva predominantemente as células T e *natural killer* (NK) à morte.

Outra abordagem para o tratamento da DECHa é a fotoférese extracorpórea (ECP, do inglês *extracorporeal photopheresis*), na qual o paciente é ligado a uma máquina de aférese e seus leucócitos são recolhidos em uma bolsa. Assim, cerca de 5×10^9 leucócitos do paciente são expostos extracorporeamente ao 8-metoxipsoraleno, seguido de radiação ultravioleta do tipo A (UVA) antes de retornarem ao paciente. A ECP resulta na apoptose de todos os leucócitos ativos dentro de 24 a 48 horas seguintes. As células apoptóticas são utilizadas pelas APC, e esse processo leva à supressão da reatividade das células T, à diminuição das citocinas liberadas e à indução das células T regulatórias³⁰.

Portanto, existem várias terapias para o tratamento da DECHa. Entretanto, antes mesmo da ocorrência da doença, é iniciada uma profilaxia, baseada na administração de agentes imunossupressores.

2.1.3. Profilaxia da doença do enxerto-contra-hospedeiro aguda

A prevenção da DECHa é iniciada antes mesmo do TCTH e é baseada na imunossupressão. Os primeiros regimes de prevenção eram baseados em uma longa administração

de metotrexato (MTX), porém a ciclosporina A (CSA) passou a ser reconhecida como agente imunossupressor que induz menos mucosite e que possui uma atividade de supressão equivalente ao MTX em prevenir a DECH. A combinação dos dois – uma curta administração de MTX e uma longa administração de CSA – tornou-se o padrão global na profilaxia da DECH. Estudos randomizados mostraram diminuição no aparecimento de DECH graus III e IV e subsequente melhora na sobrevida dos pacientes com leucemia e anemia aplástica (AA)³¹. A introdução da CSA foi acompanhada das suas toxicidades específicas, tais como danos renais, hipertensão, tremores e neurotoxicidade³², o que requer uma terapia de suporte para os danos da CSA, além do monitoramento concomitantemente dos níveis séricos da CSA. No caso de neurotoxicidade, deve ser suspensa imediatamente.

Novos agentes farmacológicos que interferem na ativação das células T, como o Tacrolimus (FK506) e o Sirolimus (rapamicina), foram introduzidos nos últimos 10 anos. Em transplantes HLA-idênticos com doador não relacionado, a combinação de tacrolimus e MTX resultou em significativa redução da incidência de DECH quando comparada com CSA/MTX, da toxicidade renal e da taxa de recaída, sugerindo que o tacrolimus é uma alternativa apropriada à CSA.

2.2. Bases moleculares da doença do enxerto-contra-hospedeiro aguda

Levando-se em consideração que a DECHa manifesta-se na forma de dermatite, hepatite e enterite, podemos dizer que essa doença nada mais é do que uma inflamação sistêmica do organismo do indivíduo transplantado. A partir da ideia de que a DECH é um processo inflamatório, começou-se a estudar na doença as mesmas moléculas que estão envolvidas no processo inflamatório, principalmente as que atuam no recrutamento dos leucócitos para os locais de inflamação.

O modelo original de migração de leucócitos para os sítios de inflamação é caracterizado por um processo de múltiplos passos. Com a inflamação, o tecido libera moléculas de citocinas e quimiocinas, que promovem a ativação das vênulas do tecido inflamado. Esse consiste em um aumento da expressão de moléculas de superfície endotelial, como as selectinas. Além disso, as citocinas funcionam como moléculas quimioatrativas promovendo a atração dos leucócitos para os sítios de inflamação. Assim, quando há essa atração, ocorre

o passo inicial do processo de migração dos leucócitos. Esse passo envolve o tateamento e o rolamento dos leucócitos pela superfície das vênulas endoteliais ativadas, primeiramente pela interação das selectinas e seus ligantes de carboidratos. Em seguida, os leucócitos que estão rolando encontram quimiocinas ligadas à superfície das vênulas por proteoglicanos. A sinalização que ocorre através dos receptores de quimiocinas presentes nos leucócitos leva a um aprisionamento do leucócito na superfície da vênula. A transmigração através da superfície da parede endotelial envolve interações entre as integrinas dos leucócitos e as moléculas de adesão³³.

Portanto, várias moléculas são importantes no recrutamento de leucócitos, destacando-se as citocinas, as quimiocinas e seus respectivos receptores.

Citocina é o termo genérico empregado para designar um grupo muito extenso de moléculas envolvidas na emissão de sinais entre as células durante o desencadeamento das respostas imunes. Todas as citocinas são pequenas proteínas, algumas contendo moléculas de açúcar ligadas a elas³⁴. As diferentes citocinas podem ser enquadradas em diversas categorias: interferons (IFN), IL, fator estimulador de colônias (CSF), fator de necrose tumoral alfa e beta (TNF- α e TNF- β), e fator de transformação de crescimento (TGF- β).

As quimiocinas pertencem a uma grande família de proteínas com cerca de 8-12 kD, que têm como função primária serem moléculas quimioatrativas de leucócitos³⁴. Essas proteínas têm funções adicionais em processos como angiogênese, hematopoese e ativação de células do sistema imune. As famílias são subdivididas baseadas no número e na posição do amino terminal (NH₂) – terminal dos resíduos de cisteína. A maior parte das quimiocinas é das subfamílias CC (CCL1-28) e CXC (CXCL1-16), enquanto a família C contém dois membros (XCL1 e XCL2) e a subfamília CX3C apenas um membro (CX3CL1).

Duas classes de quimiocinas foram definidas. A primeira é a classe das homeostáticas, cujas moléculas funcionam especificamente na migração de leucócitos para os tecidos linfoides, assim como na hematopoese. Nessa classe, estão as quimiocinas como a CCL19, CXCL12 e 13, que se ligam aos seus receptores específicos. Há também a classe das quimiocinas inflamatórias, que inclui um grande número de moléculas envolvidas na migração das células da imunidade inata e adaptativa para os sítios de inflamação (Figura 9). Quimiocinas desse grupo são expressas em resposta a um estímulo inflamatório, incluindo produtos moleculares associados a patógenos e a citocinas inflamatórias tais como TNF- α .

e IFN³⁵. São expressas por células teciduais, fibroblastos, células endoteliais, células dendríticas, monócitos, células NK e células T. Várias quimiocinas desse grupo estão envolvidas na recirculação de células T de memória restritas a tecidos específicos tais como o intestino delgado (CCL25/ CCR9)^{36,37} e a pele (CCL17, CCL22/ CCR4)³⁸.

Ainda que as interações entre as células T e as células efectoras durante a DECHA sejam um processo complexo de múltiplos passos, é considerado que essa doença pode ser sumarizada em um processo de três fases com uma fase aferente e outra eferente³⁹. Injúrias no epitélio e no endotélio do hospedeiro geram sinais que recrutam células T do doador (fase I). Nesse meio inflamatório, as células T do doador reconhecem aloantígenos, resultando na ativação e na proliferação (fase II). As primeiras duas fases constituem a aferência da DECHA. Finalmente, as células T causam injúria adicional através de mecanismos específicos e não específicos durante a fase eferente (fase III). Esse modelo de três fases está exemplificado na Figura 10.

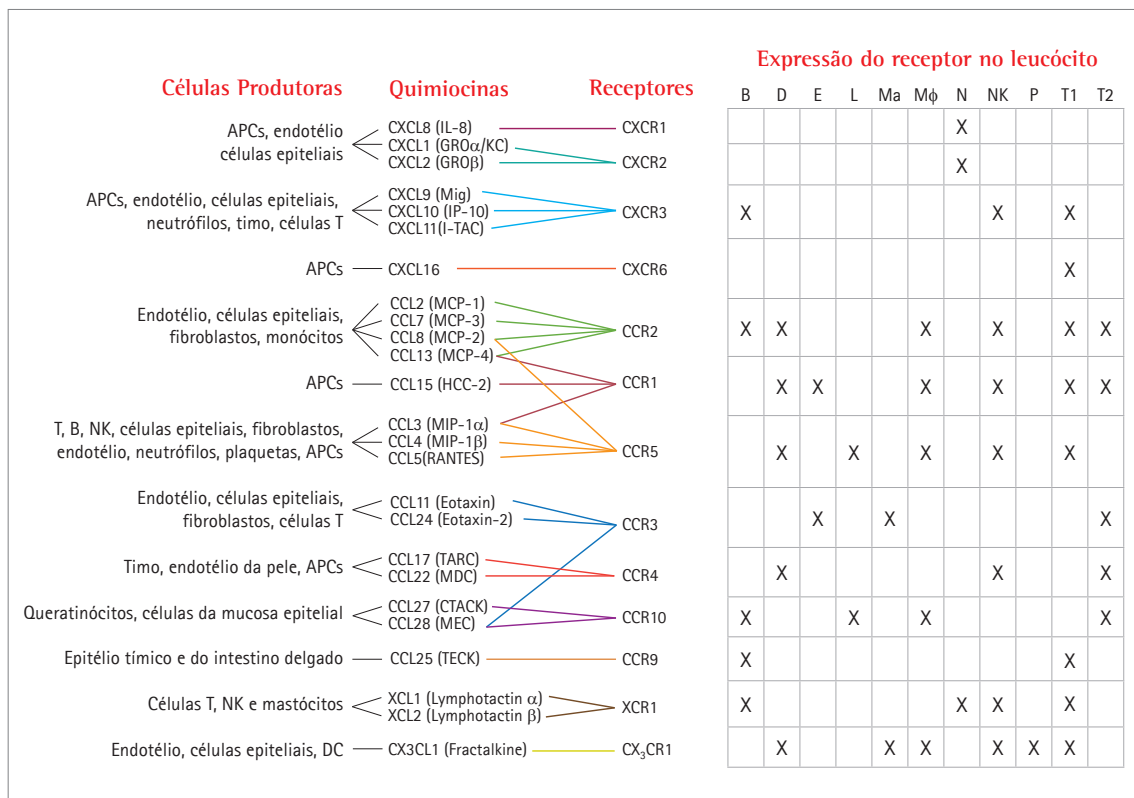


Figura 9 – Quimiocinas inflamatórias e seus receptores. Todos os leucócitos apresentam pelo menos um receptor de quimiocina na sua superfície celular, sendo que alguns receptores são encontrados em mais de um tipo de leucócito. Fonte: adaptado de Wysocki et al., 2005.

Legenda: B, célula B; D, célula dendrítica; E, eosinófilo; L, células de Langerhan; Ma, mastócitos; MØ, macrófago; N, neutrófilo; NK, célula *natural killer*; P, plaquetas; T_h1/ T_c1; T_h2/ T_c2.

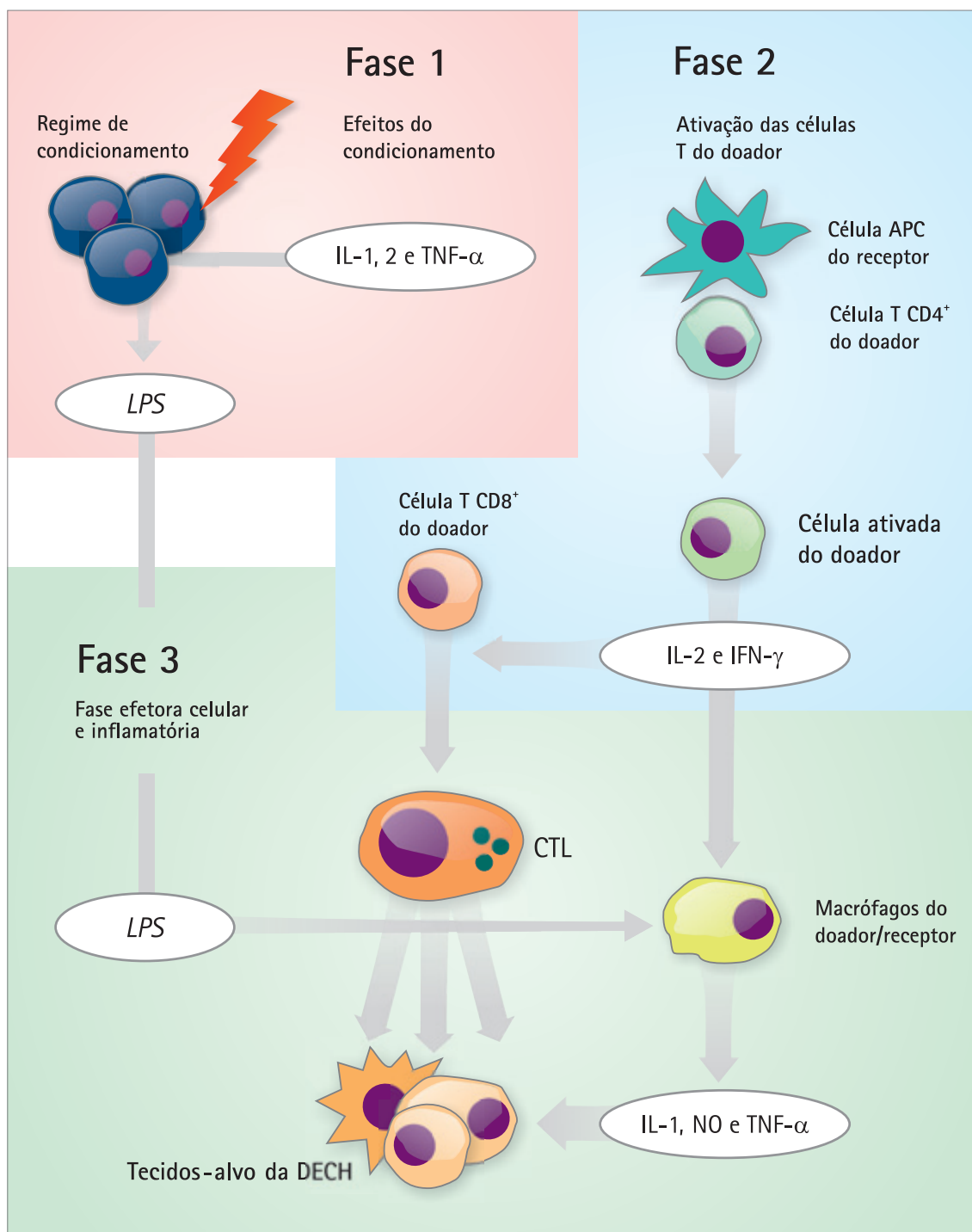


Figura 10 – O modelo de três fases da doença do enxerto-contra-hospedeiro aguda. Durante a fase 1, o regime de condicionamento (irradiação e/ou quimioterapia) leva a dano e ativação dos tecidos do hospedeiro e indução da secreção de citocinas inflamatórias (TNF- α e IL-1). Aumento na expressão de antígenos HLA e moléculas de adesão levam ao aumento do reconhecimento do HLA do hospedeiro pelas células T maduras do doador. Durante a fase 2, células T do doador proliferam e secretam IL-2 e interferon alfa (IFN- α). Essas citocinas induzem ainda mais à expansão das células T, induzem a resposta dos linfócitos T citotóxicos (CTL) e das células NK, e, mais importante, induzem os macrófagos a produzir TNF- α e IL-1. Ainda, óxido nítrico (NO) é produzido por esses macrófagos ativados, o que contribui para a injúria tissular durante a fase 3. Lipopolissacarídeo (LPS), que é liberado pela mucosa intestinal que foi danificada na fase 1, juntamente com o interferon gama (IFN- γ), da fase 2, estimulam ainda mais os macrófagos a secretar citocinas e NO. Durante a fase 3, CTL e NK induzem a destruição dos tecidos-alvo através da citotoxicidade mediada por células

Fonte: adaptado de Jaksch et al., 2005.

O primeiro passo da DECHa ocorre durante a fase do condicionamento, anterior à da infusão das células do doador no paciente. A terapia de condicionamento, que inclui quimio e/ ou radioterapia, é muito tóxica e leva ao dano e à ativação (inflamação) dos tecidos dos pacientes, incluindo mucosa intestinal e fígado. Os tecidos injuriados respondem com a produção de fatores, como quimiocinas, citocinas e moléculas de adesão, que sinalizam ao sistema imune que a injúria ocorreu, resultando uma resposta inflamatória.

Assim, quando as células do doador são infundidas no paciente cujos tecidos já foram danificados por diversos fatores, tais como a doença de base e seu tratamento prévio, infecções e o regime de condicionamento constituído de altas doses de quimioterápicos administrados antes do TCTH, citocinas inflamatórias são secretadas pelas células ativadas do paciente, sendo as mais comuns TNF- α e IL-1. A presença de citocinas inflamatórias nessa fase aumenta a expressão de moléculas de adesão, quimiocinas, moléculas coestimulatórias e antígenos de HLA. Essas moléculas levam à ativação das células dendríticas e ao reconhecimento do HLA do hospedeiro pelas células T maduras do doador⁴⁰. O TNF- α ainda contribui para a injúria intestinal, afetando a integridade da mucosa intestinal diretamente. Isso resulta na liberação de lipopolissacarídeo (LPS), um componente da parede celular de bactérias gram-negativas, que pode escapar através da mucosa danificada e que sinaliza aos linfócitos e macrófagos presentes no intestino que devem produzir mais TNF- α e IL-1. A liberação de LPS e a ativação dos linfócitos e macrófagos resultam na amplificação da injúria tecidual local e promovem a resposta inflamatória.

Apresentação dos antígenos do paciente às células T do doador, ativação das células T do doador e proliferação e diferenciação dessas células T ativadas são os passos cruciais na segunda fase da DECHa. Após a infusão do enxerto, as células T nele contidas reconhecem antígenos estranhos do hospedeiro apresentados pelas APC. Quanto maior a disparidade entre os HLA do doador e do paciente, maior será a resposta das células T.

A ligação do receptor de células T com o peptídeo apresentado pela molécula de HLA contida na superfície das APC determina a sinalização inicial para a estimulação das células T. Entretanto, um segundo sinal coestimulatório é necessário para a estimulação completa dessas células. O resultado do primeiro sinal é regulado pelo segundo sinal. Três resultados podem ocorrer: ativação completa, ativação parcial ou anergia. Um crescente número de vias coestimulatórias da célula T tem sido identificado^{41,42}, porém as vias mais importantes parecem ser mediadas pelas interações entre CD28 com B7 e CD40 com seu ligante CD154.

A ativação e a proliferação das células T são seguidas pela secreção de citocinas e quimiocinas⁴³. A primeira envolve múltiplas vias, que acabam por ativar a transcrição dos genes para citocinas, como IL-2, IFN- γ e seus receptores⁴⁴. IL-2 há muito tempo é considerada a primeira citocina envolvida na DECHa, tanto por seu papel central de ser um fator de crescimento de células T como pela ação da CSA, que é conhecida por inibir a secreção de IL-2. Sob a influência de IL-2 e outros mediadores imunes, as células T alorreativas expandem-se e diferenciam-se em CTL.

Já foi demonstrado que IFN- γ está presente em níveis extremamente elevados em camundongos com DECHa. Junto ao IL-2, induz tanto a expansão das células T, quanto as respostas das CTL e NK, e ainda induz os macrófagos a produzirem IL-1 e TNF- α . Como outras citocinas inflamatórias, o IFN- γ induz o aumento da expressão de quimiocinas, moléculas de adesão e moléculas de HLA, que ampliam o recrutamento de células e de apresentação de antígenos. Outro efeito importante no contexto da DECHa é que o IFN- γ induz diretamente o dano tecidual.

É amplamente conhecido que o sistema imune é, por si só, um alvo da DECH, e que imunossupressão é um fato comum de se observar em pacientes com DECHa. Em vários estudos, o IFN- γ aparece como mediador dessa forma de imunossupressão, por meio da indução da expressão de óxido nítrico (NO) e Fas. Então, pelo aumento da apoptose mediada por Fas, o IFN- γ desempenha um importante papel na regulação da morte celular das células T ativadas do doador. Também reduz a quantidade de LPS necessária para estimular macrófagos a produzir citocinas inflamatórias e NO. Sendo assim, o IFN- γ tem duas funções opostas: em uma, intensifica a DECHa pela maturação das células dendríticas, levando à produção de citocinas inflamatórias e NO, e, em outra, diminui a DECHa pela indução da expressão de receptores de Fas nas células T do doador, causando a sua morte celular induzida e diminuindo a resposta das células T do doador aos antígenos do hospedeiro.

Interleucina-18 é uma citocina descoberta recentemente que também influencia a patofisiologia da DECHa. Ela tem a capacidade de influenciar tanto a resposta do perfil T *helper* 1 (Th1) quanto a Th2. É encontrada em níveis elevados na DECHa, porém o bloqueio de IL-18 acelera a mortalidade por DECHa em modelos animais⁴⁵. Nesse mesmo estudo, foi mostrado que a administração de IL-18 logo após o TCTH aumenta os níveis de IFN- γ no soro de pacientes, o que leva ao aumento da expressão de receptores de Fas nas células T CD4 do doador. Isso resulta na redução da DECHa mediada por essas células em razão da indução de apoptose nelas.

Quimiocinas inflamatórias são expressas nos tecidos inflamados pelas células infiltradas, como macrófagos ou monócitos, ou pelas células residentes, como as células epiteliais, endoteliais ou fibroblastos, em razão do estímulo pelas citocinas inflamatórias (IL-1, TNF- α e IFN- γ) ou por LPS. Esse grupo de quimiocinas é especializado no recrutamento de células efetoras, incluindo monócitos, granulócitos e células T efetoras. Em estudos utilizando modelos de DECHA em camundongos, foi demonstrado o papel crucial de várias quimiocinas e seus receptores (particularmente as quimiocinas MIP-1 α , MIP-2, Mig, MCP-1, MCP-3 e o receptor CCR5) em direcionar a infiltração de células T nos tecidos-alvo durante a DECHA. Linfócitos T que expressam CCR5 são recrutados para o fígado durante a DECHA em modelo animal⁴⁶. Já Serody et al. demonstraram que MIP-1 α , um ligante para CCR1 e CCR5, também está envolvido na DECH hepática⁴⁷. MIP-1 α é crucial para o recrutamento de células T CD8 para o fígado, o pulmão e o baço durante a DECHA⁴⁷. Duffner et al.⁴⁸ mostraram que a migração de células T CD8 de doadores para os órgãos-alvo da DECH, como o intestino, depende da expressão de CXCR3, e que a presença desse receptor contribui significativamente para a destruição e a mortalidade que a DECH causa em camundongos. Células T que expressam CXCR3 e CCR5 causam DECHA no intestino e no fígado. A Figura 11 mostra um resumo das quimiocinas e de seus receptores relacionados aos diferentes tecidos-alvo da DECHA já estudados em modelos animais.

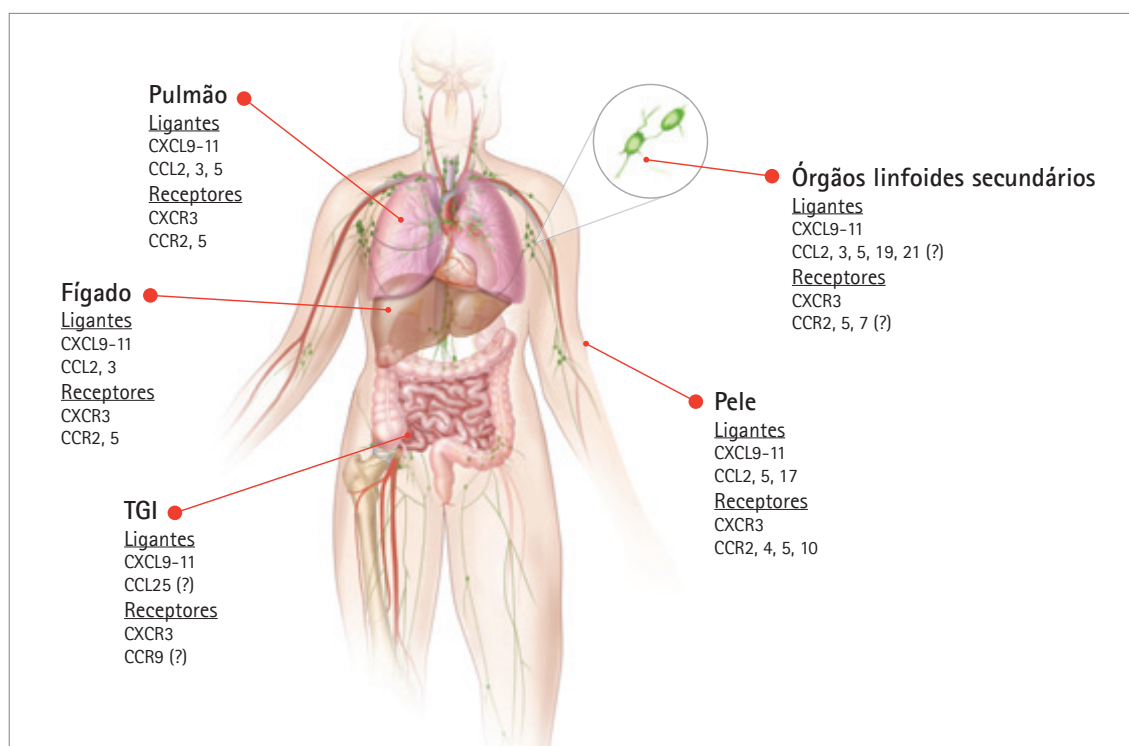


Figura 11 – Quimiocinas e seus receptores nos órgãos-alvo da doença do enxerto-contra-hospedeiro aguda
Fonte: adaptado de Terese Winslow, 2008.

Não se conhece o papel de várias quimiocinas e seus receptores na regulação da migração das células T do doador para os tecidos-alvo da DECH em pacientes. Entretanto, Jaksch et al.⁴⁹ mostraram que o aumento da expressão gênica de CCR5, CXCR3, CCR1 e CCR2 parece ter ligação com o aparecimento da DECHa após o TCTH. Entretanto, quimiocinas e seus receptores podem atuar não somente como alvos potenciais para a modulação da DECHa, mas também como marcadores para o diagnóstico prévio da detecção da doença.

Uma vez que as células T do doador estejam ativadas e proliferando, elas são direta ou indiretamente responsáveis pelo dano tecidual observado na DECH. Assim, tem início a fase três da DECHa. Três vias citolíticas são importantes na função efetora das células T e de outras células citolíticas: a via perforina/ granzima B, a Fas/ Fas ligante (FasL) e a injúria mediada diretamente pelas citocinas. Estudos recentes com camundongos nocaute demonstraram um papel central de cada uma dessas vias no estágio efetor da DECHa^{50,51}.

O receptor de Fas é um membro da família de receptores de fator de necrose tumoral (TNF). É expresso em vários tecidos, incluindo os órgãos-alvo da DECHa, e os níveis de expressão dessa molécula aumentam na presença de citocinas pró-inflamatórias durante o processo inflamatório⁴⁹. O seu ligante, FasL, também pertence à família de TNF e é expresso predominantemente em células T ativadas, macrófagos e neutrófilos.

Já a perforina é expressa principalmente pelas CTL e células NK, e é estocada em grânulos citotóxicos juntamente com as granzimas e outras proteínas⁴⁹. Na presença de cálcio, a perforina polimeriza e forma canais na membrana da célula-alvo, o que permite que a granzima entre nessa célula. Uma vez dentro, a granzima ativa uma cascata de caspases, que levam-na à apoptose.

Na DECHa, vários estudos mostram que a expressão tanto de Fas quanto a de FasL está aumentada nas células T CD4 e CD8 proveniente dos doadores, e que os níveis séricos dessas moléculas solúveis estão correlacionados com a severidade da doença. Outros estudos, utilizando células T de doadores deficientes em perforina, injetadas em modelos de camundongo com disparidade entre MHC Classes I e II mostraram um aumento da sobrevivência desses animais, indicando que a DECHa pode ser mediada por meio da via de perforina/ granzima⁴⁹.

Por outro lado, células T deficientes tanto para perforina quanto para FasL podem induzir a DECHa⁵². Isso sugere que outros mediadores atuam promovendo a apoptose celular,

tais como TNF e outras citocinas. Isso tanto é verdade que um dos tratamentos para a DECHA é a administração de anticorpos antiTNF, para bloquear a atividade de TNF.

O TNF- α é uma citocina inflamatória que ativa as células dendríticas e aumenta a apresentação de antígenos. Pela indução de quimiocinas inflamatórias, ele recruta células T efetoras, neutrófilos e monócitos para os órgãos-alvo. O TNF- α causa, ainda, dano tissular diretamente pela indução de necrose das células-alvo, e ainda pode induzir destruição tecidual através de apoptose. IL-1 é outra citocina inflamatória, secretada pelas células alorreativas, que tem a sua expressão aumentada em pacientes com DECHA. O seu mecanismo de ação ainda é desconhecido, porém estudos que utilizaram antagonistas de IL-1 em modelos de camundongos mostraram que houve uma diminuição da doença. A Figura 12 mostra os mecanismos de injúria na DECHA, exemplificando as interações entre os tipos celulares e as moléculas secretadas.

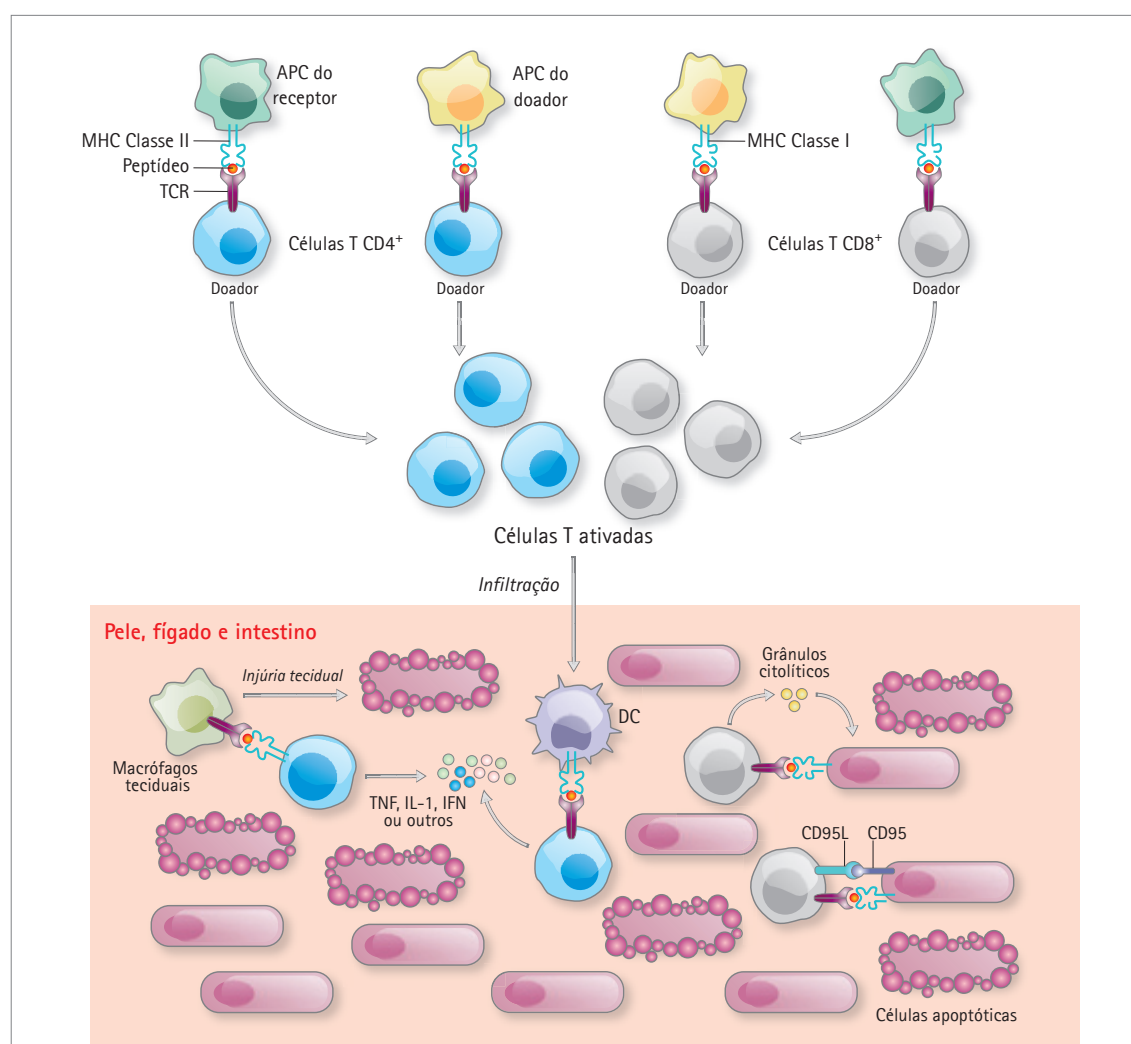


Figura 12 – Mecanismos de injúria pela infiltração tissular de células T alorreativas
Fonte: adaptado de Shlomchik, 2007.

Apesar de vários estudos demonstrarem a participação de diversas citocinas e quimioquinas na fisiopatogenia da DECHa, a maioria desses estudos foi realizada em modelo animal. Recentemente, vários grupos têm-se dedicado ao estudo dessas moléculas em humanos, porém ainda não existe um consenso nos resultados obtidos. São resultados controversos e ainda não podem ser utilizados na clínica como uma forma de prever a doença. Um dos principais objetivos desses grupos tem sido a procura de biomarcadores que possam prever o risco de ocorrer a DECHa antes mesmo de ela se manifestar.

2.3. Biomarcadores como auxiliares no diagnóstico da doença do enxerto-contra-hospedeiro aguda

Biomarcadores são considerados biologicamente mais informativos do que os métodos tradicionais e menos propensos a vieses. A heterogeneidade tanto da população de pacientes quanto dos diversos estágios patológicos da doença de base podem ser mais bem explicados por essas moléculas, uma vez que elas, por si só, podem indicar um risco de manifestação de determinada doença⁵³.

Os biomarcadores podem ser utilizados para gerar um diagnóstico precoce e acurado da DECHa sem a necessidade de biópsias de órgãos. A procura de peptídeos ou proteínas envolvidas na DECHa nesse momento é baseada na análise de moléculas conhecidas, compreendidas na patofisiologia da doença. Um painel analítico de todas as proteínas e todos os peptídeos presentes ou alterados após o TCTH pode gerar conhecimentos significantes sobre o desenvolvimento da DECHa.

No início desses estudos, a procura de biomarcadores restringiu-se a análises de plasma e pele desses pacientes. Numerosos trabalhos procurando alterações de moléculas envolvidas com a DECHa foram realizados, utilizando as mais variadas metodologias. Remberger et al.⁵⁴ mostraram que os níveis de citocinas no soro de pacientes com DECHa não podem ser correlacionados ao quimerismo com o doador, uma vez que essas citocinas encontram-se aumentadas já no pré-transplante, tanto no grupo com quimerismo total quanto no grupo com quimerismo misto. Jaksch et al., em 2005⁴⁹, observaram um aumento na expressão dos genes dos receptores de quimioquinas CCR1, CCR2, CCR5 e CXCR3, aumento esse que estava relacionado ao desenvolvimento da DECHa. Fujji et al. observaram o aumento de IL-5, IL-6 e IL-10 no soro de pacientes com DECHa⁵⁵. Piper et al.⁵⁶, em um estudo um

pouco maior que os anteriores, verificaram que existe um papel importante de CXCL10 e CXCR3 na patogenia da DECHa, uma vez que o ligante foi encontrado em altas concentrações no plasma e o receptor teve um aumento de expressão em células mononucleares. Nesse mesmo trabalho, eles mostraram que essa interação está diretamente relacionada com o recrutamento de células T regulatórias para o sítio da doença.

Outras abordagens de procura de biomarcadores vêm sendo utilizadas mais recentemente. A proteômica permite analisar o perfil proteico total da amostra utilizada, e pode gerar várias candidatas à molécula biomarcadora, sem ter ido à procura de uma molécula específica.

Um estudo iniciado em 2004 tentou identificar possíveis perfis proteicos que pudessem estar relacionados à DECHa, comparando a urina de pacientes submetidos ao TCTH com e sem DECH⁵⁷. Eles identificaram fragmentos de colágeno α -1 na urina de pacientes com DECHa.

Srinivasan et al.⁵⁸ observaram perfis proteicos diferentes no plasma de pacientes com DECHa. Quando esse perfil foi comparado ao do plasma desses mesmos pacientes no pré-transplante, não foi identificada nenhuma proteína específica.

Em 2009, Paczesny et al.⁵⁹ identificaram um painel de biomarcadores no plasma de pacientes com DECHa. Nesse trabalho, eles determinaram um painel de quatro proteínas (receptor de IL-2, receptor de TNF, IL-8 e fator de crescimento de hepatócito – HGF, do inglês *hepatocyte growth factor*) que podem ser encontradas em 85% dos pacientes que não tiveram maiores complicações no pós-transplante. Para chegar a essas quatro proteínas, eles utilizaram a metodologia de microarranjos de anticorpos para 120 proteínas inflamatórias.

Em um trabalho posterior, esse mesmo grupo⁵⁹ encontrou um biomarcador para a DECHa de pele, a elafina, um inibidor de proteinase epidermal induzida por TNF- α . Nesse caso, eles utilizaram um *pool* de plasma de dez pacientes com DECHa de pele e compararam com dez que não desenvolveram DECHa. Os autores observaram que, nos pacientes com DECH de pele, a concentração dessa proteína estava duas vezes aumentada no plasma em relação aos pacientes que não desenvolveram a doença. Nesse caso, eles utilizaram a metodologia proteômica MS/MS.

Uma vez que a DECHa é uma das maiores causas de morbidade nos pacientes submetidos ao transplante de medula óssea, fica evidente a importância do estudo dessa doença

por uma unidade de transplante. Deve-se levar em consideração ainda que existe pouco conhecimento da base molecular da doença em humanos, uma vez que a maioria dos estudos foi desenvolvida em modelos animais.

Referências

1. BAKER MB, ALTMAN NH, PODACK ER, LEVY RB. The role of cell mediated cytotoxicity in acute GVHD after MHC-matched allogeneic bone marrow transplantation in mice. *J Exp Med* 1996; 183:2645–56.
2. FERRARA JL, DEEG HJ. Graft-versus-host disease. *N Engl J Med*. 1991; 324:667–74.
3. FILIPOVICH AH, WEISDORF D, PAVLETIC S, et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11(12):945–56.
4. BILLINGHAM RE, BRENT L, BROWN JB, MEDAWAR PB. Time of onset and duration of transplantation immunity. *Transplant Bull* 1959; 6:410–4.
5. BILLINGHAM RE. The biology of graft-versus-host reactions. *Harvey Lect*. 1966; 62:21–78
6. AHYA R, DOUGLAS JG, WATSON HG. Transfusion associated graft versus host disease in an immunocompetent individual following coronary artery bypass grafting. *Heart* 1998; 80(3):299–300.
7. TAYLOR AL, GIBBS P, BRADLEY JA. Acute graft versus host disease following liver transplantation: the enemy within. *Am J Transplant* 2004; 4(4):466–74.
8. WEINSTEIN A, DEXTER D, KUKURUGA DL et al. Acute graft-versus-host disease in pancreas transplantation: a comparison of two case presentations and a review of the literature. *Transplantation* 2006; 82(1):127–31.
9. HANSEN JA, PETERSDORF EW, MARTIN PJ, ANASETTI C. Hematopoietic stem cell transplants from unrelated donors. *Immunol. Rev*. 1997; 157, 141–151.

10. VOGELSANG GB, LEE L, BENSEN-KENNEDY DM. Pathogenesis and treatment of graft-versus-host disease after bone marrow transplant. *Annu Rev Med* 2003; 54:29–52.
11. COURIEL D, CALDERA H, CHAMPLIN R, KOMANDURI K. Acute graft-versus-host disease: pathophysiology, clinical manifestations, and management *Cancer* 2004; 101(9):1936–46.
12. GOKER H, HAZNEDAROGLU IC, CHAO NJ. Acute graft-vs-host disease: pathobiology and management. *Exp Hematol* 2001; 29:259–277.
13. JACOBSON DA, VOGELSANG GB. Acute graft versus host disease. *Orph J Rare Dis* 2007; 2:35.
14. TESHIMA T, FERRARA JL. Understanding the alloresponse: new approaches to graft-versus-host disease prevention. *Semin Hematol* 2002; 39(1):15–22.
15. PRZEPIORKA D, WEISDORF D, MARTIN P et al. Consensus conference on acute GVHD grading. *Bone Marrow Transplant* 1995; 15:825–828.
16. IQBAL N, SALZMAN D, LAZENBY AJ, WILCOX CM. Diagnosis of gastrointestinal graft-versus-host disease. *Am J Gastroenterol* 2000; 95:3034–3038.
17. ARAI S, LEE LA, VOGELSANG GB. A systematic approach to hepatic complications in hematopoietic stem cell transplantation. *J Hematother Stem Cell Res* 2002; 11:215–229.
18. AKPEK G, BOITNOTT JK, LEE LA et al. Hepatic variant of graft-versus-host disease after donor lymphocyte infusion. *Blood* 2002; 100:3903–3907.
19. SOCIE G, MARY JY, LEMANN M et al. Prognostic value of apoptotic cells and infiltrating neutrophils in graft-versus-host disease of the gastrointestinal tract in humans: TNF and Fas expression. *Blood* 2004; 103:50–57.
20. JACOBSON DA, VOGELSANG GB. Novel pharmacotherapeutic approaches to prevention and treatment of GVHD. *Drugs* 2002; 62:879–889.
21. PRZEPIORKA D, KHOURI I, IPPOLITI C et al. Tacrolimus and minidose methotrexate for

prevention of acute graft-versus-host disease after HLA-mismatched marrow or blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1999; 24:763–768.

22. HINGS IM, FILIPOVICH AH, MILLER WJ et al. Prednisone therapy for acute graft-versus-host disease: short- versus longterm treatment. A prospective randomized trial. *Transplantation* 1993; 56:577–580.

23. RUUTU T, NIEDERWIESER D, GRATWOHL A, APPERLEY JF. A survey of the prophylaxis and treatment of acute GVHD in Europe: a report of the European Group for Blood and Marrow, Transplantation (EBMT). Chronic Leukaemia Working Party of the EBMT. *Bone Marrow Transplant* 1997; 19:759–764.

24. DEEG HJ. How I treat refractory acute GVHD. *Blood* 2007; 109(10):4119–4126.

25. SCALLON BJ, MOORE MA, TRINH H, KNIGHT DM, GHAYEB J. Chimeric anti-TNF-alpha monoclonal antibody cA2 binds recombinant transmembrane TNF-alpha and activates immune effector functions. *Cytokine* 1995; 7:251–259.

26. CARPENTER PA, PAVLOVIC S, TSO JY et al. Non-Fc receptor binding humanized anti-CD3 antibodies induce apoptosis of activated human T cells. *J Immunol* 2000; 165:6205–6213.

27. WANDROO F, AUGUSTON B, COOK M, CRADDOCK C, MAHENDRA P. Successful use of Campath-1H in the treatment of steroid refractory liver GvHD. *Bone Marrow Transplant* 2004; 34:285–287.

28. HO VT, ZAHRIEH D, HOCHBERG E et al. Safety and efficacy of denileukin diftitox in patients with steroid refractory acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2004; 104:1224–1226.

29. VOGELSANG GB. Advances in the treatment of graft-versus-host disease. *Leukemia* 2000; 14:509–510.

30. FOSS FM, DIVENUTI GM, CHIN K et al. Prospective study of extracorporeal photopheresis in steroidrefractory or steroid-resistant extensive chronic graft-versus-host disease: analysis of response and survival incorporating prognostic factors. *Bone Marrow Transplant* 2005; 35:1187–1193.

31. SORROR ML, LEISENRING W, DEEG HJ, MARTIN PJ, STORB R. Twenty-year follow-up of a controlled trial comparing a combination of methotrexate plus cyclosporine with cyclosporine alone for prophylaxis of graft-versus-host disease in patients administered HLA-identical marrow grafts for leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11: 814-815.
32. LOUGHRAN TP JR, DEEG HJ, DAHLBERG S et al. Incidence of hypertension after marrow transplantation among 112 patients randomized to either cyclosporine or methotrexate as graft-versus-host disease prophylaxis. *British Journal of Haematology* 1985; 59: 547-553.
33. JOHNSON-LEGER C, IMHOF BA. Forging the endothelium during inflammation: pushing at a halfopen door? *Cell Tissue Res* 2003; 314:93-105.
34. WYSOCKI CA, PANOSKALTSIS-MORTARI A, BLAZAR BR, SERODY JS. Leukocyte migration and graft-versus-host disease. *Blood* 2005; 105(11):4191-9
35. MOSER B, WOLF M, WALZ A, LOETSCHER P. Chemokines: multiple levels of leukocyte migration control. *Trends Immunol* 2004; 25(2):75-84.
36. PAPADAKIS KA, LANDERS C, PREHN J et al. CC chemokine receptor 9 expression defines a subset of peripheral blood lymphocytes with mucosal T cell phenotype and Th1 or T-regulatory 1 cytokine profile. *J Immunol* 2003; 171:159-165.
37. KUNKEL EJ, CAMPBELL JJ, HARALDSEN G et al. Lymphocyte CC chemokine receptor 9 and epithelial thymus-expressed chemokine (TECK) expression distinguish the small intestinal immune compartment: epithelial expression of tissue-specific chemokines as an organizing principle in regional immunity. *J Exp Med* 2000; 192:761-768.
38. REISS Y, PROUDFOOT AE, POWER CA, CAMPBELL JJ, BUTCHER EC. CC chemokine receptor (CCR) 4 and the CCR10 ligand cutaneous T cell-attracting chemokine (CTACK) in lymphocyte trafficking to inflamed skin. *J Exp Med* 2001; 194:1541-1547.
39. FERRARA JL, COOKE KR, TESHIMA T. The pathophysiology of acute graft-versus-host disease. *Int J Hematol* 2003; 78:181-7.
40. MATZINGER P. The danger model: a renewed sense of self. *Science* 2002; 296:301-5.

41. DENTON MD, MAGEE CC, SAYEGH MH.. Immunosuppressive strategies in transplantation. *Lancet* 1999; 353:1083–91.
42. SALAMA AD, REMUZZI G, HARMON WE, SAYEGH MH. Challenges to achieving clinical transplantation tolerance. *J Clin Invest* 2001; 108:943–8.
43. HO IC, GLIMCHER LH. Transcription: tantalizing times for T cells. *Cell* 2002; 109 (suppl.):S109–20.
44. TSENG SY, DUSTIN ML. T-cell activation: a multidimensional signaling network. *Curr Opin Cell Biol* 2002; 14:575–80.
45. REDDY P, TESHIMA T, KUKURUGA M et al. Interleukin-18 regulates acute graft-versus-host disease by enhancing Fas-mediated donor T cell apoptosis. *J Exp Med* 2001;194:1433–40.
46. MURAI M, YONEYAMA H, HARADA A et al. Active participation of CCR5(–)CD8(–) T lymphocytes in the pathogenesis of liver injury in graft-versus-host disease. *J Clin Invest* 1999; 104:49–57.
47. SERODY JS, BURKETT SE, PANOSKALTSIS-MORTARI A et al. T-lymphocyte production of macrophage inflammatory protein-1alpha is critical to the recruitment of CD8(–) T cells to the liver, lung, and spleen during graft-versus-host disease. *Blood* 2000; 96:2973– 80.
48. DUFFNER U, LU B, HILDEBRANDT GC et al. Role of CXCR3-induced donor T-cell migration in acute GVHD. *Exp Hematol* 2003; 31:897–902.
49. JAKSCH M, REMBERGER M, MATTSSON J. Increased Gene Expression of Chemokine Receptors Is Correlated with Acute Graft-versus-Host Disease after Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11:280–287.
50. GRAUBERT TA, DIPERSIO JF, RUSSELL JH, LEY TJ. Perforin/ granzymedependent and independent mechanisms are both important for the development of graft-versus-host disease after murine bone marrow transplantation. *J Clin Invest* 1997; 100:904–11.
51. HATTORI K, HIRANO T, MIYAJIMA H et al. Differential effects of anti- Fas ligand and anti-tumor necrosis factor alpha antibodies on acute graft-versus-host disease pathologies. *Blood* 1998; 91:4051–5.

52. SHLOMCHIK WD. Graft-versus-host disease *Nature Reviews Immunol* 2007; 7: 340-352.
53. LIOTTA LA, FERRARI M, PETRICOIN E. Clinical proteomics: written in blood. *Nature* 2003; 30;425(6961):905.
54. REMBERGER M, JAKSCH M, UZUNEL M, MATTSSON J. Serum levels of cytokines correlate to donor chimerism and acute graft-vs.-host disease after haematopoietic stem cell transplantation. *Eur J Haematol* 2003; 70: 384-391.
55. FUJII N, HIRAKI A, AOE K et al. Serum cytokine concentrations and acute graft-versus-host disease after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: Concurrent measurement of ten cytokines and their respective ratios using cytometric bead array. *Inter J Mol Medicine* 2006; 17: 881-885.
56. PIPER KP, HORLOCK C, CURNOW SJ et al. CXCL10-CXCR3 interactions play an important role in the pathogenesis of acute graft-versus-host disease in the skin following allogeneic stem-cell transplantation. *Blood* 2007; 110:12:3827-32.
57. WEISSINGER EM, SCHIFFER E, HERTENSTEIN B et al. Proteomic patterns predict acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2007; 109:12.
58. SRINIVASAN R, DANIELS J, FUSARO V et al. Accurate diagnosis of acute graft-versus-host disease using serum proteomic pattern analysis. *Exp Hematol* 2006; 34 (6):796-801.
59. PACZESNY S, KRIJANOVSKI OI, BRAUN TM et al. A biomarker panel for acute graft-versus-host disease. *Blood* 2009; 113(2):273-8.

CAPÍTULO 3

A doença do enxerto-contra-hospedeiro crônica

O transplante alogênico de progenitores hematopoéticos (TAPH) é uma estratégia eficaz e amplamente utilizada para o tratamento de malignidades hematológicas, entre outras patologias. No entanto, a DECH, que ocorre após essa modalidade terapêutica, é uma severa e limitante complicação e uma causa significativa de morbidade e mortalidade. Em comparação com os transplantes de órgãos sólidos, o TAPH apresenta um contexto único de complicações imunológicas em função da geração, no receptor, de um novo sistema imune inato e adaptativo a partir das células recebidas do doador, além da transferência potencial de células já maduras do sistema imune do doador. A DECH é a expressão clínica desse processo, sendo, portanto, exclusiva desse tipo de transplante¹.

O número de transplantes proteicos alogênicos vem crescendo anualmente, desde o seu início no final da década de 1960, sendo hoje superior a 20 mil por ano nos Estados Unidos². O efeito do enxerto contra a neoplasia subjacente, o qual frequentemente ocorre em paralelo à DECH, *in vivo*, efetivamente é capaz de erradicar diversas malignidades hematológicas, frequentemente refratárias a múltiplos esquemas terapêuticos padrão, sendo responsável pela cura desses pacientes. O desenvolvimento de regimes de condicionamento pré-transplante mais eficazes e menos tóxicos vem contribuindo para factibilidade de um número maior de procedimentos. Além disso, avanços na profilaxia e no tratamento de infecções, aliados ao advento de novos imunossupressores e de melhor seleção de doadores, contribuíram para obtenção de melhores resultados do TAPH. Infelizmente, a incidência de DECH nas suas diferentes apresentações clínicas – aguda e, principalmente, crônica – tem crescido proporcionalmente, sendo atualmente o principal obstáculo para maior utilização dessa terapia³. Apesar do impacto exercido na mortalidade precoce pós-TAPH, a incidência de DECHa não se modificou significativamente, até mesmo diminuiu em alguns contextos clínicos com a adoção de novos esquemas de imunossupressores⁴. A utilização de esquemas de condicionamento de menor toxicidade também contribuiu indiretamente para esse resultado. Por outro lado, a incidência da DECHc vem se mantendo significativamente elevada, variando de 30% até 80% em diversos estudos clínicos^{5,6}, estando associada ao uso prolongado de imunossupressores, à diminuição da qualidade de vida e à menor sobrevida global^{7,8}.

Tradicionalmente, costuma-se definir como aguda (DECHa) a forma da doença que ocorre nos 100 primeiros dias pós-transplante (até o dia 100) com sinais e sintomas que se iniciam normalmente mais cedo (em torno da quarta semana), coincidindo com o momento da recuperação dos granulócitos ("pega") no contexto do transplante mieloablativo. A incidência de DECHa de graus II a IV, ou seja, formas clínicas mais graves que requerem tratamento com imunossupressão sistêmica, é de aproximadamente 35% quando o doador é HLA idêntico e aparentado (irmão consanguíneo). Contudo, pode ser tão elevada quanto de 70% a 80% com o uso de enxertos HLA parcialmente compatíveis ou quando o doador não é familiar. Outros fatores que aumentam a incidência de DECHa são a positividade sorológica para citomegalovírus (CMV) no paciente e sua idade mais avançada. A mortalidade global, nesses casos, pode chegar a 50%^{9,10}.

A apresentação clínica da DECHa assemelha-se a uma inflamação multiorgânica aguda, atingindo primariamente a pele, o fígado e o trato gastrointestinal. Alterações dérmicas típicas da DECHa são caracterizadas como exantema maculopapular ou eritrodermia difusa, acompanhadas ou não de variados graus de hepatite e/ ou colestase ou enterite, as quais compõem um espectro clínico característico de dano tecidual inflamatório^{11,12}. A fisiopatologia da forma aguda tem sido bem caracterizada nas últimas décadas e parece ser secundária a um evento primário de lesão tecidual epitelial (causado pela quimioterapia ou pela radioterapia do transplante), o qual estimula a liberação de citocinas inflamatórias com ativação de populações celulares. Essas células, na sua maioria linfócitos T e células dendríticas, respondem aos diferentes antígenos polimórficos do receptor, os quais são apresentados aos linfócitos alorreativos pelas células dendríticas (apresentadoras de antígenos) do receptor e/ ou do próprio doador. Essa lesão é posteriormente amplificada por mediadores inflamatórios não específicos, causando danos posteriores nos tecidos hospedeiros, em uma reação "em cascata"^{13,14}. Essa reação se desenvolve em fases sequenciais, que envolvem interações entre um grande número de citocinas, quimiocinas e células do sistema imune inato e adaptativo.

Em decorrência de uma melhor compreensão da fisiopatogenia da DECHa, podem-se utilizar diversas abordagens profiláticas. Técnicas de alodepleção T seletiva e modulações nas diferentes populações do enxerto, como progenitores CD 34+, células NK e células mesenquimais, permitem manter a imunorreatividade sem levar a formas graves de DECHa *in vivo*. Além disso, a modificação do "meio ambiente" encontrado pelo enxerto, por exemplo, com eliminação das células apresentadoras de antígenos ou o uso de fatores de crescimento de epitélio tímico, são estratégias promissoras que vêm aos poucos se traduzindo em ensaios clínicos¹⁵.

Não se observaram avanços semelhantes no entendimento da fisiopatogenia da DECHc. Isso pode ser explicado, em parte, pela ausência de modelos experimentais apropriados, que mimetizem os eventos patológicos observados na DECHc. Alguns modelos murinos, em dependência de diferentes combinações de cepas, regimes de condicionamento e fonte de progenitores, apresentam quadro clínico compatível com fibrose cutânea, pulmonar ou nefrite lúpica¹⁶. Contudo, não se obteve um modelo único que expressasse a amplitude da clínica e sua cinética, evolução essa que costuma ser mais lenta em humanos, e normalmente só é observada após término da profilaxia e/ ou do tratamento para a DECHa. Sabe-se, porém, que sua incidência também parece estar correlacionada à expansão de células T alorreativas. Essas células, oriundas do enxerto, proliferam em resposta a antígenos do hospedeiro, com dano tecidual nos diversos órgãos-alvo¹⁷. As lesões seriam consequência de uma reação inflamatória crônica com cicatrização secundária, geração de fibrose, secreção de citocinas e/ ou estimulação clonal de linfócitos B, com consequente produção de alo ou autoanticorpos. Alguns dos fatores de risco relacionados à maior incidência de DECHc são: idade avançada do paciente, DECHa prévia, doador do sexo feminino aloimunizado (mulher múltipara) e incompatibilidade do sistema HLA entre doador e paciente^{18,19}. Apesar dos avanços obtidos na prevenção da DECHa, somente a utilização de enxertos T-depletados resultou na diminuição concomitante da DECHc²⁰. O aumento na incidência da DECHc pode ser explicado pelo número crescente de doadores HLA não idênticos ou não relacionados e o uso de sangue periférico como fonte de células progenitoras, entre outros fatores^{21,22}. Além disso, um percentual crescente de pacientes sobrevive às complicações peritransplante graças a avanços nas áreas de suporte clínico, o que permite o acompanhamento em longo prazo dessa população com maior probabilidade de desenvolvimento da DECHc³.

Apesar dos efeitos adversos, conforme mencionado anteriormente, a DECHc está associada a um número menor de recaídas da doença maligna, correlação inicialmente observada por Weiden et al.²³ e confirmada em estudos clínicos subsequentes²⁴. Esse efeito enxerto-*versus*-malignidade (EVM), atribuído aos linfócitos T imunocompetentes provenientes do doador, traduziu-se clinicamente em uma maior sobrevida. Evidências indiretas desse benefício terapêutico do EVM são demonstradas pela menor incidência de recaída entre receptores de aloenxertos comparados aos autólogos²⁵. Além disso, a recaída também é maior após transplantes singênicos e T-depletados em comparação aos alotransplantes não linfodepletados^{26,27}. A utilização posterior de infusões de linfócitos do doador como estratégia de tratamento para recaída leucêmica pós-alotransplante veio a consolidar esse conceito e é amplamente usada por diversos grupos, com taxas de remissão próximas a 100%, no caso da leucemia mieloide crônica^{28,29}. Apesar desse evidente benefício, a concomitância

da erradicação maligna com as formas mais graves de DECH aguda e crônica *in vivo* limita o uso amplo da imunoterapia com linfócitos ativados. Por outro lado, tornou-se cada vez menos comum o uso de enxertos T-depletados na prática clínica. Atualmente, apenas em situações de maior grau de incompatibilidade HLA entre receptor e doador, como no transplante haploidêntico, faz-se a linfodepleção. Nesse caso, a presença de quantidades elevadas de linfócitos T alorreativos torna-se incompatível com a sobrevida pelo advento de formas mais graves e letais de DECHa (graus III e IV)³⁰. Desse modo, o arsenal terapêutico clínico frequentemente se resume à escolha entre duas doenças: a maligna e aquela imunomediada.

A análise de estudos clínicos de grandes populações aponta a DECHc como a principal causa de óbitos não relacionados à recaída num período maior que dois anos pós-transplante. O espectro dos sinais e sintomas clínicos que constituem a síndrome da DECHc sugere, em vários aspectos, a evolução de uma doença autoimune na qual o componente de autoimunidade é o principal fator etiopatogênico. A indução de tolerância *in vivo* seria o evento que possivelmente determinaria a estabilidade e a resolução dessa doença, porém muito pouco desse processo é conhecido e, conseqüentemente, o tratamento ainda se encontra bastante defasado em relação à gravidade da DECHc. Até o momento, os parâmetros utilizados no diagnóstico da DECHc têm sido exclusivamente clínicos e temporais, o que traz em si limitações significativas. A classificação original de DECH aguda e crônica foi desenvolvida há mais de duas décadas, já tendo sido propostos, recentemente, novos modelos que se adequassem melhor aos espectros clínicos observados³¹. Um exemplo dessas variações na clínica pode ser visto na doença enxerto que se segue aos transplantes não mieloablativos ou "minitransplantes". Nesse contexto, é comum a coexistência de achados clínicos tipicamente "agudos", como enterite, e presença de alterações sugestivas de cronicidade, como líquen de mucosa oral^{32,33}.

Comumente, a terapia da DECHc moderada ou grave utiliza medicações imunossupressoras sistêmicas, as quais trazem um risco aumentado de infecções oportunistas e um conseqüente aumento na morbidade e na mortalidade relacionadas à doença³⁷. A introdução da imunossupressão pode, além disso, implicar a diminuição *in vivo* da atividade aloimune do enxerto contra a malignidade primária, já que seu efeito nas diferentes subpopulações não é seletivo³⁸.

Descobertas recentes demonstram a presença de diferentes subpopulações de linfócito T responsáveis pelos distintos efeitos aloimunes^{34,35}, com destaque para a possibilidade de equilibrar a resposta autorreativa enquanto preserva a imunidade contra tumores e micróbios. As células T reguladoras emergem como um componente celular chave na

mediação desse processo. Nos últimos anos, a descoberta de marcadores de superfície celular e moléculas intracelulares que parecem ser fenotípica e funcionalmente específicas para as células reguladoras possibilitou o estudo dessas células na regulação de diversas respostas imunológicas³⁹.

Paralelamente, diversos pesquisadores têm tentado estabelecer parâmetros laboratoriais que sirvam como biomarcadores no contexto da DECHc. O papel de biomarcador para as células T reguladoras na DECHc torna-se bastante atraente, pela alteração imune celular que caracteriza essa doença. A identificação desses biomarcadores, em paralelo com avaliação prospectiva clínica e laboratorial, traria a vantagem de um diagnóstico rápido e conclusivo da DECHc, com validação posterior em estudos multicêntricos³⁶. Idealmente, a identificação de um bom biomarcador exerceria um papel semelhante ao da análise da relação CD4/ CD8 como indicador de doença ativa na síndrome da imunodeficiência adquirida (Aids), orientando melhor o clínico na terapia. Até o presente momento, a DECHc permanece um alto preço a ser pago pela cura da malignidade.

Referências

1. TOUBAI T et al. GVHD pathophysiology: is acute different from chronic? *Best Prac e Res Clin Haematol.* 2008; 21:101-117.
2. Center for International Blood e Marrow Transplant Research. Disponível em: [http:// www.cibmtr.org](http://www.cibmtr.org) .Acesso em:10 mar.2011
3. KISS T L et al. Long term medical outcomes and quality- of life assessment of patients with chronic myeloid leukemia followed at least 10 years after allogeneic bone marrow transplantation.*J Clin Oncol* 2002; 20:2334-2343.
4. FUCHS EJ et al. High-dose cyclophosphamide for graft-versus-host disease prevention. *Curr Opin Hematol* 2010; 17:493-499.
5. SUTHERLAND HJ et al. Quality of life following bone marrow transplantation: a comparison of patients reports with population norms. *Bone Marrow Transpl.*1997; 19:1129-1136.

6. OCHS LA et al. Predictive factors for chronic graft vs host disease after histocompatible sibling donor bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1994; 13:455-460.
7. WINGARD J et al. Predictors of death from chronic graft vs host disease after bone marrow transplantation. *Blood* .1989; 74:1428-1435.
8. SOCIE G et al. Long term survival and late deaths after allogeneic bone marrow transplantation: Late Effects Working Committee of the International Bone Marrow Transplant Registry. *N Engl J Med* 1999; 341:14-21.
9. PRZEPIORKA D et al. 1994 Consensus conference on acute GVHD grading. *Bone Marrow Transpl.*1995; 15:825-828.
10. BOLANOS MJ. Update on the management of acute graft-versus-host disease. *Curr Opin Oncol.*2006; 18:120-125.
11. SULLIVAN KM, BLUME KG, FORMAN SJ e APPELBAUM FR (eds.). *Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation.* 3rd ed. Maiden, MA: Blackwell Publishing, 2001, pp.635-634.
12. ARMITAGE JO. Bone marrow transplantation. *N Engl J Med.*1994; 330:827-838.
13. DEEG HJ. How I treat refractory acute GVHD. *Blood.*2007; 109:4118-4126.
14. HILL GR et al. Total body irradiation and acute graft vs host disease: the role of gastrointestinal damage and inflammatory cytoquines. *Blood.* 1997; 90:3204-3213.
15. BARRET AJ and LE BLANC K. Prophylaxis of acute GVHD: manipulate the graft or the environment? *Best Prac e Res Clin Haematol*2008; 21:165-176.
16. LEE SJ. New Approachs for preventing and treating chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2005; 105:4200-4206.
17. ATKINSON K et al. Consensus among bone marrow transplanters for diagnosis ,grading and treatment of chronic graft vs host disease .*Bone Marrow Transplant.*1989; 4:247-254.

18. VOGELSANG G. Chronic graft versus host disease. *Brit J Haematol.* 2004; 125:435-454.
19. GLUCKSBERG H et al. Clinical manifestations of graft vs host disease in human recipients of marrow from HLA-matched sibling donors. *Transplantation.* 1974; 18:295-304.
20. MARMONT AM et al. T-cell depletion of HLA-identical transplants in leukemia. *Blood.* 1991; 78:2120-2130.
21. SCOTT MA et al. A trend towards an increased incidence of chronic graft vs host disease following allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation : a case controlled study .*Bone Marrow Transplant.* 1998; 22:273-276.
22. FLOWERS ME, PARKER PM et al. Comparison of chronic graft vs host disease after transplantation of peripheral blood stem cells vs bone marrow in allogeneic recipients: long term follow-up of a randomized trial. *Blood.* 2002; 100:415-419.
23. WEIDEN PL, THOMAS ED et al. Antileukemic effect of graft vs host disease in human recipients of allogeneic marrow grafts. *N Engl J Med* 1979; 300:1068-1073.
24. WEIDEN PL, SULLIVAN KM et al. Antileukemic effect of chronic graft vs host disease. Contribution to improved survival after allogeneic marrow transplantation. *N Engl J Med.* 1981; 304:1529-1533.
25. KERSY JH et al. Comparison of autologous and allogeneic bone marrow transplantation for treatment of high risk refractory acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med.* 1987; 317:1618-1624.
26. GALE RP et al. Identical-twin bone marrow transplants for leukemia. *Ann Intern. Med.* 1994; 120:646-652.
27. NIMER SD et al. Selective depletion of CD8+ cells for prevention of graft vs host disease after bone marrow transplantation: a randomized controlled trial. *Transplantation.* 1994; 57:82-87.
28. PORTER DL et al. Treatment of relapsed leukemia after unrelated donor marrow transplantation with unrelated donor leucocyte infusions. *Blood.* 2000; 95:1214-1221.

29. VAN BESIEN KW et al. Management of lymphoma recurrence after allogeneic transplantation: the relevance of graft vs lymphoma effect. *Bone Marrow Transplant.* 1997; 19:977-982.
30. KOH LP et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplant using mismatched/ haploidentical donors. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2007; 13:1249-1267.
31. AKPEK G et al. Performance of a new clinical grading system for chronic graft vs host disease: a multicenter study. *Blood* 2003; 102:802-809.
32. MIECALREK M et al. Graft vs host disease after nonmyeloablative versus conventional hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 2003; 15:756-762.
33. SCHETELIG J et al. Allogeneic transplantation after reduced conditioning in high risk patients is complicated by a high incidence of acute and chronic graft vs host disease. *Haematologica.* 2002; 87:299-305.
34. STOREK J et al. Infectious morbidity in long term survivors of allogeneic marrow transplantation is associated with low CD4 T cell counts. *Am J Hematol* 1997; 54:131-138.
35. KOLB HJ et al. Graft vs leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. *Blood.* 1995; 86:2041-2050.
36. MOLLIREM JJ et al. Overexpressed differentiation antigens as targets of graft vs host vs host leukemia reactions. *Curr Opin Hematol.* 2002; 9:503-508.
37. TAYLOR PA et al. The infusion of ex vivo activated and expanded CD4+CD25+ immune regulatory cells inhibits graft vs host disease lethality. *Blood.* 2002; 99:3493-3499.
38. RONCAROLO MG e BATTAGLIA M. Regulatory T-cell immunotherapy for tolerance to self antigens and alloantigens in humans. *Nature Immunol.* 2007; 7:585-598.
39. SHLOMCHIK W et al. Transplantation's greatest challenges: advances in chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2007; 13:2-10.

CAPÍTULO 4

Associação entre hiperferritinemia e risco de síndrome de obstrução sinusoidal em transplante de células-tronco hematopoéticas

A ferritina é uma proteína de armazenamento de ferro encontrada praticamente em todas as células do organismo, principalmente nos hepatócitos e nos fluidos orgânicos. A ferritina do plasma está presente em pequenas concentrações, porém, correlaciona-se com o total de estoque de ferro do organismo. Dessa forma, a dosagem de ferritina sérica é um importante exame diagnóstico na investigação de distúrbios do metabolismo do ferro. A hiperferritinemia pode estar presente em doenças hematológicas e não hematológicas. McKay et al.¹ sugerem que os pacientes com hiperferritinemia são mais suscetíveis ao dano hepático em virtude da produção de radicais livres pelo ferro^{2,3}.

Considerando que a maioria dos pacientes com doença hematológica e disfunção hepática com frequência desenvolve sobrecarga de ferro, é possível que a sua deposição seja um fator envolvido no dano hepático após o TCTH⁴.

Em pacientes submetidos a TCTH, a síndrome de obstrução sinusoidal (SOS) é a terceira causa de morte relacionada ao procedimento, antecedida pela DECH e pela infecção⁵⁻⁸. A tríade clínica que caracteriza a "doença veno-oclusiva hepática" (DVOH) consiste em icterícia, retenção hídrica e hepatomegalia dolorosa. Modernamente denominada SOS, é uma das maiores complicações hepáticas em pacientes submetidos a TCTH^{5-7, 9-11}.

Inicialmente descrita na África do Sul, a SOS foi associada à ingestão de chá de senécio, que contém o alcaloide pirrolizidina. Em TCTH, foi relatada em 1979, mas já havia sido descrita anteriormente, em associação à exposição a doses convencionais de alguns agentes quimioterápicos como actinomicina-D, dacarbazina, citarabina e 6-tioguanina^{12, 13, 14}.

A incidência em crianças e adultos varia em torno de 1,2% a 28% e de 1% a 54%, respectivamente^{6,15}. Essa variação provavelmente ocorre em virtude dos seus diferentes critérios diagnósticos. Fatores associados à SOS, identificados em estudos precedentes incluem: intensidade dos regimes de condicionamento, idade, baixa *performance status* (índice de

Karnofsky), transaminases altas antes do TCTH, compatibilidade HLA, doença neoplásica, irradiação abdominal prévia, fonte de células-tronco, segundo transplante, uso de vancomicina durante terapia citorrredutora, uso prévio do anticorpo monoclonal gemtuzumab e uso de contraceptivos orais. O papel de outras variáveis ainda é incerto^{9,13,15-18}, porém existem vários estudos na literatura tentando definir melhor os fatores de riscos (Quadro 3 e Tabela 3)¹⁵.

Muitas evidências apontam o dano ao endotélio venular e sinusoidal hepático como um dos eventos mais precoces na patogênese da SOS. Após a lesão endotelial, vários outros eventos contribuem para o desencadeamento do processo patológico, gerando um estado de hipercoagulabilidade local^{8,13,14,19,20}. Os níveis plasmáticos de proteínas derivadas do endotélio aumentam após a terapêutica citorrredutora com altas doses de quimioterapia. Níveis elevados do fator de von Willebrand (FvW), da enzima conversora da angiotensina sérica e da trombomodulina têm sido relatados em pacientes que receberam condicionamento para TCTH²⁰. O significado desses achados e a informação se essas alterações contribuem para o desenvolvimento e a identificação dos pacientes com risco de SOS é incerto¹³.

Embora as células endoteliais nos sinusoides e nas vênulas hepáticas possam ser primariamente afetadas, ou mesmo ser o local inicial do dano celular, os hepatócitos também desempenham papel crucial na patogênese da SOS. Os da zona 3 contêm enzimas do complexo citocromo P450, que metabolizam muitas das drogas utilizadas nos regimes de condicionamento, bem como a glutatona que protege contra o estresse de oxidação^{8,13,14,19,21}. Outro fator relacionado à patogênese da SOS é a liberação de múltiplos mediadores da inflamação por células T maduras do doador, em resposta a aloantígenos do receptor. Esse evento é conhecido como "tempestade de citocinas"²². Essas células atuam tanto como efetoras, quanto como mediadoras desse processo. Algumas dessas citocinas podem ter um papel na patogênese da SOS^{13,14,19}.

Do ponto de vista histológico, a SOS é definida como um estreitamento progressivo e concêntrico das vênulas intra-hepáticas, com proliferação fibroblástica e oclusão da luz por fibroesclerose, associadas à necrose de hepatócitos nas áreas centrilobulares, na zona dos ácinos hepáticos. Entretanto, o mecanismo e o evento celular envolvidos permanecem desconhecidos^{4,6,9,23,24}.

Os achados clínicos e laboratoriais usualmente aparecem nas primeiras três semanas após o transplante. Nem sempre essas manifestações estão presentes, e a severidade dos sintomas e sinais pode variar. De acordo com os critérios do grupo de Seattle²⁵, a SOS é

classificada como leve, moderada e grave. A forma leve caracteriza-se pela ausência de anormalidades laboratoriais e clínicas, não necessitando de tratamento específico. A moderada necessita de intervenção terapêutica, na forma de restrição hídrica, diuréticos e analgesia venosa. Na doença grave, a disfunção hepática pode persistir por mais de 100 dias após o TCTH, havendo disfunção de múltiplos órgãos^{14,16,23}. De acordo com os critérios de Seattle, o diagnóstico de SOS é feito através da presença de pelo menos dois dos seguintes achados clínico-laboratoriais: icterícia com 16 bilirrubina total maior que 34 $\mu\text{mol/l}$ (2,0 mg/dl), hepatomegalia e/ou dor no quadrante superior direito, e ganho de peso superior a 5% do peso basal, por acúmulo de líquido ou ascite^{5,6,26}.

Recentes estudos têm demonstrado uma associação entre sobrecarga de ferro pré-transplante em receptores de TCTH e um aumento de risco de infecção e maior número de mortes relacionada ao transplante (TRM). Além disso, dois estudos sugerem que a sobrecarga de ferro pode ser fator de risco para SOS.

A existência de uma eventual associação entre hiperferritinemia e SOS possibilitaria intervenções com o objetivo de reduzir o risco da síndrome. Entre essas, citam-se a melhor seleção de candidatos ao transplante e o uso de quelantes de ferro. Portanto, a tentativa de definir a ferritina como um novo fator de risco para SOS motivou a realização deste estudo¹⁷.

Quadro 3 – Características demográficas e doenças de base de pacientes com síndrome de obstrução sinusoidal, relatadas em diversos estudos

Autor, ano	N	População estudada	Diagnósticos (n)	Desenho	Critérios de SOS
Barker et al. ⁵ , 2003	142	Crianças até 15 anos TCTH alogênico AP/NAP	Neoplasias hematológicas (83) Neoplasias não hematológicas (41) Doenças não malignas (18)	Retrospectivo, coorte	Mc Donald
Moscardó et al. ²⁷ , 2001	178	Adultos; 31 anos (de 14 a 60) TCTH alogênico AP/NAP	Neoplasias hematológicas (158) Outros (20)	Retrospectivo, coorte	Mc Donald
Morado et al. ² , 2000	108	Adultos; 41, 7 anos (de 16 a 65) TCTH autólogo	Neoplasias hematológicas (92) Neoplasias não hematológicas (76)	Prospectivo, coorte	Mc Donald
Lee et al. ¹² , 2000	17	Adultos; 29 anos (de 15 a 39) TCTH alogênico AP/NAP	Anemia aplásica (17)	Prospectivo, coorte	Mc Donald
Tanikawa et al. ¹⁰ , 2000	43	Adultos TCTH alogênico	Neoplasias hematológicas (42) Doenças não malignas (1)	Prospectivo, coorte	Mc Donald
Kami et al. ⁵ , 1997	137	Crianças e adultos; 29,9 anos (de 6 a 51) TCTH alogênico AP/NAP e autólogo	Neoplasias hematológicas (126) Doenças não malignas (11)	Prospectivo, coorte	Mc Donald

Fonte: autor

Legenda: AP, aparentado; NAP, não apresentado

Tabela 3 – Fatores de risco para síndrome de obstrução sinusoidal em diferentes estudos

Autor, ano	Prevalência de SOS	Fator de risco				TGI
		Análise Univariada		Análise Multivariada		
Barker et al. 2003	18,2%	Não aparentado Ciclosporina Fludarabina BuCy Pancreatite prévia MTX/CSA NPT 30 dias antes Receptor CMV+ TCTH singênico	RC= 4,81 (1,21 a 19,15) RC= 4,22 (1,18 a 15,14) RC= 4,04 (1,00 a 16,24) RC= 3,91 (1,32 a 11,53) RC= 3,57 (1,14 a 11,13) RC= 3,32 (1,01 a 10,98) RC= 3,00 (1,19 a 7,57) RC= 2,93 (1,23 a 7,01) RC= 2,89 (0,71 a 11,74)	Não aparentado Bussulfano NPT 30 dias antes Receptor CMV+	RC= 6,53 (1,47 a 28,96) RC= 3,85 (1,26 a 11,80) RC= 3,40 (1,17 a 9,86) RC= 3,03 (1,13 a 8,13)	População homogênea (crianças). Não analisou ferritina.
Moscardó et al. 2001	17%	Seleção de CD34+ Não manipulado Não aparentado Câncer ativo MTX Fonte: MO	RC= ? (p=0,001) RC= ? (p=0,01) RC= ? (p=0,03) RC= ? (p=0,03) RC= ? (p=0,05) RC= ? (p=0,03)	Seleção de CD34+ Câncer ativo	RC= ? (p=0,004) RC= ? (p=0,03)	Sem relevância clínica. SOS mais frequente em enxerto não manipulado
Morado et al. 20003	12,2%	Ferritina > 300 LMC Bussulfano Neoplasia TGO>34 Anfotericina	RC= 6,75 (2,29 a 20,45) RC= 5,06 (p= 0,022) RC= 4,55 (p= 0,0006) RC= 3,86 (p= 0,012) RC= ? (p= 0,05) RC= ? (p= 0,0021)	Ferritina > 300 LMC	RC= ? (p=0,025) RC= 9,9 (p= 0,02)	Único a analisar ferritina. Alta sensibilidade (66%) e especificidade (74%). Somente transplantes autólogos
Lee et al. 2000	41,2%	Infecção 7 dias	RC= ? (p= 0,023)	Não realizada		Sem estimativas de risco t-PA e PAI-1 predizem SOS
Tanikawa et al. 2000	11,3%	P-III-P elevado	RC= ? (p= 0,002)	P-III-P elevado	RC= ? (p= 0,054)	P-III-P é um fator de risco independente de SOS. É um marcador sensível de fibrose hepática e pulmonar
Kami et al. 1997	14,6%	Pseudocolinesterase baixa Disfunção hepática	RC= ? (p= 0,04) RC= ? (p= 0,04)	Pseudocolinesterase <1000UI/l	RC= 4,42 (p=0,02)	Reserva hepática tem um papel importante na etiologia da SOS

Fonte: Autor

Legenda: SOS, síndrome de obstrução sinusoidal; RC= razão de chance; BuCy, bussulfano e ciclofosfamida; MTX, metotrexato; CSA, ciclosporina; NPT, nutrição parental total; LMC, leusemia mieloide crônica; TGO, transaminase glutâmico-oxaloacética; TCTH, transplante de células tronco hematopoéticas; MO, medula óssea; t-PA, ativador do plasminogênio tecidual; PAI-1, inibidor de ativação do plasminogênio 1; P-III-P, propeptídeo procólágeno tipo III.

4.1. Noções básicas sobre o metabolismo do ferro

O ferro é de fundamental importância para as células do organismo, para a síntese de citocromos e, principalmente, para os normoblastos, nos quais é usado na síntese de hemoglobina.

Apesar de a maioria do ferro do organismo encontrar-se na hemoglobina, ele também é armazenado em diferentes tecidos, principalmente nas células reticulares do baço e da medula óssea e nas células de Kupffer do fígado, nas quais fica armazenado tanto

na forma de ferritina como na de hemossiderina. A quantidade total normal de ferro no organismo é de 2 g a 6 g. Desses, cerca de 0,5 g é armazenado no fígado, sendo 98% em hepatócitos, na forma de ferritina³.

Existem três proteínas mediadoras da distribuição e do transporte de ferro: a transferrina, o receptor de transferrina e a ferritina. A transferrina conduz ferro para os tecidos que possuem receptor de transferrina. Os íons férricos ligados à transferrina provêm da degradação da hemoglobina de eritrócitos velhos, processo realizado pelos macrófagos do sistema reticuloendotelial – baço, fígado, medula óssea –, proporcionando a reciclagem de ferro³.

A ferritina é a principal proteína de armazenamento fisiológico de ferro e normalmente aparece em pequenas quantidades no soro²⁹. É uma forma de armazenamento que permite fácil mobilização do ferro para síntese de hemoglobina. Em adultos, os níveis séricos de ferritina são diretamente relacionados à quantidade de ferro disponível armazenado no corpo. A ferritina sérica pode ser medida, com precisão, por radioimunoensaio. Embora não haja uma relação linear com o estoque de ferro, o nível de ferritina é a melhor medida sérica isolada dos estoques de ferro. Portanto, quantidades de ferritina no plasma são proporcionais ao total de ferro armazenado. Dessa forma, a dosagem de ferritina sérica é um importante exame diagnóstico na investigação de distúrbios do metabolismo do ferro³.

Além disso, os metais de transição, como o ferro, podem doar ou aceitar elétrons livres durante reações intracelulares, catalisando a formação de radicais livres. Os níveis dos radicais de oxigênio altamente reativos, no entanto, são minimizados pela ligação dos íons a proteínas de armazenamento e de transporte, como a ferritina e a transferrina, que agem como quelantes e, assim, minimizam a formação de grupamentos oxidrila (OH)³⁰. A função primária da ferritina é acumular o ferro intracelular, protegendo a célula dos efeitos tóxicos do metal livre, constituindo uma reserva de ferro rapidamente mobilizável²¹.

Fisiologicamente, o organismo humano não é capaz de aumentar a excreção de ferro, mesmo em condições de sobrecarga desse metal. Portanto, o aumento progressivo do aporte de ferro, seja por via intestinal, seja por via parenteral, leva impreterivelmente à condição patológica de sobrecarga de ferro. O acúmulo de ferro nos tecidos, nas células e nas organelas tem sido associado a diversos processos patológicos, tais como, doenças hepáticas e cardíacas, disfunções hormonais e mesmo doenças crônico-degenerativas³¹.

Entre esses órgãos, o fígado é o mais afetado pelos altos níveis de ferro no organismo, uma vez que as células hepáticas constituem o principal sítio de armazenamento desse elemento. O principal mecanismo de toxicidade do ferro está relacionado com o ferro livre, ou seja, não ligado à transferrina (NTBI, do inglês *non transferrin-bound iron*). A partir do momento em que a quantidade de ferro absorvido ultrapassa a capacidade ferro-quelante do organismo, ou seja, de armazená-lo e "neutralizá-lo", ocorre sua saída dos macrófagos para a circulação e, uma vez ultrapassada a capacidade de saturação da transferrina plasmática, o ferro livre em excesso deposita-se nos hepatócitos e em outras células parenquimatosas³.

Em condições basais, as reservas de ferro regulam a produção de ferritina. Entretanto, durante processos inflamatórios, a síntese de ferritina é aumentada por influência de IL-1 e de TNF. As citocinas também induzem à síntese de ferritina indiretamente, por aumentarem a incorporação de ferro pelos hepatócitos^{32,33}. A elevação da ferritina sérica ocorre de 24 a 48 horas do início do processo inflamatório, tendo um pico no terceiro dia e mantendo-se elevada por algumas semanas.

4.2. Noções básicas sobre anatomia e fisiologia hepática

O fígado é um dos maiores e mais importantes órgãos do corpo humano. A sua anatomia macroscópica é simples, embora ele seja um órgão muito complexo e rico em particularidades. Está localizado na cavidade abdominal, no hipocôndrio direito, abaixo do músculo diafragma, lateralmente ao estômago, acima do pâncreas e anteriormente à vesícula biliar. Possui quatro lobos: o direito, o esquerdo, o quadrado e o caudado. É constituído principalmente de células hepáticas, também chamadas hepatócitos, que são células epiteliais de configuração única. É essencialmente uma glândula exócrina que secreta bile para o intestino, mas também é uma glândula endócrina e um filtro para o sangue. É considerado uma "fábrica metabólica", em virtude da grande variedade de substâncias que sintetiza³⁴.

O fígado recebe aproximadamente 25% do débito cardíaco total, o que lhe permite realizar numerosas funções vitais, essenciais à manutenção da homeostasia corporal²².

Destacam-se a regulação do metabolismo de diversos nutrientes, o papel imunológico, a síntese proteica e de outras moléculas, o armazenamento de vitaminas e ferro, a degradação hormonal e a inativação e excreção de drogas e toxinas. Além disso, o fígado

sintetiza quase todas as proteínas plasmáticas mais importantes, entre as quais a albumina, os transportadores de hormônios, os fatores da coagulação e os fibrinolíticos, o fibrinogênio, os diversos fatores de crescimento, as globulinas e as lipoproteínas. É capaz também de sintetizar todos os aminoácidos não essenciais e outros peptídeos de menor tamanho, dos quais se destaca a glutatona. Cerca de 90% da glutatona plasmática têm origem no fígado, sendo crítica na proteção contra o estresse oxidativo em múltiplos órgãos³⁴.

4.2.1. O suprimento vascular

A vascularização hepática é muito abundante, e o fígado recebe sangue tanto arterial quanto venoso. O sangue venoso provém da veia porta, formada pelas veias mesentérica e esplênica, contribuindo com 70% do suprimento de oxigênio para o órgão. O sangue arterial é suprido pela artéria hepática, que contribui com 30% do fornecimento de oxigênio. Os sangues venoso e arterial misturam-se no nível dos sinusoides hepáticos, e a drenagem sanguínea se faz pelas veias hepáticas direita e esquerda, que desembocam na veia cava inferior³⁵.

4.2.2. Organização dos lóbulos hepáticos

Em cortes histologicamente preparados, podem-se observar unidades estruturais chamadas lóbulos hepáticos, que dão ao fígado a forma de prisma poligonal. Na periferia dos lóbulos, existe uma massa de tecido conjuntivo rico em ductos biliares, vasos biliares e nervos. Assim, entre cada lóbulo, existe uma área chamada de espaço porta. Em cada um deles existe um ramo da artéria hepática, um ducto (que se liga ao biliar) e vasos linfáticos. Os ductos biliares são revestidos por um epitélio cuboide e transportam, até a vesícula biliar, passando pelo ducto hepático, a bile sintetizada pelos hepatócitos.

4.2.3. Sinusoides hepáticos e o espaço de Disse

As células endoteliais dos sinusoides estão separadas dos hepatócitos apenas por uma lâmina basal, o que permite que o sangue passe pelos capilares e que os seus metabólitos²³ atravessem rapidamente as células endoteliais, chegando aos hepatócitos. Além disso, o endotélio dos sinusoides é fenestrado, o que permite uma rápida troca metabólica, que é

importante não somente para a absorção de nutrientes provenientes da dieta, mas também para a secreção de metabólitos sintetizados nos hepatócitos. O estreito espaço que separa o sinusóide dos hepatócitos recebe o nome de espaço de Disse e é composto por fibras reticulares e colágeno tipo III. Os capilares sinusoides desembocam em uma veia localizada no centro do lóbulo, chamada veia centrolobular, que é o ramo inicial da veia hepática (Figura 13)³⁵.

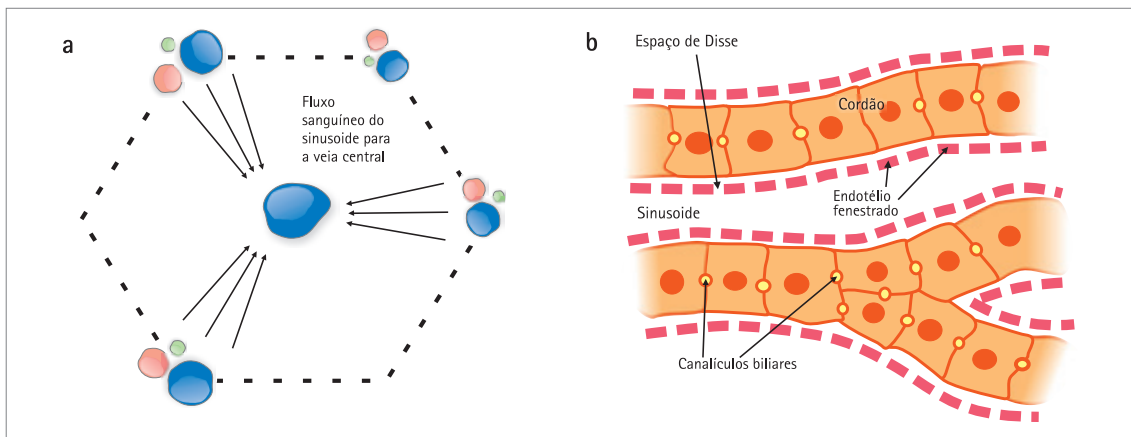


Figura 13 – (a) Demonstração esquemática do fluxo sanguíneo dos sinusoides hepáticos e (b) espaço de Disse
Fonte: site da Southern Illinois University School of Medicine. *On-line*. Disponível em: <http://www.siumed.edu/~dking2/index.htm>. Acessado em: 8 dezembro de 2008.

Os sinusoides também possuem macrófagos, denominados células de Kupffer, encontrados na luz dos capilares. Essas células atuam metabolizando hemácias velhas, digerindo sua hemoglobina, secretando mediadores imunológicos e destruindo possíveis bactérias que tenham penetrado pelo sistema porta. Na presença de isquemia, essas células produzem citocinas como o TNF- α , que recrutam e ativam os leucócitos polimorfonucleares.

4.2.4. O ácino

A unidade funcional do fígado é o ácino, que representa a verdadeira unidade micro-circulatória. Constitui-se de uma massa hepatocitária ao redor da veia porta, da arteríola hepática e do ducto biliar (Figura 14)²⁴.

Assim, entre o espaço porta e a veia central são identificadas três áreas ou zonas, de acordo com a quantidade de nutrientes e oxigênio que elas recebem: zonas 1, 2 e 3, sendo a zona 3 a mais pobre nutricionalmente e, conseqüentemente, a região mais vulnerável à injúria circulatória. O centro do ácino, conhecido por zona 1 (região periportal), recebe o sangue com maior percentual de oxigênio e nutrientes³⁵.

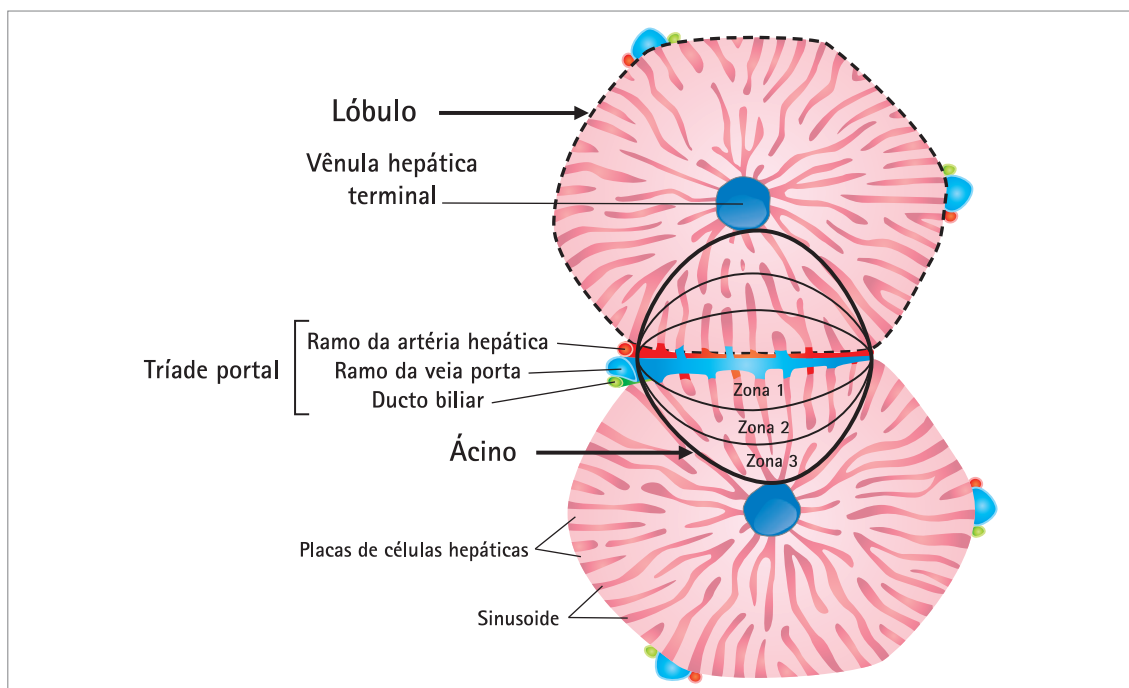


Figura 14 – O ácino hepático

Fonte: Friedman LS. Pathogenesis of liver injury in circulatory failure. In: Chopra S, Bonis PAL editores. Uptodate in Hematology. Online. Disponível em: <http://www.uptodate.com>. Acessado em: 23 de junho de 2008.

Como o sangue percorre os sinusoides da periferia para o centro dos lóbulos, os hepatócitos estão sob gradiente de pressão sanguínea. Os mais periféricos recebem, em primeiro lugar, tanto nutrientes quanto oxigênio, além de eventuais toxinas trazidas pela veia porta e pela artéria hepática. Isso explica as diferenças entre as células centrolobulares e as perilobulares. As veias centrolobulares atravessam os lóbulos em sentido longitudinal e, ao saírem desses, desembocam em ângulo reto nas veias sublobulares, que penetram nas trabéculas do estroma hepático e se unem para formar as veias hepáticas (Figura 15)²⁵.

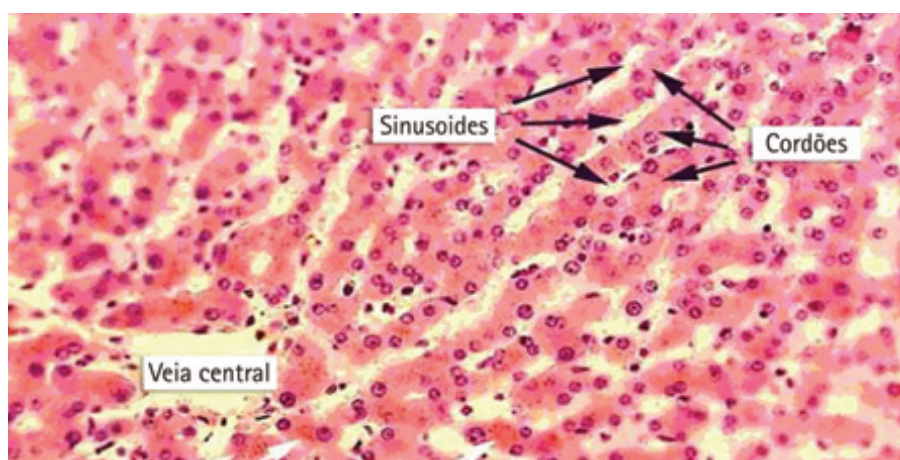


Figura 15 – Circulação hepática

Fonte: site da Southern Illinois University School of Medicine. Online. Disponível na Internet em <http://www.siumed.edu/~dking2/index.htm>. Capturado em: 8 dezembro de 2008.

A vantagem de ver o ácino como unidade fisiológica hepática é o fato de ele ajudar a explicar vários padrões morfológicos de doença que não conseguem ser explicados pelo padrão lobular.

4.3. Distúrbio da coagulação sanguínea nas hepatopatias

O fígado desempenha papel de destaque nos processos fisiológicos e patológicos da coagulação sanguínea, exercendo as funções de síntese dos fatores pró e anticoagulantes. A formação do coágulo de fibrina no sítio de lesão endotelial representa o processo crítico para a manutenção da integridade vascular. Os mecanismos envolvidos nesse processo, constituintes do sistema hemostático, devem ser regulados para fazer contraposição à perda excessiva de sangue e evitar a formação de trombos intravasculares, decorrentes de formação excessiva de fibrina.

Os componentes do sistema hemostático incluem as plaquetas, os vasos, as proteínas da coagulação do sangue, os anticoagulantes naturais e o sistema de fibrinólise. O equilíbrio funcional dos diferentes setores da hemostasia é garantido por uma variedade de mecanismos envolvendo interações entre proteínas, respostas celulares complexas e regulação de fluxo sanguíneo²⁶.

Na década de 1960, Macfarlane³⁶, Davie e Ratnoff³⁷, propuseram a hipótese da "cascata" para explicar a fisiologia da coagulação do sangue^{36,37}. O esquema divide a coagulação em duas vias: extrínseca e intrínseca, que convergem no ponto de ativação do fator X – a via final comum. Na via extrínseca, o fator VII plasmático, na presença do seu cofator – fator tecidual ou tromboplastina –, ativa diretamente o fator X. Na via intrínseca, a ativação do fator XII ocorre quando o sangue entra em contato com uma superfície – ativação por contato³⁷.

Anormalidades na função hepática provocam distúrbios na hemostasia. Essa disfunção pode ser causada pelos próprios distúrbios hepáticos, ou pela carência de vitamina K. A intensidade desses distúrbios correlaciona-se com o grau de lesão das células parenquimatosas hepáticas. Esses distúrbios podem se caracterizar por pequenas reduções dos níveis do fator VII e de outros fatores dependentes de vitamina K, bem como pela elevação do FvW³⁸. Em muitos casos, pode-se demonstrar a síndrome de coagulação intravascular disseminada (CIVD) em fases mais tardias do dano hepático^{39,40}.

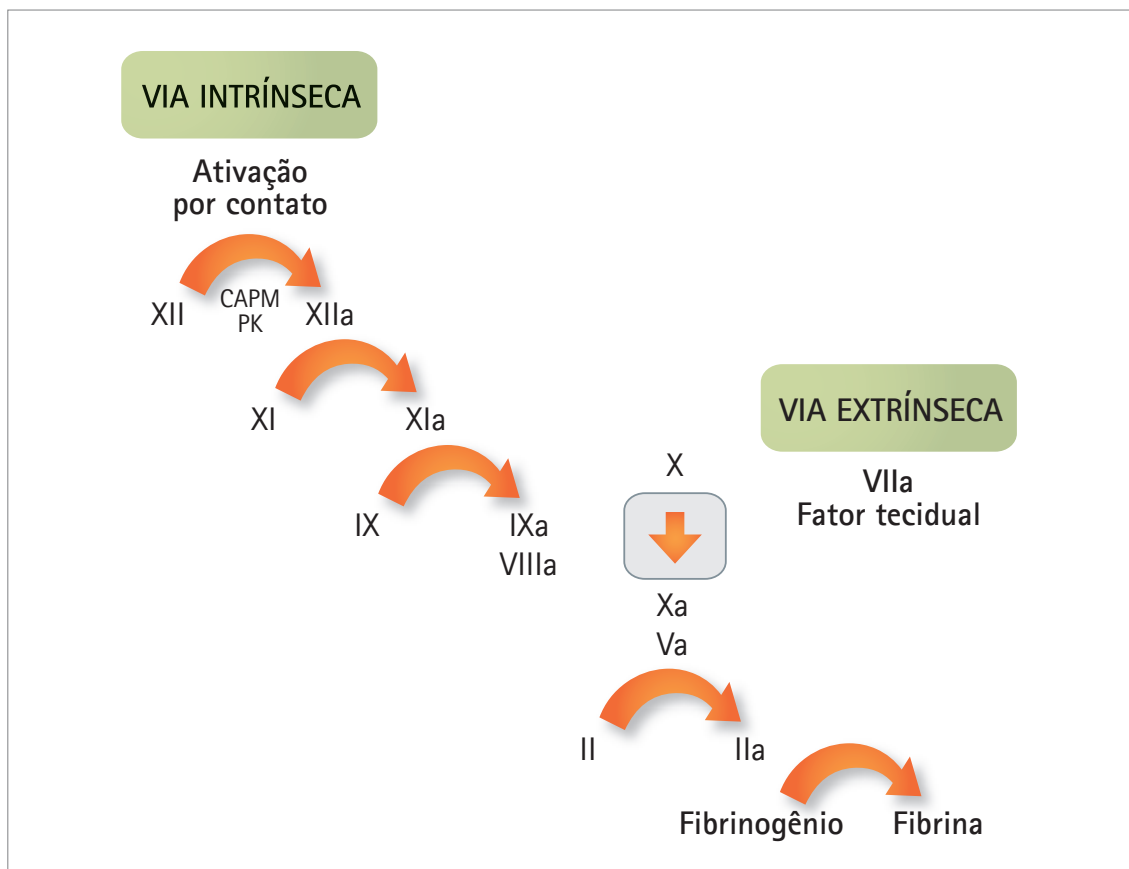


Figura 16 – Cascata da coagulação

Fonte: Franco RF. Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. Medicina, Ribeirão Preto, 34: p-230, 2001.

A relação existente entre inflamação e coagulação é notável. A coagulação é desencadeada pela exposição do sangue a componentes que normalmente não estão presentes²⁷ no interior dos vasos, em decorrência de lesões vasculares ou alterações bioquímicas como a liberação de citocinas. Qualquer que seja o evento desencadeante, o início da coagulação do sangue faz-se mediante a expressão do seu componente crítico – o fator tecidual (FT) – e a sua exposição ao espaço intravascular. As células endoteliais e os monócitos, que normalmente não expressam o FT, podem expressá-lo na vigência de lesão tecidual e na presença de estímulos específicos⁴¹.

Na síndrome da resposta inflamatória sistêmica, secundária a infecções e lesões teciduais extensas, o TNF- α é o primeiro a ter níveis plasmáticos aumentados, seguido da elevação de IL-6 e IL-1, que, em conjunto, inibem a expressão de trombomodulina, essencial para a ativação da proteína C⁴².

Além disso, essas células endoteliais sintetizam o FvW, que é importante na adesão plaquetária e na modulação do sistema fibrinolítico através da secreção do ativador do

plasminogênio tecidual (t-PA) e inibidor do ativador do plasminogênio (PAI)⁴¹. Em humanos, as endotoxinas induzem uma liberação precoce de t-PA, seguida de um rápido aumento nos níveis de PAI⁴¹.

4.4. Transplante de células-tronco hematopoéticas e suas complicações

Vários progressos no contexto do TCTH têm surgido nas últimas três décadas. O surgimento de novas indicações, o avanço no conhecimento dos antígenos de histocompatibilidade, com um maior número de doadores possíveis e uma melhora na terapia de suporte têm aumentado o número de transplantes⁴³. Contudo, os regimes de condicionamento com altas doses de quimioterapia, associados ou não à radioterapia, afetam órgãos e tecidos, produzindo complicações precoces e tardias de intensidade variável.

4.4.1. Síndrome de obstrução sinusoidal hepática

O nome "síndrome de obstrução sinusoidal hepática", de sigla SOS, substitui na atualidade, a denominação anteriormente usada de "doença veno-oclusiva hepática". A SOS caracteriza-se pela tríade clínica de hepatomegalia dolorosa, icterícia e ascite⁴⁴. É uma doença hepática rara, observada após TCTH, terapia com altas doses de radioterapia no abdômen, uso de certos agentes quimioterápicos, ingestão de alcaloides pirrolizidínicos e transplante hepático^{28,45}.

4.4.1.1 Aspectos históricos, prevalência e fatores de risco

Em 1954, Bras et al.⁴⁶ descreveram a SOS em crianças na Jamaica que apresentavam oclusão dos ramos tributários das veias hepáticas com subsequente fibrose centrilobular associada à ingestão de substâncias alcaloides tipo senécio⁴⁵.

Em TCTH, a SOS foi relatada pela primeira vez em 1979. Entretanto, já havia sido descrita em associação a doses convencionais de alguns agentes quimioterápicos como actinomicina-D, dacarbazina, citarabina e 6-tioguanina, bussulfano, mercaptopurina, entre outros^{12-14,44}.

DeLeve et al., em 2002, introduziram o termo "síndrome de obstrução sinusoidal" (SOS), substituindo a expressão "doença veno-oclusiva hepática" utilizada até então⁴⁷. O termo SOS é mais apropriado, pois estudos identificaram que o sítio primário da injúria eram as células endoteliais sinusoidais, sem a necessidade obrigatória do envolvimento venular^{44,45}.

A prevalência em crianças e adultos apresenta grande variabilidade^{6,15,44}. Isso provavelmente ocorre em virtude dos diferentes critérios diagnósticos da SOS, das várias características individuais, dos estudos com pequenos tamanhos amostrais e da heterogeneidade dos regimes de condicionamento^{44,48}.

Além disso, tem-se observado um declínio na prevalência e na severidade da SOS. Isso se justifica provavelmente pela preferência progressiva por regimes de condicionamento sem ciclofosfamida, pelo uso de doses fracionadas de irradiação corporal total (ICT)⁴⁹ e por uma maior utilização de regimes de intensidade reduzida (RIST)^{48,44}.

Em virtude de a SOS ser considerada uma das maiores causas de morbidade e mortalidade associadas ao TCTH e ter um curso clínico muito similar ao de outras síndromes clínicas, é importante uma melhor definição dos fatores de risco (Quadro 4)^{21,24,26,28,50}.

Os fatores de risco independentes mais importantes são a disfunção hepática (elevação das transaminases) antes do TCTH e o transplante alogênico⁵¹. Outros estudos demonstraram outros fatores de risco relacionados à SOS, como hepatite em atividade, irradiação abdominal prévia, uso de anticoncepcional durante o regime de condicionamento⁵², profilaxia de DECH com ciclosporina (CSP) e MTX^{14,48,53}.

A ciclofosfamida, o bussulfano⁵⁴ e a dacarbazina são as drogas citotóxicas mais relacionadas à SOS. Observou-se também, uma alta prevalência de SOS em pacientes que receberam o anticorpo monoclonal gemtuzumab^{9,29,48,51}.

Carreras et al.⁴⁸ demonstraram uma maior prevalência de SOS severa em pacientes que receberam um segundo TCTH, e uma baixa incidência em pacientes que receberam enxertos depletados de células-T e originados de doador singênico^{14,48}.

Alguns fatores genéticos, como a presença de polimorfismos específicos do gene da glutatona S-transferase, estão presentes em pacientes que desenvolveram SOS após TCTH para talassemia⁵¹.

Quadro 4 – Fatores de risco para síndrome de obstrução sinusoidal já descritos

Fator de risco	Baixo risco/ Alto risco
Idade	Jovem/ idoso
Sexo	Masculino/ feminino
Índice de Karnofsky	100 a 90/ <90
Nível de transaminase antes do condicionamento	Normal/ alto
Número de TCTH	Primeiro/ segundo
Irradiação hepática prévia	Não/ sim
Status hepático	Normal/ fibrose/ cirrose/ tumor
Sorologia para CMV	Negativa/ positiva
Drogas concomitantes	Vancomicina, aciclovir, ciclosporona, anfotericina B

Fonte: autores.

Legenda: SOS, síndrome de obstrução sinusoidal; TCTH, transplante de células-tronco hematopoéticas; CMV, citomegalovírus.

4.4.1.2 Aspectos histológicos

O achado histopatológico mais característico e precoce da SOS é o edema que ocorre nas vênulas sublobulares e na zona central subintimal. O endotélio sinusoidal tem a aparência de "pedra-de-calçamento" (*cobblestone*) com numerosos poros⁵⁰. Essas fenestrações criam uma estrutura microvascular única com a matriz extracelular ao redor dos ácinos hepáticos da zona 3. Nas fases iniciais, há um espessamento da zona subintimal das vênulas sublobulares e centrais secundário ao edema. O edema subintimal ao redor do lúmen venular aumenta a resistência ao fluxo sanguíneo, e a progressiva diminuição desse fluxo venoso induz à congestão hepática severa e à dilatação sinusoidal (Figura 17)³⁰.

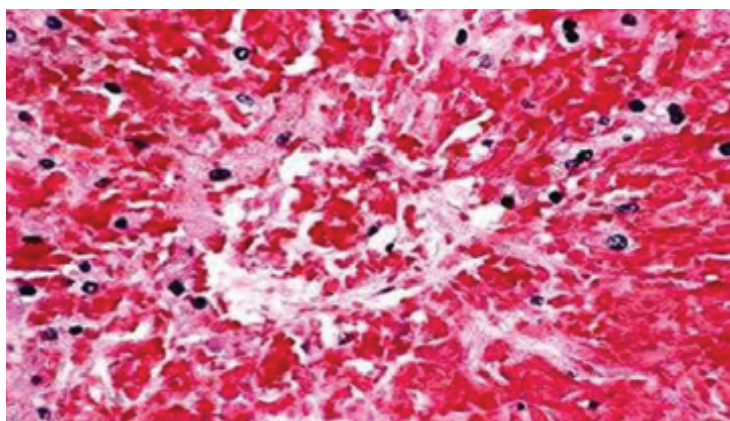


Figura 17 – Corte histopatológico de fígado demonstrando desorganização difusa da zona 3 e necrose hemorrágica centrilobular, característicos de síndrome de obstrução sinusoidal

Fonte: Negrin RS, Blume KG. Bone marrow and peripheral blood progenitor cell transplantation. In: Leukemia, 6th ed, Henderson ES, Lister TA, Greaves ME (Eds), WB Saunders, Philadelphia, 1996, p. 389.

Essas alterações contribuem para as mudanças hemodinâmicas observadas na SOS⁵. A imuno-histoquímica demonstra a presença de fibrina e do fator VIII na porção intramural e periadventícia da parede venular⁵. Entretanto, nesse estágio, não existe trombose, e células inflamatórias podem estar presentes em pequenas quantidades, ou mesmo ausentes⁴⁴. Nos estádios intermediários, a lesão subintimal torna-se fibrótica e adquire um crescimento interno de canais vasculares pequenos. A necrose do hepatócito pode ocorrer após esses eventos primários, secundariamente ao depósito de colágeno nos sinusoides e à esclerose da parede do lúmen venular⁵. Nos estágios tardios, observa-se extensa fibrose pericelular e perivenular. O progresso da obliteração venular com consequente necrose do hepatócito e avançada oclusão venular modificam a arquitetura hepática, o que pode evoluir para cirrose^{5,50} (Figura 18)³¹.

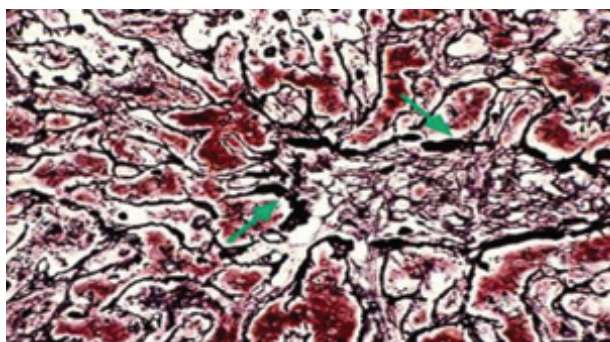


Figura 18 – Fragmento de biópsia hepática de paciente com síndrome de obstrução sinusoidal mostrando proeminente fibrose perivenular

Fonte: Negrin RS, Blume KG. Bone marrow and peripheral blood progenitor cell transplantation. In: Leukemia, 6th ed, Henderson ES, Lister TA, Greaves ME (Eds), WB Saunders, Philadelphia, 1996, p. 389.

4.4.1.3 Aspectos fisiopatológicos

A terapia citorrredutora é provavelmente a principal responsável pelo aparecimento da SOS. Altas doses de quimioterapia, quando administradas em pacientes com suscetibilidade hepática, produzem lesão endotelial nas vênulas e nos sinusoides hepáticos¹³. Embora as células endoteliais nos sinusoides e nas vênulas hepáticas possam ser primariamente afetadas, ou mesmo ser o sítio inicial de injúria celular, o hepatócito também desempenha papel crucial na patogênese da SOS. Os hepatócitos da zona 3 contêm enzimas do complexo citocromo P450, que metabolizam muitas das drogas utilizadas nos regimes de condicionamento, bem como a glutathione, que protege contra o estresse de oxidação^{8,13,14,19,21}. O papel da depleção da glutathione na necrose do hepatócito está bem documentado na literatura.

Muitos agentes citorreduzores, bem como os alcaloides pirrolizidínicos, depletam glutatona em modelos experimentais^{13,23}.

DeLeve demonstrou *in vitro* que a exposição direta das células endoteliais sinusoidais (CES) à acroleína ou à 4-hidroxíciclofosfamida, que são metabólitos da ciclofosfamida (CTX), resulta em dano celular¹⁹. Esse efeito parece ser reversível na presença de níveis ótimos de glutatona. Então, o aumento da exposição aos metabólitos tóxicos da CTX³² contribui para o desenvolvimento da SOS, enquanto altos níveis de glutatona nos hepatócitos previnem tal desenvolvimento.

Além disso, o dano endotelial ativa a cascata de coagulação, com liberação de substâncias pró-coagulantes, que favorecem a formação do coágulo e ocasionam redução do fluxo sanguíneo das vênulas hepáticas, hipertensão portal intra-hepática pós-sinusoidal e ascite^{13,19}.

Outro fator relacionado à patogênese da SOS seria a liberação múltipla de mediadores da inflamação por células T maduras do doador, em resposta a aloantígenos do receptor ("tempestade de citocinas")²². Essas células atuam tanto como efetoras, quanto como mediadoras desse processo. Algumas dessas citocinas, como o TNF- α , a IL-1 e a IL-2, podem ter um papel na patogênese da SOS^{13,14,19}. A endotelina-1 também é importante na gênese da síndrome, produzindo uma constrição sinusoidal e reduzindo a excreção renal de sódio^{13,14,19,55}. O PAI é outra molécula derivada do endotélio, que aumenta após regimes mieloablativos. Salat et al.⁵⁶ demonstraram que a elevação do PAI é específica da SOS e não ocorre em outras causas de injúria hepática.

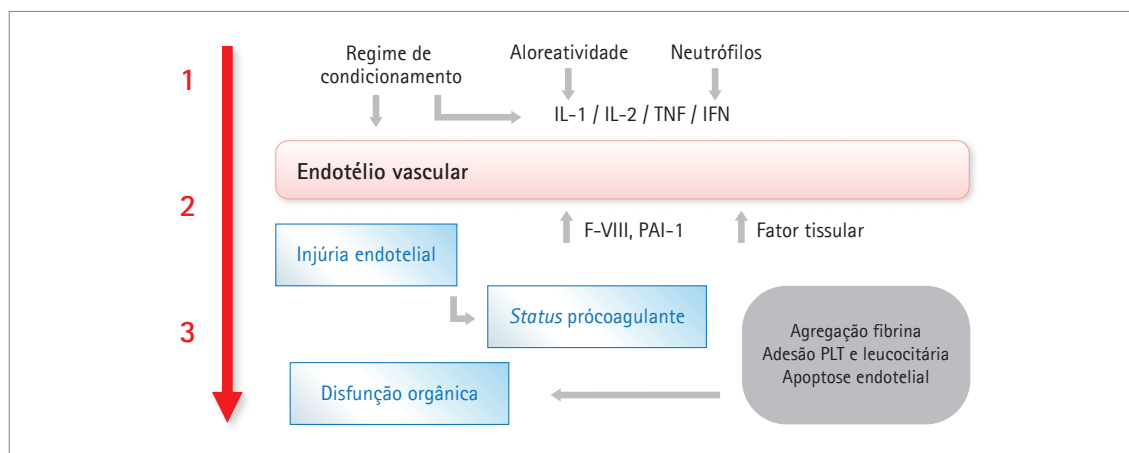


Figura 19 – Fisiopatologia da síndrome de obstrução sinusoidal

Fonte: Carreras E. Early complications after HSCT. The EBMT Handbook. 5ª Ed. 2008, p.183.

Legenda: IL 1, interleucina 1; IL-2, interleucina 2; TNF, fator de necrose tumoral; INF, interferon; F-VIII, fator VIII; PAI-1, inibidor de ativação do plasminogênio 1; PLT, plaqueta³³.

4.4.1.4 Quadro clínico

O desenvolvimento dos sinais e sintomas da SOS geralmente ocorre nas primeiras três semanas do transplante⁴⁵. A SOS é caracterizada por hepatomegalia dolorosa, retenção hídrica, ganho de peso e icterícia, na ausência de outras causas^{44,48,50}. O ganho de peso ocorre em virtude da retenção renal de sódio e água⁴⁵.

A retenção hídrica e a hepatomegalia são geralmente as primeiras manifestações e, com frequência, aparecem nos primeiros dias após a infusão das células progenitoras ("dia zero")²³. A icterícia, manifestação mais frequente da SOS, ocorre mais tardiamente, em torno do sétimo dia após o transplante^{23,57}. Embora menos frequente, pode ocorrer tardiamente, sendo denominada SOS de início tardio⁵⁸.

De acordo com a severidade dos sintomas, a SOS é classificada como leve, moderada e grave^{14,45}. A forma moderada é a mais frequente, variando de 48% a 64%^{13,14}. A mortalidade nas formas leve, moderada e grave é de 9%, 23% e 98%, respectivamente⁴⁵.

A necessidade de transfusão de plaquetas é maior nos pacientes com SOS quando comparados com os que não a apresentam^{23,45}. Isso ocorre provavelmente secundariamente ao processo trombótico nos sinusoides hepáticos ou ao aumento da sequestração esplênica em virtude da hipertensão portal. Os pacientes também podem desenvolver falência renal em virtude da síndrome hepatorenal⁴⁵.

4.4.1.5 Diagnóstico

O padrão ouro no diagnóstico da SOS é a histopatologia. Entretanto, em virtude dos riscos de uma biópsia hepática em pacientes trombocitopênicos, o diagnóstico em geral se baseia apenas em critérios clínicos^{10,45,51}.

Todavia, alterações em parâmetros hemostáticos após TCTH vêm sendo estudadas. O papel dos distúrbios de coagulação na fisiopatologia da SOS é uma área controversa. Estudos demonstraram que níveis de proteínas anticoagulantes como a proteína C^{59,60}, a proteína S e a antitrombina^{61,62} estão consideravelmente diminuídos em muitos pacientes com SOS^{5,10,63}. Os níveis de proteína pró-coagulante como o fator VIII e o FvW são altos em pacientes com SOS^{5,59,64}.

O propeptídeo pró-colágeno tipo III (P-III-P) apresenta aumento na concentração sérica^{10,63}. Tanikawa et al. sugeriram que os níveis séricos de P-III-P antes do início do³⁴ condicionamento podem indicar os pacientes com maior risco de desenvolver SOS, e que os níveis de P-III-P no dia da infusão de célula-tronco ("dia zero") são um marcador preditivo precoce para o desenvolvimento da SOS¹⁰.

Níveis séricos de IL-1, IL-2, IL-6, TNF- α , endotelina 1 e pró-colágeno tipo III também estão implicados no desenvolvimento da SOS^{5,65}.

O PAI-1 sintetizado pelas células endoteliais hepáticas representa o maior inibidor do sistema fibrinolítico. Salat et al. descrevem um significativo aumento dessa proteína em pacientes com SOS, e a consideram como um marcador sensível e específico de SOS grave⁵⁶.

A ultrasonografia abdominal é útil para excluir outras doenças que se assemelham à SOS⁴⁵. Yoshimoto et al.⁶⁵ sugerem que a detecção do fluxo sanguíneo reverso em um segmento da veia porta por ultrasonografia com *doppler* colorido pode ser útil no diagnóstico precoce da SOS, porém com baixa sensibilidade⁶⁷.

Fragmentos de fígado podem ser obtidos através de biópsia hepática percutânea, laparoscopia e biópsia transvenosa (transjugular ou femoral)⁴⁵. Entre esses, o método transjugular é o preferível, em virtude do menor risco de sangramento⁴⁵.

4.4.1.6 Diagnóstico diferencial

O diagnóstico diferencial da SOS é complexo. Os sinais e sintomas clínicos podem ocorrer como resultado de outros processos⁵⁰. Além disso, esses processos podem confundir-se com a doença, ou, mais comumente, coexistir com ela.

O rápido ganho de peso no período pós-transplante pode ter várias etiologias²³. A hepatomegalia pode ser ocasionada por insuficiência cardíaca congestiva, infecção viral, envolvimento tumoral ou síndrome de Budd-Chiari⁵⁰. A hiperbilirrubinemia não acontece apenas na SOS, podendo estar presente nos quadros de sepse, DECH, hemólise, nutrição parenteral, toxicidade relacionada à CSP ou ao MTX e toxicidade do regime de condicionamento^{23,50}.

A SOS ocorre tipicamente nos primeiros trinta dias após o transplante, porém pode acontecer mais tardiamente em alguns pacientes⁵⁰. O regime mieloablativo usado pode influenciar o início do aparecimento dos sintomas da SOS^{12,14,50}.

Muitas outras causas ocorrem nesse período, dificultando assim um diagnóstico preciso. As infecções virais geralmente acontecem após o dia 100, e as infecções fúngicas podem ocorrer de forma precoce, principalmente no período de neutropenia. Pacientes em uso de corticosteroides podem ter infecções fúngicas mais tardiamente^{35,50,68}.

4.4.1.7 Prevenção e tratamento

Uma vez que não existe terapêutica efetiva, a prevenção da SOS é uma prioridade. Regimes de profilaxia com baixa toxicidade devem ser implementados na tentativa de reduzir a incidência e a severidade da síndrome. Essell et al.⁶⁹, em um estudo piloto e, subsequentemente, em um estudo clínico randomizado, demonstram um benefício do uso profilático do ácido ursodesoxicólico (AUDC) em pacientes com alto risco de SOS. Nesse estudo, a frequência foi maior no grupo que não recebeu a profilaxia (razão de chance [RC] = 2,57; intervalo de confiança a 95% [IC 95%], 1,08 a 6,10; p=0,03). Por isso, e pela ausência de efeitos colaterais, vários centros transplantadores utilizam o AUDC rotineiramente como profilaxia. Um estudo recente confirma esse benefício⁷⁰.

A incidência da SOS não diminuiu com o uso profilático de heparina e o benefício não foi confirmado em uma série de casos^{48,52}. Os pacientes tratados com heparina apresentaram maior risco de sangramento, com resultados clínicos desanimadores^{9,44,45,51}.

O uso profilático de glutamina parece ser eficaz na prevenção da SOS, uma vez que mantém níveis séricos satisfatórios de glutatona^{55,71,72}.

Em virtude de não haver um tratamento específico, a terapia consiste em suporte clínico e uso de sintomáticos, uma vez que de 70% a 85% dos pacientes apresentam recuperação espontânea⁴⁴. O tratamento de suporte consiste em balanço hídrico rigoroso, uso de diuréticos, restrição de sódio, restrição proteica com lactulose oral para reduzir o risco de progressão para encefalopatia hepática, paracentese terapêutica para amenizar o

desconforto abdominal ou a restrição respiratória, e hemodiálise ou ultrafiltração renal para aqueles que não responderam ao uso de diuréticos^{13,44,45}.

Um dos mais promissores agentes usados na terapêutica é o defibrotide, que tem propriedade anticoagulante, ação fibrinolítica e é bem tolerado, com baixo risco de sangramento⁷³. O seu mecanismo de ação é incerto, porém parece aumentar os níveis endógenos de prostaglandina E2 (PGE2), inibidor de PGE2 (PGI2), t-PA e a expressão de trombomodulina na superfície do endotélio, além de diminuir os níveis de PAI-1^{9,13,17,18,44,51}. A prostaglandina E1 também tem sido descrita no tratamento da SOS em virtude da atividade vasodilatadora e antiplaquetária que se observa quando associada às doses baixas de heparina⁷⁴.

O uso do ativador do plasminogênio tecidual recombinante (rt-PA), em baixas doses, combinado à heparina, pode alterar a evolução dos casos de pior prognóstico. Entretanto, o uso de t-PA está associado a um alto risco de complicações hemorrágicas e não é³⁶ recomendado na presença de falência de múltiplos órgãos^{13,51}. Existe pouca experiência com o uso de concentrados de proteína C ou antitrombina III (ATIII), e não há evidência de que seja efetivo^{13,51}.

Na SOS grave, já estabelecida, poucas alternativas terapêuticas estão disponíveis, entre elas o *shunt* portosistêmico intra-hepático transjugular (SPIT), que é utilizado com segurança para controlar a hipertensão portal, porém com benefício questionável⁷⁵. O transplante hepático tem sido utilizado em número restrito de pacientes, em caráter experimental, em virtude da péssima condição clínica em que geralmente se encontram^{9,45,51,76-78}.

Referências

1. MCKAY PJ, MURPHY JA, CAMERON S et al. Iron overload and liver dysfunction after allogeneic or autologous bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1996;17:63-6.
2. MORADO M, OJEDA E, GARCIA-BUSTOS J et al. Serum ferritin as risk factor for veno-occlusive disease of the liver. Prospective Cohort Study. *Hematology* 2000;4:505-12.
3. ANDREWS NC. Disorders of iron metabolism and heme synthesis. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, editores. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 2a. ed. Philadelphia: Lippincott Williams e Wilkins; 2003. p 980-1009.

4. DE LA SERNA J, BORNSTEIN R, GARCIA-BUENO MJ, LAHUERTA-PALACIOS JJ. Iron depletion by phlebotomy with recombinant erythropoietin prior to allogeneic transplantation to prevent liver toxicity. *Bone Marrow Transplant* 1999;23:95-7.
5. BARKER CC, BUTZNER JD, ANDERSON RA, BRANT R, SAUVE RS. Incidence, survival and risk factors for the development of veno-occlusive disease in pediatric hematopoietic stem cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 2003;32:79-87.
6. HASEGAWA S, HORIBE K, KAWABE T et al. Venooclusive disease of the liver after allogeneic bone marrow transplantation in children with hematologic malignancies: incidence, onset time and risk factors. *Bone Marrow Transplant* 1998;22:1191-7.
7. RICHARDSON PG, MURAKAMI C, JIN Z et al. Multiinstitutional use of defibrotide in 88 patients after stem cell transplantation with severe veno-occlusive disease and multisystem organ failure: response without significant toxicity in a high-risk population and factors predictive of outcome. *Blood* 2002;100:4337-43.
8. WADLEIGH M, HO V, MOMTAZ P, RICHARDSON P. Hepatic veno-occlusive disease: pathogenesis, diagnosis and treatment. *Curr Opin Hematol* 2003;10:451-62.
9. KUMAR S, DELEVE LD, KAMATH PS, TEFFERI A. Hepatic veno-occlusive disease (sinusoidal obstruction syndrome) after hematopoietic stem cell transplantation. *Mayo Clin Proc* 2003;78:589-98.
10. TANIKAWA S, MORI S, OHHASHI K et al. Predictive markers for hepatic veno-occlusive disease after hematopoietic stem cell transplantation in adults: a prospective single center study. *Bone Marrow Transplant* 2000;26:881-6.
11. RICHARDSON P, GUINAN E. Hepatic veno-occlusive disease following hematopoietic stem cell transplantation. *Acta Haematol* 2001;106:57-68.
12. LEE JH, LEE KH, CHOI SJ et al. Veno-occlusive disease of the liver after allogeneic bone marrow transplantation for severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant* 2000;26:657-62.

13. CARRERAS E. Veno-occlusive disease of the liver after haematopoietic cell transplantation. *Eur J Haematol* 2000;64:281-91.
14. MCDONALD GB, HINDS MS, FISHER LD et al. Venoocclusive disease of the liver and multiorgan failure after bone marrow transplantation: a cohort study of 355 patients. *Ann Intern Med* 1993;118:255-67.
15. CESARO S, PILLON M, TALENTI E et al. A prospective survey on incidence risk factor and therapy of hepatic veno-occlusive disease in children after hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica* 2005;90:1396-404.
16. KING PD, PERRY MC. Hepatotoxicity of chemotherapy. In: Scherier SL, Landaw SA, Negrin RS, editores. *Uptodate in Hematology*. Capturado em 23 de junho de 2006. Online. Disponível na Internet [http:// www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)
17. MCKOY JM, ANGELOTTA C, BENNETT CL et al. Gemtuzumab ozogamicin-associated sinusoidal obstructive syndrome (SOS): An overview from the research on adverse drug events and reports (RADAR) project. *Leuk Res* 2007;31:599-604.
18. KALAYOGLU-BESISIK S, YENEREL MN, CALISKAN Y et al. Timerelated changes in the incidence, severity, and clinical outcome of hepatic veno-occlusive disease in hematopoietic stem cell transplantation patients during the past 10 years. *Transplant Proc* 2005;37:2285-9.
19. DELEVE LD, SHULMAN HM, MCDONALD GB. Toxic injury to hepatic sinusoids: sinusoidal obstruction syndrome (veno-occlusive disease). *Semin Liver Dis* 2002;22:27-42.
20. PIHUSCH M, WEGNER H, GOEHRING P et al. Diagnosis of hepatic veno-occlusive disease by plasminogen activator inhibitor-1 plasma antigen levels: a prospective analysis in 350 allogeneic hematopoietic stem cell recipients. *Transplantation* 2005;80:1376-82.
21. COPPELL JA, BROWN SA, PERRY DJ. Veno-occlusive disease: cytokines, genetics, and haemostasis. *Blood Rev* 2003;17:63-70.
22. IGUCHI A, KOBAYASHI R, YOSHIDA M et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is one of the cytokines causative and predictive of hepatic veno-occlusive disease (VOD) in stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2001;27:1173-80.

23. BEARMAN SI. Avoiding hepatic veno-occlusive disease: what do we know and where are we going? *Bone Marrow Transplant* 2001;27:1113-20.
24. SHULMAN HM, FISHER LB, SCHOCH HG, HENNE KW, MCDONALD GB. Veno-occlusive disease of the liver after marrow transplantation: histological correlates of clinical signs and symptoms. *Hepatology* 1994;19:1171-81.
25. MCDONALD GB, SHARMA P, MATTHEWS DE, SHULMAN HM, THOMAS ED. Venocclusive disease of the liver after bone marrow transplantation: diagnosis, incidence, and predisposing factors. *Hepatology* 1984;4:116-22.
26. LITZOW MR, REPOUSSIS PD, SCHROEDER G et al. Veno-occlusive disease of the liver after blood and marrow transplantation: analysis of pre- and post-transplant risk factors associated with severity and results of therapy with tissue plasminogen activator. *Leuk Lymphoma* 2002;43:2099-107.
27. MOSCARDÓ F, SANZ GF, DE LA RUBIA J et al. Marked reduction in the incidence of hepatic veno-occlusive disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with CD34(+) positive selection. *Bone Marrow Transplant* 2001;27:983-8.
28. KAMI M, MORI S, TANIKAWA S et al. Risk factors for hepatic veno-occlusive disease after bone marrow transplantation: retrospective analysis of 137 cases at a single institution. *Bone Marrow Transplant* 1997;20:397-402.
29. BRITTENHAM GM, BADMAN DG. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK) Workshop. Noninvasive measurement of iron: report of an NIDDK workshop. *Blood* 2003;101:15-9.
30. KUMAR V, ABBAS AK, FAUSTO N. ROBBINS e COTRAN: bases patológicas das doenças. 7a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2006.
31. TRINDER D, FOX C, VAUTIER G, OLYNYK JK. Molecular pathogenesis of iron overload. *Gut* 2002;51:290-295.
32. JURADO RL. Iron, infections, and anemia of inflammation. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 888- 95.

33. BAYNES R, BEZWODA W, BOTHWELL T, KHAN Q, MANSOOR N. The nonimmuneinflammatory response: serial changes in plasma iron, ironbinding capacity, lactoferrin, ferritin and Creactive protein. *Scand J Clin Lab Invest* 1986; 46: 695-704.
34. FRIEDMAN LS. Pathogenesis of liver injury in circulatory failure. In: Chopra,S; Bonis,PA, editores. *Uptodate in Hematology*. Capturado em 03 de outubro de 2008. Online. Disponível na internet [http:// www.uptodate.com](http://www.uptodate.com).
35. RAPPAPORT AM. The microcirculatory hepatic unit. *Microvasc Res* 1973;6:212.
36. MACFARLANE RG. An enzyme cascade in the blood clotting mechanism, and its function as a biochemical amplifier. *Nature* 1964;202:498-9.
37. DAVIE EW, RATNOFF OD. Waterfall sequence for intrinsic blood clotting. *Science* 1964;145:1310-2.
38. MAMMEN EF. Distúrbios da Coagulação nas Doenças Hepáticas. In: Bick RL. *Distúrbios Comuns da Hemostasia*. Clínicas Médicas da América do Norte. Rio de Janeiro: Interlivros; 1994.
39. MÜLLER-BERGHAUS G. Pathophysiologic and biochemical events in disseminated intravascular coagulation: dysregulation of procoagulant and anticoagulant pathways. *Semin Thromb Hemost* 1989;15:58-87.
40. BLONSKI W, SIROPAIDES T, REDDY KR. Coagulopathy in liver disease. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2007;10:464-73.
41. DE AZEVEDO MRA, Converso APG. Inflamação, coagulação e sepse. *NewsLab* 2006;77: 156-60.
42. PIHUSCH M, WEGNER H, GOEHRING P et al. Protein C and procollagen III peptide levels in patients with hepatic dysfunction after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2005;36:631-7.
43. IMRAN H, TLEYJEH IM, ZIRAKZADEH A, RODRIGUEZ V, KHAN SP. Use of prophylactic anticoagulation and the risk of hepatic veno-occlusive disease in patients undergoing he-

matopoietic stem cell transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Bone Marrow Transplant* 2006;37:677-86.

44. HELMY A. Review article: updates in the pathogenesis and therapy of hepatic sinusoidal obstruction syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;23:11-25.

45. BAYRAKTAR UD, SEREN S, BAYRAKTAR Y. Hepatic venous outflow obstruction: three similar syndromes. *World J Gastroenterol* 2007;13:1912-27.

46. BRAS G, CLEARKIN KP. Histopathology of the pancreas in Jamaican infants and children. *Doc Med Geogr Trop* 1954;6:327-30.

47. DELEVE LD. *Semin Liver Dis* 2002;22:27-42.

48. CARRERAS E, BERTZ H, ARCESE W et al. Incidence and outcome of hepatic veno-occlusive disease after blood or marrow transplantation: a prospective cohort study of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. European Group for Blood and Marrow Transplantation Chronic Leukemia Working Party. *Blood* 1998;92:3599-604.

49. GIRINSKY T, BENHAMOU E, BOURHIS JH et al. Prospective randomized comparison of single-dose versus hyperfractionated total-body irradiation in patients with hematologic malignancies. *J Clin Oncol* 2000;18:981-6.

50. SHIRAI M. *Acta Pathologica Japonica*, 37,1961-1971.

51. CARRERAS E. Early complications after HSCT. *The EBMT Handbook*. 5a ed. Genova (Itália): Forum Service Editore; 2008. p. 181-195.

52. HÄGGLUND H, REMBERGER M, KLAESSON S, LÖNNQVIST B, LJUNGMAN P, RINGDÉN O. Norethisterone treatment, a major risk-factor for veno-occlusive disease in the liver after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 1998;92:4568-72.

53. ESSELL JH, THOMPSON JM, HARMAN GS et al. Marked increase in veno-occlusive disease of the liver associated with methotrexate use for graft-versus-host disease prophylaxis in patients receiving busulfan/ cyclophosphamide. *Blood* 1992;79:2784-8.

54. LJUNGMAN P, HASSAN M, BÉKÁSSY AN, RINGDÉN O, OBERG G. High busulfan concentrations are associated with increased transplant-related mortality in allogeneic bone marrow transplant patients. *Bone Marrow Transplant* 1997;20:909-13.
55. BROWN SA, GORINGE A, FEGAN C et al. Parenteral glutamine protects hepatic function during bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1998;22:281-4.
56. SALAT C, HOLLER E, KOLB HJ Et al. The relevance of plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) as a marker for the diagnosis of hepatic venoocclusive disease in patients after bone marrow transplantation. *Leuk Lymphoma* 1999;33:25-32.
57. NEGRIN RS, BONIS PA. Pathogenesis and clinical features of hepatic sinusoidal obstruction syndrome (veno-occlusive disease) following hematopoietic cell transplantation. In:Chao,NJ; Landaw,SA, editores. *Uptodate in Hematology*. Capturado em 26 de junho de 2008. Online. Disponível na internet [http:// www.uptodate.com](http://www.uptodate.com)
58. TOH HC, MCAFEE SL, SACKSTEIN R, COX BF, COLBY C, SPITZER TR. Late onset venoocclusive disease following high-dose chemotherapy and stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1999;24:891-5.
59. VANNUCCHI AM, RAFANELLI D, LONGO G et al. Early hemostatic alterations following bone marrow transplantation: a prospective study. *Haematologica* 1994;79:519-25.
60. SCROBOHACI ML, DROUET L, MONEM-MANSI A et al. Liver veno-occlusive disease after bone marrow transplantation changes in coagulation parameters and endothelial markers. *Thromb Res* 1991;63:509-19.
61. CATANI L, GUGLIOTTA L, MATTIOLI BELMONTE M et al. Hypercoagulability in patients undergoing autologous or allogeneic BMT for hematological malignancies. *Bone Marrow Transplant* 1993;12:253-9.
62. HARPER PL, JARVIS J, JENNINGS I, LUDDINGTON R, MARCUS RE. Changes in the natural anticoagulants following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1990;5:39-42.

63. HEIKINHEIMO M, HALILA R, FASTH A. Serum procollagen type III is an early and sensitive marker for veno-occlusive disease of the liver in children undergoing bone marrow transplantation. *Blood* 1994;83:3036-40.
64. COLLINS PW, GUTTERIDGE CN, O'DRISCOLL A et al. Von Willebrand factor as a marker of endothelial cell activation following BMT. *Bone Marrow Transplant* 1992;10:499-506.
65. PARK YD, YASUI M, YOSHIMOTO T et al. Changes in hemostatic parameters in hepatic veno-occlusive disease following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1997;19:915-20.
66. YOSHIMOTO K, ONO N, OKAMURA T, SATA M. Recent progress in the diagnosis and therapy for veno-occlusive disease of the liver. *Leuk Lymphoma* 2003;44:229-34.
67. HASHIGUCHI M, OKAMURA T, YOSHIMOTO K et al. Demonstration of reversed flow in segmental branches of the portal vein with hand-held color Doppler ultrasonography after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2005;36:1071-5.
68. CASTAGNOLA E, FARACI M, MORONI C et al. Invasive mycoses in children receiving hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2008;41 Suppl 2:S107-11.
69. ESSELL JH, SCHROEDER MT, HARMAN GS et al. Ursodiol prophylaxis against hepatic complications of allogeneic bone marrow transplantation. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 1998;128:975-81.
70. TAY J, TINMOUTH A, FERGUSSON D, HUEBSCH L, ALLAN DS. Systematic review of controlled clinical trials on the use of ursodeoxycholic acid for the prevention of hepatic veno-occlusive disease in hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007;13:206-17.
71. GORINGE AP, BROWN S, O'CALLAGHAN U et al. Glutamine and vitamin E in the treatment of hepatic veno-occlusive disease following high-dose chemotherapy. *Bone Marrow Transplant* 1998;21:829-32.
72. BROWN SA, GORINGE A, FEGAN C et al. Parenteral glutamine protects hepatic function during bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1998;22:281-4.

73. DIGNAN F, GUJRAL D, ETHELL M et al. Prophylactic defibrotide in allogeneic stem cell transplantation: minimal morbidity and zero mortality from veno-occlusive disease. *Bone Marrow Transplant* 2007;40:79-82.
74. SCHLEGEL PG, HABER HP, BECK J et al. Hepatic veno-occlusive disease in pediatric stem cell recipients: successful treatment with continuous infusion of prostaglandin E1 and low-dose heparin. *Ann Hematol* 1998;76:37-41.
75. FRIED MW, CONNAGHAN DG, SHARMA S et al. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt for the management of severe venoocclusive disease following bone marrow transplantation. *Hepatology* 1996;24:588- 91.
76. AZOULAY D, CASTAING D, LEMOINE A, HARGREAVES GM, BISMUTH H. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt (TIPS) for severe veno-occlusive disease of the liver following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2000; 25:987-92.
77. HÁGGLUND H, RINGDÉN O, ERICZON BG et al. Treatment of hepatic venoocclusive disease with recombinant human tissue plasminogen activator or orthotopic liver transplantation after allogeneic bone marrow transplantation. *Transplantation* 1996; 62:1076-80.
78. ROSEN HR, MARTIN P, SCHILLER GJ et al. Orthotopic liver transplantation for bone-marrow transplant-associated . *Liver Transpl Surg* 1996; 2:225-32.

CAPÍTULO 5

Complicações associadas ao transplante de células-tronco hematopoéticas: citomegalovírus

O TCTH é uma forma de tratamento que vem sendo crescentemente utilizada no trato de patologias hematológicas benignas e malignas. Atualmente constituem indicações de transplante neoplasias malignas dos testículos, neuroblastoma, leucemias agudas e crônicas, linfomas, síndromes mielodisplásicas, doenças mieloproliferativas, além de patologias benignas, como AA, hemoglobinopatias, imunodeficiências e erros inatos do metabolismo. O transplante é baseado em um equilíbrio imunológico; é necessário que as células hematopoéticas do doador infundidas enxertem-se no microambiente do receptor, que o sistema imunológico do receptor tolere o enxerto de células-tronco do doador, para que não haja rejeição, e que células T efectoras do doador tolerem o tecido do hospedeiro, para não haver DECH¹.

Os primeiros transplantes foram realizados com células-tronco de gêmeos idênticos (transplante singênico); atualmente, outras fontes de podem ser utilizadas, provenientes de doadores aparentados ou não aparentados (transplante alogênico) compatíveis nos HLA, ou provenientes do próprio paciente (transplante autólogo).

Essas células-tronco são definidas como uma população de células indiferenciadas, com capacidade de se dividir indefinidamente, de se autorrenovar e de gerar células altamente especializadas, as diferentes linhagens celulares presentes no sangue². Para que esse processo de hematopoese ocorra, é necessária uma interação das células-tronco presentes na medula óssea com o microambiente medular e com uma série de proteínas reguladoras do crescimento. A partir da interação desses três fatores, são, então, originadas as diferentes linhagens sanguíneas, com características morfológicas próprias e funções biológicas específicas. Essas são as linhagens mieloide, linfoide, eritroide e megacariocítica³.

A fonte de CTH vem sendo modificada ao longo do tempo. Atualmente, há três possibilidades: células-tronco de medula óssea, células-tronco de sangue periférico, mobilizadas com fatores de crescimento e/ ou quimioterapia, e células-tronco de SCUP. Cada uma

dessas fontes leva a resultados clínicos distintos, mas seu uso depende principalmente da idade do receptor e do doador, da indicação e da preferência dos centros e dos doadores. Normalmente, usa-se a medula óssea em crianças; para adultos, medula óssea ou sangue periférico. O SCUP depende da disponibilidade de unidades em bancos e da ausência de doador HLA idêntico. Há vantagens e desvantagens em cada tipo de células-tronco: medula óssea deve ser coletada sob anestesia geral, diferentemente do sangue periférico, que é coletado por veia periférica, mas requer o uso de fatores de crescimento, como o fator estimulante de colônias de granulócitos (G-CSF), havendo possibilidade de efeitos colaterais. O SCUP, por sua vez, está mais facilmente disponível, não requer total compatibilidade HLA, mas tem restrição quanto ao número de células.

A escolha do doador baseia-se na compatibilidade HLA, codificada pelo MHC, que se localiza no cromossomo 6 em humanos e codifica duas famílias de HLA distintas implicadas na alorreatividade: antígenos HLA de Classe I, que são codificados por três *loci* chamados HLA-A, HLA-B e HLA-C; antígenos HLA de Classe II, que são codificados por outros três *loci* HLA-DR, HLA-DP e HLA-DQ. Caso doador e receptor não sejam compatíveis, poderá haver rejeição ou DECH.

A fisiopatologia das duas se parece, embora sejam diferentes. Ambas são baseadas na alorreatividade de células T do hospedeiro ou do doador a antígenos codificados pelo MHC ou a peptídeos apresentados em associação com esses antígenos.

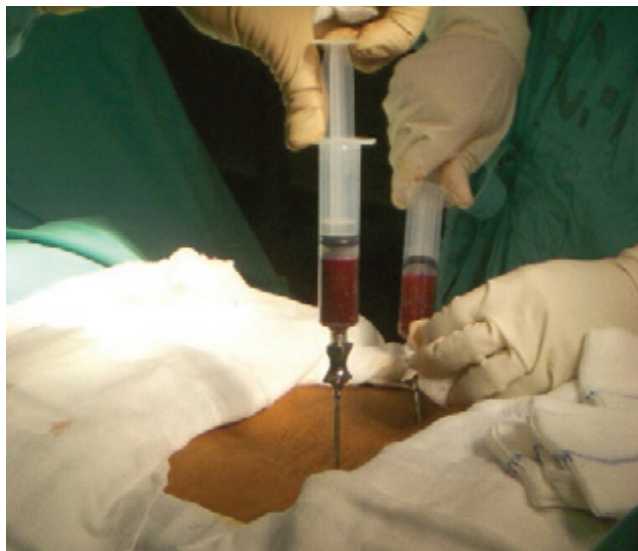


Figura 20 – Fonte de células-tronco
Fonte: Centro Cirúrgico do Hospital do Câncer I - INCA

O paciente que receba e aceite as células-tronco de um doador HLA compatível é tratado com quimio e/ ou radioterapia, que visam não somente a destruir a doença de base, mas também a eliminar sua medula óssea, criando espaço para as novas células-tronco que serão infundidas e imunossuprimindo o paciente para que ele não rejeite as células progenitoras do doador. O regime de condicionamento é fundamental no TCTH: visa a destruir a doença, porém com um mínimo de toxicidade. É uma causa importante de mortalidade precoce, mas também é fundamental para o controle da doença a longo prazo, ou até mesmo para a cura. O regime de condicionamento tem, então, como objetivos criar espaço, imunossuprimir e erradicar a doença.

- Criação de espaço: acredita-se que células progenitoras maduras ocupem nichos definidos no estroma medular, visando a obter o suporte necessário às suas proliferação e diferenciação. Assim, é importante erradicar as células-tronco do receptor para que as do doador tenham acesso a esses nichos para posterior reconstituição hematopoética.
- Imunossupressão: é importante para evitar uma rejeição das células do doador pelas células imunológicas do receptor. A necessidade de imunossupressão aumenta com o aumento da disparidade MHC. O risco de rejeição aumenta em situações em que o receptor foi pré-sensibilizado contra mHA (por exemplo, administração prévia de hemoderivados).
- Erradicação da doença: esse é o principal objetivo em pacientes com neoplasias malignas.

Entretanto, a capacidade curativa do TCTH não se baseia somente na eliminação de uma medula óssea doente e na sua posterior substituição por outra sadia, mas também nos efeitos imunológicos mediados pelo transplante. A pega do enxerto e sua posterior funcionalidade demandam o estabelecimento de uma tolerância bilateral: do hospedeiro com o enxerto e do enxerto com o hospedeiro. Quando há um desequilíbrio desse balanço imunológico, ocorre a rejeição ou a imunorreatividade do enxerto contra os tecidos do hospedeiro, conhecido como DECH. Por outro lado, no tratamento de neoplasias hematológicas, o principal efeito terapêutico do transplante é o fornecimento de alorreatividade para superar o estado de ignorância patológica do sistema imune do receptor em relação às células tumorais.

No TCTH autólogo, também são administradas doses elevadas de quimio e/ ou radioterapia, visando à destruição da doença de base; esse nível de dose é tóxico para a medula

óssea. É importante, então, que o paciente tenha uma reserva de células-tronco sadia para ser utilizada em substituição às lesadas. Essa abordagem permite o uso de agentes tumorais em doses bem maiores do que aquelas administradas em tratamentos convencionais. Essa forma de transplante está indicada quando há correlação entre altas doses e resposta tumoral e quando o limitante de dose é a toxicidade medular. Há algumas desvantagens: as células-tronco coletadas podem já estar lesadas por tratamentos anteriores; o *pool* de células-tronco pode estar contaminado por células malignas; não há o efeito enxerto-*versus*-doença.

5.1. Complicações associadas ao transplante de células-tronco hematopoéticas

As altas doses de quimio e/ ou radioterapia do regime de condicionamento comprometem todos os órgãos e tecidos do receptor, levando a uma série de complicações de intensidade distinta:

- **Cistite hemorrágica:** ocorre por toxicidade direta do regime de condicionamento no urotélio ou por infecções virais que comprometam o trato urinário. Normalmente, quando secundária ao regime de condicionamento, ocorre precocemente após o TCTH (alguns dias após a quimioterapia) e pode ser produzida por CTX (ou ifosfamida), bussulfano, etoposide e ICT, principalmente. Causas virais são mais tardias (normalmente após o 30º dia) e podem ser ocasionadas pelos poliomavírus BK ou JC, adenovírus tipo II ou CMV. A cistite hemorrágica secundária à quimioterapia ocorre em de 1% a 25% dos pacientes, enquanto a de causa viral varia em incidência de 5% a 25%, dependendo do grau de imunossupressão do receptor⁴.
- **SOS:** é o termo usado para definir sinais e sintomas que ocorrem precocemente após o TCTH, como consequência da toxicidade hepática relacionada ao regime de condicionamento. Há icterícia, retenção líquida, hepatomegalia dolorosa, que ocorrem nos primeiros 35 a 40 dias após o TCTH. O metabolismo hepático de algumas drogas pelo sistema enzimático P450 produz uma série de metabólitos tóxicos. Esses metabólitos são convertidos a metabólitos estáveis (não tóxicos) via sistema enzimático do glutation e eliminados. Quando esse processo ocorre em pacientes com atividade de glutation

reduzida, em razão de doenças hepáticas pré-existentes ou da ativação de agentes como bussulfano, carmustina ou radioterapia, que depletam os níveis de glutatião, metabólitos tóxicos não são metabolizados. Esses metabólitos localizam-se predominantemente na área 3 do ácino (em torno das veias centrolobulares), visto que essa área é rica em P450 e pobre em glutatião. Conseqüentemente, a lesão do hepatócito e do sinusóide endotelial ocorre nessa área. As células endoteliais sofrem lesão tóxica, liberando metabólitos tóxicos por fenestras. Há, também, liberação de hemácias para o espaço de Disse, com embolização e bloqueio dos sinusóides, diminuindo o fluxo venoso hepático e produzindo hipertensão pós-sinusoidal. Clinicamente ocorre dias após o condicionamento em de 3% a 54% dos pacientes. A mortalidade depende da gravidade da síndrome⁵⁻⁸.

- **Síndrome de lise capilar:** ocorre em 35% dos receptores de TCTH alogênico e é frequentemente fatal. A lesão endotelial produz perda de fluidos intravenosos para espaços intersticiais. Ocorre nos primeiros 15 dias de TCTH e há ganho ponderal maior que 3% em 24 horas, associado a edema generalizado (ascite, derrames pleural e pericárdico), não responsivo ao tratamento com diuréticos de alça. Clinicamente se manifesta por taquipneia, hipotensão, insuficiência respiratória e hipoalbuminemia⁹.
- **Síndrome da pega:** ocorre no momento da recuperação medular. Há liberação maciça de citocinas pró-inflamatórias por tecidos lesados, pelo intenso condicionamento e pela recuperação dos neutrófilos. É mais frequente no TCTH autólogo (5% a 25%). Normalmente, após 72 horas do início da recuperação dos neutrófilos, haverá febre alta, *rash* cutâneo, infiltrado pulmonar ou hipoxemia. Pode também haver diarreia, ganho ponderal, disfunção hepática, renal ou alterações no Sistema Nervoso Central (SNC)¹⁰.
- **Síndrome da pneumonia idiopática:** ocorre por lesão pulmonar via regime de condicionamento, lesão celular imunológica, citocinas inflamatórias e, provavelmente, infecções pulmonares ocultas. Incidência inferior a 10%. Normalmente, 21 dias após o TCTH há tosse, taquipneia e hipoxemia associados a infiltrado intersticial difuso¹¹.

Outras complicações associadas ao TCTH são as imunológicas e as infecciosas.

- **Rejeição:** é definida como a detecção de células de origem do hospedeiro, com ou sem a recuperação da hematopoese; ocorre em, aproximadamente, de 1% a 2% dos TCTH alogênicos aparentados; alcança taxas mais elevadas (5% a 30%) em pacientes transplantados por AA e em enxertos com depleção de células T (20%)¹.
- **DECHA:** é definida como uma síndrome de dermatite, enterite e hepatite, que ocorre

antes do 100º dia do TCTH. A incidência é de 9% a 50% dos receptores de TCTH alo-gênico aparentado. Para haver DECH, são necessários os postulados de Billingham: o enxerto deve conter células imunocompetentes; deve haver a presença de aloantígenos estranhos e imunogênicos nas células do receptor (ou reconhecimento inadequado de autoantígenos); o receptor deve ser incapaz de produzir resposta imune contra o enxerto¹. Há três fases características no desenvolvimento da DECHa¹²:

Fase 1 ou efetora – há agressão tecidual por tratamentos prévios e regime de condicionamento, levando à lesão tecidual, com liberação de citocinas inflamatórias, como o TNF- α e a IL-1, que aumentam a ativação de células apresentadoras de antígenos do hospedeiro. A translocação de lipopolissacarídeos pela mucosa intestinal lesada ativa o sistema imune e promove uma cascata de citocinas inflamatórias.

Fase 2 ou de ativação da célula T – linfócitos T naive do doador interagem com células apresentadoras de antígenos do receptor, são ativadas e expressam citocinas, como IFN- γ , IL-2 e TNF- α (além de outros), levando à expansão de células T.

Fase 3 ou fase efetora inflamatória e celular – essa fase corresponde a uma complexa casacata de células efetoras citotóxicas, células NK e grandes linfócitos granulares, seguida da geração de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- γ , IL-1, e de NO derivado de macrófagos. Há lesão orgânica¹³.

Para a prevenção da DECH, agentes como a CSP ou o tacrolimus, que têm efeito supressor específico na função de linfócitos T, são usados em combinação com outros agentes imunossuppressores, como corticosteroides, MTX, micofenolato mofetil e timoglobulina. Outra forma de prevenção da DECH é baseada na retirada de linfócitos T do enxerto (depleção T); porém essa técnica aumenta o risco de rejeição e recidiva.

5.1.1. Complicações infecciosas

As infecções são uma importante causa de morbimortalidade no período pós-TCTH. Visto o grau de neutropenia, a depressão das funções T e B, a ruptura das barreiras anatômicas (mucosite, cateteres de longa permanência vasculares ou urinários) e os agentes imunossuppressores, os receptores de TCTH alogênico têm um risco de uma variedade de infecções ainda mais alto do que nos outros tipos. Essas infecções podem ser causadas por bactérias, fungos e vírus, dependendo do tempo de transplante. O momento da reconstituição imunológica determina o tipo de infecção.

A primeira fase é a de aplasia, após o regime de condicionamento e até a recuperação dos neutrófilos. Nessa fase, as complicações infecciosas não diferem daquelas encontradas em outros pacientes neutropênicos, exceto pela lesão da mucosa intestinal. Nesse período, há também o aumento do risco de infecções fúngicas, principalmente a aspergilose. Infecções virais, principalmente pelo vírus Herpes-simples, são frequentes. A mortalidade por infecção nesse período ocorre associada à sepse bacteriana, à pneumonia e às infecções fúngicas.

A segunda fase corresponde ao período de início da recuperação dos neutrófilos até o terceiro ou quarto mês pós-TCTH e se caracteriza por deficiência imune celular, com diminuição do número e da função de células citotóxicas. Ocorrem infecções por CMV e outros vírus, como adenovírus, vírus entéricos e respiratórios. O principal fator a retardar a recuperação imunológica e favorecer às infecções é a ocorrência de DECH.

A terceira fase, que se inicia no quarto mês, é considerada uma fase tardia. A recuperação imunológica está relacionada à presença e à gravidade da DECH. A maioria dos pacientes tem deficiência de imunoglobulinas (Ig), principalmente da imunoglobulina G2 (IgG2), que é responsável por uma diminuição na resposta a antígenos polissacarídicos. Receptores de TCTH alogênico são extremamente vulneráveis a bactérias encapsuladas. Na ausência de DECH, essa deficiência será transitória e resolver-se-á com o tempo. É importante a vacinação.

- **Infecções bacterianas:** são mais comuns no período imediato pós-TCTH, facilitadas pela neutropenia e pela ruptura da barreira mucosa decorrente do regime de condicionamento, além da presença de cateteres de longa permanência, que também as propiciam. As por bastonetes gram-negativos (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, entre outras) surgem principalmente do TGI. A via de entrada dos cocos gram-positivos (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans*, além de outras) é a pele, a orofaringe ou os cateteres venosos centrais (CVC). Após dois meses do TCTH, o risco de infecção por bactérias encapsuladas aumenta, principalmente o *Streptococcus pneumoniae* e o *Haemophilus influenzae*, que estão associados à presença de DECHc. Com a primeira pode haver bacteriemia associada ou não à pneumonia e/ ou à sinusite, podendo ser letal. Já a segunda pode levar a infecções dos tratos respiratórios superior e inferior, além de bacteriemia. Outras infecções mais raras são por micobactérias e *Legionella sp.*

- **Infecções fúngicas:** são decorrentes da neutropenia prolongada, do uso de antibióticos de amplo espectro e da imunossupressão. Os fungos que mais frequentemente causam infecção no TCTH são *Candida spp.* e *Aspergillus spp.* Outros fungos são menos usuais. A colonização de superfícies mucosas e cutâneas (orofaringe, TGI e vagina) por espécies de *Candida* serve como porta de entrada pelo uso de antibióticos de amplo espectro; outra fonte de infecção são os CVC de longa permanência e outros cateteres, como os nasoenterais. A contaminação de condicionadores de ar, sistemas de ventilação e obras causam infecções hospitalares pelas espécies de *Aspergillus*. A porta de entrada geralmente são os seios da face ou as vias aéreas superiores.
- **Infecções virais:** as infecções virais pós-TCTH alogênico geralmente decorrem da reativação de infecções virais latentes. As mais frequentes são causadas pelos herpes-vírus (herpes simples, vírus varicela-zóster e CMV), adenovírus e poliomavírus, como o BK vírus (BKV). Mais raramente ocorrem infecções por enterovírus, vírus respiratório sincicial (RSV), influenza, parainfluenza, rotavírus e parvovírus B19.

A infecção pelo adenovírus no período pós-TCTH normalmente causa cistite hemorrágica, pneumonite ou hepatite. Pode surgir pela reinfecção ou via fluidos orgânicos. A cistite hemorrágica também pode ter como agente etiológico o BKV. O Herpes simples é causa frequente de infecção; decorre da reativação da infecção em pacientes soropositivos. A manifestação mais precoce é a lesão de mucosa, que é dolorosa e pode servir como porta de entrada para bactérias do TGI. O varicela-zóster, quando da primeira infecção, pode ser grave. O herpes-vírus *hominis* 6 (HHV6) vem associado a: pneumonia, retardo na recuperação hematopoética, encefalite e trombocitopenia prolongadas. Outro herpes-vírus, o EBV, pode levar à doença linfoproliferativa B, que oferece maior risco em pacientes que recebem enxerto depletado de células T e pacientes condicionados com timoglobulina. Há elevada letalidade.

A infecção pelo CMV ocorre tipicamente entre a recuperação hematopoética ("pega") e o 120º dia do transplante¹⁴⁻¹⁷, determinando aumento significativo da morbidade e diminuição da sobrevida.

5.1.1.1. Citomegalovírus

O CMV é um herpes-vírus, da família *b-herpesviridae*, caracterizado por possuir hospedeiro restrito e ciclo reprodutivo dinâmico. Como todo herpes-vírus, o ciclo de vida do

CMV consta de duas fases: um período latente, em que permanece dentro das células-alvo, replicando-se cronicamente com o genoma celular, e uma fase lítica, em que reassume a replicação ativa, gerando partículas virais infecciosas. O CMV é um vírus DNA, que tem em sua estrutura um núcleo com DNA de dupla hélice, um capsídeo icosaédrico com 162 capsômeros, um material amorfo e assimétrico que circunda o capsídeo, denominado matriz e um envelope contendo as glicoproteínas virais na sua superfície¹⁸ (Figura 21).

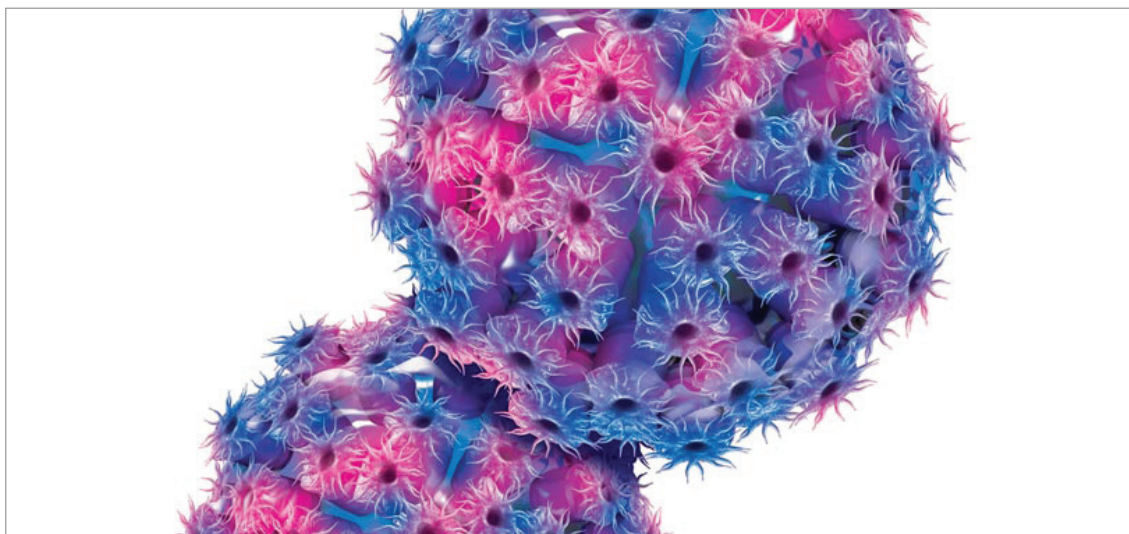


Figura 21 – Citomegalovírus

Fonte: Os micróbios por trás do câncer. Revista Saúde é Vital, Editora Abril

A infecção pelo CMV é definida como o isolamento do vírus ou a detecção de ácido nucleico ou proteínas virais em fluidos ou tecidos corpóreos¹⁹, sem sintomatologia clínica. Estudos mostram que aproximadamente 60% dos adultos em países desenvolvidos e 100% daqueles em países em desenvolvimento são infectados pelo CMV, mostrando soropositividade para proteínas desse vírus. A incidência dessa infecção é de 10% a 15% em receptores de TCTH, sendo que, desses, aproximadamente 50% desenvolverão doença pelo CMV^{20,21}. Para receptores soropositivos, a infecção ocorre em de 45% a 86% dos pacientes e a doença em de 21% a 43%²²⁻²⁵.

A infecção pelo CMV em receptores de TCTH normalmente se manifesta clinicamente como febre de etiologia desconhecida, pneumonite intersticial, ou enterite. Menos frequentemente, esses pacientes podem desenvolver retinite, encefalite, hepatite ou aplasia. Também pode haver cistite hemorrágica e pancreatite²⁶.

Para haver o diagnóstico de doença pelo CMV, é necessária a presença de sinais e/ou sintomas de comprometimento de um órgão associados à detecção do vírus no órgão comprometido¹⁹. Na pneumonite, a detecção viral é feita pela biópsia pulmonar ou pelo lavado bronco-alveolar; na enterite, pela biópsia tecidual; na encefalite, pelo líquido cefalorraquiano e assim, sucessivamente^{27,28}. Uma exceção é a retinite pelo CMV, na qual o diagnóstico é exclusivamente clínico²⁹. A pneumonite intersticial é a complicação mais grave da doença pelo CMV, com uma letalidade de 30% a 48%, mesmo em pacientes submetidos a tratamento específico³⁰.

Um estudo mostrou um aumento da mortalidade por infecções bacterianas e fúngicas em receptores de TCTH soronegativos com doador soropositivo, mesmo após ajuste pela neutropenia, pelo ganciclovir e pela ocorrência de doença pelo CMV²¹. Os autores especulam sobre um efeito imunomodulador da primoinfecção pelo CMV em receptores de TCTH.

5.1.1.2. Métodos de diagnóstico do citomegalovírus

No passado, os testes sorológicos determinando a presença de anticorpos contra antígenos líticos e as culturas virais eram fundamentais no diagnóstico da infecção pelo CMV. Entretanto, na última década, os métodos de amplificação molecular vêm tendo desenvolvimento preponderante.

- **Sorologia:** permite evidência indireta de infecção recente pelo CMV, baseada em alterações nos títulos de anticorpos em diferentes momentos no tempo. Há várias técnicas de detecção de anticorpos, como fixação de complemento, teste ELISA (do inglês *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), aglutinação por látex, radioimunoensaio e ensaios indiretos de hemaglutinação. A detecção de anticorpos imunoglobulina M (IgM) CMV específicos sugere soroconversão recente. A observação de um incremento de, no mínimo, quatro vezes o título de IgG CMV específica em duas aferições com intervalo de 2 a 4 semanas também sugere uma soroconversão recente. A sensibilidade e a especificidade dos métodos são adequadas, porém, há necessidade de pareamento sorológico, o que demanda tempo e a IgM pode permanecer elevada por um mês, fornecendo diagnósticos imprecisos³¹.
- **Culturas:** pelo uso de culturas de fibroblastos, o CMV pode ser isolado de vários sítios, incluindo sangue, urina, líquido, lavado bronco-alveolar e biópsias. Contudo, há várias

limitações: o CMV cresce lentamente em cultura de células (por vezes, semanas), não servindo como teste confirmatório³¹. A presença do CMV em cultura indica a presença do vírus, mas não confirma o diagnóstico. Pacientes imunossuprimidos podem eliminar o vírus em secreções orais ou na urina por meses³². A sensibilidade do método é limitada, mas é importante na detecção de casos de resistência^{33,34}.

- **Detecção antigênica precoce:** permite a detecção do CMV em cultura antes dos efeitos citopáticos característicos, acelerando o diagnóstico. Após a centrifugação do material do paciente em monocamadas celulares, essas monocamadas são expostas a anticorpos monoclonais, que se ligam onde há replicação do CMV. Apesar da sensibilidade desse teste, ele demora de 2 a 3 dias para apresentar o resultado³¹.
- **Antigenemia:** é o método considerado "padrão ouro" para detecção da infecção produzida pelo CMV. Após duas horas de infecção viral, uma fosfoproteína da matriz viral, a pp65 está presente no núcleo de células infectadas³⁵. A proteína pp65 do CMV é nucleotrópica e entra na célula como parte do virion infectante. A detecção desse antígeno no núcleo do granulócito é usada para documentar a disseminação precoce do CMV no paciente imunocomprometido. A antigenemia se baseia em uma reação com anticorpo monoclonal em leucócitos do sangue periférico, detectada por imuno-histoquímica. A presença desse antígeno nos leucócitos significa que os fagócitos ingeriram as partículas virais ou que foram infectados pelo vírus. A antigenemia se correlaciona com a infecção pelo CMV na corrente circulatória. Pacientes que desenvolveram doença tiveram níveis mais elevados de antigenemia — importante no tratamento preemptivo para CMV³⁶⁻³⁹. Entre os pacientes que apresentaram um aumento igual ou superior a duas vezes o valor da antigenemia basal nos primeiros 100 dias de TCTH, 8 de 47 (17%) desenvolveram doença pelo CMV, enquanto, naqueles em que o incremento da antigenemia foi inferior a duas vezes o basal, 8 de 68 (12%) desenvolveram doença pelo CMV ($p > 0,05$)⁴⁰.
- **Métodos baseados em reação em PCR:** a PCR para o CMV baseia-se na detecção do DNA viral no sangue ou no plasma; pode ser qualitativa ou quantitativa. Os métodos baseados em PCR para detecção do CMV apresentam a vantagem de serem rápidos, com baixo requerimento de material biológico e uma alta sensibilidade e especificidade, quando cuidadosamente padronizados em relação aos métodos de referência. O objetivo de qualquer método de detecção do CMV para aplicação na área clínica é a caracterização precoce da reativação viral, ou seja, a entrada no ciclo lítico.

Os métodos baseados na detecção do DNA viral foram desenvolvidos, inicialmente, mostrando alta sensibilidade. Uma potencial desvantagem disso, no entanto, é a possibilidade de detectar DNA do CMV em estado tanto lítico quanto latente⁴¹. Portanto, a utilidade desses métodos é dada pela possibilidade de quantificação da carga viral (DNA de vírus associado a células) ou da viremia (DNA livre no plasma). Para sua aplicação na clínica, é importante que cada centro desenvolva seus "padrões" da cinética de reativação viral, em relação à sorologia dos pacientes estudados, assim como especificamente aos tipos de transplante e protocolos de condicionamento. Com isso, busca-se a determinação de um ponto de corte (*cut-off*) com valor clínico em relação aos fenômenos de reativação do CMV e ao desenvolvimento de doença por esse vírus.

Na atualidade, existem vários ensaios diagnósticos comerciais para detectar e quantificar o DNA do CMV em amostras clínicas, amplamente utilizados nos países desenvolvidos⁴¹. Esses são: o *COBAS AmpliCor CMV Monitor Test* (Roche Diagnostics), que tem como alvo a amplificação de uma região de 365 pb do gene da polimerase viral e é desenhado para amplificação por PCR de DNA em plasma; e o *Hybrid Capture System CMV DNA Test* (Digene), que é um método baseado na amplificação de sinal que utiliza uma sonda de ácido ribonucleico (RNA), a qual forma híbridos com o genoma viral. Esse é detectado com um anticorpo específico para híbridos de DNA-RNA. Esses métodos apresentam a vantagem da padronização, fornecendo, portanto, resultados comparáveis entre centros. A principal desvantagem, além da falta de versatilidade, é o alto custo e a dependência tecnológica gerada pela implementação de tais metodologias⁴².

Outra questão importante na hora da escolha dos métodos é o tipo de informação biológica fornecida por eles. A informação que os métodos baseados na quantificação do DNA produzem é a cinética do aumento da carga/ viremia, que é, então, tomada como evidência da reativação viral. Outro marcador capaz de fornecer essa informação de maneira mais precisa é a detecção da expressão de genes do ciclo lítico do vírus, no nível de RNA^{43,44}.

Questões importantes a serem resolvidas na escolha de metodologias baseadas na detecção do RNA são: 1) utilização de estratégias que permitam amplificar especificamente o RNA mensageiro (RNAm) alvo, eliminando a amplificação do DNA viral; 2) escolha de genes que sejam expressos especificamente no ciclo lítico⁴³.

Duas metodologias são correntemente utilizadas. Uma é o método Nasba, baseado na amplificação isotermal de ácidos nucleicos, que, por seu perfil isotermal, impedem a amplificação do DNA. Existe um ensaio comercial baseado nessa metodologia: *NucliSens CMV pp67 assay*⁴⁴. A outra metodologia é a transcrição reversa seguida de PCR (RT-PCR) utilizando um RNAm específico que, por sofrer processamento pós-transcricional (*splicing*), apresenta uma estrutura diferente do DNA codificante, permitindo ser diferenciado desse após a amplificação⁴³.

As principais desvantagens desses métodos são a conhecida maior instabilidade do RNA em relação ao DNA e a dificuldade de torná-los quantitativos. Uma estratégia para superar essas dificuldades é uma boa padronização de métodos de extração de RNA, incluindo a avaliação da "amplificabilidade", e a associação dessa metodologia com métodos quantitativos baseados na amplificação do DNA, visando ao aproveitamento das informações complementares potencialmente fornecidas por ambas as metodologias.

5.1.1.3. Comparação entre os métodos de diagnóstico do citomegalovírus

Os principais métodos são a antigenemia e métodos de detecção de DNA e RNAm. O PCR quantitativo vem sendo crescentemente utilizado por oferecer duas vantagens. A primeira é ser altamente sensível, permitindo detectar casos de infecção por CMV que não foram detectados por outros métodos de diagnóstico, como a antigenemia. A doença por CMV ocorre em 7,7% dos pacientes nos primeiros 100 dias pós-TCTH³⁶. Há relatos de falsos negativos de antigenemia em pacientes com baixa leucometria e/ ou naqueles em que a expressão do antígeno pp65 nos leucócitos é baixa⁴⁵. O PCR pode ser positivo, então, mesmo com antigenemia negativa. A segunda é haver a possibilidade de quantificação da carga viral e seu incremento ao longo do tempo. Por outro lado, valores-alvo são de difícil determinação, pois, para o ensaio, pode ser realizado no sangue total ou no plasma.

Há vários estudos^{30,46-49} que associam a carga viral ao risco de desenvolvimento de doença pelo CMV. Emery et al. demonstraram que a carga viral inicial se correlaciona ao pico de carga viral e ao desenvolvimento de doença pelo CMV⁴⁶. A taxa de aumento da carga viral também parece ser um fator preditivo para o desenvolvimento de doença pelo CMV. Há estudos que avaliam os dois métodos de detecção acima⁵⁰. Comparando antigenemia para

CMV a PCR para CMV no sangue total ou no plasma, foi observado que, em termos gerais, a sensibilidade do PCR no plasma é menor do que nos leucócitos, mas semelhante à da antigenemia. O plasma é importante quando se necessita realizar esse exame em pacientes com leucopenia (antes da recuperação medular). O PCR também é superior à antigenemia no líquido e em biópsias de tecidos³⁰.

Outro estudo comparou a amplificação por PCR de diferentes regiões genômicas com antigenemia e PCR *nested*⁶¹, mostrando que a escolha do alvo molecular é importante em razão da possibilidade de se avaliar a expressão de genes específicos para a reativação viral.

Estudos demonstraram que pacientes que converteram a antigenemia para negativa e persistiram com PCR para DNA do CMV positivo após tratamento não evoluíram para doença pelo CMV, demonstrando que a antigenemia seria mais eficaz para monitorar os resultados do tratamento. Nos pacientes que progrediram para doença pelo CMV apesar do tratamento preemptivo, tanto a antigenemia quanto o PCR para o CMV persistiram positivos, mostrando que o PCR não seria superior à antigenemia para prever doença pelo CMV^{52,53}. O valor preditivo da antigenemia para gastroenterite por CMV é baixo⁵⁴⁻⁵⁷.

5.1.1.4. Medicamentos mais utilizados para o tratamento da infecção pelo citomegalovírus

A infecção pelo CMV vem associada com grande morbidez e mortalidade em pacientes submetidos a TCTH. Há três drogas aprovadas pelo Food and Drug Administration (FDA) para o tratamento do CMV: o ganciclovir, o foscavir e o cidofovir⁵⁸. Há estudos que reportam uma necessidade de um segundo curso de tratamento em 43% dos pacientes que fizeram uso de foscavir, comparado a 28% quando o ganciclovir foi usado como tratamento inicial⁵⁹.

- **Ganciclovir:** é um análogo do nucleosídeo guanina e inibe a replicação viral por inibição seletiva da síntese do DNA do vírus pela forma trifosforilada da droga. Os DNA polimerases das células do hospedeiro são consideravelmente menos sensíveis do que a polimerase viral em relação aos efeitos do ganciclovir trifosfato⁶⁰. A atividade antiviral do ganciclovir depende da biotransformação da droga a um derivado fosforilado que ocorre seletivamente nas células infectadas pelo CMV. Ele codifica uma quinase viral que

fosforila o ganciclovir para a forma monofosfato. Subsequentemente, quinases celulares convertem o monofosfato para a forma ativa de trifosfato⁶¹. Acredita-se que a atividade antiviral do ganciclovir trifosfato ocorra pela inibição da síntese do DNA por duas vias⁶²: inibição competitiva do DNA polimerase viral e incorporação do ganciclovir trifosfato ao DNA viral, resultando na terminação do filamento de DNA viral. A resistência ao ganciclovir é reportada como em torno de 62%; IC 95% = 57% a 66%, e pode surgir por mutações nos genes UL97 ou UL54⁶³. As mutações na região UL54 podem conferir resistência cruzada ao foscavir⁶⁴. Pacientes tratados com ganciclovir por curtos períodos de tempo (de 14 a 21 dias) têm menor risco de desenvolvimento de resistência ao ganciclovir do que pacientes tratados por períodos mais longos⁶³. A toxicidade ao ganciclovir é descrita com neutropenia, reportada em de 30% a 60% dos pacientes, com duração mediana de 12 dias (variando de 4 a 20 dias)^{65,66}. Pacientes em uso de ganciclovir que evoluíram com neutropenia tiveram maior risco de infecção bacteriana. Outros efeitos colaterais reportados são no nível de SNC, como cefaleia, sonolência, delírio; além de alterações da função hepática, febre e *rash*⁶⁷, inibição da espermatogênese e azoospermia⁶⁸. A eficácia do ganciclovir contra o CMV é de 91,5%; IC 95% = 89% a 94%⁶³.

- **Foscavir:** é um fosfonato que não requer metabolização para sua atividade de inibição da DNA polimerase. É importante no tratamento preemptivo do CMV em pacientes que desenvolvem resistência ou toxicidade ao ganciclovir. Os resultados na substituição do ganciclovir por foscavir em tratamento preemptivo para o CMV são semelhantes⁶⁹. Contudo, não é a primeira escolha pelo seu potencial nefrotóxico. É diretamente tóxico às células tubulares renais. Outras toxicidades reportadas são a hipocalcemia e a hipofosfatemia⁷⁰. Está indicado em casos de resistência ao ganciclovir por não requerer fosforilação intracelular para atividade antiviral; mutações em UL97 não conferem resistência⁷¹⁻⁷³.
- **Cidofovir:** é um nucleotídeo monofosfato análogo à deoxicidina (dCTP). Após a fosforilação celular, inibe competitivamente a incorporação de dCTP pelo DNA viral via DNA polimerase. A incorporação da droga impede a síntese da cadeia de DNA. A resistência ocorre via mutações no DNA polimerase viral⁷¹. A toxicidade principal é a disfunção renal. Pode também haver neutropenia⁷⁴. Menos frequentemente há relatos de náuseas, vômitos, trombocitopenia, tonteados e síncope²⁸. É considerado um agente de segunda linha no tratamento da infecção pelo CMV.
- **Maribavir:** estudos mostram de 15% a 19% de antigenemia positiva com profilaxia com maribavir quando comparado a placebo (39%), sem relatos de doenças pelo CMV no grupo do maribavir⁷⁵. Inibe a replicação viral por interferir na síntese do DNA⁷⁶ e a proteína

quinase viral UL97, inibindo, assim, o encapsulamento viral e a saída das partículas virais do núcleo de células infectadas. É eficaz *in vitro* contra algumas cepas de CMV resistentes ao antiviral DHPG, cujo princípio ativo é o ganciclovir. Apresenta boa biodisponibilidade por via oral. Pode ser particularmente útil em receptores de TCTH por não causar mielossupressão. Tem como efeitos colaterais distúrbios do paladar, náuseas e vômitos.

- **Valganciclovir:** é rapidamente convertido a ganciclovir no organismo, apresentando biodisponibilidade superior ao ganciclovir. Inibe a síntese do DNA via inibição competitiva da incorporação de trifosfato deoxiguanosina ao DNA polimerase. Estudos reportam 46,5% de eficácia e 35% de resistência⁶³. Os resultados são promissores, mas são ainda necessários mais estudos para revelar a eficácia dessa medicação no contexto do TCTH⁷⁷.

5.1.1.5. Abordagem terapêutica da infecção pelo citomegalovírus

Em pacientes de alto risco, como os submetidos a TCTH, nos quais a doença pelo CMV é de difícil tratamento, com altas taxas de mortalidade, há duas estratégias básicas no manejo da infecção pelo CMV: a profilaxia e o tratamento preemptivo, ambas com o intuito de evitar a evolução para a doença pelo CMV.

A profilaxia seria a prevenção da infecção primária ou recorrente⁷⁸. A administração do antiviral é iniciada no momento da recuperação medular. As doses supressoras da profilaxia geralmente são menores do que as instituídas no tratamento de indução por infecção ativa. A profilaxia com ganciclovir tem sido testada em vários estudos randomizados, todos demonstrando uma diminuição do risco de infecção e doença pelo CMV quando comparado ao placebo, mas sem aumento da sobrevida^{36,79-81}.

Há relatos de neutropenia com o ganciclovir em de 30% a 60% dos pacientes submetidos a TCTH⁶⁵. A neutropenia ocorre em 30% dos tratados com ganciclovir, contra 0% dos não tratados, com uma mediana de duração de 12 dias (variando de 4 a 20 dias)⁶⁶. Esses pacientes que apresentaram neutropenia associada ao ganciclovir tiveram maior risco de infecção bacteriana e fúngica. Há relato de retardo na reconstituição imunológica com células T CMV-específicas, aumentando o risco de doença tardia pelo CMV⁴⁰. Além disso, um grande número de pacientes sem risco importante para a doença (60% a 65%) receberão essa medicação potencialmente mielotóxica desnecessariamente.

O tratamento preemptivo seria a prevenção do desenvolvimento da doença pelo CMV, uma vez detectada sua infecção⁷⁸. O antiviral é iniciado em um paciente assintomático, de alto risco, baseado em um teste diagnóstico positivo, indicando infecção primária ou reativação do CMV. Esse tratamento baseia-se na detecção precoce da infecção. Os dois métodos mais utilizados são a antigenemia e o PCR para o DNA do CMV. A recomendação do Centers for Disease Control (CDC)⁸² baseia-se no início do tratamento com uma antigenemia positiva ou dois PCR positivos consecutivos. Com métodos de detecção mais apurados, como o RT-PCR, alguns estudos sugerem níveis de carga viral para o início do tratamento preemptivo^{47,48}. O uso de antigenemia para proteína pp65 e/ ou PCR para detecção do DNA do CMV como preditor de tratamento preemptivo levou a uma diminuição da taxa de doença pelo CMV em receptores de TCTH alogênico⁵³.

Com o advento da profilaxia, a doença tardia pelo CMV surgiu como uma complicação importante em receptores de transplante. A supressão completa do vírus com o uso de agente antiviral potente a longo prazo pode dificultar o *priming* da resposta do hospedeiro, o que explica a alta taxa de doença tardia pelo CMV. Por outro lado, o tratamento preemptivo permite diminuir o grau de replicação viral, facilitando a reconstituição imunológica específica para o CMV e sendo eficaz na redução do risco de doença tardia por esse vírus⁸³. Tanto a duração longa da exposição às drogas da profilaxia, como a exposição intermitente a essas drogas no tratamento preemptivo criariam condições para a seleção de vírus resistentes⁷⁴.

Boeckh et al.³⁶ randomizaram 226 pacientes para a profilaxia com ganciclovir até o centésimo dia após o transplante ou para o tratamento preemptivo baseado em antigenemia positiva (≥ 3 células em dois exames) e/ ou viremia, sem manutenção; houve maior incidência de infecções fúngicas precoces no grupo profilático. Com tratamento preemptivo, houve 30% de segunda reativação e 13% de terceira reativação.

O tratamento preemptivo recomendado pelo CDC baseia-se em uma antigenemia positiva ou dois PCR consecutivos positivos. A droga recomendada é o ganciclovir por via intravenosa, por 14 dias, com uma manutenção até o centésimo dia após o transplante ou, no mínimo, por três semanas.

Alguns estudos reportam resultados com cursos mais curtos, de duas a três semanas, baseados em um PCR negativo ao final do tratamento; entretanto, há relatos de uma segunda reativação em 30% dos casos^{36,84,85}.

Atualmente não há um consenso quanto à realização ou não da manutenção com ganciclovir após um tratamento inicial da infecção pelo CMV no período pós-TCTH alogênico aparentado. Não há na literatura, até o momento, um estudo randomizado comparando os benefícios de uma manutenção com o ganciclovir *versus* sua toxicidade.

Referências

1. BLUME KG, FORMAN SJ, APPELBAUM FR, editors. Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation, 3rd edition. Massachusetts: Blackwell Publishing Ltd; 2004.
2. BRYDER D, ROSSI DJ, WEISSMAN IL. Hematopoietic stem cells: the paradigmatic tissue-specific stem cell. *Am J Pathol* 2006 Nov;169(5):1899.
3. GREER JP, FOESTER J, LUKENS JN et al., editors. Wintrobe's Clinical Hematology, 11th edition. New York: Lippincott-Wiliams e Wilkins; 2004.
4. SENCER SF, HAAKE RJ, WEISDORF DJ. Hemorrhagic cystitis after bone marrow transplantation. Risk factors and complications. *Transplantation* 1993;56(4):875-9.
5. MCDONALD GB, HINDS MS, FISHER LD et al. Veno-occlusive disease of the liver and multiorgan failure after bone marrow transplantation: a cohort study of 355 patients. *Ann Intern Med* 1993 ;118(4):255-67.
6. CARRERAS E, BERTZ H, ARCESE W et al. Incidence and outcome of hepatic veno-occlusive disease after blood or marrow transplantation: a prospective cohort study of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *European Group for Blood and Marrow Transplantation Chronic Leukemia Working Party. Blood* 1998 ;92(10):3599-604.
7. CARRERAS E. Veno-occlusive disease of the liver after hemopoietic cell transplantation. *Eur J Haematol* 2000 ;64(5):281-91.
8. HO VT, LINDEN E, REVTA C, RICHARDSON PG. Hepatic veno-occlusive disease after hematopoietic stem cell transplantation: review and update on the use of defibrotide. *Semin Thromb Hemost* 2007; 33(4):373-88.

9. NÜRNBERGER W, WILLERS R, BURDACH S, GÖBEL U. Risk factors for capillary leakage syndrome after bone marrow transplantation. *Ann Hematol* 1997; 74(5):221-4.
10. MAIOLINO A, BIASOLI I, LIMA J, PORTUGAL AC, PULCHERI W, NUCCI M. Engraftment syndrome following autologous hematopoietic stem cell transplantation: definition of diagnostic criteria. *Bone Marrow Transplant* 2003 ;31(5):393-7.
11. FUKUDA T, HACKMAN RC, GUTHRIE KA et al. Risks and outcomes of idiopathic pneumonia syndrome after nonmyeloablative and conventional conditioning regimens for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2003; 102(8):2777-85.
12. REDDY P, FERRARA JL. Immunobiology of acute graft-versus-host disease. *Blood Rev* 2003 ;17(4):187-94.
13. TSE WT, PENDLETON JD, BEYER WM, EGALKA MC, GUINAN EC. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation. *Transplantation* 2003;75(3):389-97.
14. OCHS L, SHU XO, MILLER J et al. Late infections after allogeneic bone marrow transplantation: comparison of incidence in related and unrelated donor transplant recipients. *Blood* 1995;86(10):3979-86.
15. MALTEZOU HC, KAFETZIS DA, ABISAID D et al. Viral infections in children undergoing hematopoietic stem cell transplant. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19(4):307-12.
16. PASS RF. Cytomegalovirus. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B et al, editors. *Fields Virology*, 4th edition. New York: Lippincott-Williams e Wilkins; 2001. p. 2675-706.
17. VAN DER BIJ W, SCHIRM J, TORENSMA R, VAN SON WJ, TEGZESS AM, THE TH. Comparison between viremia and antigenemia for detection of cytomegalovirus in blood. *J Clin Microbiol* 1988;26(12):2531-5.
18. DEMARCHI JM, BLANKENSHIP ML, BROWN GD, KAPLAN AS. Size and complexity of human cytomegalovirus DNA. *Virology* 1978;89(2):643-6.

19. YANADA M, YAMAMOTO K, EMI N et al. Cytomegalovirus antigenemia and outcome of patients treated with pre-emptive ganciclovir: retrospective analysis of 241 consecutive patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2003 Oct;32(8):801-7.
20. ADLER SP, Intrauterine infections. In: H.B. Jenson and R.S. Baltimore, editors. *Pediatric Infectious Diseases: Principles and Practice*. Philadelphia: WB Saunders; 2002.
21. NICHOLS WG, COREY L, GOOLEY T, DAVIS C, BOECKH M. High risk of death due to bacterial and fungal infection among cytomegalovirus (CMV)-seronegative recipients of stem cell transplants from seropositive donors: evidence for indirect effects of primary CMV infection. *J Infect Dis* 2002;185(3):273-82.
22. SCHMIDT GM, HORAK DA, NILAND JC, DUNCAN SR, FORMAN SJ, ZAIA JA. A randomized, controlled trial of prophylactic ganciclovir for cytomegalovirus pulmonary infection in recipients of allogeneic bone marrow transplants; The City of Hope-Stanford-Syntex CMV Study Group. *N Engl J Med* 1991;324(15):1005-11.
23. SULLIVAN KM, KOPECKY KJ, JOCOM J et al. Immunomodulatory and antimicrobial efficacy of intravenous immunoglobulin in bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 1990;323(11):705-12.
24. DE WITTE T, SCHATTENBERG A, VAN DIJK BA et al. Prevention of primary cytomegalovirus infection after allogeneic bone marrow transplantation by using leukocyte-poor random blood products from cytomegalovirus-unscreened blood-bank donors. *Transplantation* 1990;50(6):964-8.
25. MEYERS JD, REED EC, SHEPP DH et al. Acyclovir for prevention of cytomegalovirus infection and disease after allogeneic marrow transplantation. *N Engl J Med* 1988;318:70-5.
26. DENIER C, BOURHIS JH, LACROIX C et al. Spectrum and prognosis of neurologic complications after hematopoietic transplantation. *Neurology* 2006 ;67(11):1990-7.
27. GOR D, SABIN C, PRENTICE HG et al. Longitudinal fluctuations in cytomegalovirus load in bone marrow transplant patients: relationship between peak virus load, donor/ recipient serostatus, acute GVHD and CMV disease. *Bone Marrow Transplant* 1998;21(6):597-605.

28. LJUNGMAN P, DELILIERS GL, PLATZBECKER U et al. Cidofovir for cytomegalovirus infection and disease in allogeneic stem cell transplant recipients. The Infectious Diseases Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood* 2001 ;97(2):388-92.
29. PIÑANA JL, MARTINO R, BARBA P et al. Cytomegalovirus infection and disease after reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation: single-centre experience. *Bone Marrow Transplant* 2010 ;45(3):534-42.
30. HOWDEN BP, MICHAELIDES A, SPELMAN DW et al. Cytomegalovirus viral load monitoring after allogeneic bone marrow transplantation in patients receiving antiviral prophylaxis. *Bone Marrow Transplant* 2003; 32(8):795-800.
31. CHOU S. Newer methods for diagnosis of cytomegalovirus infection. *Rev Infect Dis* 1990;12 Suppl 7:S727-36.
32. KLEMOLA E, VON ESSEN R, WAGER O, HALTIA K, KOIVUNIEMI A, SALMI I. Cytomegalovirus mononucleosis in previously healthy individuals. Five new cases and follow-up of 13 previously published cases. *Ann Intern Med* 1969 ;71(1):11-9.
33. GANDHI MK, KHANNA R. Human cytomegalovirus: clinical aspects, immune regulation, and emerging treatments. *Lancet Infect Dis* 2004 ;4(12):725-38.
34. HEBART H, LENGGERKE C, LJUNGMAN P et al. Prospective comparison of PCR-based vs late mRNA-based preemptive antiviral therapy for HCMV infection in patients after allo-SCT. *Bone Marrow Transplant* 2010 Jun 28.
35. STINSKI MF. Cytomegalovirus and its replication. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Straus SE, editors. *Fields Virology*. New York: Lippincott-Williams e Wilkins; 1990. p.1959-80.
36. BOECKH M, GOOLEY TA, MYERSON D, CUNNINGHAM T, SCHOCH G, BOWDEN RA. Cytomegalovirus pp65 antigenemia-guided early treatment with ganciclovir versus ganciclovir at engraftment after allogeneic marrow transplantation: a randomized double-blind study. *Blood* 1996;88(10):4063-71.

37. BOECKH M, BOWDEN RA, GOOLEY T, MYERSON D, COREY L. Successful modification of a pp65 antigenemia-based early treatment strategy for prevention of cytomegalovirus disease in allogeneic marrow transplant recipients. *Blood* 1999;93(5):1781-2.
38. BOECKH M, BOWDEN RA, GOODRICH JM, PETTINGER M, MEYERS JD. Cytomegalovirus antigen detection in peripheral blood leukocytes after allogeneic marrow transplantation. *Blood* 1992;80(5):1358-64.
39. NICHOLSON VA, WHIMBEY E, CHAMPLIN R et al. Comparison of cytomegalovirus antigenemia and shell vial culture in allogeneic marrow transplantation recipients receiving ganciclovir prophylaxis. *Bone Marrow Transplant* 1997;19(1):37-41.
40. NICHOLS WG, COREY L, GOOLEY T et al. Rising pp65 antigenemia during preemptive anticytomegalovirus therapy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: risk factors, correlation with DNA load, and outcomes. *Blood* 2001 ;97(4):867-74.
41. CALIENDO AM, YEN-LIEBERMAN B, BAPTISTA J et al. Comparison of molecular tests for detection and quantification of cell-associated cytomegalovirus DNA. *J Clin Microbiol* 2003;41:3509-13.
42. CALIENDO AM, SCHUURMAN R, YEN-LIEBERMAN B et al.; CMV Working Group of the Complications of HIV Disease RAC, AIDS Clinical Trials Group. Comparison of quantitative and qualitative PCR assays for cytomegalovirus DNA in plasma. *J Clin Microbiol* 2001 ; 39:1334-8.
43. NELSON PN, RAWAL BK, BORISKIN YS et al. A polymerase chain reaction to detect a spliced late transcript of human cytomegalovirus in the blood of bone marrow transplant recipients. *J Virol Methods* 1996;56:139-48.
44. WITT DJ, KEMPER M, STEAD A et al. Analytical performance and clinical utility of a nucleic acid sequence-based amplification assay for detection of cytomegalovirus infection. *J. Clin. Microbiol* 2000;38:3994-9.
45. SEROPIAN S, FERGUSON D, SALLOUM E, COOPER D, LANDRY ML. Lack of reactivity to CMV pp65 antigenemia testing in a patient with CMV disease following allogeneic bone marrow transplant. *Bone Marrow Transplant* 1998;22(5):507-9.

46. EMERY VC, SABIN CA, COPE AV, GOR D, HASSAN-WALKER AF, GRIFFITHS PD. Application of viral-load kinetics to identify patients who develop cytomegalovirus disease after transplantation. *Lancet* 2000;355(9220):2032-6.
47. GARRIGUE I, BOUCHER S, COUZI L et al. Whole blood real-time quantitative PCR for cytomegalovirus infection follow-up in transplant recipients. *J Clin Virol* 2006;36(1):72-5.
48. YAGHOBI R, BEHZAD-BEHBAHANI A, SABAHI F et al. Comparative analysis of a double primer PCR assay with plasma, leukocytes and antigenemia for diagnosis of active human cytomegalovirus infection in bone marrow transplant patients. *Bone Marrow Transplant* 2005;35(6):595-9.
49. VERKRUYSE LA, STORCH GA, DEVINE SM, DIPERSIO JF, VIJ R. Once daily ganciclovir as initial pre-emptive therapy delayed until threshold CMV load $>$ or $=$ 10000 copies/ ml: a safe and effective strategy for allogeneic stem cell transplant patients. *Bone Marrow Transplant* 2006;37(1):51-6.
50. BOECKH M, GALLEZ-HAWKINS GM, MYERSON D, ZAIA JA, BOWDEN RA. Plasma polymerase chain reaction for cytomegalovirus DNA after allogeneic marrow transplantation: comparison with polymerase chain reaction using peripheral blood leukocytes, pp65 antigenemia, and viral culture. *Transplantation* 1997;64(1):108-13.
51. IKEVAKI J, OHTSUKA E, SATOU T et al. Real-time PCR assays based on distinct genomic regions for cytomegalovirus reactivation following hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 2005;35(4):403-10.
52. SOLANO C, MUÑOZ I, GUTIÉRREZ A et al. Qualitative plasma PCR assay (AMPLICOR CMV test) versus pp65 antigenemia assay for monitoring cytomegalovirus viremia and guiding preemptive ganciclovir therapy in allogeneic stem cell transplantation. *J Clin Microbiol.* 2001 Nov;39(11):3938-41.
53. TAN BH, CHLEBICKA NL, LOW JG et al. Use of the cytomegalovirus pp65 antigenemia assay for preemptive therapy in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a real-world review. *Transpl Infect Dis* 2008 ;10(5):325-32.

54. MORI T, MORI S, KANDA Y et al. Clinical significance of cytomegalovirus (CMV) antigenemia in the prediction and diagnosis of CMV gastrointestinal disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2004;33(4):431-4.
55. KSOURI H, ELJED H, GRECO A et al. Analysis of cytomegalovirus (CMV) viremia using the pp65 antigenemia assay, the amplicor CMV test, and a semi-quantitative polymerase chain reaction test after allogeneic marrow transplantation. *Transpl Infect Dis* 2007 ;9(1):16-21.
56. LERUEZ-VILLE M, OUACHÉE M, DELARUE R et al. Monitoring cytomegalovirus infection in adult and pediatric bone marrow transplant recipients by a real-time PCR assay performed with blood plasma. *J Clin Microbiol* 2003 ;41(5):2040-6.
57. CORTEZ KJ, FISCHER SH, FAHLE GA et al. Clinical trial of quantitative real-time polymerase chain reaction for detection of cytomegalovirus in peripheral blood of allogeneic hematopoietic stem-cell transplant recipients. *J Infect Dis* 2003 ;188(7):967-72.
58. BIRON KK. Antiviral drugs for cytomegalovirus diseases. *Antiviral Res* 2006;71(2-3):154-63.
59. RUSSER P, EINSELE H, LEE J et al.; Infectious Diseases Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Randomized multicenter trial of foscarnet versus ganciclovir for preemptive therapy of cytomegalovirus infection after allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2002 ;99(4):1159-64.
60. MAR EC, CHIOU JF, CHENG YC, HUANG ES. Inhibition of cellular DNA polymerase alpha and human cytomegalovirus-induced DNA polymerase by the triphosphates of 9-(2-hydroxyethoxymethyl) guanine and 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanine. *J Virol* 1985;53(3):776-80.
61. BOEHME RE. Phosphorylation of the antiviral precursor 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl) guanine monophosphate by guanylate kinase isozymes. *J Biol Chem* 1984;259(20):12346-9.
62. FREITAS VR, SMEE DF, CHERNOW M, BOEHME R, MATTHEWS TR. Activity of 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanine compared with that of acyclovir against human, monkey, and rodent cytomegaloviruses. *Antimicrob Agents Chemother* 1985;28(2):240-5.

63. EMERY VC, GRIFFITHS PD. Prediction of cytomegalovirus load and resistance patterns after antiviral chemotherapy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000 ;97(14):8039-44.
64. GILBERT C, BOIVIN G. Human cytomegalovirus resistance to antiviral drugs. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49(3):873-83.
65. GOODRICH JM, MORI M, GLEAVES CA et al. Early treatment with ganciclovir to prevent cytomegalovirus disease after allogeneic bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 1991;325(23):1601-7.
66. SALZBERGER B, BOWDEN RA, HACKMAN RC, DAVIS C, BOECKH M. Neutropenia in allogeneic marrow transplant recipients receiving ganciclovir for prevention of cytomegalovirus disease: risk factors and outcome. *Blood* 1997;90(6):2502-8.
67. MARKHAM A, FAULDS D. Ganciclovir. An update of its therapeutic use in cytomegalovirus infection. *Drugs* 1994 Sep;48(3):455-84.
68. CRUMPACKER CS. Ganciclovir. *N Engl J Med* 1996;335(10):721-9.
69. IPPOLITI C, MORGAN A, WARKENTIN D et al. Foscarnet for prevention of cytomegalovirus infection in allogeneic marrow transplant recipients unable to receive ganciclovir. *Bone Marrow Transplant* 1997;20(6):491-5.
70. REUSSER P, GAMBERTOGLIO JG, LILLEBY K, MEYERS JD. Phase I-II trial of foscarnet for prevention of cytomegalovirus infection in autologous and allogeneic marrow transplant recipients. *J Infect Dis* 1992;166(3):473-9.
71. WEINBERG A, JABS DA, CHOU S et al.; Cytomegalovirus Retinitis and Viral Resistance Study Group; Adult AIDS Clinical Trials Group Cytomegalovirus Laboratories. Mutations conferring foscarnet resistance in a cohort of patients with acquired immunodeficiency syndrome and cytomegalovirus retinitis. *J Infect Dis* 2003 Mar; 187(5):777-84.
72. CHOU S, MAROUSEK G, GUENTZEL S et al. Evolution of mutations conferring multidrug resistance during prophylaxis and therapy for cytomegalovirus disease. *J Infect Dis* 1997 ;176(3):786-9.

73. WAGSTAFF AJ, BRYSON HM. FOSCARNET. A reappraisal of its antiviral activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use in immunocompromised patients with viral infections. *Drugs* 1994; 48(2):199-226.
74. ASTRA ARCUS. Foscarnet international prescribing information. March 1993.
75. WINSTON DJ, YOUNG JA, PULLARKAT V et al. Maribavir prophylaxis for prevention of cytomegalovirus infection in allogeneic stem cell transplant recipients: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging study. *Blood* 2008 ;111(11):5403-10.
76. BIRON KK, HARVEY RJ, CHAMBERLAIN SC et al. Potent and selective inhibition of human cytomegalovirus replication by 1263W94, a benzimidazole L-riboside with a unique mode of action. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46(8):2365-72.
77. EINSELE H, REUSSER P, BORNHÄUSER M et al. Oral valganciclovir leads to higher exposure to ganciclovir than intravenous ganciclovir in patients following allogeneic stem cell transplantation. *Blood* 2006; 107(7):3002-8.
78. Ljungman P. CMV infections after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2008 ;42 Suppl 1:S70-S72.
79. WINSTON DJ, YEAGER AM, CHANDRASEKAR PH et al.; Valacyclovir Cytomegalovirus Study Group. Randomized comparison of oral valacyclovir and intravenous ganciclovir for prevention of cytomegalovirus disease after allogeneic bone marrow transplantation. *Clin Infect Dis*. 2003 Mar 15;36(6):749-58.
80. WINSTON DJ, HO WG, BARTONI K et al. Ganciclovir prophylaxis of cytomegalovirus infection and disease in allogeneic bone marrow transplant recipients. Results of a placebo-controlled, double-blind trial. *Ann Intern Med*. 1993 Feb 1;118(3):179-84.
81. GRIFFITHS P, WHITLEY R, SNYDMAN DR, SINGH N, BOECKH M. Contemporary management of cytomegalovirus infections in transplant recipients: guidelines from an IHMF workshop, 2007. *Herpes*. 2008;15:4-12.

82. Centers for Disease Control and Prevention; Infectious Diseases Society of America; American Society of Blood and Marrow Transplantation. Guidelines for preventing opportunistic infections among hematopoietic stem cell transplant recipients. *Biol Blood Marrow Transplant* 2000;6(6a):659-713; 715; 717-27; quiz 729-33.

83. SINGH N. Antiviral drugs for cytomegalovirus in transplant recipients: advantages of preemptive therapy. *Rev Med Virol* 2006;16(5):281-7.

84. EINSELE H, EHNINGER G, HEBART H et al. Polymerase chain reaction monitoring reduces the incidence of cytomegalovirus disease and the duration and side effects of antiviral therapy after bone marrow transplantation. *Blood* 1995;86(7):2815-20.

85. BOECKH M, NICHOLS WG, PAPANICOLAOU G, RUBIN R, WINGARD JR, ZAIA J. Cytomegalovirus in hematopoietic stem cell transplant recipients: Current status, known challenges, and future strategies. *Biol Blood Marrow Transplant* 2003;9(9):543-58.

CAPÍTULO 6

A síndrome metabólica no pós-transplante de células-tronco hematopoéticas

O agrupamento de fatores de risco cardiovascular, como hipertensão, intolerância à glicose, dislipidemia e/ ou obesidade, que era conhecido, no passado, como síndrome X, tem sido, nos últimos dez anos, denominado de síndrome metabólica (SM). Seus componentes exatos e critérios diagnósticos ainda são motivos de debate. As definições de SM mais utilizadas em estudos clínicos foram elaboradas pelo National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III (NCEP-ATPIII) de 2001, revisadas em 2005, e pela OMS, concluída em 1999¹. O diagnóstico de SM nas mulheres é feito, conforme a proposta do NCEP-ATPIII revisada, pela associação de quaisquer três ou mais dos seguintes critérios: obesidade central (circunferência abdominal > 88 cm), intolerância à glicose (glicemia jejum \geq 100mg/dl), hipertensão arterial (pressão sistólica \geq 130 mmHg e diastólica \geq 85 mmHg), hipertriglicéridemia (triglicérides \geq 150 mg/dl) e colesterol-lipoproteína de alta densidade (HDL) baixo (< 50 mg/dl). A OMS exige a resistência insulínica como condição obrigatória para o diagnóstico da síndrome, o que torna esse sistema menos aplicável na prática clínica².

A síndrome em questão é a doença metabólica mais comum no contexto atual em não transplantados. Seus portadores apresentam de três a cinco vezes mais chances de desenvolver diabetes tipo 2, tendo, em relação a essa, risco menor, porém significativo, de doença cardiovascular (DCV)³. A prevalência da síndrome parece aumentar com a menopausa, condição que ocorre de forma frequente e precoce após o transplante de células precursoras hematopoéticas (TCPH)⁴.

O TCPH é o tratamento de escolha para várias doenças hematológicas, oncológicas e do sistema imune. Os avanços técnicos no procedimento e as melhorias no tratamento de suporte em pacientes transplantados têm aumentado a utilização dessa terapia e o tempo de sobrevida após o transplante. Assim, recentemente, têm sido enfatizadas questões sobre a qualidade de vida e os efeitos tardios provocados pelo transplante nesses pacientes⁵.

Existem evidências de que sobreviventes de câncer de longo prazo, transplantados quando crianças ou adolescentes, têm risco de desenvolvimento prematuro de distúrbios

relacionados ao metabolismo da glicose, de dislipidemia e de hipertensão arterial⁶⁻⁸. Entretanto, ainda pouco se sabe sobre a prevalência dessas alterações em adultos transplantados. Achados diferentes e estudos com casuísticas limitadas dificultam as conclusões sobre os verdadeiros fatores indutores de SM e resistência insulínica nessa população já exposta a outras condições mórbidas inerentes ao transplante^{9,10}.

A prevalência dessas alterações metabólicas em transplantados parece aumentar proporcionalmente ao tempo pós-transplante, independentemente da idade. Dessa forma, jovens submetidos ao procedimento durante a infância podem estar sujeitos a doenças cardiovasculares precoces⁸. O desconhecimento dos grupos de risco para SM e resistência insulínica torna-se um obstáculo ao estabelecimento de medidas profiláticas e terapêuticas que possam reduzir a mortalidade ligada à SM^{9,11}.

No Brasil, como em vários países, a SM é um problema de saúde pública, uma vez que suas consequências, as DCV, são responsáveis por cerca de 30% dos óbitos no país¹². Assim sendo, são primordiais e urgentes estudos que identifiquem grupos mais suscetíveis ao desenvolvimento das manifestações da síndrome, o que possibilitará uma distribuição de recursos para prevenção e tratamento, de acordo com os riscos de cada subgrupo, da maneira mais adequada possível à nossa realidade. Os fatos expostos e a escassez de informações sobre prevalência e fatores associados à SM em mulheres submetidas ao TCPH motivaram a realização deste estudo.

6.1. Noções básicas sobre o transplante de células precursoras hematopoéticas

O TCPH pode ser utilizado para corrigir defeitos congênitos ou adquiridos na produção de células do sangue e/ ou na função imune, como também para restaurar a hematopoese após altas doses de quimio e/ ou radioterapia para tratamento de neoplasias, e, mais recentemente, como imunoterapia anticâncer¹³.

O TCPH pode ser classificado de acordo com o tipo de doador, a fonte de células hematopoéticas e o regime preparatório (condicionamento). Quanto ao doador, o TCPH pode ser: autólogo (próprio paciente), singênico (gêmeo idêntico) e alogênico (aparentado ou não aparentado). A fonte de células hematopoéticas originalmente utilizada foi a medula óssea

coletada por aspiração das cristas ilíacas, que se mantém como opção preferencial nos transplantes alogênicos. Na década de 1990, as células progenitoras do sangue periférico mobilizadas com G-CSF, coletadas por leucaférese, criopreservadas e infundidas após a quimioterapia em altas doses tornaram-se o padrão técnico vigente em transplantes autólogos¹⁴.

O HLA, cuja tipagem determina a histocompatibilidade, exerce um papel crítico no TCPH alogênico. Como apenas 25% dos pacientes têm doador aparentado HLA compatível e o tempo para a detecção de doador não aparentado compatível em bancos de medula óssea pode superar as necessidades do receptor, o SCUP tem sido utilizado no TCPH como fonte de células de rápida disponibilidade e bons resultados¹⁵.

Quanto ao regime de condicionamento, conforme o tipo e a dose de quimio e/ ou radioterapia utilizados, o transplante pode ser: mieloablativo, de intensidade reduzida e não mieloablativo. Os dois primeiros consistem no uso de agentes alquilantes associados ou não à ICT com o objetivo de reduzir totalmente ou em grande parte a carga tumoral respectivamente. No TCPH alogênico, também fazem parte do condicionamento os imunossupressores, no intuito de permitir a pega completa das células do doador (quimerismo total) e prevenir a DECH. Já o não mieloablativo utiliza dose baixa de alquilantes ou de ICT associada a um análogo de purina, como a fludarabina. Esse regime não elimina completamente a hematopoese nem o clone maligno do paciente, entretanto, por ser mais imunossupressor, permite a pega e a "convivência" das células do doador e do receptor (quimerismo misto) até que ocorra o efeito enxerto-contratumor, que pode levar à resposta esperada, que é a remissão. É indicado principalmente como tratamento de resgate em doenças indolentes, com crescimento tumoral lento, como linfomas não Hodgkin, leucemia linfóide crônica e mieloma múltiplo¹⁴.

As principais complicações precoces do procedimento são: DECHa; rejeição; infecções bacterianas, fúngicas e virais; mucosite; pneumonite intersticial; doença veno-oclusiva hepática e cistite hemorrágica. A DECHa é uma resposta imune exacerbada, desencadeada por citocinas inflamatórias, secretadas por células do receptor após a injúria causada pelo condicionamento. Essas citocinas ativam células T do enxerto que, por sua vez, reagem contra antígenos estranhos do hospedeiro, comprometendo principalmente a pele, o fígado e/ ou o intestino do paciente. A severidade da DECHa (graus I até IV) correlaciona-se inversamente com a sobrevida e com o surgimento de complicações secundárias ao uso de

corticosteroides, CSP e outros imunossupressores, apresentando o grau IV quase 100% de mortalidade. A rejeição ocorre quando células T remanescentes do receptor reconhecem os antígenos como não próprios e reagem contra antígenos do enxerto. Recidiva da doença de base pode ocorrer de forma precoce ou tardia pós-TCPH e, assim como a DECH, é causa comum de morbimortalidade no contexto do transplante¹⁴.

Os avanços na tipagem HLA, nos regimes preparatórios, no tratamento de suporte e no controle das complicações precoces têm permitido que um número crescente de pacientes seja beneficiado com o TCPH, o que vem despertando a atenção dos pesquisadores para o estudo da qualidade de vida dos sobreviventes e das complicações tardias relacionadas ao procedimento¹⁶. Entre os efeitos tardios, o principal é a DECHc, com severidade variável, podendo levar a fasciite, bronquiolite, ceratoconjuntivite, estreitamento esofágico, mal absorção, colestase, hematocitopenias, imunossupressão e efeitos adversos do uso prolongado de corticosteroides, tais como: infecções, catarata, osteoporose, necrose asséptica óssea, miopatia e diabetes, entre outros¹⁴.

As drogas citotóxicas e a ICT podem causar neoplasias secundárias e disfunções endócrinas, algumas já amplamente abordadas na literatura como o distúrbio de crescimento, o hipotireoidismo e a falência gonadal^{17,18}. Além disso, a doença de base, o condicionamento, a reconstituição imune e as complicações infecciosas induzem à liberação alterada de citocinas, a um conseqüente estado crônico de inflamação e à fibrinólise prejudicada, o que leva ao desenvolvimento de alterações metabólicas¹⁰.

6.2. Aspectos históricos e conceito da síndrome metabólica

O primeiro relato de associação de hipertensão, hiperglicemia e hiperuricemia foi feito por Kylin em 1923. Entretanto, os estudos dos aspectos metabólicos da obesidade e da resistência à insulina só foram iniciados nas décadas de 1960 e 1970 por Avogaro e De Fronzo, respectivamente¹⁹. O conceito da SM foi introduzido por Reaven em 1988, que designou de "síndrome X" a associação de intolerância à glicose, hipertensão arterial, dislipidemia e, como fator indispensável, a resistência insulínica, caracterizada pela baixa atividade insulínica no metabolismo da glicose com aumento compensatório dos níveis séricos de insulina. Reaven não incluiu obesidade na descrição da síndrome, alegando que indivíduos não obesos podem

apresentar todos os componentes por ele relacionados, e reconheceu os parâmetros metabólicos acima citados como um conjunto de fatores de risco para DCV²⁰. A síndrome recebeu várias outras denominações, incluindo SM²¹, quarteto mortal²², síndrome plurimetabólica²³, síndrome de resistência insulínica²⁴, e síndrome dismetabólica²⁵. Atualmente o termo SM é o mais amplamente aceito.

A partir de 1988, o espectro de anormalidades associadas aos elementos centrais da síndrome aumentou progressivamente, com a inclusão, por vários autores, de distúrbios como: microalbuminúria; hiperuricemia; alterações da fibrinólise e coagulação, traduzidas por níveis aumentados de fibrinogênio, PAI-1 e FvW; elevação da proteína C-reativa (PCRt); redução da vasodilatação endotélio-dependente; esteatose hepática; síndrome do ovário policístico; hiperatividade simpática; entre outros. Foram descritos os principais fatores etiológicos da SM, que são: os genéticos; o baixo condicionamento cardiorespiratório, secundário ao sedentarismo; o retardo de crescimento intrauterino e o baixo peso ao nascer; e o estresse, que ativa o sistema simpático e o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), resultando em aumento da secreção de cortisol e hipertensão².

6.3. Fisiopatologia da síndrome metabólica

Nos últimos anos, o entendimento sobre as interações entre os mecanismos fisiopatológicos de cada componente da síndrome permitiu o desenvolvimento de medidas terapêuticas. A resistência insulínica é resultado de falha em qualquer etapa do mecanismo de transporte da glicose, desde a secreção da insulina pelas células beta do pâncreas, que é regulada pela concentração de glicose no sangue, passando pela ligação da glicose a receptores específicos, o que aumenta a permeabilidade celular à glicose no fígado, no músculo e na gordura, até a entrada, a fosforilação e a utilização da glicose na célula. O receptor de insulina, presente na membrana plasmática da célula-alvo, é uma glicoproteína com subunidades alfa, na porção extracelular, ligada à insulina, e beta, que faz a transdução de sinal. Foram identificados múltiplos locais de defeito na ação da insulina e todos resultam em hiperglicemia e subsequente hiperinsulinemia compensatória, que, por sua vez, por um processo de regulação, leva a uma diminuição do número de receptores específicos²⁶.

A obesidade central, caracterizada por elevado acúmulo de tecido adiposo na região visceral, é inversamente proporcional ao desempenho da insulina e o determinante principal

da resistência insulínica. A gordura abdominal visceral é muito sensível à ação lipolítica das catecolaminas, o que leva à liberação aumentada de ácidos graxos livres (AGL) no sistema porta. O aumento de AGL no fígado reduz a captação e a degradação de insulina, aumenta a neoglicogênese e a concentração de glicose no sangue, com consequente hiperinsulinemia. Esse mecanismo também gera retenção de sódio pelas células, com ativação do sistema simpático, resultando no aumento da pressão arterial²⁷. Outros componentes da gordura visceral, os ácidos graxos não esterificados (Agnes), aumentam no plasma em condições como tabagismo, etilismo, estresse e dieta hipercalórica, e atuam no fígado, reduzindo a captação hepática de insulina e aumentando a síntese de lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), ricas em triglicérides, e de apolipoproteína B (apoB). O aumento de VLDL e apoB no plasma leva à hipertrigliceridemia e à atividade aumentada de lipase hepática, o que, por sua vez, resulta no acúmulo de partículas pequenas e densas de lipoproteína de baixa densidade (SdLDL) e na redução de partículas grandes, antiaterogênicas, de HDL. Esse conjunto de alterações configura a dislipidemia aterogênica⁴.

O conhecimento dos mecanismos pelos quais a SM pode levar ao dano endotelial tem-se aprofundado nos últimos anos. O tecido adiposo secreta adipocinas, substâncias que podem promover ou prevenir a disfunção endotelial. A leptina, peptídeo que regula a saciedade em nível hipotalâmico, foi uma das primeiras adipocinas identificadas. Embora a deficiência de leptina seja uma causa rara de obesidade, a maioria dos obesos tem nível elevado de leptina. Existe uma correlação inversa entre leptina e sensibilidade insulínica, e propõe-se que a hiperleptinemia seja um dos fatores patogênicos na SM. Seus efeitos no endotélio incluem ativação do sistema simpático, estimulação da angiogênese, aumento da agregação plaquetária e produção de superóxido. Em pacientes com doença coronariana estabelecida, os níveis de leptina foram preditores de eventos isquêmicos futuros.

A resistina é produzida pelas células adiposas e por vários outros tecidos. Os monócitos expressam seu gene em grande quantidade, e foi demonstrado que os níveis de resistina, por sua correlação com os marcadores inflamatórios de fase aguda, foram preditores de eventos cardiovasculares em diabéticos e não diabéticos²⁸.

A adiponectina é uma proteína produzida pelo tecido adiposo que possui efeitos anti-inflamatórios, antiaterogênicos e sensibilizadores de insulina. A presença de seus receptores nas células endoteliais sugere um efeito direto da adiponectina no endotélio

vascular, através do aumento na produção de NO (fator de relaxamento vascular) e da inibição de uma citocina pró-inflamatória, o TNF- α . Em nível vascular, o TNF- α causa apoptose da célula endotelial e reduz a biodisponibilidade do NO, prejudicando a vasodilatação endotélio-dependente. A hipoadiponectinemia primária é geneticamente determinada e contribui para a etiologia da obesidade e da resistência insulínica. Entretanto, a redução dos níveis dessa proteína pode ser secundária à obesidade central, estando diminuída em indivíduos com SM, diabetes e doença coronariana²⁸.

O estado de inflamação crônica relacionado à SM é caracterizado pelo aumento do nível de PCRt de alta sensibilidade. Esse marcador inflamatório é produzido pelo fígado após estímulo de citocinas como IL-6 e TNF- α , secretadas pelo tecido adiposo e pelos leucócitos. A agressão do endotélio vascular pelos fatores já descritos leva a um aumento da permeabilidade da camada íntima às lipoproteínas, as quais ficam retidas no espaço subendotelial e sofrem oxidação, o que, na presença de citocinas inflamatórias, estimula o surgimento de moléculas de adesão leucocitárias na superfície do endotélio. Assim, monócitos e linfócitos são aderidos e transmigram para a camada íntima arterial, perpetuando a resposta inflamatória. Esses monócitos se diferenciam em macrófagos e captam as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) oxidadas, passando a ser chamados células espumosas, que são o principal componente das estrias gordurosas, lesões macroscópicas iniciais da aterosclerose²⁹.

As mudanças na coagulabilidade sanguínea, como ativação do fator VIII e do FvW, elevação do fibrinogênio e do PAI-1, as quais facilitam a formação de trombos, são consequências da resistência insulínica. A obesidade central e os níveis de triglicérides apresentam associação positiva com a quantidade de PAI-1 produzida pelo fígado e pelo tecido adiposo visceral, sendo o nível plasmático desse inibidor considerado como um marcador de resistência insulínica. Essas alterações geram um estado pró-trombótico e de fibrinólise deficiente, o qual leva a um aumento progressivo de depósito de fibrina na placa aterosclerótica e consequente aterotrombose³⁰.

Alterações metabólicas da SM também estão relacionadas a modificações nos mecanismos de *feedback* que controlam o funcionamento dos eixos neuroendócrinos (corticotrófico, somatotrófico e gonadotrófico). A obesidade central-visceral está associada à hiperatividade do eixo HHA e à redução da sua supressibilidade, bem como à ativação simpática, caracterizadas por aumento do cortisol plasmático e hipertensão arterial, respectivamente. A principal

anormalidade do excesso de cortisol é a resistência insulínica, perpetuando um ciclo vicioso ao promover mais deposição de gordura intra-abdominal. Quanto ao eixo somatotrófico, a SM parece inibir a liberação de hormônio do crescimento (GH) pela hipófise, por meio dos níveis aumentados de ácidos graxos livres e de insulina³¹.

A síndrome altera o eixo gonadotrófico de maneira diversa em homens e mulheres. O excesso de tecido adiposo leva à hiperatividade da enzima aromatase, o que aumenta a conversão periférica de testosterona em estradiol, contribuindo para o hipogonadismo no homem. Os níveis elevados de estradiol podem induzir à supressão da liberação do hormônio luteinizante (LH) pela hipófise. Quanto maior o grau de obesidade visceral, maior a inibição testicular e menores os valores de testosterona. O restabelecimento de níveis fisiológicos de testosterona, através de reposição, melhora a sensibilidade à insulina, o perfil lipídico e a distribuição de gordura corporal. Já na mulher, ocorre o oposto. O aumento da atividade da aromatase está associado à elevação dos níveis de estrona, que, por sua vez, estimula a secreção de LH pela hipófise, com diminuição do hormônio folículo-estimulante (FSH). Os ovários respondem ao excesso de LH com aumento na produção de androgênios. O hiperandrogenismo feminino ocasiona redução na captação de glicose pela musculatura esquelética e resistência insulínica. O seu tratamento também reduz a obesidade central e o risco de diabetes^{31, 32}.

Os mecanismos sugeridos para o desenvolvimento da SM estão dispostos na Figura 22.

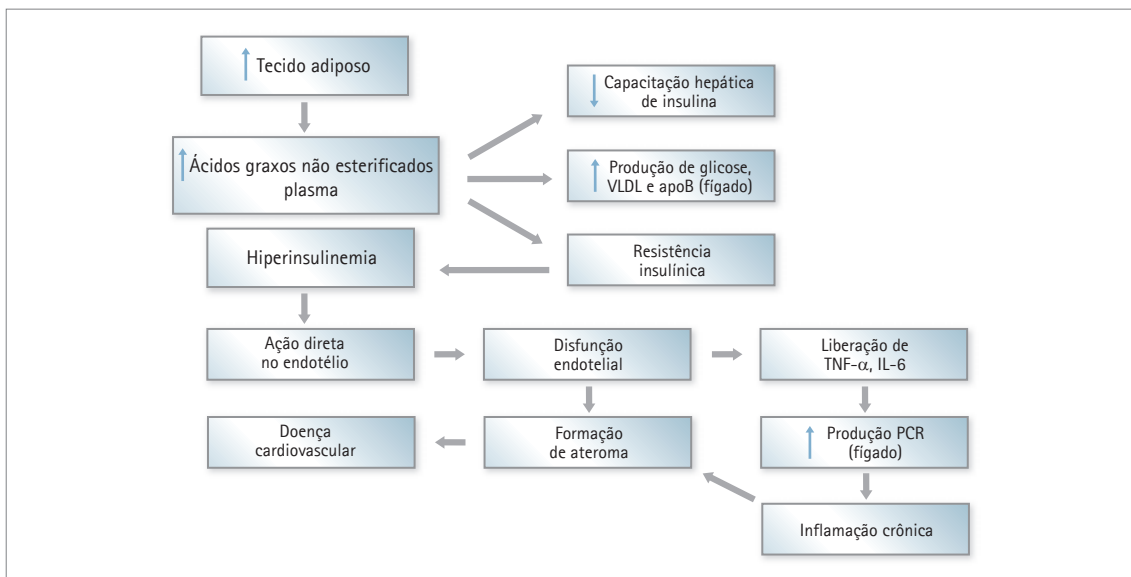


Figura 22 – Modelo fisiopatológico sugerido para a relação de resistência insulínica e componentes da síndrome metabólica com doença cardiovascular e diabetes tipo 2

Fonte: autor.

6.4. Critérios diagnósticos para síndrome metabólica

A OMS definiu, em 1999, como portador da síndrome o indivíduo que apresentasse resistência à insulina (hiperinsulinemia e glicemia de jejum ≥ 110 mg/dl ou teste de tolerância oral à glicose ≥ 200 mg/dl) acrescida de dois fatores entre hipertensão, dislipidemia ou obesidade, conforme os critérios dispostos na Tabela 4. A obesidade foi definida pelo índice de massa corporal (IMC), e a microalbuminúria pela excreção urinária de albumina em amostra noturna ≥ 20 mg/min ou pela relação albumina-creatinina ≥ 30 mg. A resistência à insulina é confirmada pela medida da concentração plasmática de insulina em jejum, com hiperinsulinemia definida pelo quartil superior da medida na população não diabética, ou pelo índice *homeostasis model assessment insulin resistance* [Homa-IR = insulina plasmática em jejum (μ U/ml) x glicose plasmática em jejum (mmol/l) $\div 22,5$], o qual, na época dessa definição, requeria a realização do *clamp* euglicêmico, exame complexo e indisponível na prática clínica. Segundo Matthews et al., o Homa médio em indivíduos normais está entre 2,1 e 2,7; nos que têm intolerância à glicose, entre 4,3 e 5,2; e naqueles com diabetes tipo 2 entre 8,3 e 9,5.

A proposta da OMS foi criticada pelo *European Group for the Study of Insulin Resistance* (Egir), que não aceitou microalbuminúria como componente da síndrome. O grupo prefere o termo síndrome de resistência insulínica e restringe a definição a sujeitos não diabéticos, com hiperinsulinemia ou resistência insulínica acrescida de dois dos seguintes fatores: glicemia de jejum > 110 mg/dl; triglicerídeos > 180 mg/dl e/ou HDL-C < 40 mg/dl; pressão arterial $> 140/90$ mmHg e circunferência abdominal (homens ≥ 94 cm e mulheres ≥ 80 cm). O uso de hipolipemiante ou de anti-hipertensivo é computado como critério³³.

Mais recentemente, Stern et al. (2005) validaram e definiram o diagnóstico de resistência insulínica quando presente uma das seguintes condições: IMC $> 28,9$ kg/m²; Homa $> 4,65$; e Homa $> 3,60$ com IMC $> 27,5$; não necessitando mais da utilização do *clamp* euglicêmico para caracterizar portadores de resistência insulínica. As concentrações de insulina em jejum correspondentes a esses limites de Homa foram 20,7 e 16,3 mU/ml, respectivamente.

Os critérios propostos NCEP-ATP III são similares aos da OMS, porém, não definem como obrigatória a presença de resistência à insulina, fechando o diagnóstico de SM quando

três ou mais dos fatores estiverem associados. Além disso, o painel decidiu utilizar a medida da cintura como parâmetro de obesidade, já que essa apresenta maior associação com o desenvolvimento de DCV e com a presença de resistência insulínica do que a medida do IMC¹.

Outras recomendações foram publicadas com o objetivo de facilitar o diagnóstico da SM, e a American Association Of Clinical Endocrinologists (AACE) propôs, em 2003, uma combinação dos critérios da OMS e do NCEP, sem especificar, entretanto, um número de fatores de risco, deixando a conclusão ao julgamento clínico. A proposta da AACE não inclui obesidade entre os componentes da síndrome por considerá-la indutora da resistência insulínica. Entretanto, situa valores de IMC ≥ 25 kg/m² ou de medida da cintura > 102 cm em homens e > 88 cm em mulheres entre o risco para o desenvolvimento da SM, juntamente com sedentarismo; idade > 40 anos; etnia não caucasiana; história pessoal de intolerância à glicose, diabetes gestacional ou doença cardiovascular; presença de *acantose nigricans*; síndrome do ovário policístico; e história familiar de diabetes tipo 2, hipertensão arterial ou doença cardiovascular¹. Na Tabela 4, estão sumarizadas as propostas de definição da síndrome elaboradas pelas três entidades citadas acima (OMS, NCEP e AACE).

Tabela 4 – Sumário de diferentes definições da síndrome metabólica

Características	OMS	NCEP-ATPIII	AACE
Hipertensão arterial	Anti-hipertensivos ou PA $\geq 140/90$ mmHg	Anti-hipertensivos ou PA $\geq 130/85$ mmHg	PA $\geq 130/85$ mmHg
Dislipidemia	TG ≥ 150 mg/dl HDL < 35 (h) e < 40 (m)	TG ≥ 150 mg/dl HDL < 40 (h) e < 50 (m)	TG ≥ 150 mg/dl HDL < 40 (h) e < 50 (m)
Obesidade	IMC ≥ 30 kg/m ² e/ou C/Q $> 0,9$ (h) e $> 0,85$ (m)	Cintura > 102 cm (h) e > 88 cm (m)	
Glicemia	DM2 ou TTOG > 200 mg/dl	G (j) ≥ 110 mg/dl	G (j) 110 a 125 mg/dl ou TTOG > 140 mg/dl
Outras	Microalbuminúria		
Condições diagnósticas	DM2 ou intolerância à glicose + 2 alterações	3 alterações	Não estabelece

Fonte: autor.

Legenda: PA, pressão arterial; TG, triglicérides; IMC, índice de massa corporal; C/ Q, relação cintura/ quadril; DM2, *diabetes mellitus* tipo 2; TTOG, teste de tolerância oral à glicose (glicemia 2 horas após a ingestão de 75g de glicose anidra).

O modelo diagnóstico do NCEP começou a ser questionado pela falta de aplicabilidade dos critérios em diferentes grupos étnicos, especialmente em relação às medidas da

circunferência abdominal³³. Assim, a *American Heart Association* e o *National Heart, Lung, and Blood Institute* reafirmaram a utilidade do ATP III após pequenas modificações nos componentes hiperglicemia (≥ 100 mg/dl) e obesidade central (≥ 90 cm em homens e ≥ 80 cm em mulheres de origem asiática, além de recomendações de mudanças de hábitos para os homens e as mulheres de outras etnias com cinturas medindo, respectivamente, 94 a 101 cm e 80 a 87 cm)¹.

A definição recente da International Diabetes Federation (IDF) considera a obesidade central um componente essencial para o diagnóstico da SM, devido às fortes evidências de associação da resistência aos efeitos da insulina na utilização periférica de glicose e ácidos graxos com os outros elementos da SM e com a doença cardiovascular. Segundo a IDF, o diagnóstico da SM pode ser definido pela presença de obesidade central acrescida de dois ou mais dos seguintes fatores: trigliceridemia ≥ 150 mg/dl; níveis de HDL-colesterol < 40 mg/dl para homens e < 50 mg/dl para mulheres; glicemia de jejum ≥ 100 mg/dl; pressão arterial sistólica ≥ 130 mmHg e diastólica ≥ 85 mmHg, ou tratamento específico para qualquer critério. Os limites para obesidade central (cintura) foram estabelecidos conforme os grupos étnicos e estão dispostos na Tabela 5.

Tabela 5 – Valores da circunferência abdominal para grupos étnicos específicos (International Diabetes Federation)

País/ grupo étnico	Circunferência abdominal	
Caucasianos (Estados Unidos = valores do ATP III)	Homens	≥ 94 cm
	Mulheres	≥ 80 cm
Asiáticos do sul e chineses	Homens	≥ 90 cm
	Mulheres	≥ 80 cm
Japoneses	Homens	≥ 85 cm
	Mulheres	≥ 90 cm
Centro e sulamericanos	Usar recomendações dos asiáticos do sul até haver dados mais específicos	
Subsaarianos africanos	Usar os dados dos caucasianos até haver dados mais específicos	
Populações do oriente médio e do leste europeu		

Fonte: autor.

Para os norte-americanos, os valores do ATP III foram mantidos por razões clínicas³⁴. Apesar das mudanças incorporadas, a definição da IDF ainda não é universalmente aceita e os critérios revisados do NCEP são amplamente utilizados pela praticidade clínica³⁵.

6.5. Estudos de prevalência da síndrome metabólica e da resistência insulínica

Em 2001, Isomaa et al. avaliaram, com os critérios da OMS, 4.483 adultos da Finlândia e da Suécia, com idades entre 35 e 70 anos, e encontraram as seguintes prevalências de SM: 10% e 15% em mulheres e homens com tolerância à glicose normal; 42% e 67% em mulheres e homens com intolerância à glicose; e 78% e 84% em mulheres e homens com diabetes tipo 2, respectivamente. Em todos os grupos, a prevalência aumentou com a idade.

A prevalência da SM, avaliada pelos critérios do NCEP, em 8.814 adultos que participaram do *Third National Health And Nutrition Examination Survey* (NHANES III), no período de 1988 a 1994, foi estimada em 24% para homens e 23,4% para mulheres, variando de 6,7% em adultos jovens, entre 20 e 29 anos, até 43,5%, em indivíduos acima de 50 anos. Baseando-se no censo de 2000, cerca de 47 milhões de habitantes apresentam a SM nos Estados Unidos^{36,37}.

Uma vasta revisão da literatura sobre a prevalência da SM em vários países do mundo verificou uma grande variabilidade entre os grupos étnicos, bem como entre estudos no mesmo país, utilizando três definições diferentes – NCEP, Egir e OMS. Selecionando os estudos que incluíram participantes com idade superior a 20 anos, a prevalência conforme os critérios do NCEP variaram de 8% (Índia) a 26,9% (Estados Unidos) nos homens e de 7% (França) a 46,5% (Índia) nas mulheres. A maioria dos estudos de prevalência com a definição Egir faz parte de um trabalho comparativo entre populações europeias, com taxas variando de 9% (Ilhas Maurício) a 24,6% (Itália) nos homens e de 1,7% (Itália) a 16% (Dinamarca) nas mulheres. A prevalência da SM, conforme os critérios de Egir, não excedeu 25%, devido à obrigatoriedade de hiperinsulinemia ou resistência insulínica. A tendência para uma maior prevalência nos homens, observada com o uso da definição Egir, repete-se com a da OMS. No estudo francês *Data from an Epidemiological Study on the Insulin Resistance Syndrome* (Desir) a prevalência foi de 23,5% para homens e de 9,6% para mulheres. Em geral, a

prevalência da SM segundo a OMS parece ser maior do que segundo NCEP ou Egir, especialmente entre os homens. Esses achados foram confirmados em dois estudos, que utilizaram o mesmo grupo populacional para estimar a prevalência da SM pelas três definições (Austrália e Ilhas Maurício). No *Australian AusDiab Study*, conforme NCEP, Egir e OMS, as taxas foram 19,5%, 18,6% e 25,2% para homens, respectivamente, e 17,2%, 13,3% e 16,7% para mulheres, respectivamente; enquanto as prevalências nas Ilhas Maurício foram de 10,6%, 9% e 20,9% para homens e 14,7%, 10,2% e 17,6% para mulheres, respectivamente³⁸.

Até o momento, poucos são os estudos populacionais brasileiros de prevalência da SM. Em 2002, Pozzan estudou uma série de 2.264 casos com idades entre 4 e 93 anos, avaliados na cidade do Rio de Janeiro pelos critérios do NCEP, exceto pelo uso do IMC no lugar da medida da cintura, e encontrou uma prevalência geral de SM de 21,2%, que não ultrapassava 10% até os 30 anos, porém alcançava mais de 30% na faixa de 51 a 70 anos.

Um programa de detecção de hipertensão arterial, realizado no município do Rio de Janeiro, iniciado em 1983, do qual participaram 3.906 crianças e adolescentes entre 10 e 15 anos, gerou várias publicações, nas quais Brandão et al.³⁹ mostraram uma relação direta entre a pressão arterial e o peso corporal; agregação da pressão arterial e da massa corporal entre os membros de uma mesma família; índices antropométricos e pressão arterial relacionados à massa ventricular esquerda em adolescentes; e agregação da pressão arterial e fatores de risco metabólicos em adolescentes e seus familiares. O mesmo programa foi a base de um estudo longitudinal, com 64 adultos jovens (17 a 23 anos) que foram seguidos por 8 anos e estratificados em três grupos conforme a pressão arterial. Os autores mostraram maior prevalência de intolerância à glicose, hiperinsulinemia e sobrepeso no grupo com maior pressão arterial ($\geq 95^{\circ}$ percentil em no mínimo três de quatro verificações) quando comparado ao grupo com percentil menor ou percentis instáveis⁴⁰. Na atualização desse estudo, feita por Brandão et al. em 2004, em 281 indivíduos, com média de idade de 21,6 anos, foram observados 26 (9,3%) casos de SM em um subgrupo que já apresentava maior prevalência de sujeitos com percentis anormais e sobrepeso dez anos antes, quando comparados aos 255 não portadores dessa síndrome. A principal conclusão dessa análise foi que a presença de percentil elevada e sobrepeso na infância e na adolescência aumentaram em, respectivamente, 3,23 e 3,07 vezes o risco de SM na idade adulta.

O Ministério da Saúde realizou estudo populacional no Distrito Federal e em 17 capitais brasileiras, no período de 2002 a 2005, que mostrou uma alta prevalência de fatores de risco para a SM, entre eles hipertensão arterial, com taxas de 16,9% a 33,3%; sobrepeso, cuja taxa variou de 23% a 33,5%; obesidade, de 8,2% a 17,1% e inatividade física, de 28% a 55% (dados do DATASUS, acessados em 2008).

Entre estudos populacionais mais recentes, destaca-se um com 1.663 indivíduos com idades entre 25 e 64 anos, residentes na área urbana do município de Vitória, Espírito Santo, no qual, utilizando a definição NCEP, foi estimada uma prevalência geral de 29,8%, com aumento diretamente proporcional à idade, variando de 15,8%, na faixa etária de 25 a 34 anos, até 48,3%, na de 55 a 64 anos. Os autores não observaram diferenças significativas na prevalência quanto ao sexo. Entretanto, a frequência dos componentes da SM foi diferente entre homens e mulheres. Nessas, foram mais frequentes a hipertensão, o colesterol HDL baixo e a obesidade central. Já os homens apresentaram mais hipertensão, hipertrigliceridemia e hiperglicemia. Outra observação importante nesse estudo foi que a prevalência da SM foi inversamente proporcional à classe socioeconômica de forma significativa somente nas mulheres⁴¹.

Em 2007, Velásquez-Meléndez et al. avaliaram, segundo critérios do NCEP, em estudo de base populacional, 251 sujeitos de uma comunidade rural no vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, e encontraram uma prevalência de SM idade-ajustada de 19%, sendo de 5,8% nos homens e 30,8% nas mulheres ($p < 0,0001$). A diferença observada entre os sexos foi creditada à alta frequência de obesidade central e de baixas concentrações de HDL nas mulheres dessa comunidade, refletindo o estilo de vida e o trabalho diferenciado entre os sexos em certas áreas rurais no Brasil.

Na literatura, existem poucas referências sobre a prevalência de resistência insulínica. Estudo comparativo entre adolescentes obesos brasileiros e italianos detectou taxas de resistência insulínica de 42,9% e 11,7%, respectivamente⁴².

O Grupo Cooperativo para Estudo de Prevalência de Diabetes no Rio de Janeiro, em investigação com 2.051 indivíduos com idades entre 30 e 69 anos, reportou prevalências idade-ajustadas de condições ligadas a resistência insulínica, como: tolerância diminuída à glicose (9%) e diabetes (7,1%). Essas taxas foram significativamente maiores em mulheres, obesos e indivíduos com história familiar de diabetes⁴³. Outro estudo semelhante, realizado

em Ribeirão Preto com 1.473 indivíduos na mesma faixa etária acima, encontrou, em mulheres, taxas semelhantes (7,3%) de tolerância diminuída à glicose, e taxas maiores (12,1%) de diabetes⁴⁴.

A prevalência de SM difere significativamente entre os sexos na maioria dos estudos, sendo menor em mulheres pré-menopausa do que em homens, aumentando progressivamente com as alterações hormonais do climatério⁴⁵. Essa observação pode ser explicada, em parte, pela queda do nível de estrogênio no plasma na pós-menopausa, que leva a um aumento da distribuição central da gordura corporal e dos níveis de LDL-colesterol, resistência insulínica e redução do HDL-colesterol, além de alterações no metabolismo oxidativo e no tônus vasomotor⁴⁶. Ainda não está bem esclarecido se apenas as mulheres climatéricas com três ou mais critérios para a síndrome têm maior risco cardiovascular⁴.

6.6. Síndrome metabólica e menopausa

Menopausa é melhor definida pela ausência de ciclos menstruais (amenorreia) por doze meses consecutivos, podendo ser espontânea ou induzida por cirurgia ou ablação da função ovariana (por exemplo, por quimio ou radioterapia). A média da idade de ocorrência da menopausa natural é de 51 anos. Quando ocorre antes ou aos 40 anos, é classificada como prematura e, entre 40 e 45 anos, como precoce. A falência ovariana prematura (FOP) é definida por insuficiência ovariana experimentada antes de 40 anos que leva à amenorreia permanente ou transitória⁴⁷. A perimenopausa é definida como período de irregularidade menstrual e declínio da função ovariana, que dura em média quatro anos e expira um ano após o último ciclo menstrual⁴⁸. Nessa fase de transição é que se iniciam as mudanças na distribuição da gordura corporal, acarretadas por diferenças regionais na sensibilidade lipolítica (glúteos e quadril x abdômen) e no grau de atividade da lipase lipoproteica do tecido adiposo. A deficiência estrogênica promove o acúmulo de adiposidade abdominal de forma independente do ganho de peso, da idade ou da adiposidade corporal total⁴⁹. A menopausa também favorece o aumento de gordura intra-abdominal (visceral), que é um dos principais fatores envolvidos na deterioração metabólica em mulheres com intolerância à glicose. A hiperinsulinemia inibe a secreção da globulina transportadora de hormônios sexuais (SHBG). Por esse motivo, mulheres menopausadas com intolerância à glicose têm níveis menores dessa proteína, o que acarreta um estado de maior atividade androgênica. Também,

a queda dos níveis de estrogênios ocasiona uma redução na concentração de SHBG, e um consequente aumento da fração livre da testosterona, o que, por sua vez, desencadeia uma série de alterações no metabolismo lipídico, gerando um perfil dislipidêmico⁵⁰.

Outros fatores, como dieta hipercalórica, predisposição genética e sedentarismo, acarretam um acúmulo ainda maior de gordura visceral durante a menopausa, propiciando aumento da resistência à insulina e dos níveis de ácidos graxos livres, assim como a redução na concentração de adiponectina. As três alterações citadas acima atuam de duas formas: estimulam a secreção de apoB, levando à hipertrigliceridemia; e aumentam a atividade da lipase hepática, o que resulta na predominância de pequenas partículas densas de colesterol de baixa densidade (LDL) em contraste com a redução das partículas grandes, flutuantes e antiaterogênicas de HDL₂. Dessa forma, mulheres em estado menopausal têm níveis mais altos de colesterol total, LDL-C, triglicédeos e lipoproteína (a) [Lp (a)], além de concentrações mais baixas de HDL₂ que as outras mulheres. Na menopausa, a prevalência de partículas densas de LDL aumenta de 10% a 13% para de 30% a 49%, o que confere um risco três vezes maior de DCV⁴.

Após a menopausa, as mulheres apresentam hematócrito e níveis de fibrinogênio mais altos e, por consequência, maior viscosidade sanguínea. Além disso, o PAI-1 também está aumentado nessas mulheres, configurando um estado pró-trombótico⁴. Alguns estudos mostram elevação dos níveis de IL-6, produzida por macrófagos e monócitos, associada à menopausa⁵¹. A IL-6 induz a produção da PCRt, e ambas estão fortemente associadas ao risco de morte por DCV, visto que são marcadores da presença e da intensidade de estado de inflamação crônica e disfunção endotelial⁵².

Em 2007, Kim et al. compararam a prevalência de SM em mulheres coreanas pré e pós-menopausa, que nunca receberam terapia hormonal (TH). Os dados das 2.671 mulheres foram obtidos do *Korean National Health and Nutrition Examination Survey* (KNHANES) realizado em 2001. O diagnóstico de SM, conforme critérios modificados do NCEP, foi feito em 13,8% das 1.893 mulheres pré-menopausa e em 54,6% das 778 em pós-menopausa ($p < 0,0001$), com razão de risco (OR do inglês, *odds ratio*) ajustado para idade de 1,51 (IC 95% 1,04 - 2,19).

Recentemente, Janssen et al. reportaram os resultados do *Study of Women's Health Across the Nation*, estudo longitudinal, realizado nos Estados Unidos, com duração de nove

anos e com 949 participantes de cinco etnias e sete áreas geográficas distintas. Foram recrutadas mulheres em pré ou perimenopausa recente, as quais foram incluídas segundo os seguintes critérios: 1) atingir menopausa durante o estudo; 2) nunca tiver feito TH; e 3) não tiver diabetes ou SM na avaliação inicial. O objetivo principal foi a presença de SM pelos critérios do NCEP. Próximo ao último ciclo menstrual, 13,7% das mulheres foram diagnosticadas com SM. As chances de desenvolver SM por ano foram de 1,45 na perimenopausa e 1,24 após a menopausa ($p < 0,001$). Os autores concluíram que o aumento dos níveis de testosterona ou a redução dos de SHBG, com a progressão de padrão hormonal androgênico nesse período, aumentaram a chance de SM na transição menopausal, independentemente da idade e de outras variáveis importantes.

6.7. Implicações clínicas da síndrome metabólica

A maioria dos estudos prospectivos observacionais aponta uma forte associação entre o risco de desenvolver diabetes tipo 2 e SM, principalmente em caucasianos. Entre 5.974 sujeitos não diabéticos, seguidos por cinco anos no *West of Scotland Coronary Prevention Study* (Woscops), o diagnóstico da síndrome, de acordo com os critérios do ATP III, aumentou o risco de diabetes em de sete a 24 vezes. O aumento na chance de desenvolver DCV foi de 30%, menor em relação ao de diabetes, porém também significativo na análise multivariada⁵³. Os resultados do estudo *Women's Ischemia Syndrome Evaluation* (Wise), com 780 mulheres, mostraram que a SM está significativamente associada ao risco de morte ou a eventos adversos cardiovasculares por três anos subsequentes ao diagnóstico⁵⁴.

No ano seguinte, Wilson et al. reportaram dados da coorte do *Framingham Heart Study* que mostra, na presença de SM segundo ATP III revisado, um risco atribuível de desenvolver diabetes de cerca de 60% em homens e 45% em mulheres. Nesse estudo, pacientes obesos sem critérios para a síndrome não tiveram aumento significativo do risco de diabetes ou DCV. Entretanto, obesos com SM apresentaram um aumento de dez vezes no risco de diabetes e de duas vezes no de DCV em relação aos sujeitos não obesos sem SM.

Recentemente, foi demonstrado em três metanálises que a SM aumenta a chance de eventos cardiovasculares em 1,53 a 2,18 vezes e de mortalidade em 1,27 a 1,60^{55,56} e que a definição do NCEP modificada foi melhor que a da IDF em suas associações com o

risco vascular⁵⁷. Todavia, os dados dos 4.812 idosos não diabéticos avaliados no *Prospective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk* (Prosper) não mostraram associação da síndrome com DCV, mas apenas com diabetes, assim como cada componente separadamente, especialmente glicose de jejum ≥ 100 mg/dl. Esses resultados foram comparáveis aos do *British Regional Heart Study* (BRHS), que apontou risco modesto de DCV, apesar de importante associação da SM com diabetes. Os autores notaram que a soma dos componentes não determinou maior chance de prever DCV do que alguns deles isoladamente e, ainda, que os pontos de corte para glicemia de jejum, triglicérides e circunferência abdominal não estiveram associados com DCV nos dois estudos, a despeito da forte associação feita por esses estudos com a instalação de diabetes. Isso sugere padrões de fatores de risco distintos para DCV e diabetes. Sugere ainda que o uso de critérios dicotômicos limita o poder da SM em prever risco cardiovascular³.

6.8. Síndrome metabólica no contexto do transplante de células precursoras hematopoéticas

A hipótese da prevalência da SM ser maior em receptores de TCPH do que na população geral tem sido proposta por alguns autores, uma vez que vários fatores inerentes ao transplante podem contribuir para o seu desenvolvimento, destacando-se, entre eles, a quimio e/ ou a radioterapia em altas doses; o tratamento com drogas que alteram o metabolismo da glicose e o lipídico, como corticosteroides, ciclosporina, tacrolimus, entre outras; o uso da nutrição parenteral total; a disfunção hepática e a inatividade física por períodos prolongados⁵⁸. Além disso, condições que ocorrem frequentemente após o TCPH, como doenças renais crônicas, hipotireoidismo, falência ovariana e deficiência de vitaminas B12 e B6, podem acarretar aumento nos níveis de homocisteína⁵⁹⁻⁶¹, que representa fator de risco independente para acidente vascular cerebral isquêmico⁶².

Os inibidores da calcineurina (ciclosporina e tacrolimus), que atuam bloqueando a ativação do linfócito T, possuem muitos efeitos adversos. Entre eles hipertensão, hiperuricemia, hiperglicemia, dislipidemia e disfunções renal e hepática. A ciclosporina reduz o *clearance* de lipídeos pelo fígado e altera a lipase lipoproteica, o que leva ao aumento de partículas LDL e VLDL no plasma. A influência dos imunossupressores no padrão lipídico tem sido mais descrita no contexto do transplante renal. Brown et al. encontraram maiores

concentrações de Lp(a) e menor nível de HDL em 50 transplantados renais em uso de ciclosporina quando comparados a outros 50 transplantados em uso de prednisona e azatioprina. O esquema habitual de imunossupressão, prednisona e CSP está associado ao aumento de triglicérides e LDL, e a hipertrigliceridemia aumenta conforme a dose de prednisona⁶³. Os corticosteroides, que atuam principalmente suprimindo citocinas pró-inflamatórias, apresentam também outros efeitos ligados à SM, como: hiperglicemia/ resistência insulínica, obesidade central e hipertensão.

Em 1990, Smedmyr et al.⁶ observaram uma associação entre a redução da tolerância à glicose e o transplante autólogo de medula óssea em 13 adultos não diabéticos portadores de leucemias agudas. Todos estavam em remissão e apresentavam, na avaliação anterior ao transplante, teste de tolerância à glicose intravenosa normal. Entretanto, seis meses após a quimioterapia em altas doses, associada ou não à radioterapia, os autores observaram um decréscimo significativo na taxa de eliminação de glicose da circulação em todos os casos, sugerindo que a terapia mieloablativa foi responsável pela disfunção das células beta pancreáticas.

Lorini et al.⁷ publicaram, em 1995, um estudo de coorte reconstituída, com seguimento de nove meses até dez anos pós-transplante, no qual compararam 34 portadores de hemopatias submetidos ao TCPH, com idades entre 5 e 18 anos, com 21 controles, pareados para o sexo e a idade. Encontraram hiperinsulinemia em 26 casos, 18 dos quais receberam ICT no condicionamento. Além disso, a razão insulinemia/ glicemia também foi significativamente maior nos casos em relação aos controles. Entre os que receberam radioterapia, a análise de uso prévio de esteroides, tipo de transplante ou presença de disfunção hepática não mostrou diferença no nível de insulina, sugerindo ser a ICT fator de risco independente para hipersecreção de insulina nesses pacientes. Os autores sugerem que o acompanhamento do metabolismo da glicose deve ser feito anualmente após o transplante, mesmo em pacientes com glicemia normal, especialmente naqueles que foram submetidos à ICT.

O primeiro estudo que mostrou um aumento da incidência dos componentes principais da SM em receptores de TCPH foi publicado em 2000, por Taskinen et al.⁸. Os autores reportaram uma incidência de 39% de hiperinsulinemia associada à hipertrigliceridemia em um grupo de 23 jovens sobreviventes de longo tempo após TCPH realizado durante a infância, comparada com 8% nos 13 controles leucêmicos e 0% nos 23 controles saudáveis. Hiperinsulinemia e intolerância à glicose isolada foram encontradas, respectivamente, em 52% e 43% dos transplantados, em 31% e 8% dos leucêmicos e em nenhum dos controles.

Entre os casos com hiperinsulinemia e hipertrigliceridemia, quatro apresentavam diabetes tipo 2, dois, hipertensão, e um foi vítima de acidente vascular cerebral, após o transplante, aos 26 anos. A frequência de hiperinsulinemia aumentou com o tempo pós-TCPH e esteve significativamente associada à presença de DECHc e hipogonadismo, gerando uma correlação linear entre os valores de Homa e essas variáveis do estudo. Tais observações poderiam configurar que esses pacientes estariam prematuramente expostos aos efeitos cardiovasculares nocivos da resistência à insulina. Entretanto, os autores apontam que a escolha dos controles saudáveis, representados por enfermeiras e estudantes, pode ter influenciado os resultados, determinando um viés de seleção, por serem pessoas mais orientadas para cuidados com a saúde. Ainda ressaltam que, no grupo dos 23 transplantados, encontraram dez com hipogonadismo e seis com deficiência do GH, alterações que podem induzir características clínicas e biológicas da SM.

Uma série de cinco casos de SM retirados de um estudo longitudinal observacional, com mediana de quatro anos de seguimento após o transplante, foi reportada por Chatterjee et al.⁵ em 2005. Entre as cinco mulheres, quatro receberam transplante alogênico com ICT no condicionamento. Todas apresentavam hipogonadismo e faziam reposição hormonal desde o TCPH. A idade mediana de manifestação de componentes da síndrome foi de 33 anos. As cinco desenvolveram hipertensão arterial sistêmica (HAS) e hipercolesterolemia pós-TCPH, três delas hipertrigliceridemia, uma diabetes e uma intolerância à glicose.

Em 2005, Higgins et al.⁶⁴ descreveram a incidência de componentes da SM em um grupo de dezesseis adultos pós-TCPH selecionados na primeira visita à clínica de efeitos tardios da Leicester Royal Infirmary, no Reino Unido. A mediana de idade foi de 38 anos e a de tempo pós-transplante de seis anos. Noventa e três por cento receberam ICT, 79% dos transplantes foram alogênicos e 62,5% eram do sexo masculino. Pelos critérios da OMS, 47% apresentavam obesidade central, 63% hipertrigliceridemia, 33% baixo HDL-colesterol, 20% HAS e 13% metabolismo da glicose alterado. A prevalência de SM pelos critérios da OMS ou do NCEP foi de 25%.

Disfunções endócrinas e parâmetros da SM foram avaliados por Shalitin et al.⁶⁵ em estudo de coorte, não controlado, com 91 pacientes, com idades entre 4,3 e 32,5 anos, que foram transplantados na infância entre 1987 e 2003. Desses, 18 (19,8%) receberam quimio e radioterapia no condicionamento, e 50,5% dos transplantes foram autólogos. Na última avaliação, 28 de 39 pacientes do sexo feminino foram avaliáveis para falência

gonadal primária, e 15 (53,6%) diagnosticadas com hipogonadismo e já usuárias de TH. E, no sexo masculino, a presença de hipogonadismo foi detectada em nove (29%) dos 31 avaliáveis. Em ambos os sexos, o hipogonadismo esteve significativamente associado ao uso de radioterapia no condicionamento e ao estágio puberal avançado ao TCPH. A incidência de obesidade pelo IMC foi de 4,4%, enquanto a de diabetes e intolerância à glicose foi a mesma, 3,3% cada. Todos os pacientes com diabetes foram irradiados no condicionamento e apresentavam maior tempo pós-TCPH que o grupo sem diabetes ($p < 0,05$). Dislipidemia foi encontrada em 27,9% dos 43 pacientes testados. Os autores discutem as limitações dos achados em virtude do número pequeno de pacientes avaliáveis para alguns parâmetros e do impacto da baixa idade dos pacientes na incidência de distúrbios metabólicos.

Em 2007, Baker et al.⁶⁶ publicaram uma análise da ocorrência de diabetes, HAS e eventos cardiovasculares em 1.089 sobreviventes pós-TCPH e em 383 controles irmãos. Essa análise faz parte do *Bone Marrow Transplant Survivor Study*, estudo de coorte multicêntrico americano. Todos os sujeitos completaram um questionário de saúde com 255 itens. Ajustando para idade, sexo, raça e IMC, a chance de os sobreviventes reportarem diabetes foi 3,65 vezes, e HAS 2,06 vezes maior que controles. No modelo multivariado, um risco maior de HAS esteve significativamente associado ao transplante alogênico, idade maior na entrevista e maior IMC, os dois últimos também aumentam risco de diabetes. Exposição a ICT esteve associada a um risco 3,42 vezes maior de reportar diabetes, como também a raça não branca aumentou esta chance em 2,86 vezes. Diabetes foi reportada por 7,6% dos transplantados e por 3,1% dos controles, com 39,8% de obesos no grupo de transplantados diabéticos comparados a 75% no grupo de controles diabéticos. HAS foi reportada por 18,5% dos transplantados e por 14,9% dos controles. A prevalência de eventos cardiovasculares foi menor que 2% na população de estudo e seu risco foi igual ao dos controles, exceto pela chance 7,5 vezes maior de reportar acidente vascular cerebral em pacientes com deficiência de GH. Os autores concluíram que os sobreviventes de TCPH têm um risco aumentado, ajustado pela idade e pelo IMC, de diabetes e HAS, que potencialmente induz a um maior risco de eventos cardiovasculares que o esperado para a idade.

Recentemente, Annaloro et al.¹⁰ publicaram um estudo de corte transversal controlado, comparando a prevalência de SM em 85 adultos receptores de TCPH com a encontrada por Miccoli et al. em amostra de 2.100 adultos sorteados da população de Lucca, cidade italiana de médio porte. O diagnóstico de SM, conforme critérios do NCEP revisado, foi feito em 29 transplantados ao invés dos 12,8 casos esperados ($p < 0,0001$).

A prevalência de resistência insulínica foi de 35,3%. O componente mais comum foi hipertrigliceridemia, presente em 82,7% dos casos com SM, seguido por obesidade central e hiperglicemia. A frequência de resistência insulínica foi de 35,3% e, entre os portadores de resistência insulínica, apenas seis homens não apresentavam SM. Além disso, 12% dos pacientes preencheram dois critérios, em geral dupla dislipidemia, o que reforça a hipótese de alto risco de SM nos receptores de TCPH. Altos níveis de leptina, resistência insulínica, idade maior que 45 anos e hipogonadismo estiveram significativamente associados ao diagnóstico da síndrome. Os autores sugerem que hiperleptinemia e hipogonadismo são preditores independentes do desenvolvimento da SM pós-TCPH. A produção de leptina é regulada por várias citocinas pró-inflamatórias e, por sua vez, regula outras citocinas como IFN- γ , TNF- α e IL-4. Dessa forma, a resistência à leptina pode ser pensada como o resultado de eventos imunológicos, infecciosos ou tóxicos, e como efetora da resistência insulínica, atuando, assim, precocemente na sequência patogênica da SM.

6.9. Considerações gerais sobre o manejo da síndrome metabólica

O manejo da SM baseia-se, inicialmente, no controle da obesidade através de dieta e aumento da atividade física, associado ao tratamento medicamentoso para os fatores de risco que persistirem, apesar da mudança no estilo de vida (segundo NCEP-ATP III, orientações de 2001). Vários ensaios clínicos em não transplantados confirmam o benefício da terapia com vastatinas, inibidores de uma enzima chave na síntese do colesterol, a 3-hidroxi-3-metil-glutaril-coenzima-A-redutase (HMGCoA-R), na normalização dos níveis de LDL e na redução de doença coronariana, acidente vascular cerebral e mortalidade cardiovascular. Fibratos e ácido nicotínico são eficazes no controle da dislipidemia aterogênica (hipertrigliceridemia e baixo HDL) e seu uso reduz o risco para DCV. Apesar de atraente, a combinação de vastatinas e fibratos tem o potencial de causar rabdomiólise, miopatia e elevação de enzimas hepáticas, e o uso conjunto pode aumentar a frequência desses efeitos adversos. A utilização de hipoglicemiantes e anti-hipertensivos pode ser necessária, e a escolha das drogas para controlar adequadamente a glicemia e a pressão arterial depende do julgamento clínico. Em virtude do estado pró-trombótico/ pró-inflamatório, que ocorre na síndrome, o uso de baixas doses de aspirina está justificado em indivíduos com SM de médio e alto risco de doença coronariana ($\geq 10\%$), com a finalidade de reduzir o risco de ocorrência de eventos trombóticos.

6.10. Efeitos da terapia hormonal

O benefício da TH para prevenção primária de DCV em mulheres na pós-menopausa ainda é incerto. Vários estudos observacionais e experimentais, randomizados ou não, foram realizados sem que fosse estabelecida uma recomendação clara a respeito⁶⁷. Em 2000, Shlipak et al. reportaram a relação entre os níveis séricos da Lp(a), a TH e a doença coronariana recorrente em 2.759 mulheres menopausadas, com 66,7 anos em média e doença coronariana, acompanhadas por cinco anos pelo estudo multicêntrico, randomizado, duplo-cego e placebo-controlado, *Heart and Estrogen/ Progestin Replacement Study* (HERS). Os autores concluíram que: 1) nível elevado de Lp(a) é fator de risco independente para doença coronariana; 2) o uso de estrogênio e progesterona (EPT) reduz o nível de Lp(a); 3) grandes reduções de Lp(a) se correlacionam com diminuição do risco de eventos coronarianos recorrentes; e 4) mulheres com níveis iniciais altos de Lp(a) obtiveram resposta favorável com a TH, ao contrário daquelas com baixos níveis de Lp(a). No estudo original HERS, em 1998, os dados mostraram aumento do risco de doença coronariana com TH, no primeiro ano, e uma subsequente redução no risco entre o terceiro e quinto anos de seguimento. No estudo populacional, *Women's Health Initiative* (WHI), publicado em 2002, que analisou 16.608 mulheres não hysterectomizadas, que foram randomizadas para TH combinada (EPT) ou placebo, e 10.739 hysterectomizadas sorteadas para reposição só de estrogênio (ET) ou placebo, foi demonstrado um aumento no risco de acidente vascular cerebral isquêmico tanto no braço ET quanto no EPT, bem como aumento no risco de doença coronariana, durante o primeiro ano de EPT naquelas em que o hormônio foi iniciado 20 anos ou mais após a menopausa. No braço com ET, não foi observado aumento no risco de doença coronariana, o que tem sido confirmado em outros estudos. A análise do WHI mostrou ainda risco de carcinoma de mama 26% maior no grupo com EPT. Entretanto, houve decréscimo de 34% no risco de câncer colorretal e efeito protetor significativo para fraturas osteoporóticas no grupo com TH⁶⁸. Esses resultados devem ser considerados com cautela. Primeiramente, pela elevada faixa etária das mulheres estudadas, de 50 a 79 anos, mediana de 63 anos. Como o risco cardiovascular é dependente da idade, a expectativa é de que seja menor em recém-menopausadas em uso de TH para controle de sintomas vasomotores⁶⁹. Em segundo lugar, pelo fato de que, no grupo com TH, foi previamente observada uma frequência alta de mulheres com hipertensão (36%), tabagistas (45%) e obesas (34%), gerando um questionamento sobre ser o estudo de prevenção secundária e não primária, como se pretendia⁶⁸.

Em 2005, Barret-Connor e Laughlin⁶⁷ realizaram uma análise do grau de calcificação de artéria coronária em 204 mulheres que participaram de um estudo populacional americano, *Rancho Bernardo Study*, com 5.052 indivíduos, para averiguação de fatores de risco cardíaco. Foram incluídas no estudo apenas mulheres com idade entre 55 e 80 anos, em amenorreia há mais de um ano, assintomáticas e sem eventos cardiovasculares prévios. Os autores encontraram uma forte associação do uso de TH com redução do risco de calcificação de artéria coronária. Por ocasião da análise, tanto as mulheres que estavam utilizando estrogênio isolado, como aquelas com terapia combinada apresentaram uma redução de 60% no risco de doença coronariana severa quando comparadas com as não usuárias ($p < 0,01$).

No ano seguinte, Salpeter et al.⁷⁰ publicaram uma meta-análise sobre os efeitos da TH nos componentes da SM em mulheres em pós-menopausa. Os resultados, coletados dos 107 ensaios controlados que foram incluídos, mostraram que a TH reduziu significativamente a frequência de obesidade central, resistência insulínica, instalação de diabetes, bem como os níveis de lipídeos, pressão arterial, E-selectina, Lp(a), fibrinogênio e PAI-1 em mulheres não diabéticas; e reduziu a resistência insulínica e a glicemia de jejum em diabéticas. A análise mostrou ainda que os agentes orais produziram maior benefício que os transdérmicos, todavia, efeitos adversos, como aumento de proteína C-reativa e redução de proteína S, ocorreram apenas com os orais.

Esses novos dados levaram a *North American Menopause Society* (NAMS) a compor, em 2008, um painel de especialistas sobre TH, para revisar suas recomendações de março de 2007, especialmente em relação à terapia com ET e à terapia com EPT em mulheres na peri e na pós-menopausa. Foram discutidos os dados recentes de estudos randomizados, principalmente a análise secundária de resultados do WHI nos subgrupos com 50 a 59 anos e início de ET ou ETP dentro de dez anos de menopausa, análise essa que mostrou reduções significativas em infarto do miocárdico, revascularização de coronária, mortalidade global (30%), morte por doença coronariana e incidência de diabetes tipo 2 (21%), com melhora do controle glicêmico, no grupo já com diabetes. O risco de acidente vascular cerebral nessa faixa etária, com início da TH em até cinco anos da menopausa, não foi significativo, porém, como a amostra nesse subgrupo foi pequena, o poder estatístico foi insuficiente para conclusões. Já o risco de tromboembolismo venoso diminuiu, mas continua significativo nessa análise, com alguns estudos sugerindo menor risco com ET via transdérmica. Esse

também parece ser melhor para diabéticas, por ter as vantagens de não aumentar os triglicérides nem a pressão arterial nessas pacientes. O painel concluiu que ET/ EPT são válidas para tratamento de sintomas vasomotores moderados ou severos e para reduzir riscos de osteoporose ou fraturas, e que a razão risco/ benefício é favorável quando a menor dose eficaz de ET/ EPT é iniciada logo após a menopausa e continuada por vários anos. O benefício decresce com a idade e com o tempo de menopausa em mulheres nunca tratadas. Assim, o painel não recomenda o uso de TH em mulheres com mais de 60 anos e/ ou com o tempo de menopausa superior a dez anos. Situações especiais impõem cálculo individualizado do risco/ benefício. Os especialistas sugerem ainda o uso de TH em mulheres mais jovens com menopausa ou falência ovariana prematura, natural ou induzida, já que o hipoestrogenismo prematuro está associado a risco aumentado de instalação precoce de osteoporose e DCV, e reduzido de câncer de mama.

Em revisão subsequente, L'Hermite et al. avaliaram o papel da via e do tipo de hormônio repostado, quanto à eficácia e à segurança. Segundo eles, a administração de estrogênio por via transdérmica minimiza a indução hepática de fatores de coagulação e de outras proteínas associadas a dano endotelial, o que se traduz em benefícios como a atenuação do risco de tromboembolismo e o controle da pressão arterial. Discutiram, também, evidências recentes que indicam que a associação de progesterona natural com estrogênios não confere ou minimiza o risco de câncer de mama em relação ao uso de progesterosas sintéticas. Os autores concluíram que a escolha de estradiol transdérmico associado ao uso de progesterona natural pode oferecer benefícios e aumenta a segurança da TH.

6.11. Manejo da síndrome metabólica nos receptores de transplante de células precursoras hematopoéticas

Não existem recomendações farmacológicas claras para o tratamento da SM em pacientes transplantados. Efeitos tóxicos raros, secundários ao uso de estatinas e de fibratos, como disfunção hepática e rabdomiólise grave com falência renal, podem se tornar mais frequentes com o uso concomitante de CSP, antibióticos macrolídeos e antifúngicos azólicos, drogas cujo metabolismo se dá através do sistema enzimático citocromo P450 e que são comumente usadas no contexto do TCPH⁷¹. A hipertensão, em geral, é bem controlada com antagonistas dos canais de cálcio associados ou não a diuréticos. A metformina, droga

que aumenta a sensibilidade à insulina nos tecidos e reduz a neoglicogênese hepática, é efetiva no tratamento da diabetes tipo 2 e resistência insulínica e parece ter efeito benéfico direto sobre as células endoteliais³⁰. Entretanto, seu uso não foi estudado em transplantados, o que leva à subutilização da metformina nesses pacientes.

Outro ponto controverso é a TH nas mulheres com hipogonadismo secundário ao transplante, já que existe um risco maior de neoplasias em pacientes que receberam quimio e/ou radioterapia quando comparado à população geral⁵⁸. A idade, o tipo alogênico de transplante e o uso de ICT e de agentes alquilantes estão associados com maiores taxas de FOP e pior função ovariana residual. Foram reportadas taxas de recuperação ovariana de 7%, após transplante alogênico e 25%, após autólogo. A TH deve ser o mais fisiológica possível, pelo risco de neoplasia pós-transplante e, também, porque, como a maioria das pacientes é jovem, a reposição será necessária por longo prazo para preservar a massa óssea. Revisão recente avaliou a combinação cíclica sequencial de estradiol e didrogesterona, que foi bem tolerada, com poucos efeitos adversos e produziu melhora acentuada dos sintomas vasomotores, urogenitais e psicológicos⁷². As receptoras de TCPH com DECHc severa podem apresentar estenose vulvo-vaginal e, até mesmo, cervical, que pode causar dispareunia e baixa autoestima. Nesses casos, a TH também pode ser útil, com melhora importante na qualidade de vida⁵. Avaliação acurada prévia ao início da TH e monitoração frequente durante o tratamento são fundamentais⁷³.

Diante do exposto, a indicação de TH em mulheres transplantadas deve ser discutida caso a caso, conforme as manifestações clínicas e os riscos individuais, devendo ser feita uma análise criteriosa de exames laboratoriais e dados como: história familiar de câncer de mama ou colorretal, presença de osteoporose ou osteopenia, presença ou ausência de útero, história de trombose venosa profunda ou acidente vascular cerebral, idade e qualidade de vida⁵⁸. Até o momento, não existe recomendação estabelecida quanto ao uso de TH em transplantadas com SM.

Referências

1. GRUNDY, S.M.; HANSEN, B.; SMITH, S.C.J. et al. Clinical management of metabolic syndrome: Report of the American Heart Association/ National Heart, lung and Blood Institute/

American Diabetes Association conference on scientific issues related to management. *Circulation*, v.109, p.551-56, 2004b.

2. ISOMAA, B.; ALMGREEN, P.; TUOMI, T. Cardiovascular morbidity and mortality associated with metabolic syndrome. *Diabetes Care*, v.24, p.683-689, 2001.

3. SATTAR, N.; MCCONNACHIE, A.; SHAPER, A.G. et al. Can metabolic syndrome usefully predict cardiovascular disease and diabetes? Outcome data from two prospective studies. *Lancet*, v. 371, n. 9628, p. 1927-1935, 2008.

4. CARR, M.C. The emergence of the metabolic syndrome with menopause. *J Clin Endocrinol Metab*, v. 88, n.6, p. 2404-11, 2003.

5. CHATTERJEE, R.; PALLA, K.; MCGARRIGLE, H.H. et al. Syndrome 'X' in adult female recipients of bone marrow transplantation for haematological malignancies. *Bone Marrow Transplant*, v.35, n.2, p.209-10, 2005.

6. SMEDMYR, B.; WIBELL, L.; SIMONSSON, B. et al. Impaired glucose tolerance after autologous bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, v. 6, p.89-92, 1990.

7. LORINI, R.; CORTONA, L.; SCARAMUZZA, A. et al. Hyperinsulinemia in children and adolescents after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, v.15, p.873-77, 1995.

8. TASKINEN, M.; SAARINEN – PIHKALA, U.M.; HOVI, L. et al. Impaired glucose tolerance and dyslipidaemia as late effects after bone marrow transplantation in childhood. *Lancet*. v. 356, p 993-97, 2000.

9. SOCIÉ, G. Is syndrome "X" another late complication of bone marrow transplantation? *Lancet*, v. 356, p. 957-958, 2000.

10. ANNALORO, C.; USARDI, P.; AIRAGHI, L. et al. Prevalence of metabolic syndrome in long-term survivors of hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 41, n.9, p. 797-804, 2008.

11. BRANDÃO, A.P.; BRANDÃO, A.A.; DE MAGALHÃES, M.E. et al. Management of metabolic syndrome in young population. *Am J Ther*, v.15, n.4,p.356-61, 2008.
12. SANTOS FILHO, R.D.; MARTINEZ, T.L.R. Fatores de risco cardiovascular: velhos e novos fatores de risco, velhos problemas! *Arq Bras Endocrinol Metab*, v. 46, n. 3, p. 212-214, 2002.
13. HOROWITZ, M.M.; LOBERIZA, F.R.; BREDESON, C.N. et al. Transplant registries: guiding clinical decisions and improving outcomes. *Oncology*, v.15, n.5, p.649-59, 2001.
14. HOFFMAN, R.; BENZ JR, E.J.; SHATTIL, S.J. et al. Part VII. Transplantation. In: *Hematology – Basic principles and practice*. 4th ed. Florida: Elsevier, 2005.
15. COPELAN, E.A. Hematopoietic stem-cell transplantation. *N Engl J Med*, v.354, n.17, p.1813-26, 2006.
16. TAUCHMANOVÀ, L.; SELLERI, C.; DE ROSA, G. et al. Estrogen-progestin therapy in women after stem cell transplant: our experience and literature review. *Menopause*. v. 14, n. 2, p. 320-330, mar-apr. 2007.
17. LEIPER, A.D.; STANHOPE, R.; LAV, T. The effect of total body irradiation and bone marrow transplantation during childhood and adolescence on growth and endocrine function. *Br. J. Haematol*, v.67, p.419, 1987.
18. MERTENS, A. C.; RANSAY, N.K.C.; KOURIS, S. et al. Patterns of gonadal dysfunction following bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*, v. 22, p. 345-50, 1998.
19. LOPES, C.; DINA, C.; DURAND, E. et al. PAI-1 polymorphisms modulate phenotypes associated with the metabolic syndrome in obese and diabetic Caucasian population. *Diabetologia*, v.46, n.9, p.1284-90, 2003.
20. GRUNDY, S.M.; BREWER, H.B.J.; CLEEMAN, J.I. et al. Definition of metabolic syndrome: Report of the National heart, lung and Blood Institute/ American Heart Association Conference on scientific issues related to definition. *Circulation*, v.109, n.3, p. 433-38, 2004a.
21. HANEFELD, M.; LEONHARDT, W., Das metabolische syndrom. *Dt Gesundh-Wesen*, v.36, p.545-551, 1981.

22. KAPLAN NM. The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med* 1989; 149:1514–1520.
23. DESCOVICH, G.C.; BENASSI, B.; CANELLI, V. et al. An epidemic view of the plurimetabolic syndrome. In: CREPALDI, G.; TIENGO, A.; MANZANATO, E. *Diabetes, Obesity and Hyperlipidemia: The plurimetabolic syndrome*. Amsterdam: Elsevier Science, 1993. p.67–74.
24. DEFRONZO RA, FERRANNINI E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care*. 1991 Mar;14(3):173–94.
25. GROOP, L.; ORHO-MELANDER, M. The dysmetabolic syndrome. *J Intern Med*, v.250, n.2, p.105–20, 2001.
26. PASSARELLI JUNIOR, O.; FUCHS, F.; BRANDÃO, A. *Pocket book: síndrome metabólica*. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2004.
27. DUARTE, A.C.; FAILLACE, G.; WADI, M.T.; PINHEIRO, R. *Síndrome metabólica: Semiologia, Bioquímica e prescrição nutricional*. Rio de Janeiro: Axcel Books, 2005.
28. BAHIA, L.; DE AGUIAR, L.G.; VILLELA, N.R. et al. The endothelium in the metabolic syndrome. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, v.50, n.2, p.291–303, 2006.
29. SPOSITO AC, CARAMELLI, B.; FONSECA, F.A. et al. IV Brazilian Guideline for Dyslipidemia and Atherosclerosis prevention. *Arq Bras Cardiol* 2007; v. 88, (Suppl 1): p.2–19.
30. ROSENBAUM P, FERREIRA SRG. An Update on Cardiovascular Risk of Metabolic Syndrome. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2003; v. 47, n. 3, p. 220–227.
31. MATOS, A.F.G.; MOREIRA, R.O; GUEDES, E.P. Aspectos neuroendócrinos da síndrome metabólica. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2003; v.47, n.4, p.410–420.
32. GRASSI, G.; SERAVALLE, G.; DELL'ORO, R. et al. Participation of the hypothalamus-hypophysis axis in the sympathetic activation of human obesity. *Hypertension* 2001; v.38, n.6, p.1316–20.

33. BALKAU, B.; CHARLES, M.A. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med* 1999; v.16, n.5, p.442-3.
34. ALBERTI, K.G.; ZIMMET, P.Z.; SHAW, J. IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome—a new worldwide definition. *Lancet* 2005; v.366, n.9491, p.1059-62.
35. RODILLA, E.; GONZÁLEZ, C.; COSTA, J.A. et al. New definition of metabolic syndrome: does it have the same cardiovascular risk? *Rev Clin Esp* 2007; v. 207, n. 2, p. 69-74.
36. FORD, E.S.; GILES, W.H.; DIETZ, W.H. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults. *JAMA* 2002; v.287, n.3, p.356-59.
37. ALEXANDER, C.M.; LANDSMAN, P.B.; TEUTSCH, S.M. et al. Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III); National Cholesterol Education Program (NCEP). *Diabetes* 2003; v.52, n.5, p.1210-4.
38. CAMERON AJ, SHAW JE, ZIMMET PZ. The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2004; v.33, n.2, p. 351-75.
39. BRANDÃO AP, BRANDÃO AA, ARAÚJO EM et al. Familial aggregation of arterial blood pressure and possible genetic influence. *Hypertension* 1992; v.19, n.2, p.214-7.
40. POZZAN R. Hiperinsulinemia e agregação de fatores de risco cardiovascular em uma série de casos da população da cidade do Rio de Janeiro. Tese (Doutorado em cardiologia)—Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2002.
41. SALAROLI LB, BARBOSA GC, MILL JG et al. Prevalence of metabolic syndrome in population-based study, Vitória, ES-Brazil. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2007; v.51, n.7, p.1143-1152.
42. CARANTI DA, LAZZER S, DÂMASO AR. Prevalence and risk factors of metabolic syndrome in Brazilian and Italian obese adolescents: a comparison study. *Int J Clin Pract* 2008; v. 62, n.10, p.1526-32.

43. OLIVEIRA JE, MILECH A, FRANCO LJ et al. The prevalence of diabetes in Rio de Janeiro, Brazil. The Cooperative Group for the Study of Diabetes Prevalence in Rio de Janeiro. *Diabetes Care* 1996; v. 19, n. 06, p. 663-6.
44. TORQUATO MT, MONTENEGRO JÚNIOR RM, VIANA LA et al. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban population aged 30-69 years in Ribeirão Preto (São Paulo), Brazil. *São Paulo Med J* 2003; v. 121, n.6, p.224-30.
45. HOWARD, B.V.; CRIQUI, M.H.; CURB, J.D. et al. Risk factor clustering in the insulin resistance syndrome and its relationship to cardiovascular disease in postmenopausal white, black, hispanic, and Asian/ Pacific Islander women. *Metabolism* 2003; v.52, n.3, p.362-71.
46. MERCURO, G.; VITALE, C.; FINI, M. et al. Lipid profiles and endothelial function with low-dose hormone replacement therapy in postmenopausal women at risk for coronary artery disease: a randomized trial. *Int J Cardiol* 2003; v.89, n.2-3, p.257-65.
47. MACHADO, LV. Falência ovariana. In: *Endocrinologia Ginecológica*. Rio de Janeiro: MEDSI; 2000.p 32-35.
48. BURGER, H.G.; DUDLEY, E.C.; ROBERTSON, D.M. et al. Hormonal changes in the menopause transition. *Recent Prog Horm Res* 2002; v.57, p.257-75.
49. FERRARA CM, LYNCH NA, NICKLAS BJ, RYAN AS, BERMAN DM. Differences in adipose tissue metabolism between postmenopausal and perimenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 Sep;87(9):4166-70.
50. PASCOT A, DESPRÉS JP, LEMIEUX I et al. Deterioration of the metabolic risk profile in women. Respective contributions of impaired glucose tolerance and visceral fat accumulation. *Diabetes Care*. 2001 May;24(5):902-8.
51. PFEILSCHIFTER J, KÖDITZ R, PFOHL M et al. Changes in proinflammatory cytokine activity after menopause. *Endocr Rev* 2002; v. 23, n. 1, p. 90-119.
52. DAVISON S, DAVIS SR. New markers for cardiovascular disease risk in women: impact of endogenous estrogen status and exogenous postmenopausal hormone therapy. *Journal of clinical Endocrinology and Metabolism* 2003; v.88, n.6, p.2470-79.

53. SATTAR N, GAW A, SCHERBAKOVA O et al. Metabolic syndrome with and without C-reactive protein as a predictor of coronary heart disease and diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Circulation* 2003; v.108, n. 4, p. 414-419.
54. KIP KE, MARROQUIN OC, KELLEY DE et al. Clinical importance of obesity versus the metabolic syndrome in cardiovascular risk in women: a report from the Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) study. *Circulation* 2004; v.109, n.6, p.706-13.
55. FORD ES. Risks for all-cause mortality, cardiovascular disease, and diabetes associated with the metabolic syndrome: a summary of the evidence. *Diabetes Care* 2005; v.28, n.7, p.1769-78.
56. GALASSI A, REYNOLDS K; HE J. Metabolic syndrome and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis. *Am J Med* 2006; v.119, n.10, p.812-9.
57. GAMI AS, WITT BJ, HOWARD DE et al. Metabolic syndrome and risk of incident cardiovascular events and death: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *J Am Coll Cardiol* 2007; v.49,n.4, p.403-14.
58. USA. Fred Hutchinson Cancer Research Center. LFTU – Standart Practice – General Guidelines for referring physicians. Seattle: FHCRC, version November 2003.
59. ROBINSON K, GUPTA A, DENNIS V. Hyperhomocysteinemia confers an independent increased risk of atherosclerosis in end-stage renal and is closely linked to plasma folate and pyridoxine concentrations. *Circulation* 1996; v. 94, p. 2743-2748.
60. HUSSEIN W, GREEN R, JACOBSEN DW et al. Normalization of hyperhomocysteinemia with L-tyroxine in hypothyroidism. *Ann Intern Med* 1999; v.131, p.348-51.
61. DE LEO V, LA MARCA A, MORGANTE G et al. Randomized control study of the effects of raloxifene on serum lipids and homocysteine in older women. *Am. J. Obstet. Gynecol* 2001; v.184, p.350-3.
62. PARNETTI L, CASO V, SANTUCCI A et al. Mild hyperhomocysteinemia is a risk factor in all- etiological subtypes of stroke. *Neurol Sci* 2004; v. 25, n. 1, p. 13-7.

63. QUASCHNING T, MAINKA T, NAUCK M et al. Immunosuppression enhances atherogenicity of lipid profile after transplantation. *Kidney. Int Suppl* 1999; v. 71, p. 235-7.
64. HIGGINS K, NOON C, DAVIES MA et al. Features of the metabolic syndrome present in survivors of bone marrow transplantation in adulthood. *Bone Marrow Transplant* 2005; v.36, n.3, p.279-80.
65. SHALITIN S, PHILLIP M, STEIN J, GOSHEN Y, CARMİ D, YANIV I. Endocrine dysfunction and parameters of the metabolic syndrome after bone marrow transplantation during childhood and adolescence. *Bone Marrow Transplant* 2006; v. 37, n. 12 p. 1109-1117.
66. BAKER KS, NESS KK, STEINBERGER J. et al. Diabetes, hypertension, and cardiovascular events in survivors of hematopoietic cell transplantation: a report from the bone marrow transplantation survivor study. *Blood* 2007; v.109, n.4, p.1765-72.
67. BARRET-CONNOR E, LAUGHLIN GA. Hormone therapy and coronary artery calcification in asymptomatic postmenopausal women: the Rancho Bernardo Study. *Menopause* 2005; v.12, n.1, p.40-8.
68. STAREN ED, OMER S. Hormone replacement therapy in postmenopausal women. *American Journal of Surgery* 2004; v. 188, n. 2, p. 136-49.
69. REID RL. Translating the latest scientific advances into clinical practice – the Women's Health Initiative Study. *Evidence – based obstetrics e gynecology* 2002; v. 4, n. 3, p. 110-111.
70. SALPETER SR, WALSH JM, ORMISTON TM, et al. Meta-analysis: effect of hormone-replacement therapy on components of the metabolic syndrome in postmenopausal women. *Diabetes Obes Metab* 2006; v. 8, n. 5, p. 538-554.
71. OMAR MA, WILSON JP, COX TS. Rhabdomyolysis and HMG-CoA reductase inhibitors. *Ann Pharmacother* 2001; v. 9, n. 35, p. 1096-107.
72. TAUCHMANOVA L, SELLERI C, DE ROSA G et al. High prevalence of endocrine dysfunction in long-term survivors after allogeneic bone marrow transplantation for hematologic diseases. *Cancer*, 2002; v. 95, n. 5, p. 1076-1084.

73. PICCIONI P, SCIRPA P, D'EMILIO I. et al. Hormonal replacement therapy after stem cell transplantation. *Maturitas* 2004, v. 49, n. 4, p. 327-33.

CAPÍTULO 7

Comparação entre as globulinas antitímócito de cavalo e de coelho na terapia de imunossupressão e no transplante de medula óssea para anemia aplástica severa

7.1. Conceitos gerais

A anemia aplástica (AA) é uma doença potencialmente fatal caracterizada por pancitopenia e aplasia medular secundárias à falência da hematopoese. Foi descrita inicialmente em 1888 por Paul Ehrlich, a partir da autópsia de uma jovem gestante falecida após um quadro clínico catastrófico de anemia severa, hemorragia, febre e hipocelularidade da medula óssea¹.

A AA pode ser de origem tanto hereditária quanto adquirida. Os casos hereditários de falência medular são incomuns e, geralmente, manifestam-se na primeira década de vida, acompanhados de anormalidade físicas, como baixa estatura, alterações de membros superiores, hipogonadismo e manchas *café au lait*². A identificação das formas hereditárias de falência medular é imprescindível em virtude da falta de resposta dessas formas à terapia de imunossupressão (TIS), sendo recomendado o tratamento de suporte e o TMO nos casos mais graves². A anemia de Fanconi é a entidade nosológica mais comum das falências medulares hereditárias, apresentando uma herança autossômica recessiva e um comprometimento nos mecanismos de reparo do DNA, com consequente predisposição ao desenvolvimento de leucemia e tumores sólidos³. Outras formas menos frequentes de falência medular de origem hereditária são a disceratose congênita, a púrpura amegacariocítica, a síndrome de Schwachman-Diamond, entre outras².

A maioria dos casos de AA adquirida não apresenta uma etiologia identificável². Entretanto, em raros casos como esse, é possível a identificação de um agente etiológico, sendo os mais frequentes: medicamentos (por exemplo: cloranfenicol, agentes quimioterápicos), vírus (por exemplo: hepatites virais, CMV, parvovírus B19, vírus da imunodeficiência humana – HIV), agentes químicos (por exemplo: arsênico, benzeno, inseticidas), radiação ionizante, doenças autoimunes (por exemplo: lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatoide)

e gestação. O pico principal de incidência da AA ocorre dos 15 aos 25 anos, observando-se um pico menor após os 60 anos². A incidência estimada da AA é a de dois casos anuais por milhão de habitantes na Europa, sendo duas a três vezes maior em alguns países do sudeste asiático^{4,5}. A incidência estimada da AA no Brasil é a de 2,7 casos anuais por milhão de habitantes, com discretas variações entre as diferentes regiões geográficas⁶.

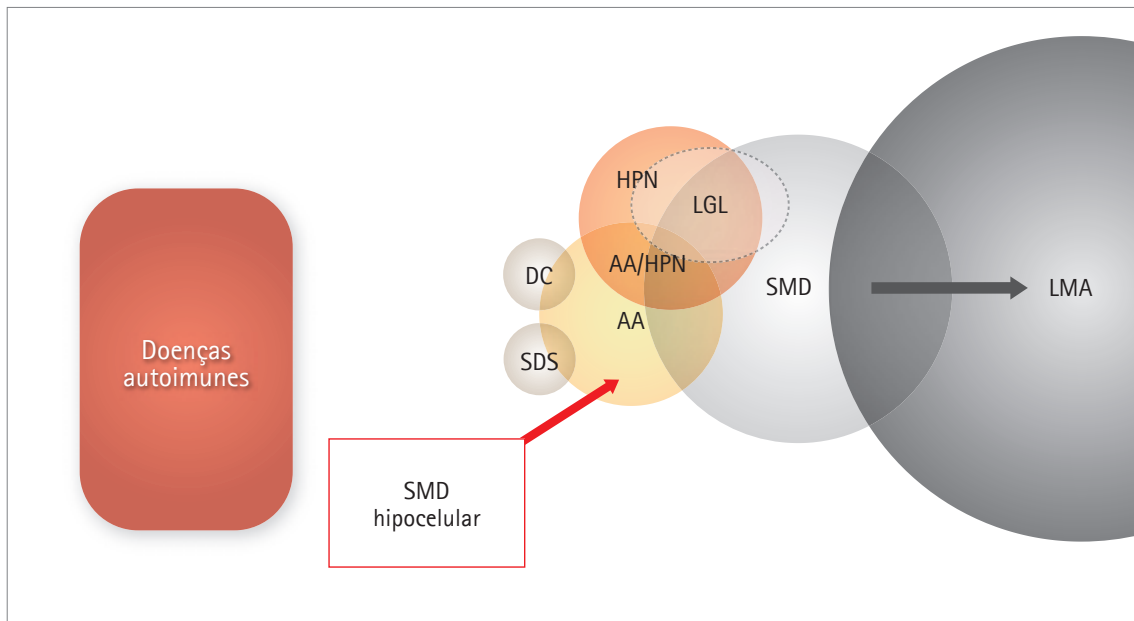


Figura 23 – Sobreposição da anemia aplástica com outras entidades nosológicas

Fonte: adaptado de Young NS et al. Blood 2010; 108:2509-19.

Legenda: AA, anemia aplástica; DC, disqueratose congênita; HPN, hemoglobinúria paroxística noturna; LGL, leucemia de grandes linfócitos granulares; LMA, leucemia mieloide aguda; SMD, síndrome mielodisplásica; SDS, Síndrome de Schwachman-Diamond.

Existe uma sobreposição da AA com outras entidades nosológicas em relação tanto à sua fisiopatologia quanto às suas manifestações clínicas (Figura 23). A desordem mais comumente confundida com AA é a síndrome mielodisplásica (SMD) hipoplástica, observada em cerca de 20% dos casos diagnosticados de SMD⁷. A escassez de material medular para a detecção de alterações morfológicas displásicas, o reduzido índice mitótico e a possibilidade de um cariótipo normal em cerca de 50% dos pacientes com SMD dificultam esse diagnóstico diferencial⁷. Contudo, o perfil de citocinas e de quimiocinas difere entre os pacientes portadores de AA e SMD, principalmente os níveis de trombopoetina e da quimiocina C-C-Motif ligante⁸. Entretanto, alguns pacientes com SMD podem responder à imunossupressão, particularmente aqueles com trissomia do cromossomo 8 e com o fenótipo do HLA DR15, independentemente da celularidade medular⁷.

Cerca de 70% dos casos de AA decorrem de um mecanismo autoimune secundário à expansão oligoclonal de linfócitos T citotóxicos direcionados contra as CTH, induzindo à sua apoptose e, conseqüentemente, à falência da hematopoese⁹. As principais evidências de uma fisiopatologia autoimune na AA são a reconstituição hematopoética autóloga em pacientes com falha primária de pega de enxerto após o TCTH e a resposta observada após o tratamento imunossupressor⁹. As células efectoras na AA são linfócitos T citotóxicos, apresentando um perfil Th1, expressando e secretando IFN- γ ¹⁰. Um número elevado de linfócitos T foi detectado nas áreas de hematopoese residual na medula óssea, reforçando a hipótese de destruição direta das CTH¹¹. Os linfócitos T citotóxicos na AA encontram-se expandidos de maneira oligoclonal, com uma heterogeneidade limitada em relação aos receptores de células T, consistente com o reconhecimento de um número restrito de antígenos na AA¹². A análise por *microarray* dos linfócitos da medula óssea permitiu a identificação de 178 e 183 genes diferentemente expressos respectivamente nos linfócitos T CD4+ e T CD8+ nos portadores de AA¹³. Os principais genes desregulados associam-se à codificação de citocinas/quimiocinas, regulação da transcrição, formação de canais iônicos e adesão celular¹³. Observa-se, também, uma superexpressão de genes dos receptores *toll-like* nos linfócitos T CD4+ e de receptores do tipo *killer immunoglobulin-like* nos linfócitos T CD8+ da medula óssea, sugerindo também a participação da via inata da imunidade na fisiopatologia da AA¹³. Assim, a ativação de células dendríticas, principalmente as do tipo 1, parece promover a polarização de linfócitos com perfil T helper 0 para Th1, resultando na ativação de linfócitos T CD8+ e, conseqüentemente, na destruição das CTH¹⁴. Além disso, os níveis de linfócitos T reguladores (Treg) encontram-se reduzidos em pacientes com AA, comprometendo uma das principais alças da regulação periférica da autoimunidade¹⁵. A redução nos níveis de linfócitos Treg associa-se a uma redução na expressão do fator de transcrição *nuclear factor activating T cell 1* (NFAT1)¹⁵.

É interessante que a infusão de linfócitos Treg foi capaz de atenuar a destruição da medula óssea em um modelo experimental de AA em camundongos¹⁶. Recentemente, demonstrou-se que a atividade dos linfócitos T helper 17, uma subclasse de linfócitos T CD4+, produtora da IL-17 e indutora de inflamação e autoimunidade, encontra-se aumentada na AA e correlaciona-se com a atividade da doença¹⁷. Além disso, a terapia anti-IL-17 aboliu parcialmente a destruição da hematopoese quando administrada precocemente em um modelo experimental de AA¹⁷. Os mecanismos responsáveis pela ativação aberrante dos linfócitos Th1 na AA ainda não são conhecidos, podendo se relacionar a polimorfismos nos genes das

citocinas e à superexpressão do HLA DR2¹⁸. Os principais mediadores relacionados à supressão da hematopoese na AA são o IFN- α e o TNF- γ ¹⁹. Níveis intracelulares elevados de IFN- α nos linfócitos T podem prever a resposta à TIS, observando-se uma redução desses níveis nos pacientes respondedores¹⁰. A produção do TNF- α pelos linfócitos T CD4+ e T CD8+ também se encontra aumentada na AA, observando-se uma ação indutora de apoptose nas CTH por essa citocina²⁰. Apesar da ação central do TNF- γ na fisiopatologia da AA, existem poucos estudos avaliando o papel terapêutico dos agentes biológicos antiTNF (infliximabe e etanercept)²¹. Os níveis da IL-2 e a expressão do antígeno complexo ativador de células T (do inglês, *T cell activating complex* – TAC), receptor da IL-2 nos linfócitos T, encontram-se elevados na AA, podendo se observar resposta hematológica em pacientes com AA moderada após o uso do anticorpo contra o receptor da IL-2 (daclizumabe)²². Os níveis das IL-12, 23 e 27, todas pertencentes à superfamília da IL-12, também apresentam-se aumentados na AA²³. Por outro lado, os níveis de IL-4 e IL-10, citocinas relacionadas ao perfil T helper 2, encontram-se normais nos pacientes com AA em atividade, observando-se um incremento nos níveis dessas citocinas e uma redução na relação IFN- α /IL-4 nos respondedores à TIS²⁴. As células mesenquimais da medula óssea na AA caracterizam-se por um reduzido potencial de diferenciação, um deficiente suporte para a formação de colônias hematopoéticas e um comprometimento na inibição dos linfócitos T autorreativos^{25,26}. Finalmente, a densidade microvascular e os níveis do fator de crescimento endotelial vascular também se encontram reduzidos na AA, sugerindo um comprometimento da angiogênese nessa desordem²⁷. Em decorrência da resposta autoimune aberrante, do comprometimento na ação supressora dos linfócitos Treg, da disfunção das células mesenquimais e das alterações na angiogênese intramedular, ocorre a destruição das células hematopoéticas e a falência medular (Figura 24). O número de CTH na medula óssea de pacientes com AA encontra-se severamente reduzido, e as poucas CTH remanescentes apresentam um fenótipo direcionado à apoptose, como evidenciado pela superexpressão da molécula FasL^{28,29}.

O comprimento dos telômeros encontra-se reduzido nos granulócitos e nas células mononucleares de sangue periférico nos pacientes com AA, observando-se uma correlação direta entre o encurtamento telomérico e a duração da doença³⁰. De maneira interessante, o comprimento dos telômeros retorna ao normal nos pacientes respondedores à TIS. Cerca de um terço dos pacientes com AA apresentam encurtamento telomérico secundário à redução na atividade da enzima telomerase, principalmente por mutações no gene responsável pela síntese da enzima transcriptase reversa da telomerase³¹. A presença dessas mutações pode

ser detectada em alguns familiares de portadores de AA, sem acarretar alterações hematológicas³². Os pacientes com telômeros mais curtos apresentam um risco aumentado de recaída, de evolução clonal e uma menor sobrevida global após a TIS³³.

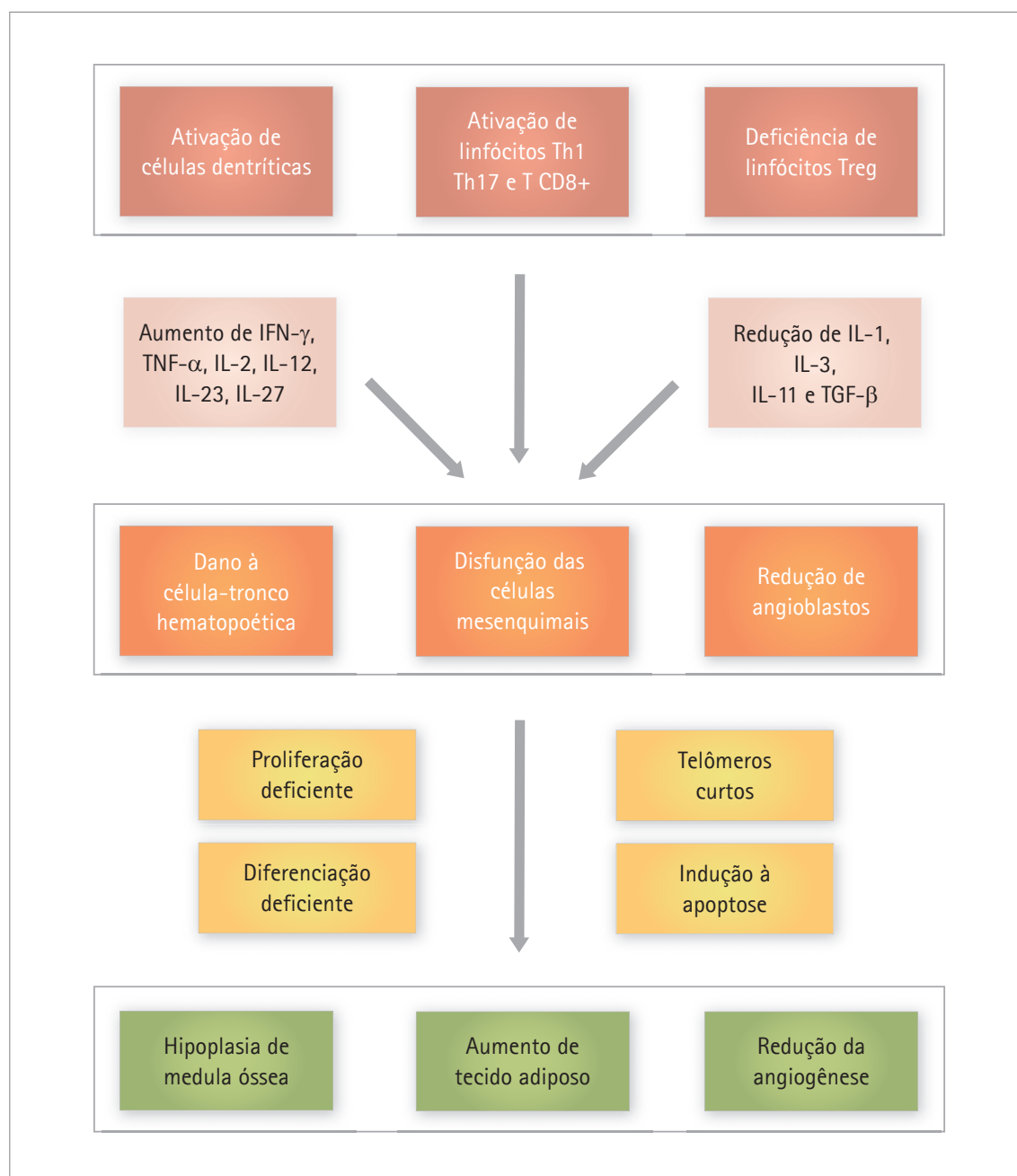


Figura 24 – Fisiopatologia da anemia aplástica

Fonte: adaptado de Li JP et al. Crit Rev Oncol Hematol 2010;75:79-93.

Legenda: IL, interleucina; IFN- α , interferon gama; TGF- β , fator de transformação do crescimento beta; TNF- α , fator de necrose tumoral alfa.

Os pacientes com AA possuem um risco de evolução para diferentes desordens clonais, como a hemoglobinúria paroxística noturna (HPN), a SMD e a leucemia mieloide

aguda (LMA). Cerca de 40% a 50% dos pacientes com AA desenvolvem clones de células com fenótipo da HPN, porém esses clones geralmente são reduzidos numericamente e não promovem manifestações clínicas de trombose e hemólise³⁴. O risco de desenvolvimento de alterações clonais após a primeira década do diagnóstico de AA é de 10% a 20%, sendo maior no subgrupo de pacientes sem resposta completa à TIS. A monossomia do cromossomo 7 é a anormalidade citogenética mais frequente, conferindo um prognóstico reservado pelo alto risco de transformação para LMA³⁵.

O mecanismo subjacente ao desenvolvimento das alterações clonais provém de mutações espontâneas nas CTH, seguido da seleção daquelas com fenótipo de resistência aos estímulos apoptóticos da autoimunidade da AA³⁶.

A morbimortalidade na AA relaciona-se diretamente ao grau das citopenias no sangue periférico. Assim, a AA é classificada como não severa, severa e muito severa². O diagnóstico de anemia aplástica severa (AAS) baseia-se na combinação de uma medula óssea com uma celularidade menor do que 25% associada a pelo menos dois dos seguintes critérios: contagem absoluta de neutrófilos (CAN) menor do que 500/ μL , contagem de plaquetas menor do que 20.000/ μL e contagem de reticulócitos inferior a 60.000/ μL^2 . Os critérios para AA muito severa são iguais aos anteriores, excetuando-se a contagem de neutrófilos, que deve ser obrigatoriamente inferior a 200/ μL^2 . A categoria de pacientes com a apresentação não severa apresenta uma medula óssea hipocelular, porém sem a presença dos critérios de severidade. A mortalidade para os pacientes com AA severa e muito severa submetidos apenas ao tratamento de suporte atinge cerca de 80% em dois anos, decorrendo principalmente de complicações infecciosas como a sepse bacteriana e as infecções fúngicas invasivas (IFI)³⁷.

7.2. Terapia imunossupressora na anemia aplástica adquirida

Os pacientes com AA na forma severa devem receber tratamento específico precocemente em razão da alta morbimortalidade desse subgrupo. Os pacientes com contra-indicação ao TCTH em decorrência da idade ou sem um doador aparentado HLA idêntico devem ser submetidos à imunossupressão através da combinação da globulina antitimócito (GAT) com

a CSA. Atualmente, recomenda-se a TIS como primeira linha de tratamento para todos os pacientes com AAS com idade acima de 40 anos³⁸. As taxas de resposta à TIS com a GAT de cavalo e a CSA situam-se entre 60% e 80%, com uma sobrevida de aproximadamente 75% a 85% em cinco anos³⁹⁻⁴². Estudos randomizados demonstraram a superioridade da combinação da GAT com a CSA em comparação à GAT isoladamente, tanto em relação à resposta hematológica quanto à sobrevida^{43,44}. A resposta à TIS normalmente não ocorre antes de três meses, demandando suporte transfusional adequado e tratamento das complicações infecciosas até a melhora hematológica³⁸. A administração do G-CSF após a TIS não altera a taxa de resposta e não melhora a taxa de sobrevida global. O uso do G-CSF promove unicamente a redução da taxa de complicações infecciosas precoces, particularmente no subgrupo de pacientes com AA muito severa submetido à TIS⁴⁵. A contagem basal de reticulócitos e de linfócitos pode ser utilizada para prever a resposta à TIS. Uma contagem absoluta de reticulócitos maior ou igual a 25.000/ μ L e/ou uma contagem absoluta de linfócitos (CAL) maior ou igual a 1.000/ μ L associam-se a maiores taxas de resposta hematológica e melhor sobrevida⁴⁶.

Apesar das excelentes taxas de resposta hematológica e de sobrevida observadas nos pacientes com AAS submetidos à TIS, a maioria não apresenta normalização dos índices hematimétricos e muitos acabam por recair ou desenvolver alterações clonais. A taxa de recaída após a TIS situa-se em torno de 30% quando a CSA é retirada após os seis primeiros meses da imunossupressão⁴⁷. O uso da CSA por períodos mais prolongados associa-se a menores taxas de recaída, sugerindo uma dependência da CSA mesmo nos pacientes respondedores à TIS⁴⁸. O risco de desenvolvimento de complicações clonais nos pacientes submetidos à TIS é elevado, cerca de 8% de SMD e LMA, 10% de HPN na forma hemolítica e 11% de tumores sólidos após cerca de uma década de acompanhamento⁴³.

7.3. Transplante alogênico de medula óssea na anemia aplástica adquirida

O TCTH é a primeira opção terapêutica na AAS recém-diagnosticada em pacientes com idade inferior a 40 anos e com doador aparentado HLA idêntico³⁸. Estudos recentes evidenciam uma redução da morbimortalidade do TCTH aparentado HLA idêntico em pacientes mais idosos, sinalizando um possível aumento na idade limite para a indicação desse

procedimento como primeira linha^{49,50}. Ele é o tratamento de segunda linha para os pacientes com mais de 40 anos que apresentam falência ou recaída após a TIS³⁸.

A fonte de CTH para o transplante alogênico aparentado HLA idêntico em pacientes com AAS deve ser a medula óssea, não sendo recomendada a utilização do produto obtido a partir da aférese de sangue periférico. A utilização de CTH de sangue periférico associa-se a uma maior incidência DECHc e a uma redução na sobrevida, particularmente no subgrupo de pacientes mais jovens⁵¹. A dose mínima recomendada de células nucleadas da medula óssea é de $3 \times 10^8/\text{kg}$, visto que doses menores associam-se a um risco aumentado de falência primária de enxerto⁵². Não existem dados sobre a dose mínima de CTH, porém, recomenda-se que o produto contenha pelo menos 3×10^6 células CD34+ / kg⁵³.

O regime de condicionamento recomendado para os pacientes com AAS submetidos ao TCTH caracteriza-se por ser não mieloablativo e altamente imunossupressor, com o objetivo de reduzir a taxa de falência primária de enxerto e a ocorrência da DECH. Esse regime baseia-se na associação da ciclofosfamida na dose de 50 mg/kg por quatro dias juntamente com a GAT³⁸. A necessidade da associação da GAT à CTX no regime de condicionamento ainda é controversa⁵⁴. Para pacientes mais idosos, a associação da fludarabina a uma dose reduzida de CTX parece reduzir a taxa de falência primária de enxerto e aumentar a sobrevida⁵⁵. A imunossupressão pós-transplante consiste na associação da CSA na dose de 5 mg/kg/dia ao MTX "curto" ($15 \text{ mg}/\text{m}^2$ no dia +1 e $10 \text{ mg}/\text{m}^2$ nos dias +3, +6 e +11)³⁸. A CSA em dose terapêutica deve ser mantida por pelo menos nove meses após o TCTH, devendo ser reduzida gradativamente para minimizar o risco de falência secundária do enxerto³⁸. O quimismo deve ser monitorado frequentemente após o TCTH, principalmente no momento da retirada da CSA. As principais causas de falência secundária de enxerto são a manutenção de níveis baixos de CSA e a retirada precoce da CSA.

7.4. Características da globulina antitimócito

A GAT é obtida através da imunização de animais, geralmente cavalos ou coelhos, com timócitos ou linhagens de linfócitos T, seguido da purificação da fração das imunoglobulinas do soro desses animais⁵⁶. Existem diferentes marcas de GAT, ocorrendo variações em relação à fonte de células utilizada para imunização e aos animais que as recebem (Quadro 5). As preparações obtidas em cavalos são o ATGAM[®] (Pharmacia e Upjohn) e a Linfoglobulina[®] (Genzyme). Ambas utilizam, para a imunização, macerado de timo obtido em

cirurgias cardíacas. O ATGAM® somente é disponível nos Estados Unidos e a Linfoglobulina® não é mais manufaturada. As preparações obtidas em coelho são a Timoglobulina® (Genzyme) e a GAT da Fresenius. A Timoglobulina® utiliza células de timo para a imunização dos coelhos, enquanto a GAT da Fresenius utiliza a linhagem celular Jurkat (linfócitos T imortalizados obtidos de um paciente com leucemia linfoblástica aguda T). Apesar de compartilharem algumas características comuns, esses produtos são completamente distintos. Ou seja, um mesmo imunógeno pode gerar diferentes produtos do ponto de vista biológico conforme o animal utilizado para a obtenção da GAT. A farmacocinética da GAT depende de três fatores: a dose total administrada, o cronograma de administração e a disponibilidade de células do sistema imune capazes de se ligar aos seus anticorpos. A meia vida da GAT de coelho é cerca de 30 dias, podendo ser detectada até cinco semanas após a administração no condicionamento do transplante alogênico de CTH^{56,57}. Os níveis séricos da GAT de coelho correlacionam-se com a ocorrência e a gravidade tanto da DECH aguda quanto da crônica em pacientes submetidos ao transplante não aparentado^{58,59}. Níveis elevados da GAT de coelho associam-se também a um risco aumentado da doença linfoproliferativa pós-transplante (DLP)⁵⁸.

Quadro 5 – Diferentes preparações de globulina antimicótico

Marca	Imunógeno	Animal	Disponibilidade
Linfoglobulina®	Timócitos humanos	Cavalo	Não mais manufaturado
ATGAM®	Timócitos humanos	Cavalo	Estados Unidos da América
Timoglobulina®	Timócitos humanos	Coelho	Todo o mundo
ATG Fresenius®	Células Jurkat	Coelho	Europa, Ásia e América Latina

Fonte: autor

7.5. Comparação da globulina antitimócito de cavalo com a de coelho na terapia de imunossupressão em anemia aplástica severa

A utilização da GAT no tratamento da AAS iniciou-se no final da década de 70, após os primeiros relatos de recuperação autóloga da hematopoese em alguns pacientes condicionados com a GAT para o TCTH, sugerindo que a imunossupressão por si só poderia ser terapêutica^{60,61}. Speck et al. demonstraram que a taxa de resposta era semelhante entre

os pacientes submetidos à GAT de cavalo seguida da infusão de medula óssea e aqueles submetidos à GAT de cavalo unicamente⁶². Em 1983, foi publicado o primeiro estudo randomizado demonstrando a superioridade da GAT de cavalo em comparação ao melhor tratamento de suporte disponível na época⁶³. Em 1991, foi demonstrado, em um ensaio clínico randomizado, que a utilização da CSA associada à GAT de cavalo aumentava a taxa de resposta em comparação à GAT de cavalo isoladamente (incremento de 31% para 65% em pacientes com AAS)^{43,64}. Inúmeros estudos realizados posteriormente evidenciaram uma taxa de resposta variando de 57% a 79% após a TIS baseada na associação da GAT de cavalo à CSA^{40,42,43,65,66,68,69}. Assim, a preparação padrão de GAT usada na TIS em AAS é a de cavalo, devido à maior experiência e aos resultados positivos obtidos com ela até o momento. A GAT de coelho foi desenvolvida posteriormente à de cavalo, tendo sido mais extensamente avaliada como tratamento de segunda linha para pacientes com AA recaída ou refratária à GAT de cavalo^{70,71}. Os resultados obtidos com a GAT de coelho em associação com a CSA como tratamento de segunda linha foram divergentes, possivelmente em decorrência de diferenças no intervalo entre a administração da GAT de cavalo e a de coelho e aos critérios de resposta adotados. O estudo mais recente, conduzido pelo National Institutes of Health (NIH), demonstrou uma taxa de resposta de 30% nos pacientes refratários à GAT de cavalo e de 65% nos pacientes em recaída da AA após a GAT de cavalo⁷¹.

Atualmente, a GAT de cavalo somente é disponível nos Estados Unidos, em decorrência do desinteresse das indústrias farmacêuticas por sua fabricação, resultando na adoção da GAT de coelho como primeira linha na TIS, apesar da inexistência de estudos demonstrando a intercambialidade entre a elas. A potência imunossupressora da GAT de coelho é superior à de cavalo, além de essa ser capaz de induzir a expansão *in vitro* de linfócitos Treg em cultura de linfócitos de sangue periférico^{72,73}. Dessa forma, teoricamente, a GAT de coelho deveria apresentar resultados iguais ou melhores do que a GAT de cavalo quando utilizada como primeira linha no tratamento imunossupressor da AAS.

7.6. Comparação da globulina antitimócito de cavalo com a de coelho no transplante de medula óssea

A CTX, na dosagem de 200 mg/kg, é utilizada isoladamente como regime de condicionamento para TCTH aparentado HLA idêntico em muitos centros⁷⁴. Contudo, a taxa de falência primária observada com esse regime situa-se em torno de 15%, ocorrendo prin-

principalmente em pacientes politransfundidos⁷⁴. O acréscimo da irradiação linfonodal total ou da ICT à CTX reduziu a taxa de falência primária para menos de 5%; porém, aumentou significativamente as taxas de DECH, pneumonite intersticial e malignidade secundária, não impactando a sobrevida⁷⁵.

A associação da GAT de cavalo com a CTX foi inicialmente avaliada no contexto de um segundo transplante em pacientes com falência secundária do enxerto⁷⁶. Posteriormente, essa associação foi testada como condicionamento de primeira linha para o TCTH⁷⁷. As doses utilizadas da GAT de cavalo (ATGAM®, Pharmacia e Upjohn) e da CTX foram respectivamente de 30 mg/kg por três dias (total de 90 mg/kg) e de 50 mg/kg por quatro dias (total de 200 mg/kg). A associação da CSA com o MTX foi utilizada para a profilaxia da DECH. As taxas de rejeição primária e de DECH aguda e crônica foram de 5%, 15% e 34%, respectivamente. A sobrevida global em três anos foi de 92%, um resultado superior ao controle histórico utilizando a ciclofosfamida isoladamente. Esses resultados levaram o *Center for International Blood and Marrow Transplant Research* (CIBMTR) a conduzir um ensaio clínico randomizado comparando o uso isolado de CTX contra a associação de CTX com a GAT de cavalo (ATGAM®, Pharmacia e Upjohn)⁵⁴. Após um acompanhamento de seis anos, não se observou uma diferença estatisticamente significativa na sobrevida em cinco anos (74% versus 80%, respectivamente para CTX isoladamente versus CTX com GAT de cavalo, $p=0,44$). As taxas observadas de falência primária de enxerto e de DECH também foram semelhantes entre os dois grupos. Esse ensaio clínico conduzido pelo CIBMTR foi questionado devido ao seu baixo poder para detectar uma diferença de sobrevida menor do que 20% entre os grupos³⁸. Um acompanhamento mais longo dos pacientes que receberam a associação da GAT de cavalo com CTX no condicionamento demonstrou as seguintes taxas: pega de neutrófilos de 96%, DECHa de 24% (somente 2,4% com grau ≥ 3) e DECHc de 26%⁷⁸. O desenvolvimento de neoplasias secundárias ocorreu em 7,4% dos pacientes, sendo o carcinoma o subtipo mais observado de neoplasia secundária. A DLP associada ao EBV ocorreu em 1,2% dos pacientes, associando-se à imunossupressão adicional relacionada ao tratamento da DECHa.

O regime de condicionamento atualmente recomendado para pacientes com AAS submetidos ao TCTH aparentado HLA idêntico consiste na associação de CTX 50 mg/kg x 4 (do dia -5 ao dia -2) com a GAT de coelho (Timoglobulina®, Genzyme) 3,75 mg/kg x 3 (do dia -5 ao dia -3)³⁸. A substituição da GAT de cavalo pela de coelho decorre da não comercialização da GAT de cavalo na maioria dos países do mundo. Contudo, inexistem estudos

demonstrando a intercambialidade desses produtos no condicionamento da AAS. Além disso, poucos estudos descreveram os resultados obtidos com a GAT de coelho no condicionamento para o TCTH aparentado HLA idêntico. A maioria dos estudos disponíveis utiliza a GAT de coelho no contexto do TCTH não aparentado^{59,79}. Um estudo com um número reduzido de pacientes portadores de AAS submetidos ao TCTH demonstrou a existência de diferenças nos resultados observados conforme a marca da GAT de coelho utilizada⁸⁰. Os pacientes que receberam a Timoglobulina® apresentaram um atraso na recuperação numérica dos linfócitos T CD4+ e CD8+ no dia +60 em comparação ao grupo que recebeu a GAT de coelho da Fresenius. Além disso, as taxas de reativação da antigenemia do CMV e de falência do tratamento preemptivo com o ganciclovir foram maiores no grupo submetido à Timoglobulina®.

7.7. Comparação da globulina antitimócito de cavalo com a de coelho no transplante renal

O cenário da terapia de indução do transplante renal pode ser utilizado para a comparação da GAT de cavalo com a de coelho em razão da disponibilidade de ensaios clínicos nesse contexto. A terapia de indução no transplante renal consiste na administração de agentes biológicos para modular as respostas imunológicas celular e humoral, prevenindo a rejeição aguda do órgão transplantado. Um dos agentes biológicos mais utilizados na terapia de indução do transplante renal é a Timoglobulina®, apesar da inexistência de um consenso sobre a utilização da GAT nesse contexto^{81,82}. Os questionamentos referentes ao uso da Timoglobulina® advêm do seu alto custo, da intensa imunossupressão após o seu uso e da obtenção de resultados semelhantes com o uso de antagonistas do receptor da IL-2⁸².

O primeiro estudo que comparou a GAT de cavalo (ATGAM®, Pharmacia e Upjohn) com a de coelho (Timoglobulina®, Genzyme) no transplante renal foi um ensaio clínico randomizado duplo cego⁹¹. Nesse estudo, os pacientes foram randomizados numa proporção de 2:1 para receber respectivamente a GAT de coelho (dose de 1,5 mg/kg) ou a de cavalo (dose de 15 mg/kg) no momento da cirurgia e por mais seis dias. A terapia imunossupressora de manutenção após o transplante foi igual entre os grupos, consistindo na associação de CSA, MMF ou azatioprina e prednisona. A profilaxia secundária da infecção pelo CMV com o ganciclovir oral foi administrada sempre que o paciente ou o doador apresentavam evidência sorológica da exposição prévia a esse vírus. Os resultados do acompanhamento por

cinco e dez anos sugerem uma maior sobrevida livre de eventos (rejeição, perda do enxerto e morte) no subgrupo que recebeu a GAT de coelho^{83,84}. Não ocorreram casos de doença pelo CMV e as diferenças nas incidências da DLP e de câncer não foram estatisticamente significativas entre os grupos⁸⁴. Os pacientes que receberam a GAT de coelho apresentaram uma linfopenia mais intensa e duradoura⁸³. Após uma mediana de acompanhamento de 24 meses, observou-se uma contagem persistentemente menor de linfócitos CD3+ (516 *versus* 825 células/ μ L, $p=0,06$) e CD4+ (227 *versus* 466 células/ μ L, $p=0,007$) no grupo submetido à Timoglobulina[®], não sendo observadas diferenças na contagem de linfócitos CD8+ (274 *versus* 327 células/ μ L, $p=NS$)⁸³. A comparação entre a GAT de cavalo (ATGAM[®], Pharmacia e Upjohn) e a GAT de coelho (Timoglobulina[®], Genzyme) na indução do transplante renal pediátrico foi avaliada através de uma coorte histórica⁸⁵. Todos os pacientes receberam profilaxia para o CMV. A incidência de infecção sintomática pelo EBV, excluindo-se a DLP, foi superior no grupo submetido à GAT de coelho (8% *versus* 3%, $p=0,002$). A incidência da DLP foi superior no grupo submetido à Timoglobulina[®], porém essa diferença não foi estatisticamente significativa (6% *versus* 3%, $p=0,16$). Não se observaram diferenças significativas relacionadas a outras complicações infecciosas. A utilização da GAT de coelho na terapia de indução do transplante renal associa-se a uma maior taxa de infecção e de doença pelo CMV, recomendando-se a utilização de profilaxia nos pacientes de alto risco⁸⁶⁻⁸⁸. Os pacientes submetidos à GAT de coelho também apresentam um risco aumentado de infecção pelo EBV e de DLP, principalmente nos receptores com sorologia positiva para o EBV e/ ou com doador soropositivo para esse vírus. A incidência de viremia e da nefropatia pelo BKV também é maior nos receptores da GAT de coelho⁸⁶. Por fim, a incidência cumulativa de IFI no primeiro ano após o transplante renal é de 1,3%, existindo controvérsia sobre o impacto do uso da GAT de coelho sobre essa infecção^{89,88}.

Os resultados e as complicações após a utilização da GAT de coelho variam conforme a marca utilizada, observando-se desfechos diferentes entre a Timoglobulina[®] e a GAT de coelho da Fresenius na terapia de indução do transplante renal⁹⁰. A utilização da Timoglobulina[®] associou-se a uma maior incidência da infecção pelo CMV, *hazard ratio* de 2,16 (IC 95% = 1,04 – 4,48), particularmente pela não utilização da profilaxia da infecção pelo CMV na maioria dos pacientes. A incidência de malignidade também foi maior no grupo submetido à Timoglobulina[®], 12,3% *versus* 3,9% ($p=0,01$), sendo o linfoma a neoplasia mais comum (38,5% de todas as neoplasias). O tempo para o desenvolvimento da neoplasia foi menor no grupo que recebeu a Timoglobulina[®] (364 + 245 dias *versus* 653 + 365 dias,

$p=0,008$). As taxas de óbitos relacionados à imunossupressão (infecções e neoplasias) foram de 3,6 e 23,3 para cada mil pacientes por ano nos grupos da GAT da Fresenius e da Timoglobulina®, respectivamente. As taxas de rejeição aguda e de perda de enxerto não foram diferentes entre os grupos.

Os resultados obtidos no contexto do transplante renal demonstraram que a GAT de coelho associa-se a uma menor taxa de rejeição aguda e de perda do enxerto e a uma maior taxa de complicações infecciosas (CMV, EBV, BKV) e de neoplasias secundárias (principalmente a DLP) em comparação à de cavalo^{83-89, 91}. Assim, é plausível extrapolar a ocorrência de diferenças nas taxas de pega, de falência de enxerto, de DECH e de complicações infecciosas conforme o tipo de GAT utilizada no condicionamento do TCTH aparentado HLA idêntico em AAS.

Referências

1. EHRLICH P. Ueber einem Fall von Anämie mit Bemerkungen über regenerative Veränderungen des Knochenmarks. Charite-Annalen, 1888, 301-9.
2. BRODSKY, R. A.; JONES, R. J. Aplastic anaemia. Lancet, 2005, 9471: 1647-56.
3. TANIGUCHI, T.; D'ANDREA, A. D. Molecular pathogenesis of Fanconi anemia: recent progress. Blood, 2006, 11: 4223-33
4. ISSARAGRISIL, S. et al. The epidemiology of aplastic anemia in Thailand. Blood, 2006, 4: 1299-307.
5. KAUFMAN, D. W. et al. Relative incidence of agranulocytosis and aplastic anemia. Am.J.Hematol., 2006, 1: 65-7.
6. MALUF, E. et al. Incidence and risk factors of aplastic anemia in Latin American countries: the LATIN case-control study. Haematologica, 2009, 9: 1220-6.
7. SLOAND, E. M. Hypocellular myelodysplasia. Hematol.Oncol.Clin.North Am., 2009, 2: 347-60.

8. FENG, X. et al. Cytokine signature profiles in acquired aplastic anemia and myelodysplastic syndromes. *Haematologica*, 2011, 4: 602-6.
9. YOUNG, N. S.; SCHEINBERG, P.; CALADO, R. T. Aplastic anemia. *Curr.Opin.Hematol.*, 2008, 3: 162-8.
10. SLOAND, E. et al. Intracellular interferon-gamma in circulating and marrow T cells detected by flow cytometry and the response to immunosuppressive therapy in patients with aplastic anemia. *Blood*, 2002, 4: 1185-91.
11. MELENHORST, J. J. et al. T cells selectively infiltrate bone marrow areas with residual haemopoiesis of patients with acquired aplastic anaemia. *Br.J.Haematol.*, 1997, 3: 517-9.
12. ZENG, W. et al. Limited heterogeneity of T cell receptor BV usage in aplastic anemia. *J.Clin.Invest*, 2001, 5: 765-73.
13. ZENG, W. et al. Transcript profile of CD4+ and CD8+ T cells from the bone marrow of acquired aplastic anemia patients. *Exp.Hematol.*, 2004, 9: 806-14.
14. HE, G. S. et al. Changes of subsets of DC1 in the bone marrow of severe aplastic anemia patients. *Zhonghua Xue.Ye.Xue.Za Zhi.*, 2004, 11: 649-52.
15. SOLOMOU, E. E. et al. Deficient CD4+ CD25+ FOXP3+ T regulatory cells in acquired aplastic anemia. *Blood*, 2007, 5: 1603-6.
16. CHEN, J. et al. Minor antigen h60-mediated aplastic anemia is ameliorated by immunosuppression and the infusion of regulatory T cells. *J.Immunol.*, 2007, 7: 4159-68.
17. DE LATOUR, R. P. et al. Th17 immune responses contribute to the pathophysiology of aplastic anemia. *Blood*, 2010, 20: 4175-84.
18. GIDVANI, V. et al. Cytokine gene polymorphisms in acquired bone marrow failure. *Am.J.Hematol.*, 2007, 8: 721-4.

19. DUBEY, S.; SHUKLA, P.; NITYANAND, S. Expression of interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha in bone marrow T cells and their levels in bone marrow plasma in patients with aplastic anemia. *Ann.Hematol.*, 2005, 9: 572-7.
20. HARA, T. et al. Excessive production of tumor necrosis factor-alpha by bone marrow T lymphocytes is essential in causing bone marrow failure in patients with aplastic anemia. *Eur.J.Haematol.*, 2004, 1: 10-6.
21. DUFOUR, C. et al. Etanercept as a salvage treatment for refractory aplastic anemia. *Pediatr.Blood Cancer*, 2009, 4: 522-5.
22. SLOAND, E. M. et al. Long-term follow-up of patients with moderate aplastic anemia and pure red cell aplasia treated with daclizumab. *Haematologica*, 2010, 3: 382-7.
23. LI, J. et al. Interleukin-27 enhances the production of tumour necrosis factor-alpha and interferon-gamma by bone marrow T lymphocytes in aplastic anaemia. *Br.J.Haematol.*, 2011, 6: 764-72.
24. GIANNAKOULAS, N. C. et al. Clinical relevance of balance between type 1 and type 2 immune responses of lymphocyte subpopulations in aplastic anaemia patients. *Br.J.Haematol.*, 2004, 1: 97-105.
25. BACIGALUPO, A. et al. T-cell suppression mediated by mesenchymal stem cells is deficient in patients with severe aplastic anemia. *Exp.Hematol.*, 2005, 7: 819-27.
26. MARSH, J. C. et al. In vitro assessment of marrow 'stem cell' and stromal cell function in aplastic anaemia. *Br.J.Haematol.*, 1991, 2: 258-67.
27. GUPTA, P. et al. Bone marrow angiogenesis in aplastic anemia--a study of CD 34 and VEGF expression in bone marrow biopsies. *Hematology*, 2009, 1: 16-21.
28. CALLERA, F.; FALCAO, R. P. Increased apoptotic cells in bone marrow biopsies from patients with aplastic anaemia. *Br.J.Haematol.*, 1997, 1: 18-20.
29. LI, W. et al. Distinct overexpression of Fas ligand on T lymphocytes in aplastic anemia. *Cell Mol.Immunol.*, 2004, 2: 142-7.

30. BALL, S. E. et al. Progressive telomere shortening in aplastic anemia. *Blood*, 1998, 10: 3582-92.
31. YAMAGUCHI, H. et al. Mutations in TERT, the gene for telomerase reverse transcriptase, in aplastic anemia. *N.Engl.J.Med.*, 2005, 14: 1413-24.
32. BRUMMENDORF, T. H. et al. Telomere length in leukocyte subpopulations of patients with aplastic anemia. *Blood*, 2001, 4: 895-900.
33. SCHEINBERG, P. et al. Association of telomere length of peripheral blood leukocytes with hematopoietic relapse, malignant transformation, and survival in severe aplastic anemia. *JAMA*, 2010, 12: 1358-64.
34. YOUNG, N. S. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: current issues in pathophysiology and treatment. *Curr.Hematol.Rep.*, 2005, 2: 103-9.
35. MACIEJEWSKI, J. P. et al. Distinct clinical outcomes for cytogenetic abnormalities evolving from aplastic anemia. *Blood*, 2002, 9: 3129-35.
36. BAGBY, G. C.; MEYERS, G. Bone marrow failure as a risk factor for clonal evolution: prospects for leukemia prevention. *Hematology.Am.Soc.Hematol.Educ.Program.*, 2007, 40-6.
37. CAMITTA, B. M. et al. A prospective study of androgens and bone marrow transplantation for treatment of severe aplastic anemia. *Blood*, 1979, 3: 504-14.
38. MARSH, J. C. et al. Guidelines for the diagnosis and management of aplastic anaemia. *Br.J.Haematol.*, 2009, 1: 43-70.
39. BACIGALUPO, A. et al. Treatment of acquired severe aplastic anemia: bone marrow transplantation compared with immunosuppressive therapy--The European Group for Blood and Marrow Transplantation experience. *Semin.Hematol.*, 2000a, 1: 69-80.
40. BACIGALUPO, A. et al. Antilymphocyte globulin, cyclosporine, prednisolone, and granulocyte colony-stimulating factor for severe aplastic anemia: an update of the GITMO/EBMT study on 100 patients. *European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT)*

Working Party on Severe Aplastic Anemia and the Gruppo Italiano Trapianti di Midollo Osseo (GITMO). *Blood*, 2000b, 6: 1931-4.

41. FUHRER, M. et al. Immunosuppressive therapy for aplastic anemia in children: a more severe disease predicts better survival. *Blood*, 2005, 6: 2102-4.

42. LOCASCIULLI, A. et al. Outcome of patients with acquired aplastic anemia given first line bone marrow transplantation or immunosuppressive treatment in the last decade: a report from the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Haematologica*, 2007, 1: 11-8.

43. FRICKHOFEN, N. et al. Antithymocyte globulin with or without cyclosporin A: 11-year follow-up of a randomized trial comparing treatments of aplastic anemia. *Blood*, 2003, 4: 1236-42.

44. MARSH, J. et al. Prospective randomized multicenter study comparing cyclosporin alone versus the combination of antithymocyte globulin and cyclosporin for treatment of patients with nonsevere aplastic anemia: a report from the European Blood and Marrow Transplant (EBMT) Severe Aplastic Anaemia Working Party. *Blood*, 1999, 7: 2191-5.

45. TICHELLI, A. et al. A randomized controlled study in patients with newly diagnosed severe aplastic anemia receiving antithymocyte globulin (ATG), cyclosporine, with or without G-CSF: a study of the SAA Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood*, 2011, 17: 4434-41.

46. SCHEINBERG, P. et al. Predicting response to immunosuppressive therapy and survival in severe aplastic anaemia. *Br.J.Haematol.*, 2009b, 2: 206-16.

47. SCHREZENMEIER, H. et al. Relapse of aplastic anaemia after immunosuppressive treatment: a report from the European Bone Marrow Transplantation Group SAA Working Party. *Br.J.Haematol.*, 1993, 2: 371-7.

48. SARACCO, P. et al. Cyclosporin A response and dependence in children with acquired aplastic anaemia: a multicentre retrospective study with long-term observation follow-up. *Br.J.Haematol.*, 2008, 2: 197-205.

49. GUPTA, V. et al. Impact of age on outcomes after bone marrow transplantation for acquired aplastic anemia using HLA-matched sibling donors. *Haematologica*, 2010, 12: 2119-25.
50. SANGIOLO, D. et al. Outcome of allogeneic hematopoietic cell transplantation from HLA-identical siblings for severe aplastic anemia in patients over 40 years of age. *Biol.Blood Marrow Transplant.*, 2010, 10: 1411-8.
51. SCHREZENMEIER, H. et al. Worse outcome and more chronic GVHD with peripheral blood progenitor cells than bone marrow in HLA-matched sibling donor transplants for young patients with severe acquired aplastic anemia. *Blood*, 2007, 4: 1397-400.
52. NIEDERWIESER, D. et al. Improvement in rejection, engraftment rate and survival without increase in graft-versus-host disease by high marrow cell dose in patients transplanted for aplastic anaemia. *Br.J.Haematol.*, 1988, 1: 23-8.
53. RUSSELL, N. H.; GRATWOHL, A.; SCHMITZ, N. Developments in allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation. *Br.J.Haematol.*, 1998, 3: 594-600.
54. CHAMPLIN, R.; HO, W.; GALE, R. P. Antithymocyte globulin treatment in patients with aplastic anemia: a prospective randomized trial. *N.Engl.J.Med.*, 1983, 3: 113-8.
55. MAURY, S. et al. Improved outcome of patients older than 30 years receiving HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation for severe acquired aplastic anemia using fludarabine-based conditioning: a comparison with conventional conditioning regimen. *Haematologica*, 2009, 9: 1312-5.
56. MOHTY, M. Mechanisms of action of antithymocyte globulin: T-cell depletion and beyond. *Leukemia*, 2007, 7: 1387-94.
57. REMBERGER, M.; SUNDBERG, B. Rabbit-immunoglobulin G levels in patients receiving thymoglobulin as part of conditioning before unrelated donor stem cell transplantation. *Haematologica*, 2005, 7: 931-8.
58. PODGORNY, P. J. et al. High rabbit-antihuman thymocyte globulin levels are associated with low likelihood of graft-vs-host disease and high likelihood of posttransplant lymphoproliferative disorder. *Biol.Blood Marrow Transplant.*, 2010, 7: 915-26.

59. REMBERGER, M.; SUNDBERG, B. Low serum levels of total rabbit-IgG is associated with acute graft-versus-host disease after unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation: results from a prospective study. *Biol.Blood Marrow Transplant.*, 2009, 8: 996-9.
60. MATHE, G.; SCHWARZENBERG, L. Treatment of bone marrow aplasia by mismatched bone marrow transplantation after conditioning with antilymphocyte globulin--long-term results. *Transplant.Proc.*, 1976, 4: 595-602.
61. THOMAS, E. D. et al. Aplastic anaemia treated by marrow transplantation. *Lancet*, 1972, 7745: 284-9.
62. SPECK, B. et al. Treatment of aplastic anaemia by antilymphocyte globulin with and without allogeneic bone-marrow infusions. *Lancet*, 1977, 8049: 1145-8.
63. CHAMPLIN, R.; HO, W.; GALE, R. P. Antithymocyte globulin treatment in patients with aplastic anemia: a prospective randomized trial. *N.Engl.J.Med.*, 1983, 3: 113-8.
64. FRICKHOFEN, N. et al. Treatment of aplastic anemia with antilymphocyte globulin and methylprednisolone with or without cyclosporine. The German Aplastic Anemia Study Group. *N.Engl.J.Med.*, 1991, 19: 1297-304.
65. GLUCKMAN, E. et al. Results and follow-up of a phase III randomized study of recombinant human-granulocyte stimulating factor as support for immunosuppressive therapy in patients with severe aplastic anaemia. *Br.J.Haematol.*, 2002, 4: 1075-82.
66. ROSENFELD, S. et al. Antithymocyte globulin and cyclosporine for severe aplastic anemia: association between hematologic response and long-term outcome. *JAMA*, 2003, 9: 1130-5.
67. SCHEINBERG, P. et al. Treatment of severe aplastic anaemia with combined immunosuppression: anti-thymocyte globulin, ciclosporin and mycophenolate mofetil. *Br.J.Haematol.*, 2006, 6: 606-11.
68. SCHEINBERG, P. et al. Treatment of severe aplastic anemia with a combination of horse antithymocyte globulin and cyclosporine, with or without sirolimus: a prospective randomized study. *Haematologica*, 2009a, 3: 348-54.

69. TERAMURA, M. et al. Treatment of severe aplastic anemia with antithymocyte globulin and cyclosporin A with or without G-CSF in adults: a multicenter randomized study in Japan. *Blood*, 2007, 6: 1756-61.
70. DI, B. E. et al. Rabbit antithymocyte globulin (r-ATG) plus cyclosporine and granulocyte colony stimulating factor is an effective treatment for aplastic anaemia patients unresponsive to a first course of intensive immunosuppressive therapy. Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo (GITMO). *Br.J.Haematol.*, 1999, 2: 330-4.
71. SCHEINBERG, P.; NUNEZ, O.; YOUNG, N. S. Retreatment with rabbit anti-thymocyte globulin and ciclosporin for patients with relapsed or refractory severe aplastic anaemia. *Br.J.Haematol.*, 2006, 6: 622-7.
72. FENG, X. et al. Rabbit ATG but not horse ATG promotes expansion of functional CD4⁺CD25^{high}FOXP3⁺ regulatory T cells in vitro. *Blood*, 2008, 7: 3675-83.
73. THOMAS, F. T. et al. Differential effects of horse ATG and rabbit ATG on T cell and T cell subset levels measured by monoclonal antibodies. *Transplant.Proc.*, 1984, 6: 1561-3.
74. GLUCKMAN, E. et al. Bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: influence of conditioning and graft-versus-host disease prophylaxis regimens on outcome. *Blood*, 1992, 1: 269-75.
75. GLUCKMAN, E. et al. Bone marrow transplantation in 107 patients with severe aplastic anemia using cyclophosphamide and thoraco-abdominal irradiation for conditioning: long-term follow-up. *Blood*, 1991, 9: 2451-5.
76. STORB, R. et al. Second marrow transplants in patients with aplastic anemia rejecting the first graft: use of a conditioning regimen including cyclophosphamide and antithymocyte globulin. *Blood*, 1987, 1: 116-21.
77. STORB, R. et al. Cyclophosphamide combined with antithymocyte globulin in preparation for allogeneic marrow transplants in patients with aplastic anemia. *Blood*, 1994, 3: 941-9.

78. KAHL, C. et al. Cyclophosphamide and antithymocyte globulin as a conditioning regimen for allogeneic marrow transplantation in patients with aplastic anaemia: a long-term follow-up. *Br.J.Haematol.*, 2005, 5: 747-51.
79. MOHTY, M. et al. Antithymocyte globulins and chronic graft-vs-host disease after myeloablative allogeneic stem cell transplantation from HLA-matched unrelated donors: a report from the Societe Francaise de Greffe de Moelle et de Therapie Cellulaire. *Leukemia*, 2010, 11: 1867-74.
80. TERASAKO, K. et al. The effect of different ATG preparations on immune recovery after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for severe aplastic anemia. *Hematology.*, 2010, 3: 165-9.
81. GABER, A. O. et al. A review of the evidence for use of thymoglobulin induction in renal transplantation. *Transplant.Proc.*, 2010, 5: 1395-400.
82. NEIDLINGER, N. A.; SOLLINGER, H. W. Is there any role for antithymocyte induction in renal transplantation? *Transplant.Proc.*, 2010, 5: 1402-7.
83. HARDINGER, K. L. et al. Five-year follow up of thymoglobulin versus ATGAM induction in adult renal transplantation. *Transplantation*, 2004, 1: 136-41.
84. HARDINGER, K. L. et al. A prospective, randomized, double-blinded comparison of thymoglobulin versus Atgam for induction immunosuppressive therapy: 10-year results. *Transplantation*, 2008, 7: 947-52.
85. KHOSITSETH, S. et al. Thymoglobulin versus ATGAM induction therapy in pediatric kidney transplant recipients: a single-center report. *Transplantation*, 2005, 8: 958-63.
86. CLESCA, P. et al. Thymoglobulin and rate of infectious complications after transplantation. *Transplant.Proc.*, 2007, 2: 463-4.
87. KANTER, J. et al. Cytomegalovirus infection renal transplant recipients: risk factors and outcome. *Transplant.Proc.*, 2009, 6: 2156-8.

88. PARK, S. H. et al. Infectious complications associated with alemtuzumab use for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: comparison with anti-thymocyte globulin. *Transpl.Infect.Dis.*, 2009, 5: 413-23.
89. PAPPAS, P. G. et al. Invasive fungal infections among organ transplant recipients: results of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET). *Clin.Infect.Dis.*, 2010, 8: 1101-11.
90. DUCLOUX, D. et al. Long-term toxicity of antithymocyte globulin induction may vary with choice of agent: a single-center retrospective study. *Transplantation*, 2004, 7: 1029-33.
91. BRENNAN, D. C. et al. A randomized, double-blinded comparison of Thymoglobulin versus Atgam for induction immunosuppressive therapy in adult renal transplant recipients. *Transplantation*, 1999, 7: 1011-8.

Este livro foi impresso em offset,
Papel couché 120g, 4/4
Fonte: Agfa Rotis Sans Serif, corpo 12
Rio de Janeiro, dezembro de 2012.

Versão Eletrônica

ISBN 978-85-7318-216-3



9 788573 182163

Versão Impressa

ISBN 978-85-7318-217-0



9 788573 182170



Ministério da
Saúde

