

LÍDICE CAROLINA LENZ E SILVA

**ANÁLISE DA REJEIÇÃO NOS PACIENTES TRANSPLANTADOS
POR ANEMIA APLÁSTICA SEVERA CONDICIONADOS COM
CICLOFOSFAMIDA OU A ASSOCIAÇÃO DE CICLOFOSFAMIDA E
BUSSULFANO NO SERVIÇO DE TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA DO
HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

CURITIBA

2005

LÍDICE CAROLINA LENZ E SILVA

**ANÁLISE DA REJEIÇÃO NOS PACIENTES TRANSPLANTADOS
POR ANEMIA APLÁSTICA SEVERA CONDICIONADOS COM
CICLOFOSFAMIDA OU A ASSOCIAÇÃO DE CICLOFOSFAMIDA E
BUSSULFANO NO SERVIÇO DE TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA DO
HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**DISSERTAÇÃO PARA O MESTRADO EM
MEDICINA INTERNA, ESPECIALIDADE DE
HEMATOLOGIA, SETOR DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PARANÁ.**

**ORIENTADOR: PROF. DR. RICARDO
PASQUINI.**

CURITIBA

2005

Lenz e Silva, Lídice Carolina

A biblioteca e suas representações: ANÁLISE DA REJEIÇÃO NOS PACIENTES TRANSPLANTADOS POR ANEMIA APLÁSTICA SEVERA CONDICIONADOS COM CICLOFOSFAMIDA OU A ASSOCIAÇÃO DE CICLOFOSFAMIDA E BUSSULFANO NO SERVIÇO DE TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ / Lídice Carolina Lenz e Silva - Curitiba, 2005.

XI, 82f.

Dissertação (Mestrado) – Setor de Medicina Interna / Hospital das Clínicas - Universidade Federal do Paraná.

1. Anemia aplástica. 2. Transplante de medula óssea. 3. HC/Universidade Federal do Paraná – Bibliotecas. I. Título.

CDD 302.12
CDU 301.151

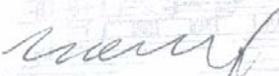
*Dedico este trabalho aos meus pais,
Norma e Edward,
aos meus irmãos:
Guilherme, Fabrizia e Paula e sobrinhos
pelo incentivo e apoio incondicional.*

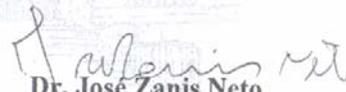


PARECER

Aos vinte sete dias do mês de julho do ano de dois mil e cinco, a banca examinadora, constituída pelos Professores Dr. Waldir Veiga Pereira, Dr. José Zanis Neto e Dr. Ricardo Pasquini, exarou o presente parecer sobre a Dissertação elaborada por Lídice Carolina Lenz e Silva, do Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna - Mestrado da Universidade Federal do Paraná, intitulada: "ANÁLISE DA REJEIÇÃO NOS PACIENTES TRANSPLANTADOS POR ANEMIA APLÁSTICA SEVERA CONDICIONADOS COM CICLOFOSFAMIDA OU A ASSOCIAÇÃO DE CICLOFOSFAMIDA E BUSSULFANO NO SERVIÇO DE TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ" A Banca Examinadora considerou que Lídice Carolina Lenz e Silva apresentou trabalho adequado para **Dissertação de Mestrado** e o defendeu com segurança e propriedade nas arguições que lhe foram feitas, atribuindo-lhe: Conceito " **A** ", correspondente ao Grau " **10,0** ", sendo pois unanimemente recomendado à Universidade Federal do Paraná que lhe seja concedido o título de **Mestre em Medicina/Ciências da Saúde** e a publicação da Dissertação em veículo de divulgação conveniente, depois de incorporadas as sugestões apresentadas no decurso das arguições.

Curitiba, 27 de julho de 2005.


Dr. Waldir Veiga Pereira


Dr. José Zanis Neto


Dr. Ricardo Pasquini

SUMÁRIO

	PÁGINA
TERMO DE APROVAÇÃO.....	V
AGRADECIMENTOS.....	IX
LISTA DE TABELAS.....	X
LISTA DE FIGURAS E FLUXOGRAMAS.....	XII
LISTA DE SIGLAS / ABREVIações.....	XIII
RESUMO.....	XIV
ABSTRACT.....	XV
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1.2 ANEMIA APLÁSTICA SEVERA – ASPECTOS CLÍNICOS....	2
2 ANEMIA APLÁSTICA SEVERA – TRATAMENTO.....	13
2.1 TRANSPLANTE DE GÊMEOS IDÊNTICOS.....	13

2.2 TRANSPLANTE COM DOADOR APARENTADO HLA IDÊNTICO.....	14
2.3 COMPLICAÇÕES.....	15
3 SOBREVIDA.....	23
4 TRANSPLANTE VERSUS IMUNOSSUPRESSÃO.....	25
5 OBJETIVOS.....	27
6 CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	28
7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
8 RESULTADOS	35
8.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.....	35
8.2 REJEIÇÃO.....	39
8.3 TRATAMENTO APÓS A REJEIÇÃO.....	46
9 SOBREVIDA	53
10 DISCUSSÃO.....	56
11 CONCLUSÕES.....	61

ANEXO 1 - ESTATÍSTICAS:

ANÁLISE DE REGRESSÃO MULTIVARIADA..... 62

ANEXO 2 – DIAGRAMAS DOS CONJUNTOS ANALISADOS..... 65

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 68

AGRADECIMENTOS

Agradeço às seguintes pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho:

Ao Dr. Ricardo Pasquini, orientador desta dissertação, pela sua dedicação e profissionalismo e por quem tenho enorme admiração pelo trabalho de desenvolvimento do transplante de medula óssea no Brasil.

Ao Dr. Carlos Medeiros pelas sugestões, discussões e incentivo.

A Dr. Mariester, grande professora e amiga.

Ao Dr. José Zanis Neto pelos ensinamentos e dedicação a esta causa em comum.

Aos amigos Marco Antônio Bittencourt, Vaneuza Araújo Moreira e Daniela Setúbal pelo companheirismo ao longo dos anos de trabalho no Serviço de TMO.

Aos amigos das equipes de enfermagem, as assistentes sociais, aos administradores, as secretárias, as psicólogas e a terapeuta ocupacional do Serviço de TMO, aos quais não citarei nomes para não tornar esta lista infundável. Meu enorme respeito pelo trabalho realizado dia a dia e que torna este serviço grande e tão importante para os que dele necessitam, acolhendo com amor e competência pessoas de todas as regiões do país e do mundo.

A Heliz pelo auxílio no manuseio do banco de dados.

Ao Dr. Guilherme Lenz pela enorme contribuição com a análise estatística.

Aos pacientes e seus familiares pela confiança nos trabalhos desenvolvidos no Serviço de TMO e por serem o estímulo ao aperfeiçoamento constante.

	LISTA DE TABELAS	PÁGINA
TABELA 1	COEFICIENTE DE INCIDÊNCIA DA ANEMIA APLÁSTICA EM DIFERENTES REGIÕES	3
TABELA 2	COEFICIENTE DE INCIDÊNCIA DA ANEMIA APLÁSTICA NO ESTADO DO PARANÁ E EM CURITIBA	3
TABELA 3	CLASSIFICAÇÃO DAS DROGAS E SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS DE ACORDO COM A FREQUÊNCIA QUE CAUSAM AAA	5
TABELA 4	CLASSIFICAÇÃO DA ANEMIA APLÁSTICA	10
TABELA 5	CLASSIFICAÇÃO DA AA QUANTO A GRAVIDADE	11
TABELA 6	CAUSAS DE ÓBITO APÓS 1.699 TRANSPLANTES ENTRE 1991 E 1997 EM PACIENTES COM A.A. E DOADORES IRMÃOS HLA IDÊNTICOS. REPORTADO PELO REGISTRO INTERNACIONAL DE TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA	21
TABELA 7	REGIMES DE CONDICIONAMENTO	33
TABELA 8	REGIMES DE CONDICIONAMENTO	36
TABELA 9	TRATAMENTO PRÉVIO AO TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA	38
TABELA 10	NÚMERO DE CÉLULAS MONONUCLEARES INFUNDIDAS	38
TABELA 11	RELAÇÃO ENTRE O SEXO DO DOADOR E DO PACIENTE	39
TABELA 12	INCOMPATIBILIDADE ABO CONFORME O REGIME DE CONDICIONAMENTO	39

TABELA 13	INDICE DE REJEIÇÃO CONFORME O CONDICIONAMENTO USADO	40
TABELA 14	VARIÁVEIS RELACIONADAS AOS PACIENTES, À DOENÇA E AO TRANSPLANTE NOS 52 PACIENTES CONDICIONADOS COM CICLOFOSFAMIDA (COM REJEIÇÃO X SEM REJEIÇÃO)	41
TABELA 15	VARIÁVEIS RELACIONADAS AOS PACIENTES, À DOENÇA E AO TRANSPLANTE NOS PACIENTES CONDICIONADOS COM CFA+BU (COM REJEIÇÃO X SEM REJEIÇÃO)	43
TABELA 16	VARIÁVEIS RELACIONADAS AOS PACIENTES, A DOENÇA E AO TRANSPLANTE NOS PACIENTES COM E SEM REJEIÇÃO	44
TABELA 17	VARIÁVEIS RELACIONADAS AOS PACIENTES, A DOENÇA E AO TRANSPLANTE NOS PACIENTES COM FPP X SEM REJEIÇÃO	45
TABELA 18	TRATAMENTO DA ANEMIA APLÁSTICA PÓS-REJEIÇÃO	47
TABELA 19	RETRANSPLANTE / EVOLUÇÃO (20 PACIENTES)	48
TABELA 20	CONDICIONAMENTO COM CICLOSFAMIDA	48
TABELA 21	RETRANSPLANTE APÓS REJEIÇÃO: CONDICIONADOS COM BU + CFA	49
TABELA 22	RESULTADO DO TRATAMENTO IMUNOSSUPRESSOR PÓS- REJEIÇÃO	50

	LISTA DE FIGURAS E FLUXOGRAMAS	PÁGINA
FIGURA 1	DISTRIBUIÇÃO DO NÚMERO DE TRANSFUSÕES PRÉ-TRANSPLANTE	37
FIGURA 2	HISTOGRAMA DO NÚMERO DE TRANSFUSÕES RECEBIDAS PREVIAMENTE AO TRANSPLANTE PELOS PACIENTES QUE REJEITARAM A MEDULA ÓSSEA (N=39)	46
FIGURA 3	FLUXOGRAMA 1- REPRESENTA A EVOLUÇÃO DOS 15 PACIENTES CONDICIONADOS COM BU+CFA QUE APRESENTARAM REJEIÇÃO DA MEDULA ÓSSEA	51
FIGURA 4	FLUXOGRAMA 2- REPRESENTA A EVOLUÇÃO DOS 24 PACIENTES CONDICIONADOS COM CICLOFOSFAMIDA QUE REJEITARAM A MEDULA ÓSSEA TRANSPLANTADA	52
FIGURA 5	ESTIMATIVA DE SOBREVIDA DOS PACIENTES CONDICIONADOS COM CFA E BU+CFA. MÉTODO KAPLAN-MEIER	53
FIGURA 6	ESTIMATIVA DE SOBREVIDA DOS PACIENTES QUE REJEITARAM CONFORME O REGIME DE CONDICIONAMENTO USADO. MÉTODO DE KAPLAN - MEIER.	54
FIGURA 7	ESTIMATIVA DE SOBREVIDA DOS PACIENTES QUE APRESENTARAM FALHA PRIMÁRIA DE PEGA (FPP) E PEGA TRANSITÓRIA (PT). MÉTODO KAPLAN-MEIER.	55

LISTA DE SIGLAS / ABREVIações

AA: ANEMIA APLÁSTICA

AAA: ANEMIA APLÁSTICA ADQUIRIDA

AAS: ANEMIA APLÁSTICA SEVERA

BU: BUSSULFANO

CFA: CICLOFOSFAMIDA

CSA: CICLOSPORINA

DECH: DOENÇA DO ENXERTO CONTRA O HOSPEDEIRO

FPP: FALHA PRIMÁRIA DE PEGA

G-CFS: FATOR ESTIMULANTE DO CRESCIMENTO DE COLÔNIAS DE GRANULÓCITOS

HLA: ANTÍGENO LEUCOCITÁRIO HUMANO

HC: HOSPITAL DE CLÍNICAS

IBMTR: REGISTRO INTERNACIONAL DE TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA

IS: IMUNOSSUPRESSÃO

NS: NÃO SIGNIFICATIVO

PT: PEGA TRANSITÓRIA

STMO: SERVIÇO DE TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA

UFPR: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

RESUMO

O transplante de medula óssea é um tratamento eficaz para pacientes com anemia aplástica severa (AAS) e é a modalidade terapêutica de escolha para pacientes jovens que tenham um doador aparentado HLA idêntico. A rejeição é uma importante complicação do transplante de medula, ocorrendo em 55 a 60% dos pacientes submetidos a TMO HLA idêntico, usando-se vários tipos de tratamento imunossupressor pré e pós transplante. O serviço de TMO da Universidade Federal do Paraná (UFPR) acumula a experiência de 178 casos de AAS transplantados desde 1993 a 2001, usando como condicionamento a ciclofosfamida (CFA) ou a combinação desta ao bussulfano (CFA + BU). Ocorreu rejeição ou falha de pega em 39 dos 178 pacientes transplantados por AAS. Dos pacientes condicionados com ciclofosfamida 24 (46%) apresentaram rejeição, sendo 3 (6%) falha primária de pega (FPP) e 21 (40%) pega transitória (PT). Entre os pacientes condicionados com BU+CFA 15 pacientes (12%) apresentaram rejeição, sendo 4 (3%) pacientes com FPP e 11 (9%) pacientes com pega transitória. Os pacientes condicionados com ciclofosfamida (200 mg/kg) e que rejeitaram apresentaram uma sobrevida global alta (aproximadamente 80%), pois conseguem ser resgatados por um novo transplante ou pelo tratamento imunossupressor com ciclosporina. Os pacientes politransfundidos condicionados com a associação de ciclofosfamida e bussulfano e que apresentaram rejeição tiveram uma sobrevida de aproximadamente 35%.

Palavras-chave: Transplante de medula óssea, anemia aplástica severa, rejeição, falha primária de pega, ciclofosfamida, bussulfano.

ABSTRACT

Bone marrow transplantation is an effective therapy for severe aplastic anemia and is generally considered the preferable treatment for young patients who have an HLA (Human Leukocyte Antigen) identical sibling donor. Recent studies report 55 to 80% extended survival.

Graft failure owing to rejection and others causes remains an important life-threatening complication following allogeneic bone marrow transplantation for aplastic anemia. It occurs in 55 to 60% of patients receiving HLA identical transplants and using different treatment before and after transplant immunosuppressive therapies.

The BMT Unit of Federal University of Paraná had 178 cases of SAA transplanted from 1993 to 2001, using for conditioning regimen cyclophosphamide (CY) alone or associated with bussulfan (CY + BU).

Graft failure occurred in 39 the cases. Among patients conditioned with CY 24 (46%) presented graft failure, from whom 3 (6%) primary graft failure (PGF) and 21 (40%) transient engraftment (TE). Among patients conditioned with BU+CY 15 (12%) had graft failure, where 4 (3%) had PGF and 11 (9%) TE. The patients conditioned with CY and that rejection had a survival of around 80%, because they are rescue for another transplantation or for immunosuppressive treatment with cyclosporin A. The patients conditioned with BU+CY that had rejection had a survival of approximately 35%.

Key-words: Bone marrow transplantation, severe aplastic anemia, rejection, primary graft failure, cyclophosphamide, bussulfan.

1 - INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A anemia aplástica (AA) é uma doença hematológica rara, de elevado potencial de letalidade e freqüentemente de causa desconhecida (CHONGLI, 1991), (GUIGUET, 1995), (MARY, 1990). É caracterizada pelo desenvolvimento de pancitopenia no sangue periférico e por uma medula óssea hipocelular, na qual o tecido hematopoético normal é substituído em maior ou menor extensão por células gordurosas, sem que haja evidência de infiltração neoplásica ou de síndrome mieloproliferativa.

A simplicidade da análise histopatológica – “medula óssea vazia” – contrasta com a diversidade dos agentes etiológicos (drogas, vírus, gravidez, agentes químicos, citostáticos, idiopática), o envolvimento do sistema imune, a raridade da doença, a dificuldade do tratamento clínico e o drama de um caso particular.

A anemia aplástica foi inicialmente descrita em 1888 por Paul EHRlich durante a autópsia de uma jovem grávida que faleceu rapidamente após apresentar sintomas de anemia severa, sangramento de pele e retina, bem como febre alta (YOUNG, 1981), (SHADDUCK, 1995). A introdução do suporte transfusional e do uso de antibióticos melhorou o cuidado dos doentes, mas no livro texto do WINTROBE de 1956 a anemia aplástica ainda era descrita como uma “doença progressiva, inexorável e fatal. O paciente evolui a óbito no curso de poucas semanas ou sobrevive aproximadamente seis meses”.

O transplante de medula óssea de um doador HLA idêntico foi primeiro usado para tratar AA na década de 70 (STORB, 1974), (YOUNG, 1995). Os primeiros estudos mostravam 50% de sobrevida em longo prazo (SANTOS et al., 1976), (CAMMITTA et al., 1979). Os estudos mais recentes mostram uma sobrevida de 60 a 90% (ANASETTI et al.), (STORB; ETZIONI; ANASETTI, 1994). Não está definido se este aumento na taxa de

sobrevida reflete uma seleção dos pacientes, a precocidade do transplante, as mudanças nos regimes de transplante e nos cuidados de suporte ou a combinação destes fatores (MARSH; SOCIÉ; SCHREZENMEIER, 1994).

Vários fatores relacionados à doença e aos pacientes podem influenciar nos resultados do transplante para AA, incluindo a idade do receptor, a severidade da doença, o número de transfusões previamente ao transplante e a compatibilidade de sexo entre o doador e o paciente (YOUNG,1995), (STORB et al.,1992). Os maiores problemas após o transplante são a falha de pega ou rejeição, a doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) e as infecções. A rejeição ocorre em 5 a 30% dos pacientes (MCCANN et al., 1994), (CHAMPLIN et al., 1989). Esta alta incidência é atribuída a sensibilização aos antígenos menores de histocompatibilidade por transfusão sanguínea prévia. As estratégias para reduzir a rejeição incluem o tratamento precoce e a adição de radioterapia ou globulina anti-timocítica a ciclofosfamida no regime de condicionamento pré-transplante (PASSWEG JR. et al., 1997).

O serviço de Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná foi implantado em 1979 e realizou até o momento (32/03/2004) 1216 transplantes, sendo 402 deles em pacientes com AAS. Esta casuística é ímpar na América Latina, fornecendo abundante material de estudo e permitindo analisarmos o índice de rejeição nos pacientes transplantados por AAS, usando-se como regime de condicionamento a ciclofosfamida (CFA) ou a associação desta ao bussulfano (BU). Serão analisados os dados dos pacientes transplantados entre janeiro de 1993 (quando se iniciou o uso da combinação de CFA ao BU) até novembro de 2001.

1.2 ANEMIA APLÁSTICA SEVERA – ASPECTOS CLÍNICOS

1.2.1 Incidência

Dados da literatura têm mostrado que a anemia aplástica é mais comum no Oriente do que no Ocidente (GORDON, 1992), (LANGNAS et al., 1995). A explicação

para a variação geográfica na incidência da AA não é conhecida, mas acredita-se que os fatores ambientais sejam mais importantes que os genéticos ou raciais para explicar essa diferença (GORDON, 1992). As diferentes taxas de incidência da doença encontradas para as várias regiões reforçam essa afirmação (YOUNG, 1994 B). Esses dados podem ser visualizados na tabela 1.

TABELA 1 - COEFICIENTE DE INCIDÊNCIA DA ANEMIA APLÁSTICA EM DIFERENTES REGIÕES

REGIÕES	PERÍODO	COEF. INCIDÊNCIA ANUAL/1.000.000 HAB.
US	1942-1945	0,4-1,8
Califórnia	1963-1964	5,2
Suécia	1964-1968	7,8
Israel	1961-1965	7,8
Japão	1970-1973	13,9
Baltimore	1970-1978	6,1
UK	1985	2,3
Dinamarca	1967-1982	2,2
Europa	1980-1984	2,2
Buenos Aires	1966-1977	6,0
França	1984-1987	1,4
China	1986-1988	7,4

FONTE: YOUNG, citado por MALUF (2001, p. 3).

TABELA 2 - COEFICIENTE DE INCIDÊNCIA DA ANEMIA APLÁSTICA NO ESTADO DO PARANÁ E EM CURITIBA

REGIÃO	PERÍODO	COEFICIENTE DE INCIDÊNCIA ANUAL/ 1.000.000 HAB
Curitiba	1997- 1998	2,0
Estado do Paraná	1997-1998	2,4

FONTE: Banco de dados do STMO- UFPR

Conforme YOUNG, citado por MALUF (2001), a taxa de incidência da AA encontrada na literatura varia de 1,4 a 14 casos por um milhão de habitantes/ano. Em recente estudo realizado na França, a incidência encontrada foi de 1,4 casos por um milhão de habitantes, enquanto em Bangkok essa incidência foi de 3,7 por 1 milhão de habitantes (MARY, 1990), (ISSARAGRISIL et al., 1991).

Dr. Eliane MALUF (2001), em sua tese de doutorado, fez o primeiro estudo (caso controle) referente à epidemiologia da AAA no Brasil e encontrou um coeficiente de incidência anual estimado para Curitiba de 2 casos/1.000.000 habitantes, e para o Estado do Paraná de 2,4 casos/1.000.000.

A metodologia usada na realização destes estudos pode influenciar nos diferentes índices encontrados. Quando o rigor é maior, a taxa de incidência tende a ser menor.

Em relação à distribuição por sexo, os resultados divulgados na literatura têm sido conflitantes (GORDON, 1992), (ISSARAGRISIL, 1991). BOTTIGER e WESTERHOLM (1972), em estudo realizado na Suécia, concluíram que não há diferença na distribuição da doença entre os sexos, enquanto o estudo realizado em Israel, por MODAM et al. em 1975, mostrou um discreto predomínio no sexo feminino.. GORDON (1989), baseado na revisão de alguns estudos, tem a opinião de que a doença predomina no sexo masculino, devido ao risco aumentado da exposição ocupacional a potenciais agentes tóxicos.

Com relação à incidência por faixa etária, a AA tem sido identificada como uma doença de jovens. Segundo GEWIRTZ e HOFFMAN (1985), os estudos epidemiológicos demonstram que a doença é incomum nos primeiros anos de vida. Depois dessa época, a incidência aumenta rapidamente, e então o nível cai entre 20 e 60 anos, quando passa a aumentar novamente.

1.2.2 Etiologia

Alguns autores citam que aproximadamente 50% dos casos de A.A.A. são classificados como etiologicamente idiopáticos e outros indicam que esta proporção pode chegar a 70% (YOUNG; ALTER, 1994 a). Historicamente as drogas e a exposição a agentes químicos são as etiologias específicas mais frequentemente citadas em séries clínicas e estudos epidemiológicos (tabela 3).

TABELA 3 - CLASSIFICAÇÃO DAS DROGAS E SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS DE ACORDO COM A FREQUÊNCIA QUE CAUSAM AAA.

1. AGENTES QUE REGULARMENTE CAUSAM APLASIA
1.1 Drogas citotóxicas usadas em quimioterapia: <ul style="list-style-type: none"> • Agentes alquilantes: bussulfano, ciclofosfamida, entre outros. • Antimetabólitos (compostos antifólicos, entre outros). • Alguns antibióticos (daunorrubicina, adriamicina).
1.2 Benzeno e menos freqüentemente produtos químicos que contêm benzeno em sua estrutura: tetracloridocarbono, clorofenóis, querosene, entre outros.
2. AGENTES QUE OCASIONALMENTE CAUSAM APLASIA
2.1 Cloranfenicol
2.2 Inseticidas
2.3 Antiprotozoários(quinacrina e cloroquina)
2.4 Antiinflamatórios não hormonais: indometacina, ibuprofen, salicilatos, fenilbutazona, entre outros.
2.5 Sais de ouro e arsênico (e outros metais pesados como bismuto e mercúrio)
2.6 Sulfonamidas das seguintes classes: <ul style="list-style-type: none"> • Antibióticos • Antitireoidianos • Antidiabéticos orais • Inibidores da anidrase carbônica
2.7 D-Penicilamina
2.8 Estrógenos
3. AGENTES QUE RARAMENTE PRODUZEM APLASIA
3.1 Antibióticos: ampicilina, estreptomicina, tetraciclina entre outros.
3.2 Anti-histaminicos: clorfeniramina, entre outros.
3.3 Sedativos e tranqüilizantes
3.4 Antiarrítmicos e anti-hipertensivos: <ul style="list-style-type: none"> • Metildopa • Guanidina • Quinidina

FONTE: YOUNG, ALTER, 1994a, p.104

Na primeira categoria, a ação das substâncias citadas na tabela 3 tem sido reproduzida em modelos animais (YOUNG; ALTER, 1994 a).

No segundo grupo, a afirmação sobre possível associação do agente com falência medular tem sido baseada em relatos de casos e alguns estudos epidemiológicos, porém o risco de AAA associado ao uso desses agentes parece ser extremamente baixo (YOUNG; ALTER, 1994 a).

Já no terceiro grupo existem poucos relatos e os estudos epidemiológicos não confirmam uma relação causal (NISSEN, 1991).

1.2.3 Fisiopatologia

Apesar do considerável avanço no entendimento da anemia aplástica, algumas questões relacionadas à origem da doença não estão perfeitamente esclarecidas.

Os mecanismos fisiopatológicos mais citados ao analisarmos a literatura são:

- a) Participação do sistema imune no desencadeamento e manutenção das citopenias;
- b) Injúria hematopoética direta;
- c) Alterações do micro-ambiente da medula óssea.

1.2.3.1 Participação do sistema imune no desencadeamento e manutenção das citopenias:

A inesperada melhora da pancitopenia em pacientes que apresentaram falha de pega após o transplante sugere que o regime de condicionamento imunossupressor usado com a intenção de permitir a pega pode ter estimulado a função da medula óssea do hospedeiro (NISSEN, 1991). Este retorno à produção de células sanguíneas pela medula óssea do paciente ocorreu após a administração de globulina anti-linfocítica ou de ciclofosfamida. Além do mais, para obtermos sucesso na restauração da hematopoése em um transplante de medula óssea entre gêmeos idênticos em aproximadamente 50% deles necessitamos de um regime preparatório imunossupressor, apesar da identidade genética do doador e do receptor (CHAMPLIN, 1984). Essas observações levaram à realização de estudos com imunossupressores para o tratamento de AAS, primeiro na Europa usando a globulina antilinfocítica (SPEACK, 1977) e a seguir nos Estados Unidos usando globulina antitimocítica (CHAMPLIN; GALE, 1983) associada a altas doses de metilprednisolona (MARMONT, 1984), ciclosporina (LEONARD, 1989) ou ciclofosfamida (BRODSKY, 1996). O regime mostrando melhores resultados consiste da associação de globulina antilinfocítica e ciclosporina. Nos estudos recentes as taxas de sucesso, definidas como uma

contagem de neutrófilos adequada para prevenir infecções e ausência de necessidade transfusional, foram de 70 a 80% (BACIGALUPO, 1995), (ROSENFELD, 1995). Sugere-se que a imunossupressão contribui para o sucesso do tratamento por reduzir o número de linfócitos ou bloquear a função das células T e por se obter melhores resultados com a combinação destas drogas.

Um modelo de interação entre o sistema imune e as células hematopoéticas de pacientes com A.A. tem sido desenvolvido através de observações laboratoriais. Um experimento inicial mostrou que as células mononucleares do sangue ou da medula óssea de pacientes com A.A. suprimiam a formação de colônias hematopoéticas em uma medula normal e que a remoção das células T da amostra do paciente algumas vezes melhorava a formação de colônias *in vitro* (KAGAN, 1976). Demonstrou-se que a atividade inibitória presente no sobrenadante de cultura de células do paciente era devida ao interferon gama. As células T do paciente em "bulk culture" ou quando clonadas superproduziam interferon gama e fator de necrose tumoral, duas citocinas que inibem a formação de colônias hematopoéticas *in vitro* (SELLERI, 1995). O sangue e a medula destes pacientes também continham um número aumentado de linfócitos citotóxicos ativados (MACIEJEWSKI, 1994), sendo que o número e a atividade destes linfócitos diminuía com o sucesso da terapêutica com globulina anti-timocítica (PLATANIAS, 1987), (LAVIER, 1988).

Em cultura de tecidos, tanto o interferon quanto o fator de necrose tumoral suprimem a proliferação de células progenitoras hematopoéticas iniciais e tardias (SELLERI, 1995). Esta supressão é maior quando estas citocinas são secretadas no microambiente da medula óssea do que quando são acrescentadas à cultura de células (SELLERI, 1996). O interferon e o fator de necrose tumoral suprimem a hematopoese também por induzirem a expressão do receptor Fas nas células CD 34+ levando a que se inicie a apoptose (MACIEJEWSKI, 1995a), (NAGAFUJI, 1995). As células hematopoéticas dos pacientes com AA expressam o receptor Fas (MACIEJEWSKI, 1995b) e na medula observa-se um número aumentado de células apoptóticas (PHILPOTT, 1995).

Os eventos imunológicos que precedem a destruição das células hematopoéticas são menos claros. O envolvimento de linfócitos CD4 ou “auxiliares” tem sido inferida pela super-representação dos antígenos de histocompatibilidade de classe II (HLA – DR2) nos pacientes brancos com anemia aplástica (NIMER, 1994).. Alguns antígenos HLA podem ser mais comuns em subgrupos de pacientes com A.A., como por exemplo, naqueles que respondem a ciclosporina (NAKAO, 1994) e naqueles que apresentam falência medular após hepatite (BROWN, 1997). Entretanto são desconhecidos tanto os eventos desreguladores que levam a perda da tolerância e a destruição auto-imune das células hematopoéticas, como a exposição antigênica inicial que ativou o sistema imune.

1.2.3.2 Injúria hematopoética direta:

A forma mais comum de anemia aplástica é a iatrogênica, uma transitória falência medular após quimioterapia e/ou radioterapia. Certos agentes químicos ou físicos lesam diretamente tanto as células hematopoéticas que estão se multiplicando quanto as quiescentes, danificando o DNA e finalmente levando a apoptose celular. Entretanto, pacientes com anemia aplástica adquirida na comunidade raramente têm uma história de exposição a qualquer substância que seja tóxica para a medula e atualmente, até mesmo o benzeno não é freqüentemente associado à anemia aplástica nos países desenvolvidos (KAUFMAN, 1991).

Em geral a toxicidade por droga é mediada através de metabólitos intermediários que se ligam covalentemente às proteínas e ao DNA. Esses metabólitos reativos são formados e degradados por seqüências metabólicas complexas, sendo que a variação genética na resposta enzimática pode contribuir para a raridade das reações idiossincrásicas às drogas (YOUNG; ALTER, 1994c).

A simples infusão da medula óssea pode ser capaz de regenerar a hematopoese entre gêmeos idênticos, possivelmente indicando que em certos casos o eventual fenômeno autoimune desapareceu ou nunca existiu e o defeito seria exclusivamente da deficiência da célula tronco.

1.2.3.3 Alterações do micro ambiente da medula óssea

A sobrevivência e a proliferação das células hematopoéticas é dependente das células do estroma que produzem os fatores de crescimento essenciais para a viabilidade, proliferação e diferenciação das células progenitoras. O sucesso do transplante de medula óssea na anemia aplástica implica em adequada função do estroma, pois após o procedimento permanecerão importantes elementos do estroma original do paciente. Em geral não se observam alterações nas células do estroma dos pacientes com anemia aplástica. Por exemplo, o estroma suporta a hematopoese normal quando há células CD 34 normais, entretanto nenhuma colônia hematopoética se desenvolve quando as células CD 34 do paciente são cultivadas em um estroma anormal (MARSH, 1991), (NOVITZKY; JACOBS, 1995). Além do mais, as células do estroma dos pacientes com anemia aplástica produzem, *in vitro*, uma quantidade normal ou aumentada de fatores de crescimento hematopoético (KOJIMA; MATSUYAMA; KODERAY, 1992), (GIBSON, 1995), (STARK, 1993).

A falha dos macrófagos em produzir interleucina 1 *in vitro* nos pacientes com AA pode refletir um defeito geral da maturação dos monócitos. O estroma medular de uma minoria de pacientes produz uma pequena quantidade de fator estimulante de colônia de macrófagos e granulócitos (MIGLIACCIO, 1992), interleucina 3 e fator estimulante de colônias de granulócitos (TANI, 1993), mas as concentrações séricas de eritropoetina (DAS, 1992), trombopoetina (EMMONS, 1996) e fator estimulante de colônia de granulócitos (WATARI, 1989) estão geralmente aumentadas (DEVETTEN; YOUNG).

O tratamento da anemia aplástica com fatores de crescimento não tem sido muito eficaz em restaurar a hematopoese (YOUNG; BARRETT, 1995). Na maioria dos estudos a administração de fator estimulante de colônias de granulócitos, fator estimulante de colônias de macrófagos e granulócitos ou interleucina 3 resultam em um pequeno e transitório aumento no número de granulócitos e a administração de interleucina 1 tem sido ineficaz. Alguns estudos clínicos e laboratoriais discordam

que a deficiência de fatores de crescimento seja uma causa para a maioria dos casos de anemia aplástica.

1.2.4 Classificação

A classificação etiológica da A.A. é apresentada na tabela 3 e está separada em 2 grupos: as adquiridas e as hereditárias. As adquiridas são agrupadas em função do agente causal e não parece haver diferenças quanto a sua história natural (ALTER; POTTER; LI, 1978).

TABELA 4 - CLASSIFICAÇÃO DA ANEMIA APLÁSTICA

ANEMIA APLÁSTICA ADQUIRIDA	ANEMIA APLÁSTICA HEREDITÁRIA
Anemia aplástica secundária Radiação Drogas e produtos químicos <ul style="list-style-type: none"> ▪ Quimioterápicos ▪ Benzeno ▪ Cloranfenicol ▪ Antiinflamatórios não esteróides ▪ Antiepilépticos ▪ Ouro ▪ Outras drogas 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Anemia de Fanconi ▪ Disqueratose congênita ▪ Síndrome Schwachman-Diamond ▪ Disgenesia reticular ▪ Trombocitopenia amegacariocítica ▪ Anemia aplástica familiar Síndromes não-hematológicas (Down, Dubowitz, Seckel).
Viroses <ul style="list-style-type: none"> ▪ Epstein – Barr (mononucleose infecciosa) ▪ Hepatite não C (não A, não B). ▪ Vírus imunodeficiência humana 	
Doenças imunes: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Falcite eosinofílica ▪ Hipoimunoglobulinemia ▪ Timoma ▪ Doença do enxerto contra hospedeiro ▪ Hemoglobinúria paroxística noturna Gravidez Anemia aplástica idiopática	

FONTE: ALTER et al. Classification and aetiology of the plastic anaemias.

Clin Hematol 7:431, 1978.

Quanto à gravidade da AA, a classificação mais usada é a da CAMITTA e colaboradores que divide os pacientes naqueles com anemia aplástica severa (AAS) e não severa (AANS), baseado na contagem de neutrófilos do sangue periférico e na celularidade da medula óssea (CAMITTA et al., 1976). Mostrou-se que pacientes com AAS têm menos de 20% de chance de sobreviver um ano se manejados somente com cuidados de suporte (MATHÉ et al., 1970). Essas observações foram feitas antes da introdução do tratamento imunossupressor com globulina antilinfocítica que tem melhorado o prognóstico dos pacientes com A.A.S (SPEACK et al., 1977), (LEWIS, 1965).

Os pacientes com anemia aplástica muito severa, isto é, com menos que 200 μ l granulócitos, têm pouca chance de responder ao tratamento imunossupressor e têm um prognóstico particularmente ruim (LEWIS, 1965).

TABELA 5 - CLASSIFICAÇÃO DA AA QUANTO A GRAVIDADE

DESIGNAÇÃO	CRITÉRIO
Anemia aplástica severa (AAS)	<p>Sangue periférico: 2 ou 3 critérios</p> <ul style="list-style-type: none"> • Granulócitos < 500 μl • Plaquetas < 20.000 μl • Reticulócitos < 1% (corrigido para o hematócrito) <p>Biópsia de medula óssea</p> <ul style="list-style-type: none"> • Acentuadamente hipocelular: celularidade menor que 25% • Moderadamente hipocelular: <ul style="list-style-type: none"> * Celularidade 25 – 50% * Celularidade normal, mas com menos de 30% de células hematopoéticas remanescentes.
Anemia aplástica muito severa (AAMS)	<ul style="list-style-type: none"> • Critérios acima, mais granulócitos < 200 μl • Presença de infecção

FONTE: HOFFMAN et al. *Hematology – Basic principles and practice*. 2 ed., 1995 p.342

1.2.5 História Natural

A história natural da doença é imprevisível, mas implica em uma mortalidade maior que 70% em 5 anos após o diagnóstico. Menos de 5% dos pacientes apresentam recuperação espontânea após a eliminação do agente causal (BOTTIGER AND WESTERHOLM, 1972), (CRONKITE, 1967), (LEWIS, 1965), (LI et al., 1972), (MARÍN, 1981), (NAJEAN et al., 1965), (O'GORMAN HUGHES, 1973); (VICENT; DE GRUCHY, 1967), (WILLIAMS et al., 1973).

A principal causa de morte é a hemorragia e geralmente é acompanhada de infecção. A hemorragia é causada pela trombocitopenia, enquanto a infecção é um fator agravante para o risco hemorrágico (LEWIS, 1965), (MARÍN, 1981), (VAN DER WEYDEN; FIRKIN, 1972), (WILLIAMS et al., 1973). As infecções mais frequentes são as bacterianas, seguidas das infecções fúngicas, que aumentaram com o uso de agentes imunossupressores.

As complicações conseqüentes ao tratamento hemoterápico prolongado, as infecções virais e o desenvolvimento de doenças clonais como as síndromes mielodisplásicas, leucemia aguda ou hemoglobinúria paroxística noturna causam morbidade e mortalidade tardia nos pacientes curados.

A curva de sobrevida atual é bifásica, sugerindo dois tipos de comportamento. Um grupo de aproximadamente 40% dos pacientes morrem nos primeiros 3 meses após o diagnóstico. Os pacientes remanescentes têm um curso mais ou menos crônico, que pode durar vários anos. (MARÍN, 1981), (WILLIAMS et al., 1973).

O progresso do tratamento de suporte associado à precocidade do diagnóstico e ao encaminhamento do paciente a centros especializados contribui para uma melhor sobrevida.

2 - ANEMIA APLÁSTICA SEVERA - TRATAMENTO

2.1 TRANSPLANTE DE GÊMEOS IDÊNTICOS

A primeira tentativa de restaurar a hematopoese pela infusão de células progenitoras de doadores saudáveis foi feita usando células de gêmeos geneticamente idênticos.

Os resultados do transplante singênico são interessantes porque testaram algumas hipóteses relacionadas às causas da falência medular. A infusão de células progenitoras geneticamente idênticas sem uma prévia supressão imunológica (condicionamento) deveria corrigir a função medular onde a falha resultou simplesmente da ausência ou do defeito nas células progenitoras do hospedeiro. Por outro lado, se a falência medular é devido a anormalidades imunológicas, a melhora pode depender de um condicionamento prévio. Finalmente, pacientes com anormalidades de micro ambiente da medula óssea podem nunca melhorar. Resultados de mais de 70 transplantes de gêmeos idênticos são analisados na literatura. Os resultados sugerem que a infusão de células progenitoras é suficiente para restaurar a hematopoese na metade dos pacientes com anemia aplástica, suportando a hipótese de deficiência ou ausência das células progenitoras como causa da pancitopenia persistente nestes casos. Inferências relacionadas à razão inicial da destruição das células progenitoras podem incluir o efeito tóxico das drogas ou outros produtos químicos, infecção viral ou processos imunes. Entretanto, só quase a metade dos transplantes com gêmeos idênticos conseguem produzir uma hematopoese duradoura, a menos que seja precedida por uma dose alta de imunossupressão com ciclofosfamida ou outro agente. Estes dados são consistentes com a hipótese de um processo imunológico ativo direcionado às células progenitoras iniciais ter um papel importante na patogenia de alguns pacientes. Esta última hipótese também é sustentada pelos resultados dos primeiros transplantes precedidos de imunossupressão usando doadores com incompatibilidade HLA. Estes

transplantes falharam em obter a pega das células do doador, mas restauraram a hematopoese autóloga em uma substancial proporção de pacientes, comprovando a racionalidade do uso do soro anti-linfocítico, sem transplante, para tratar anemia aplástica (HOROWITZ, 2000).

Quando é feita uma supressão imune procedendo ao transplante de gêmeos idênticos há poucas falhas de pega do enxerto, indicando que as anormalidades no micro ambiente são incomuns como causa de anemia aplástica. Apesar da falha de pega ser comum após o transplante de gêmeos idênticos feito sem um condicionamento imunossupressor, HINTERBERG et al., citados por HOROWITZ, concluíram que deveria ser feito um transplante com condicionamento naqueles pacientes que não conseguissem manter o enxerto e que esta estratégia é associada com as mais altas taxas de sobrevida em longo prazo. Nesse estudo 7 de 23 pacientes tiveram a hematopoese restaurada após o primeiro transplante sem condicionamento e nenhum dos 16 pacientes que falharam em responder ao primeiro transplante morreram antes de fazer o segundo. A mortalidade relacionada ao transplante nestes 16 pacientes não foi maior do que nos 17 pacientes que receberam condicionamento no primeiro transplante (HOROWITZ, 2000).

2.2 TRANSPLANTE COM DOADOR APARENTADO HLA IDÊNTICO

Para realizarmos o transplante necessitamos de um doador alogênico que tenha a combinação mais próxima do HLA do receptor. A maioria dos transplantes de medula realizados nos últimos 25 anos tem usado irmãos HLA idênticos, sendo que o nosso entendimento das complicações e dos resultados em longo prazo derivam desta experiência.

A infusão das células progenitoras alogênicas é precedida por um condicionamento, geralmente com ciclofosfamida, com ou sem outros agentes. O uso de imunossupressão em altas doses é necessário não somente para eliminar o processo imune ativo envolvido na patogênese da anemia aplástica, mas também

para suprimir as células imuno-competentes do receptor, capazes de reconhecer e rejeitar o enxerto.

É adequadamente comprovado que o transplante alogênico pode curar a anemia aplástica. Estudos dos sobreviventes demonstram a presença da hematopoese do doador por mais de 20 anos após o transplante.

As maiores complicações do tratamento são falha do enxerto, doença do enxerto versus-hospedeiro e a toxicidade inicial e tardia do regime de condicionamento (HOROWITZ, 2000).

2.3 COMPLICAÇÕES

2.3.1 Rejeição / Falha de Pega

As taxas de falha de pega após o transplante de irmãos HLA idênticos variam de 5 a 50% (CHAMPLIN et al., 1989b), (CLEMENT-DEBOERS et al., 1996). Estes resultados contrastam com a taxa de 1 a 3% de falha de pega que ocorre após o transplante com irmãos HLA idênticos para leucemia.

A falha de pega após o transplante para A.A. pode resultar da persistência de células imuno-competentes do receptor, capazes de reconhecer diferenças nos antígenos de histocompatibilidade menores do doador ou ainda reações imune contra os precursores hematopóéticos do doador e do receptor.

Os pacientes mais velhos têm um risco maior de rejeição por razões ainda não completamente esclarecidas. Como outros fatores pré-transplante associados à falha de pega temos a exposição a grande número de transfusões e um longo período de duração da doença, o que obviamente está correlacionado. A exposição a múltiplas transfusões sensibiliza o receptor aos antígenos de histocompatibilidade (CHAMPLIN et al., 1989b), (BORTIN; RIMM, 1981), (DONEY et al., 1997), (SANDERS et al., 1994), (STORB et al., 1970), (STORB et al., 1983).

Uma taxa de falha de pega significativamente menor nos pacientes não transfundidos levou à recomendação de se evitar transfusões nos pacientes candi-

datos ao transplante. Isto implica uma prática de rápida identificação dos doadores e uma estratégia eficiente de transplante, para que assim se minimizem os riscos das complicações relacionadas à anemia e a trombocitopenia. Na prática, poucos pacientes (menos de 15%) são manejados sem transfusões previamente ao transplante. De qualquer modo, minimizar o número de transfusões e usar produto sanguíneo irradiado e depletado de leucócitos, diminui o risco de sensibilização (BEAN et al., 1991).

A irradiação pode inativar as células dendríticas que apresentam os antígenos nos produtos transfundidos (KALHS et al., 1995), enquanto a depleção de leucócitos minimiza a exposição aos antígenos de histocompatibilidade. O aprimoramento da prática transfusional pode ser responsável, em parte, pela melhoria na taxa de pega e nos resultados dos transplantes observados nos últimos anos, apesar desta hipótese não ter sido formalmente testada.

Durante várias décadas muitas estratégias de sucesso variável foram introduzidas para diminuir a falha de pega. Estas modificações incluíram aumentar o número de células do doador para infusão, intensificar a supressão imune pós-transplante ou intensificar o condicionamento pré-transplante.

Os estudos iniciais sugeriam que os enxertos contendo grande número de células nucleadas eram associados com pequenas taxas de falha de pega do enxerto (STORB et al., 1983). Desde que o volume da medula óssea obtida em uma única coleta do doador não é ilimitado, não é possível livremente manipular a dose de células da medula óssea (expressa como o número de células por kg peso do receptor). Um método usado para aumentar a dose de células foi a administração pós-transplante de células não-estimuladas, o "*buffy coat*" do doador (STORB et al., 1977). As taxas de falha diminuíram, mas ao custo de se aumentar substancialmente o risco da doença do enxerto versus hospedeiro crônica e por isso esta abordagem foi abandonada. A mais recente experiência de se coletar as células do doador após mobilizar o sangue com citoquinas, como fator estimulante de colônia de granulócitos (G-CSF), indica que grande número das células progenitoras pode ser

seguramente obtido desta maneira (STORB et al., 1986), (BENSINGER, 1995), (KORBLING, 1995), (SCHMITZ, 1996).

A recuperação hematológica é mais rápida com células progenitoras obtidas do sangue periférico do que da medula óssea. O enxerto de células progenitoras do sangue periférico contém grande número de linfócitos maduros, assim como células progenitoras hematopoéticas. Apesar do risco de doença do enxerto versus hospedeiro aguda (DECH a) não ser maior do que quando se usa medula óssea, alguns estudos sugerem que existe maior incidência de doença de enxerto contra hospedeiro crônica (DECH c) (SCHMITZ et al., 1995), (STOREK et al., 1997).

A supressão imune pós-transplante tem a finalidade de diminuir o risco de DECH, mas, pode também interferir nas taxas de falha de pega do enxerto. A introdução da ciclosporina usada para a profilaxia da DECH, quando comparada com ao methotrexate, foi associada a uma diminuição da taxa de falha após o transplante para a anemia aplástica em alguns estudos (nenhum deles fez uma comparação randomizada) (CHAMPLIN et al., 1989b), (URBANO-ISPIZUA et al., 1997), (GLUCKMAN et al., 1992). A combinação da ciclosporina e methotrexate não diminuiu a taxa de rejeição quando comparada com o uso isolado de methotrexate em um estudo randomizado de 46 pacientes com A.A. (MCCANN et al., 1994) e nem com um estudo não randomizado de 329 pacientes recebendo estas 2 abordagens para profilaxia da DECH (STORB et al., 1994).

A estratégia mais explorada nos últimos 25 anos para reduzir a falha de pega envolve a intensificação do regime de condicionamento pré-transplante. Os regimes de condicionamento geralmente incluem uma dose total de ciclofosfamida de 120 a 200 mg/kg. Os esforços para intensificação destes regimes incluem a adição de radioterapia corporal total, linfóide total ou tóraco-abdominal ou outras drogas e agentes biológicos como a procarbazina ou a globulina anti-timocítica associadas a ciclofosfamida.

Os regimes de radioterapia para o transplante de irmãos HLA idênticos com AA geralmente usam 3 Gy de irradiação corporal total ou 6 a 7,5 Gy de radiação

linfóide total ou tóraco-abdominal. A adição de radioterapia ao regime de condicionamento efetivamente diminui a taxa de rejeição para menos de 5%, inclusive para os pacientes politransfundidos (CHAMPLIN et al., 1989b), (STORB et al., 1994), (FEIG et al., 1983), (GLUCKMAN et al., 1991), (MCGLAVE et al., 1987), (RAMSAY et al., 1983). Entretanto, a radiação é associada a grandes riscos de outras complicações relacionadas ao transplante. Um estudo do Registro Internacional de Transplantes de Medula Óssea que avaliou vários regimes usados em 595 pacientes durante um período de 8 anos encontrou um baixo risco de falha de enxerto, mas altas taxas de pneumonite intersticial e D.E.C.H após o uso de radiação (STORB et al., 1994). Com o uso da radioterapia aumentaram a incidência de catarata, problemas ósseos como necrose asséptica, hipotireoidismo e atraso no crescimento. Os estudos mostram também um alto risco de tumores sólidos tardios em pacientes expostos à radiação durante o condicionamento (CURTIS et al., 1997), (DEEG et al., 1996), (SOCIÉ et al., 1991), (SOCIÉ et al., 1998).

Os estudos mais recentes indicam baixas taxas de falha de pega com a combinação de ciclofosfamida e globulina antilinfocítica, um regime usado com sucesso no segundo transplante feito após uma falha de enxerto inicial (AZUMA et al., 1997), (BUNIN et al., 1996), (HORSTMANN et al., 1995), (STORB et al., 1994). Na ausência de um grupo controle, não é certo se as baixas taxas de rejeição publicadas refletem um efeito benéfico real da globulina antitímocítica ou resultam das recentes modificações na prática transfusional e nos cuidados de suporte. Em um estudo comparativo pareado do Hospital Fred Hutchinson Cancer Research Center 39 pacientes que receberam transplante de irmão HLA idêntico usando ciclofosfamida e globulina anti-tímocítica comparado com 39 controles históricos recebendo ciclofosfamida isolada, demonstrou uma taxa de falha de pega do enxerto semelhante nos 2 grupos, mas uma maior sobrevida nos pacientes recebendo globulina antitímocítica (STORB et al., 1994), (STORB et al., 1997).

Alguns pacientes com falha de pega podem obter uma hematopoese sustentada do doador com uma imunossupressão adicional e uma segunda infusão

da medula (CHAMPLIN et al., 1989b), (GLUCKMAN et al., 1992). Dados do Registro Internacional de Transplante de Medula Óssea sugerem que 60% destes pacientes sobrevivem por longo período (CHAMPLIN et al., 1989b). Um segundo transplante tende a ter mais sucesso em pacientes com uma falha de pega tardia do enxerto, isto é, ocorrendo após uma reconstituição inicial da hematopoese.

O serviço de transplante de medula óssea da UFPR baseando-se na experiência de Pesaro mostrando baixas taxas de rejeição usando como condicionamento o bussulfano associado a ciclofosfamida, iniciou a partir de 1993 um protocolo onde os pacientes com mais de 15 transfusões previamente ao transplante receberiam esta associação (LUCARELLI et al., 1993). Os pacientes com menos de 15 transfusões eram condicionados usando-se apenas a ciclofosfamida. Sabendo que a rejeição do enxerto é um dos maiores obstáculos para a cura de pacientes politransfundidos e hoje dispondo de uma casuística maior, podemos identificar o índice de rejeição nos pacientes transplantados por anemia aplástica do nosso serviço.

2.3.2 Doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH)

A doença do enxerto contra hospedeiro é a maior causa de mortalidade e morbidade após o transplante para todas as indicações (BRON, 1994). Esta síndrome resulta da reação de células imunologicamente competentes do doador, primariamente os linfócitos T contra os antígenos de histocompatibilidade maiores ou menores expostos nas células do receptor. A frequência e a severidade são maiores nos pacientes mais velhos. Reduzir o risco de DECH severa é o foco de alguns estudos e sua incidência tem diminuído significativamente desde a década de 70 (PASSWEG et al., 1997).

DECH aguda é aquela que se inicia logo após o transplante, isto é, nas primeiras 6 semanas após procedimento (BORTIN et al., 1989). Ela pode afetar principalmente a pele, o trato gastrointestinal e o fígado, variando de ligeiro *rash* e

uma diarreia transitória a um grande risco de óbito, além de insuficiência hepática. O sistema de graduação mais comumente usado é o proposto por GLUCKSBERG e colaboradores, que descreve 4 graus baseados nas manifestações clínicas (GLUCKSBERG et al., 1974). A mortalidade dos pacientes com grau II e especialmente doença grau III e IV é alta. O risco de DECH aguda grau II e IV varia de 15 a 20% nas crianças e de 40 a 45% nos adultos recebendo transplante de doadores irmãos HLA idênticos.

A DECH crônica é a que ocorre após cem dias do transplante e é uma síndrome multi-sistêmica que tem algumas similaridades com as doenças auto-imunes. As manifestações da DECH crônica geralmente envolvem a pele, os olhos, a boca, o fígado, o intestino e os músculos do sistema esquelético. A DECH crônica ocorre em 20 a 50% dos receptores de transplantes de irmãos HLA idênticos. Os adultos têm uma maior incidência e gravidade da DECH crônica do que as crianças. Os pacientes com doença limitada (envolvimento localizado da pele, com ou sem disfunção hepática) têm um excelente prognóstico. Aqueles com doença extensa (envolvimento generalizado de pele, hepatite crônica agressiva, necrose de pontes, cirrose ou envolvimento de outros órgãos, incluindo a superfície mucosa) têm uma mortalidade significativamente maior do que pacientes sem DECH crônica. Um estudo feito pelo Registro Internacional de Transplante de Medula Óssea mostrou que a DECH crônica contribuiu para 2/3 (dois terços) das mortes tardias em uma população de 1029 pacientes que sobreviveram pelo menos 2 anos após o transplante por A.A. Os fatores de risco incluem a DECH aguda prévia, o uso corticóide, os pacientes mais velhos e o uso de radioterapia no regime de condicionamento. Os sintomas podem aumentar e diminuir durante vários meses a anos.

O tratamento da DECH crônica permanece insatisfatório, freqüentemente necessitando cursos prolongados de imunossupressão e associado a complicações concomitantes de infecções, necroses avascular, osteoporose, catarata e intolerância a glicose. Felizmente, as drogas imunossupressoras são descontinuadas na maioria dos pacientes. A qualidade de vida e a performance são

significativamente afetadas pela presença ou ausência de DECH crônica (SULLIVAN, 1997), (WINGARD, 1994).

2.3.3 Outras complicações

O curso inicial do transplante pode ser complicado por febre neutropênica, infecção, hemorragia, pneumonite intersticial, doenças veno-oclusiva e outras toxicidades orgânicas. A maioria das complicações é tratável e freqüentemente reversível.

Na tabela 6 listaremos as principais causas de morte pós-transplante de pacientes com A.A. e doadores irmãos HLA idênticos.

TABELA 6 - CAUSAS DE ÓBITO APÓS 1.699 TRANSPLANTES ENTRE 1991 E 1997 EM PACIENTES COM A.A. E DOADORES IRMÃOS HLA IDÊNTICOS. REPORTADO PELO REGISTRO INTERNACIONAL DE TRANSPLANTES DE MEDULA ÓSSEA.

Nº DE ÓBITOS	PRIMEIROS 100 DIAS PÓS-TRANSPLANTES	>100 DIAS PÓS-TRANSPLANTES
Causas do óbito	255	204
Falha enxerto	14%	23%
DECH aguda	10%	11%
DECH crônica	-	8%
Pneumonia intersticial	8%	10%
Hemorragia	12%	7%
Infecção	35%	21%
Toxicidade orgânica	11%	9%
Outras causas	10%	11%

FONTE: Banco de dados do STMO- UFPR

A mortalidade inicial tem diminuído significativamente nos últimos 15 anos e de 1980 a 1984 registra-se uma taxa de mortalidade de 25% nos primeiros cem dias pós T.M.O. e que de 1993 a 1997 diminui para 15% (dados não publicados do Registro Internacional de Transplante de Medula Óssea – IBMTR). Dados recentes do IBMTR sugerem que as taxas de mortalidade retornam às da população normal

pareada para a idade e para o sexo em aproximadamente 6 anos após o transplante (SOCIÉ et al., 1999).

O desempenho do paciente mensurado pela escala de Karnofsky varia de bom a excelente (80 a 100 %) em mais de 90% dos sobreviventes em longo prazo¹²⁴. Entretanto, alguns pacientes têm significativos problemas tardios, especialmente por DECH crônica. As complicações tardias de alo-transplante para A.A. foram revisadas por DEEG e colaboradores (1998) e são as seguintes:

- a) problemas de pele ocorreram em 14% dos pacientes (escleroderma e/ou contraturas necessitando terapia);
- b) catarata (12% dos pacientes);
- c) doença pulmonar obstrutiva ou restritiva crônica (24% dos pacientes);
- d) problemas ósseos e articulares (18% dos pacientes).

Neste estudo foram analisados 212 pacientes que sobreviveram pelo menos 2 anos após o transplante. A catarata, a alteração da função gonadal, os problemas articulares e hipotireoidismo são mais freqüentes após a radioterapia (WINGARD, 1994). O crescimento e o desenvolvimento são geralmente normais nas crianças que recebem transplante alogênico para A.A., mas as que receberam irradiação corporal total podem não obter a estatura final esperada (CLEMENT-DEBOERS et al., 1996). O risco de tumores sólidos está aumentado (CURTIS et al., 1997), variando de 5% nos pacientes que receberam condicionamento com ciclofosfamida isolada até mais de 20% nos pacientes que receberam radioterapia (DEEG et al., 1996). O carcinoma escamoso de pele é o câncer mais freqüente.

3 - SOBREVIDA

A sobrevida após transplante tem aumentado substancialmente nos últimos 20 anos, principalmente devido à diminuição das taxas de mortalidade inicial. Passweg e colaboradores reportaram uma taxa de sobrevida em 5 anos (intervalo de confiança de 95%) de $48\% \pm 7\%$; $61\% \pm 4\%$; e $66\% \pm 6\%$ para os pacientes que receberam transplante de irmão HLA idêntico de 1976 a 1980, 1981 a 1987 e 1988 a 1992, respectivamente. Este estudo retrospectivo de 1305 pacientes reportado ao Registro Internacional de Transplantes de Medula Óssea (IBMTR) encontrou uma correlação entre o uso de ciclosporina e uma melhora de sobrevida. Entretanto, o modelo multivariado, que considerou alguns aspectos da seleção dos pacientes e a estratégia de transplante, não pode contabilizar todas as melhoras observadas. A mudança da prática transfusional que ocorreu durante o período do estudo parecer ter contribuído para a melhoria dos resultados. Um grande trabalho de análise retrospectiva sugere que a sobrevida após o transplante para anemia aplástica tem melhorado ao longo do tempo, mesmo usando-se uma variedade de regimes de transplante, incluindo a ciclofosfamida sozinha, com uma pequena mudança na falha de pega, mas com diminuição da doença do enxerto versus hospedeiro e da pneumonia intersticial (STORB et al., 1994). Este estudo não encontrou nenhuma vantagem na sobrevida para nenhum regime de condicionamento em particular (mas relativamente poucos pacientes receberam ciclofosfamida e globulina antitumoral). Um estudo randomizado está sendo feito pelo IBMTR comparando a ciclofosfamida isolada com a ciclofosfamida mais globulina antitumoral.

Os fatores prognósticos para a sobrevida refletem os fatores relacionados à falha de pega e da doença do enxerto-versus-hospedeiro. A idade é o maior determinante: pacientes jovens têm menores riscos para DECH aguda e crônica e têm uma mortalidade menor. Entre 1.699 pacientes que receberam transplante de irmão HLA totalmente idêntico entre 1991 e 1997, reportado pelo IBMTR, a probabilidade de sobrevida em 5 anos (95% intervalo de confiança) foi $75\% \pm 3\%$

para 874 pacientes ≤ 20 anos; $68\% \pm 4\%$ para 696 pacientes entre 21 e 39 anos e $35\% \pm 18\%$ para 129 que tinham mais de 40 anos.

A sobrevida pós-transplante não se correlaciona diretamente com a gravidade da aplasia, isto é, a sobrevida é semelhante se os neutrófilos são maiores ou menores que $200 \mu\text{l}$. Entretanto, a duração da aplasia previamente ao transplante, a história transfusional e o status clínico do paciente são importantes. A sobrevida é maior nos pacientes não transfundidos inicialmente no curso da doença e naqueles sem infecção ativa.

4 - TRANSPLANTE VERSUS IMUNOSSUPRESSÃO

A decisão de se tratar pacientes recém diagnosticados com imunossupressão (globulina anti-timocítica ou ciclosporina) ou transplante alogênico é complexa. Os riscos das complicações, especialmente a mortalidade relacionada ao tratamento, devem ser contrabalançados com a probabilidade de manter a cura por um longo período. O transplante de medula óssea é curativo para a maioria dos pacientes com AA, mas a mortalidade relacionada ao transplante é relativamente alta e as complicações em longo prazo são freqüentes. A imunossupressão melhora a hematopoese da maioria dos pacientes que são dependentes de transfusão, mas o tempo para a resposta pode ser longo, as citopenias persistem em alguns pacientes e as recaídas são relativamente comuns. Além do mais, as desordens hematológicas clonais incluindo mielodisplasia e leucemia, ocorrem em 15 a 20% dos pacientes 10 anos após o tratamento (YOUNG, 1995).

Um estudo prospectivo e randomizado, publicado em 1976, comparando o transplante de medula óssea com cuidados suportivos demonstrou que o transplante de irmão HLA idênticos é superior (CAMITTA et al., 1976). Entretanto, nenhum estudo randomizado foi feito comparando o transplante com os regimes de imunossupressão atuais. Os estudos retrospectivos sugerem uma equivalência dos resultados de uma maneira geral, entretanto, alguns subgrupos respondem melhor a uma terapia do que a outra (BACIGALUPO et al., 1988), (PAQUETTE et al., 1995), (DONEY et al., 1997). O estudo mais recente, que comparou 168 pacientes recebendo transplante aparentado HLA idêntico e 227 pacientes que receberam imunossupressão, entre 1978 e 1991, mostrou uma vantagem para o transplante nos pacientes com menos de 40 anos. Todavia, nem este estudo ou a maioria dos outros incluiu pacientes recebendo a combinação de ciclosporina e globulina antitimocítica para a imunossupressão convencional ou usou os atuais regimes de imunossupressão pré e pós-transplante.

O transplante parece oferecer a melhor oportunidade de sobrevida em longo prazo para pacientes com menos de 20 anos. Para pacientes com mais que 40 anos o tratamento inicial deve ser com imunossupressão, reservando o transplante para os pacientes que falharam a 1 ou 2 cursos desta terapia. Para pacientes entre 20 e 40 anos, outros fatores podem influenciar na decisão, mas poucos dados são disponíveis para orientação.

Os pacientes com anemia aplásica muito severa são menos susceptíveis à imunossupressão e devem ser considerados para o transplante precocemente. Os outros podem ser referidos ao transplante em caso de insucesso da imunossupressão. O uso de outros doadores que não parentes HLA idênticos deve provavelmente ser reservado para os pacientes que falham ao tratamento imunossupressor. Realizar um transplante com doador alternativo após um ou dois cursos de globulina antitimocítica e ciclosporina é controverso, devido à substancial proporção de pacientes que falham a um curso e podem responder a um segundo. Entretanto, os pacientes que falham a 2 cursos são politransfundidos e geralmente estão infectados, o que torna o transplante com menos probabilidade de sucesso. Um estudo prospectivo comparando o transplante com doador não aparentado *versus* uma segunda tentativa de imunossupressão necessita ser feito.

A decisão de em que ponto proceder ao transplante deve ser feita inicialmente após o diagnóstico para permitir a identificação do doador e adotar uma política transfusional inteligente. A identificação do doador deve ser feita rapidamente para evitar um atraso indevido quando se decide pelo transplante.

5 - OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo analisar os pacientes com diagnóstico de anemia aplástica severa condicionados com ciclofosfamida ou a associação desta ao bussulfano e nestes dois grupos visamos:

- a) Determinar o índice de rejeição;
- b) Identificar os fatores que podem estar relacionados a este índice;
- c) Avaliar o tratamento pós - rejeição.

6- CASUÍSTICA E MÉTODOS

De janeiro de 1993 a novembro de 2001 foram realizados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR) 205 transplantes alogênicos aparentados e totalmente compatíveis em pacientes portadores de AAS usando-se vários tipos de condicionamento. Destes foram analisados 178 pacientes (52 condicionados com ciclofosfamida e 126 com a combinação de bussulfano e ciclofosfamida) que sobreviveram mais de 21 dias para que a pega pudesse ser analisada.

Os critérios para definição da AAS foram estabelecidos por Camitta e colaboradores em 1975 (CAMITTA et al., 1976).

O serviço de Transplante de Medula Óssea da UFPR recebe pacientes com diagnóstico de AAS encaminhados das várias regiões do país. Para verificar a possibilidade de um doador é feita a tipificação do sistema antígeno leucocitário humano (HLA) de classe I pelo método da microlinfocitotoxicidade. Desde 1996 a tipificação dos genes HLA de classe II é feita pela recriação da cadeia da polimerase (PCR).

Os pacientes que possuem um doador HLA idêntico têm prioridade para serem transplantados, assim evitando que o longo período de neutropenia e as múltiplas transfusões de hemoderivados diminuam as chances de sucesso do procedimento. O diagnóstico é confirmado e é realizado o estudo citogenético. O paciente então é submetido aos exames de rotina pré-transplante que incluem a avaliação da função cardíaca, pulmonar, hepática e renal, bem como exames sorológicos para doenças transmissíveis por transfusão.

O doador é examinado clinicamente e submetido a exames de rotina para avaliação pré-anestésica. A seguir, o paciente, o doador e outros familiares reúnem-se com um médico da equipe para esclarecimento dos procedimentos a que serão submetidos, bem como dos riscos e complicações inerentes ao transplante. O paciente ou seu responsável assina um documento denominado "Consentimento Informado" e, tão logo seja possível, o paciente é internado na unidade de

transplante. Previamente ao início do condicionamento é implantado em todos os pacientes um cateter venoso central de longa permanência do tipo Hickman.

Os regimes de condicionamento variaram ao longo dos anos, conseqüente à evolução dos conhecimentos em relação aos transplantes de uma maneira geral, bem como ao desenvolvimento de drogas mais eficazes para a imunossupressão como é o caso da ciclosporina. Após 1993 segue-se o protocolo que pacientes com menos de 15 transfusões são condicionados com dose total de 200mg /kg de ciclofosfamida (50 mg/kg/dia, durante 4 dias, dos dias -6 a -3) e os pacientes com 15 ou mais transfusões são condicionados com 12 mg/kg de bussulfano (dividido em 16 doses e administrado nos dias -8, -7, -6 e -5) mais ciclofosfamida 120mg/kg (dividido em 2 doses e administrada nos dias -4 e -3). Como exceção a esta regra temos 5 pacientes que receberam mais de 15 transfusões, mas por apresentarem estado geral comprometido optou-se pelo condicionamento apenas com ciclofosfamida por sabidamente ter menor toxicidade. A medula óssea é infundida no dia zero.

Em caso de incompatibilidade ABO-Rh maior entre o paciente e o doador com títulos acima de 1:64 procede-se a plasmaferese e quando há incompatibilidade ABO-Rh menor com títulos acima de 1:1024 a medula é encaminhada ao banco de sangue para centrifugação e retirada do plasma sobrenadante. Quando há impossibilidade de retirada dos anticorpos por plasmaferese, a outra opção é a adição de hidroxyethyl starch (HES), um polissacarídeo de alto peso molecular que faz agregação dos eritrócitos, com baixa força de ligação.

Durante o condicionamento os pacientes são hiperhidratados com 3000 ml/m² de solução salina isotônica e soro glicosado a 5% em porções equivalentes, por via endovenosa. Os antieméticos são administrados a critério clínico.

O doador é internado habitualmente no dia anterior ao transplante e sob anestesia geral ou peridural é submetido a múltiplas aspirações de medula óssea das cristas ilíacas posteriores após anti-sepsia. Procura-se utilizar o mesmo orifício da pele para a entrada da agulha, mudando-se os locais de aspiração no osso. Em

média aspira-se 5 ml em cada punção e após esgotado o local de aspiração, perfuramos a pele em outra região próxima para continuar o procedimento, tantas vezes quantas forem necessárias. Quando há uma disparidade ponderal importante entre o doador e o paciente, aspiramos também a medula óssea da crista ilíaca anterior.

Sempre que possível o volume final da medula óssea é de 10 a 15 ml por kg de peso do receptor. A medula óssea retirada é colocada em uma bolsa apropriada contendo heparina e meio de cultura para se evitar coagulação (TC 199+GIBCO LAB – CHAGRIN FALLS-OHIO). Esta mistura perfaz aproximadamente 20% de volume total final.

A imunoprofilaxia da DECH é feita com methotrexate (MTX) na dose de 15 mg/m² no D+1 e 10 mg/m² nos dias +3, +6 e +11 associado a ciclosporina (CSA) na dose de 1,5 mg/kg a cada 12 horas, por via endovenosa e iniciada no D-1. Quando o paciente consegue ingerir a CSA por via oral a dose é modificada para 6,25 mg/kg a cada 12 horas e mantida por um ano. As doses de CSA são alteradas dependendo do nível sérico da droga e da concentração da creatinina sanguínea.

Todos os pacientes receberam medicações profiláticas visando-se diminuir a incidência de infecções por vírus e fungos. Como profilaxia da infecção pulmonar por Pneumocistis carinii usa-se o sulfametoxazol-trimetropin do dia -8 até o -1 e a seguir do D+50 ao D+150, de 12 em 12 horas em 2 dias por semana. A profilaxia contra infecção fúngica é feita com anfotericina B 0,1 mg/kg diariamente enquanto o paciente estiver internado, sendo posteriormente substituída pelo fluconazol na dose de 100 a 400 mg/dia.

Na tentativa de se reduzir às infecções por herpes é administrado acyclovir do dia -1 ao D+26 na dose de 250 mg/m² de 8 em 8 horas quando o doador e o paciente são ambos sorologicamente citomegalovírus (CMV) negativos ou positivos ou o doador é CMV negativo e o paciente é positivo. Utiliza-se 500 mg/m² de 8 em 8 horas de aciclovir quando o doador é CMV positivo e o paciente negativo.

Todos os derivados sangüíneos são previamente irradiados com 2.500 cGy.

A dieta é constituída de alimentos cozidos e supervisionada pela equipe de nutrição. A abordagem das infecções é feita de maneira empírica com antibioticoterapia intravenosa, sendo iniciada logo que o paciente apresenta o primeiro pico febril. É trocado o esquema antibacteriano sempre que se observa uma piora do estado geral do paciente ou orientado pelo resultado da hemocultura e antibiograma. Ao longo dos anos foram várias as abordagens do paciente febril e variaram em função da disponibilidade de antibióticos e do desenvolvimento de drogas de amplo espectro antimicrobiano. Atualmente estamos utilizando inicialmente cefepime.

O uso da vancomicina é restrito sempre que possível ao encontro de estafilococo não produtor de coagulase resistente a outros antibióticos e às indicações vigentes na literatura médica atual.

A persistência da febre após o uso de antibióticos de largo espectro é interpretada como possível infecção fúngica e indicação para aumento da dose de anfotericina B para 1mg/kg.

A identificação de duas ou mais células positivas em 50.000 leucócitos na antigenemia para citomegalovírus (CMV) é indicação para o tratamento com ganciclovir na dose de 10mg/kg/dia durante 14 dias ou mais.

O tempo médio de permanência na Unidade de TMO foi de 32 dias. Todos os pacientes deviam permanecer em Curitiba por 100 dias após o procedimento, para o controle clínico e a detecção precoce de complicações.

A falha de pega (rejeição) foi definida como:

- 1) *Falha primária de pega*: Ausência de recuperação hematológica em paciente sobrevivendo 21 dias ou mais após o transplante;
- 2) *Pega transitória*: Recuperação completa ou parcial da hematopoese originária do doador, seguida por recorrente pancitopenia, com uma medula óssea acentuadamente hipocelular e na ausência de DECH aguda moderada a severa.

Os pacientes sem evidência de pega até o D +25 e alguns pacientes que apresentam falha tardia receberam nova infusão de medula óssea precedida por novo condicionamento, constituído na maioria das vezes por ciclofosfamida associada à globulina antilinfocítica ou por ciclofosfamida e bussulfano. A opção por se indicar o 2º transplante ou tratamento imunossupressor baseou-se na rapidez da rejeição e na gravidade da neutropenia. Somente se optava pelo tratamento imunossupressor quando houvesse células hematopoéticas na medula óssea e os granulócitos não estivesse abaixo de 100 / μ l.

O tratamento imunossupressor consistiu de 12,5 mg/kg de CSA por 8 dias, 7mg/kg do D+9 ao D+84 e a seguir 6,25 mg/kg durante um ano associado a prednisona. Usava-se esta última na dose de 2 mg/kg durante 15 dias, posteriormente se usava metade da dose por mais 30 dias, quando então era reduzida em 20% por semana até a sua suspensão.

A DECH aguda era identificada e estudada segundo critérios já estabelecidos. De acordo com o órgão comprometido foi feita biópsia de pele, mucosa oral, gástrica, intestinal, retal e hepática para confirmação histológica.

Quando os pacientes desenvolviam DECH aguda de graus II a IV, iniciava-se prednisona ou metilprednisolona, via oral ou intravenosa, na dose de 2 mg/kg de peso ao dia até o desaparecimento completo da sintomatologia, quando então a dose era reduzida progressivamente.

Na DECH crônica também se seguiu a recomendação estabelecida para diagnóstico e estadiamento (SULLIVAN et al., 1988). Administrava-se corticosteróides na dose de 1,0 a 2,0 mg/kg/dia quando o paciente apresenta a forma extensa. Nos pacientes com alto risco de mortalidade, isto é, aqueles que cursavam também com trombocitopenia, a associação de ciclosporina e prednisona era mantida por um período mais prolongado. Pacientes com DECH crônica refratária são tratados conforme o protocolo de Seattle (VOGELSANG, 2001) usando a combinação de prednisona e ciclosporina em dias alternados e quando não havia resposta era associado micofenolato mofetil. Outras possibilidades terapêuticas incluíam o uso de

talidomida, azatioprina, clofazimina e PUVA (8-metoxipsoralen associado a irradiação ultra violeta A) (BACIGALUPO et al., 1988).

TABELA 7 - REGIMES DE CONDICIONAMENTO

CONDICIONAMENTO	Nº PACIENTES	%
CFA	52	29
BU + CFA	126	71
Total	178	100

FONTE: Banco de dados do STMO - UFPR

7 - ANÁLISE ESTATÍSTICA¹

A análise estatística foi feita com auxílio do programa Statgraphics plus versão 5 (Manugistics, Inc.).

Foram adotados limites de significância de 95% para as análises e testes estatísticos; ou seja, os p- valores inferiores a 0,05 confirmam a significância das análises.

As análises univariadas (idade do paciente, idade do doador, intervalo entre diagnóstico e TMO, número de transfusões pré-TMO, número de células infundidas, número de neutrófilos, raça, etiologia da AAS, pacientes infectados ao TMO, sexo do doador e do paciente, incompatibilidade ABO) foram realizadas empregando-se a distribuição t- Student para a realização dos testes de hipóteses (comparação da média entre as variáveis estudadas).

O modelamento estatístico multivariado foi realizado através da regressão linear múltipla entre a variável sobrevida (dependente) e as variáveis: idade dos pacientes, número de transfusões prévias, desempenho pré-TMO, tipo de tratamento prévio da aplasia e tipo de condicionamento (independentes), utilizando um limite de significância de 90%.

As curvas de sobrevida foram analisadas usando o método de Kaplan e Meier.

¹ O modelo de regressão linear multivariado, do tipo: $Y = \beta_0 + \beta_1X_1 + \beta_2X_2 + \dots + \beta_nX_n + \varepsilon$; onde: Y é a variável dependente, X_1 a X_n são as variáveis independentes, β_0 constante, β_1 a β_n são coeficientes das variáveis independentes e ε é o erro padrão do modelo. As estatísticas para avaliação do modelo são: p-valor (< 0,10), r^2 (próximo de 100%) e F- Fisher (possuir elevado módulo).

8 - RESULTADOS

8.1 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Foram transplantados 52 pacientes condicionados com CFA cuja idade variou de 2 a 38 anos, sendo a mediana de 16 anos. Neste grupo temos 34 pacientes do sexo masculino e 18 do sexo feminino; 46 são brancos e 6 não brancos. O tempo de duração da doença precedente ao TMO variou de 1 a 36 meses, com uma mediana de 2 meses. O número de transfusões prévias variou de 1 a 30 unidades, sendo a mediana de 10. Segundo a escala de Karnofsky o desempenho pré-transplante variou de 70 a 100%, sendo a mediana de 90% (dado analisado em 42 pacientes). O número de granulócitos anteriormente ao procedimento variou de 22 a 1008, com uma mediana de 248 granulócitos por mm^3 . Dos 6 pacientes infectados ao transplante um tinha hemocultura positiva para estreptococos e outro com Klebsiela, um tinha neurocisticercose e dois pacientes tinham herpes labial, sendo que um deles também apresentava um abscesso axilar.

No grupo dos 126 pacientes condicionados com CFA e BU a idade variou de 2 a 46 anos, com uma mediana de 19. Tivemos 80 do sexo masculino, 46 do sexo feminino; 64 pacientes brancos e 62 não brancos. O tempo de duração da doença previamente ao TMO variou de 1 a 144 meses, com uma mediana de 4 meses. O número de transfusões prévias variou de 15 a 675, com uma mediana de 35 unidades. O desempenho pré-transplante variou de 30 a 100 % na escala de Karnofsky, com mediana de 80% (dado avaliado em 116 pacientes). O número de granulócitos variou de zero a 2072, com uma mediana de 281 por mm^3 . Estavam infectados previamente ao transplante 36 pacientes, sendo 20 com infecções bacterianas, 4 com infecções virais, 1 com infecção fúngica e 11 com febre sem foco determinado. Provavelmente o maior tempo de duração da doença associa-se a um pior estado geral avaliado pela escala de Karnofsky, a um maior risco de infecção e

a uma maior necessidade transfusional. As características clínicas dos pacientes estudados encontram-se na tabela 8.

TABELA 8 -CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

CARACTERÍSTICAS	CFA N=52	CFA + BU N=126	P valor
Idade paciente (anos) Variação/ Mediana	2 – 38 M=16	2– 46 M=19	0,0172
Sexo paciente			
Masculino	34 (65%)	80 (63%)	NS
Feminino	18 (35%)	46 (37%)	
Raça			
Branca	46 (89%)	64 (51%)	0,000
Não branca	6 (11%)	62 (49%)	
Duração da doença (meses)	1 – 36 M=2	1 – 144 M=4	0,009
Nº de transfusões prévias (unidades)	1 – 30 M=10	15 - 675 M=35	0,000
Desempenho pré – TMO (Escala de Karnofsky)	70 – 100 M = 90	30 – 100 M = 80	0,001
Nº granulócitos	22 – 1008 M=278	0 – 2072 M=281	NS
Infectados ao TMO	6 (11%)	36 (28%)	0,005

FONTE: Banco de dados do STMO - UFPR

Nota: M= Mediana

NS= Não significativa

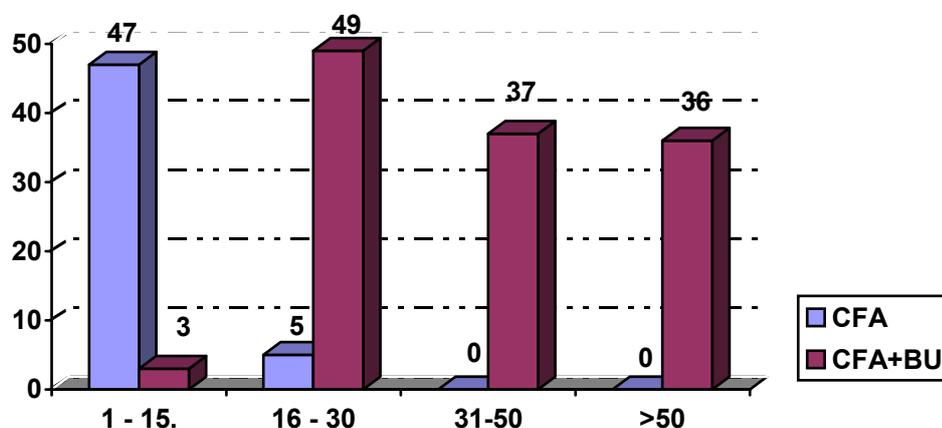
A idade do doador da medula óssea variou de 1 a 48 anos tanto para os pacientes condicionados com CFA quanto para os condicionados com a associação desta ao BU, sendo a mediana de 16 anos para os primeiros e de 19 anos para os últimos. Não houve diferença estatística significativa entre as médias destes grupos ($p= 0,1409$).

Na figura 1 discriminamos o número de unidades transfundidas conforme o regime de condicionamento usado ($p= 0,000$). Devemos salientar que o número de transfusões provavelmente está subestimado, pois freqüentemente os pacientes e em algumas vezes até mesmo os profissionais que prestam assistência médica a estes pacientes não possuem o registro preciso da quantidade de hemoderivados administrada.

Não há o registro do número exato de unidades transfundidas em um paciente condicionado com BU + CFA, mas baseado nas informações do prontuário médico este número é superior a 15.

Temos cinco pacientes condicionados com CFA que receberam mais de 15 transfusões, a saber: 16, 18, 22, 28 e 30 unidades.

FIGURA 1 - DISTRIBUIÇÃO DO NÚMERO DE TRANSFUSÕES PRÉ-TRANSPLANTE



Número de unidades transfundidas

FONTE: Banco de dados do STMO - UFPR

É difícil determinar os fatores de risco ou a etiologia da anemia aplástica. Os pacientes na maioria das vezes desconhecem os fatores de risco a que foram expostos ou podem apresentar viés de memória. Dentre os pacientes condicionados com ciclofosfamida temos 42 (81%) com AA etiológicamente idiopática e 10 (19%) por drogas. No grupo dos pacientes condicionados com CFA + BU temos 115 (91%) com AA idiopática, 9 (7%) com AA por drogas e 2 pacientes (2%) pós-hepatite. Não houve diferença estatística significante entre as médias dos grupos.

Previamente ao transplante 70 pacientes foram submetidos a alguma forma de tratamento, como se pode observar na tabela 9. Não houve diferença estatística significativa entre as medias dos grupos ($p= 0,067$).

TABELA 9 - TRATAMENTO PRÉVIO AO TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA

TRATAMENTO PRÉVIO	CFA N=52	BU + CFA N=126	P valor
Prednisona	5 (9%)	16 (13%)	NS
Prednisona + Ciclosporina	3 (6%)	24 (19%)	
Prednisona +Outros	3 (6%)	12 (9%)	
Miscelânea	1 (2%)	6 (5%)	
Nenhum	40 (77%)	68 (54%)	

FONTE: Banco de dados do STMO - UFPR

O número de células mononucleares infundidas variou de 1,69 a 6,55 X 10^8 /kg de peso do receptor nos 2 grupos de pacientes. A maior parte dos pacientes recebeu um conteúdo de células superior a $3,0 \times 10^8$ /kg, considerada satisfatória para garantir a pega do enxerto (Vide tabela 10). Não houve diferença estatística significativa entre as médias dos dois grupos ($p= 0,281$). Todos os pacientes receberam uma medula óssea não depletada de células T.

TABELA 10 - NÚMERO DE CÉLULAS MONONUCLEARES INFUNDIDAS

Nº DE CÉLULAS INFUNDIDAS (x 10^8 /kg receptor)	CFA N=52	BU + CFA N=126	P valor
< 2,0	01 (02%)	14 (11%)	NS
$\geq 2,0 < 2,5$	12 (23%)	26 (21%)	
$\geq 2,5 < 3,0$	12 (23%)	26 (21%)	
$\geq 3,0 < 4,0$	15 (29%)	41 (32%)	
$\geq 4,0$	12 (23%)	19 (15%)	
Mediana	2,97	2,87	
Varição	1,69 – 5,93	1,38 – 6,55	

FONTE: Banco de dados do STMO - UFPR

A tabela 11 mostra a relação entre o sexo do doador e do paciente ($p= 0,479$).

TABELA 11 - RELAÇÃO ENTRE O SEXO DO DOADOR E DO PACIENTE

SEXO (DOADOR ⇒ PACIENTE)	CFA N=52	BU + CFA N=126	P valor
M ⇒ M	34 ⇒ 21	80 ⇒ 55	NS
M ⇒ F	34 ⇒ 13	80 ⇒ 25	
F ⇒ M	18 ⇒ 10	46 ⇒ 31	
F ⇒ F	18 ⇒ 08	46 ⇒ 15	

FONTE: Banco de dados do
STMO- UFPR

Dentre os pacientes condicionados com CFA temos 9 (17%) com incompatibilidade ABO maior, 3 (6%) com menor e 1 (2%) com incompatibilidade maior e menor. No grupo dos pacientes condicionados com BU+CFA temos 15 (12%) pacientes com incompatibilidade ABO maior, 25 (20%) com menor e 4 (3%) com maior e menor. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias dos dois grupos ($p= 0,783$). **Ver** tabela 12.

TABELA 12 - INCOMPATIBILIDADE ABO CONFORME O REGIME DE CONDICIONAMENTO

INCOMPATIBILIDADE ABO	CFA N=52	BU + CFA N=126	P valor
Maior	9 (17%)	15 (12%)	NS
Menor	3 (6%)	25 (20%)	
Maior e menor	1 (2%)	4 (3%)	
Nº total de pacientes	13 (25%)	44 (35%)	

FONTE: BANCO DE DADOS DO STMO- UFPR

8.2 REJEIÇÃO

A rejeição ou falha de pega ocorreu em 39 dos 178 pacientes transplantados por anemia aplástica. Dos pacientes condicionados com ciclofosfamida 24 (46%) apresentaram rejeição, sendo 3 (6%) falha primária de pega (FPP) e 21 (40%) pega transitória (PT). Entre os pacientes condicionados com BU+CFA 15 pacientes (12%) apresentaram rejeição, sendo 4 (3%) pacientes com FPP e 11 (9%) pacientes com pega transitória (tabela 13).

TABELA 13 - ÍNDICE DE REJEIÇÃO CONFORME O CONDICIONAMENTO USADO

CONDICIONAMENTO	TOTAL DE PACIENTES (%)	FALHA PRIMÁRIA DE PEGA (FPP)	PEGA TRANSITÓRIA (PT)
Ciclofosfamida N=52	24 (46 %)	3 (6%)	21 (40%)
Bussulfano + ciclofosfamida N=126	15 (12%)	4 (3%)	11 (9%)

FONTE: Banco de dados do STMO - UFPR

Em relação aos 52 pacientes condicionados com CFA comparamos as médias dos possíveis fatores relacionados a rejeição dos 24 pacientes que apresentaram rejeição e dos 28 que não apresentaram. Esta diferença foi estatisticamente significativa em relação a idade do paciente ($p= 0,0071$), idade dos doadores ($p= 0,0221$), etiologia da anemia aplástica ($p= 0,0231$) e tratamento prévio da aplasia ($p= 0,0138$) (tabela 14).

TABELA 14 - VARIÁVEIS RELACIONADAS AOS PACIENTES, À DOENÇA E AO TRANSPLANTE NOS 52 PACIENTES CONDICIONADOS COM CICLOFOSFAMIDA (COM REJEIÇÃO X SEM REJEIÇÃO)

CARACTERÍSTICAS	Com rejeição N= 24	Sem rejeição N= 28	P valor
Idade do paciente (anos)	2 – 25	7 – 38	0,0071
Variação - Mediana	M= 10	M= 17	
Idade do doador (anos)	4- 29	1 – 48	0,0221
Variação-Mediana	M= 14	M= 20	
Intervalo entre diagnóstico e TMO (meses)	1 – 5	1- 36	0,3114
Variação - Mediana	M= 2	M= 2	
Nº transfusões pré - TMO	1 – 28	3 – 30	0,5767
Variação - Mediana	M= 9	M= 10	
Desempenho pré – TMO (%)	70 – 90	70 – 100	0,8554
Variação - Mediana	M= 90 N= 22	M= 90 N= 21	
Nº células infundidas	1,69 – 5,59	2,0 – 5,93	0,2015
Variação - Mediana	M= 3,23	M= 2,92	
Nº neutrófilos	42 – 924	22 – 1008	0,3582
Variação - Mediana	M= 235	M= 328	
Raça			
Branços	19	27	0,6980
Não brancos	5	1	
Etiologia			
Idiopática	16	26	0,0231
Drogas/ tóxica	8	2	
Pós – hepatite	0	0	
Infectados ao TMO	1	5	0,1134
Trat. prévio da aplasia			
Prednisona	0	5	0,0138
Prednisona + ciclosporina	0	3	
Prednisona + outros	2	1	
Miscelânea	0	1	
Nenhum	22	18	
Sexo doador ⇒ paciente			
F ⇒ M	11 ⇒ 08	10 ⇒ 05	0,3652
F ⇒ F	11 ⇒ 03	10 ⇒ 05	
M ⇒ M	13 ⇒ 07	18 ⇒ 14	
M ⇒ F	13 ⇒ 06	18 ⇒ 04	
Incompatibilidade ABO			
Maior	2	7	0,0731
Menor	2	2	
Maior e menor	0	1	

FONTE: Banco de dados do STMO da UFPR

M= Mediana

Ao compararmos as médias dos possíveis fatores relacionados à rejeição dos 126 pacientes condicionados com a combinação de ciclofosfamida e bussulfano, separando-se em um grupo de 15 pacientes que apresentaram rejeição e o grupo

dos 111 que não apresentaram, obtivemos uma diferença estatisticamente significativa apenas em relação a média da idade do paciente ao transplante de medula ($p= 0,0315$). Em relação aos outros fatores temos: idade do doador ($p= 0,7841$), intervalo entre o diagnóstico e o transplante ($p= 0,4107$), número de transfusões prévias ($p= 0,4909$), desempenho pré-TMO ($p= 0,5732$), número de células mononucleares infundidas ($p= 0,3746$), número de neutrófilos ao transplante ($p= 0,1053$), raça ($p= 0,8356$), número de pacientes com infecção ao condicionamento ($p= 0,666$), tratamento prévio da aplasia ($p= 0,9190$), relação entre o sexo do doador e do receptor ($p= 0,2890$) e incompatibilidade ABO ($p= 0,0586$). Não foi possível comparar os dados referentes à etiologia da AA nestes dois grupos, pois foram considerados iguais do ponto de vista estatístico. Estes dados são apresentados na tabela 15.

Para analisar os fatores que podem estar relacionados à rejeição foi feita a análise univariada (t- Student) dos 139 pacientes que não apresentaram rejeição com os 39 que apresentaram (independente do regime de condicionamento usado) e observamos que estes dois grupos diferiam em relação à média da idade do paciente, o número de transfusões prévias, o desempenho pré-TMO, o tipo de tratamento prévio da aplasia e o tipo de condicionamento pré-transplante. Estes dados são apresentados na tabela 14. Foi feito o modelamento estatístico multivariado através da regressão linear múltipla entre a variável sobrevida (dependente) com as variáveis que apresentaram um valor de p estatisticamente significativo na análise univariada. Nenhuma das variáveis analisadas apresentou correlação com a sobrevida. Devemos salientar que este não foi um modelo estatisticamente robusto. **Vide** dados estatísticos em anexo.

TABELA 15 -VARIÁVEIS RELACIONADAS AOS PACIENTES, À DOENÇA E AO TRANSPLANTE NOS PACIENTES CONDICIONADOS COM CFA + BU (COM REJEIÇÃO X SEM REJEIÇÃO)

CARACTERÍSTICAS	Com rejeição N= 15	Sem rejeição N= 111	P VALOR
Idade paciente (anos)	6 – 39	2 – 46	0,0315
Variação - Mediana	M= 11	M= 20	
Idade do doador (anos)	8 – 46	1 – 48	NS
Variação- Mediana	M= 18	M= 19	
Intervalo entre diagnóstico e TMO (meses)	1 - 144	1 – 94	NS
Variação - Mediana	M= 6	M= 4	
Nº transfusões pré - TMO	18 – 100	15 – 675	NS
Variação - Mediana	M= 39	M= 24 N= 110	
Desempenho pré - TMO (%)	70 – 90	30 – 100	NS
Variação - Mediana	M= 80 N= 14	M= 80 N= 102	
Nº células infundidas	1,95 – 6,19	1,38 – 6,55	NS
Variação - Mediana	M= 3,01	M= 2,84	
Nº neutrófilos	50 – 1848	0 – 2072	NS
Variação - Mediana	M= 440	M= 252	
Raça			NS
Brancos	8	56	
Não brancos	7	55	
Etiologia			NS
Idiopática	15	100	
Drogas/ tóxica	0	9	
Pós - hepatite	0	2	
Infectados ao TMO	5	31	NS
Trat. prévio da aplasia			NS
Prednisona	2	14	
Prednisona + ciclosporina	4	20	
Prednisona + outros	2	10	
Miscelânea	0	6	
Nenhum	7	61	
Sexo doador ⇒ paciente			NS
F ⇒ M	04 ⇒ 02	36 ⇒ 23	
F ⇒ F	04 ⇒ 02	36 ⇒ 13	
M ⇒ M	11 ⇒ 05	75 ⇒ 50	
M ⇒ F	11 ⇒ 06	75 ⇒ 25	
Incompatibilidade ABO			NS
Maior	4	11	
Menor	4	19	
Maior e menor	0	4	

FONTE: Banco de dados do STMO - UFPR

M= Mediana

NS= Não significante

TABELA 16 - VARIÁVEIS RELACIONADAS AOS PACIENTES, A DOENÇA E AO TRANSPLANTE NOS PACIENTES COM E SEM REJEIÇÃO

CARACTERÍSTICAS	REJEIÇÃO		P VALOR
	SIM N= 39	NÃO N= 139	
Idade paciente (anos)	2 – 39	2- 46	0,0001
Variação - Mediana	M= 11	M= 19	
Idade do doador (anos)	4– 46	1 – 48	NS
Variação -Mediana	M= 16	M= 19	
Intervalo entre diagnóstico e TMO (meses)	1 – 144	1 – 94	NS
Variação - Mediana	M= 2	M= 4	
Nº transfusões pré- TMO	1 – 100	3- 675	0,0036
Variação - Mediana	M= 14	M= 30	
Desempenho pré- TMO (%)	70 – 90	30 – 100	0,0375
Variação - Mediana	M= 90	M= 90	
Nº células infundidas	1,69 – 6,19	1,38 – 6,55	NS
Variação - Mediana	M = 3,17	M= 2,84	
Nº neutrófilos	42 – 1848	9 – 2072	NS
Variação - Mediana	M= 324	M= 266	
Raça			NS
Branços	27	83	
Não brancos	12	56	
Etiologia			NS
Idiopática	31	126	
Drogas / tóxica	8	11	
Pós - hepatite	0	2	
Infectados ao TMO	6	36	NS
Trat. prévio da aplasia			0,0181
Prednisona	2	19	
Prednisona + ciclosporina	4	23	
Prednisona + outros	4	11	
Miscelânea	0	7	
Nenhum	29	79	
Sexo doador ⇒ paciente			NS
F⇒ M	15 ⇒ 10	46 ⇒ 28	
F⇒ F	15 ⇒ 05	46 ⇒ 18	
M ⇒ M	24 ⇒ 12	93 ⇒ 64	
M ⇒ F	24 ⇒ 12	93 ⇒ 29	
Incompatibilidade ABO			NS
Maior	7	17	
Menor	6	22	
Maior e menor	0	5	
Tipo condicionamento			0,0000
BU + CFA	15	111	
CFA	24	28	

FONTE: Banco de dados do STMO - UFPR

M= Mediana

NS= Não significativa

Não houve diferença estatística significativa entre as médias das variáveis que podem estar relacionadas à rejeição nos 7 pacientes com falha primária de pega (FPP) e os 139 pacientes sem rejeição (ver tabela 17). Devemos salientar que esta é

uma amostra pequena e que não apresenta uma curva de distribuição normal, dificultando a análise.

TABELA 17 - VARIÁVEIS RELACIONADAS AOS PACIENTES, A DOENÇA E AO TRANSPLANTE NOS PACIENTES COM FPP X SEM REJEIÇÃO

CARACTERÍSTICAS	FPP N= 7	SEM REJEIÇÃO N= 139	P valor
Idade paciente (anos) Variação - Mediana	8- 21 M= 10	2- 46 M= 19	NS
Idade do doador (anos) Variação - Mediana	4 – 23 M= 11	1 – 48 M= 19	NS
Intervalo entre diagnóstico e TMO (meses) Variação - Mediana	2 – 13 M= 8	1 – 94 M= 4	NS
Nº transfusões pré-TMO Variação - Mediana	6 – 77 M= 18	3– 675 M= 30	NS
Desempenho pré-TMO (%) Variação - mediana	70 – 90 M= 80 N=5	30 – 100 M= 90 N=122	NS
Nº células infundidas Variação - Mediana	1,95 – 5,59 M= 2,87	1,38 – 6,55 M=2,84	NS
Nº neutrófilos Variação - Mediana	75 – 924 M= 240	9 – 2072 M= 266	NS
Raça			
Branços	4	83	NS
Não brancos	3	56	
Etiologia			
Idiopática	6	126	NS
Drogas / tóxica	1	11	
Pós - hepatite	0	2	
Infectados ao TMO	2	36	NS
Trat. prévio da aplasia			NS
Prednisona	1	19	
Prednisona + ciclosporina	1	23	
Prednisona + outros	1	11	
Miscelânea	0	7	
Nenhum	4	79	
Sexo doador ⇒ paciente			
F ⇒ M	6 ⇒ 3	46 ⇒ 28	NS
F ⇒ F	6 ⇒ 3	46 ⇒ 18	
M ⇒ M	1 ⇒ 1	93 ⇒ 64	
M ⇒ F	1 ⇒ 0	93 ⇒ 29	
Incompatibilidade ABO			
Maior	3	17	NS
Menor	2	22	
Maior e menor	0	5	
Tipo condicionamento			NS
BU + CFA	4	111	
CFA	3	28	

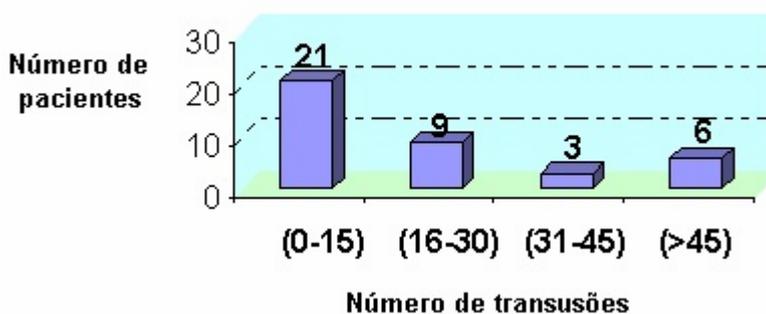
FONTE: Banco de dados do STMO - UFPR

Dentre os pacientes condicionados com ciclofosfamida 47 receberam menos do que 15 transfusões antes do transplante e destes 21 pacientes rejeitaram a medula. Ainda em relação ao pacientes condicionados com CFA, 5 receberam mais do que 15 transfusões e dentre estes 3 pacientes rejeitaram.

No grupo dos pacientes condicionados com CFA + BU 89 receberam menos do que 50 transfusões e 9 pacientes neste grupo rejeitaram. Tivemos 36 pacientes com mais de 50 transfusões, sendo que destes 6 pacientes rejeitaram.

Na figura 2 podemos observar que a quase totalidade dos pacientes que rejeitaram (independente do regime de condicionamento) receberam até 30 transfusões.

FIGURA 2 – HISTOGRAMA DO NÚMERO DE TRANSFUSÕES RECEBIDAS PREVIAMENTE AO TRANSPLANTE PELOS PACIENTES QUE REJEITARAM A MEDULA ÓSSEA (N=39)



FONTE: Banco de dados do STMO - UFPR

8.3 TRATAMENTO APÓS A REJEIÇÃO

Dentre os 39 pacientes que apresentaram rejeição 18 foram submetidos a tratamento imunossupressor com ciclosporina e prednisona, sendo que 8 não apresentaram melhora hematológica e foram tratados com um segundo transplante. Foram diretamente a um segundo transplante 12 pacientes, perfazendo um total de 20 pacientes retransplantados. Receberam apenas cuidados de suporte 9 pacientes por apresentarem estado geral comprometido e não tolerarem um segundo

procedimento ou não terem tempo de vida suficiente para que este procedimento pudesse ser realizado (tabela 18).

TABELA 18 - TRATAMENTO DA ANEMIA APLÁSTICA PÓS -REJEIÇÃO

TRATAMENTO PÓS-REJEIÇÃO	Nº PACIENTES:
2º TMO	20
3º TMO	3
Imunossupressão	10
Nenhum	9

FONTE: Banco de dados do STMO - UFPR

Dentre os pacientes inicialmente condicionados com ciclofosfamida e que rejeitaram, 10 foram submetidos a um segundo transplante. Tivemos um paciente com doença do enxerto versus o hospedeiro (DECH) grau II e dois com grau III; 2 pacientes com DECH crônica limitada e um paciente com doença extensa. Neste grupo temos 7 pacientes vivos e 3 morreram (um por hemorragia pulmonar e dois por infecção fúngica). A sobrevida variou de 23 a 1268 dias, com uma mediana de 355 dias (tabela 19).

No grupo dos pacientes inicialmente condicionados com CFA + BU também 10 pacientes foram retransplantados. Um paciente apresentou DECH aguda grau IV e um doença crônica extensa. Neste grupo de pacientes temos 4 vivos e 6 óbitos pelas seguintes causas: septicemia, hemorragia, bronquiolite obliterante e pneumonia, infecção por *Clostridium difficile* e pneumonia (2 pacientes). A sobrevida variou de 14 a 1159 dias, com uma mediana de 528 dias (tabela 19).

As tabelas 20 e 21 contém os dados referentes aos pacientes retransplantados correlacionando-se os resultados do 2º TMO com a época da rejeição.

TABELA 19 - RETRANSPLANTE / EVOLUÇÃO (20 PACIENTES)

	CFA N=10	CFA + BU N=10
DECH aguda		
Grau I	0	0
Grau II	1	0
Grau III	2	0
Grau IV	0	1
DECH crônica		
Limitada	2	0
Extensa	1	1
Evolução		
Vivos	7	4
Óbitos	3	6
Causas de óbito	Hemorragia pulmonar Infecção fúngica (2 pac .)	Septicemia Hemorragia Bronquiolite obliterante + pneumonia Infecção por <u>Clostridium difficile</u> Pneumonia (2 pac .)
Sobrevida (dias)		14 - 1159
Varição-Mediana	23 - 1268 M= 355	M= 528

FONTE: Banco de dados do STMO - UFPR

TABELA 20 - CONDICIONADOS COM CICLOFOSFAMIDA

CASO N°	DIA DA REJEIÇÃO	SOBREVIDA APÓS 2° TMO
	mesmo doador	
11	177	330 +
12	76	52 *
13	70	1268 +
14	79	779 +
15	505	287 +
16	647	468 +
17	507	149
18	FPP	23
	doador diferente	
19	711	1232 +
20	FPP	380 +*

FONTE: Banco de dados do STMO - UFPR

* Submetido a 3° TMO

+ Paciente vivo

TABELA 21 - RETRANSPLANTE APÓS REJEIÇÃO: CONDICIONADOS COM BU + CFA

CASO Nº	DIA DA REJEIÇÃO	SOBREVIDA APÓS 2º TMO (DIAS)
	Mesmo doador	
1	FPP	46
2	FPP	661
3	464	1137 +
4	247	772 +
5	468	1159 +
6	520	476 *
7	FPP	14
8	516	16
9	921	580 +
	Doador diferente	
10	FPP	68

FONTE: Banco de dados do STMO - UFPR

* Submetido a 3º TMO

+ Paciente vivo

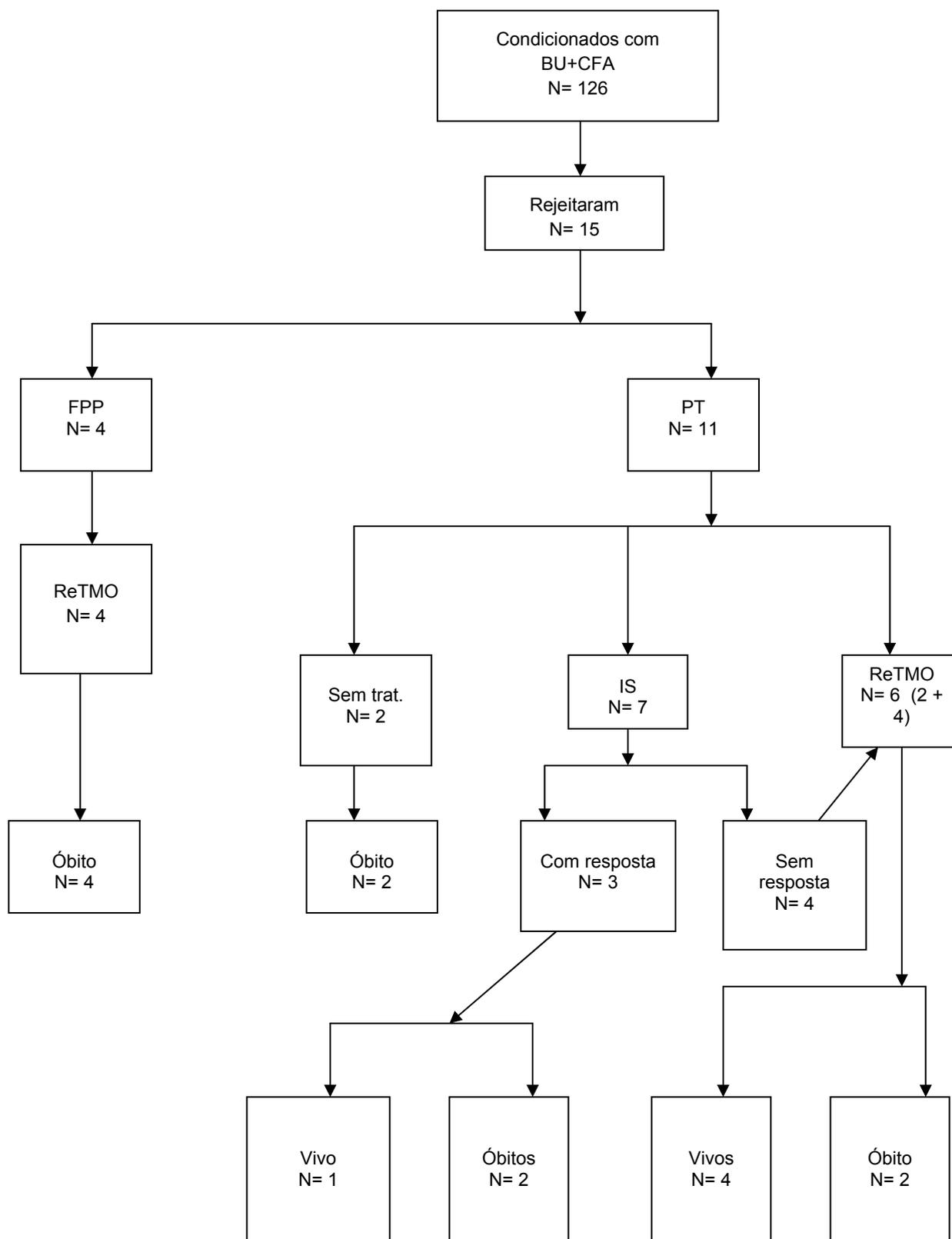
Em relação aos 10 pacientes que foram submetidos a tratamento exclusivamente imunossupressor com ciclosporina e prednisona após a rejeição, 7 eram do grupo inicialmente condicionado com ciclofosfamida e 3 foram inicialmente condicionados com BU+CFA. A rejeição ocorreu do dia 218 ao 1203 após o transplante, com uma mediana de 685 dias. Em relação à resposta hematológica temos 6 pacientes com resposta completa, 2 com parcial e 2 pacientes não responderam. Tivemos 3 pacientes com recuperação autóloga observada por citogenética (um paciente) e por VNTR (2 pacientes). Neste grupo temos 7 pacientes vivos e 3 óbitos (um teve morte súbita sem causa determinada e dois não apresentaram resposta ao tratamento imunossupressor e faleceram por pneumonia fúngica). A sobrevida variou de 283 a 3130 dias (mediana de 2274 dias). A tabela 22 mostra o resultado do tratamento imunossupressor nos pacientes que rejeitaram.

TABELA 22 - RESULTADO DO TRATAMENTO IMUNOSSUPRESSOR PÓS – REJEIÇÃO

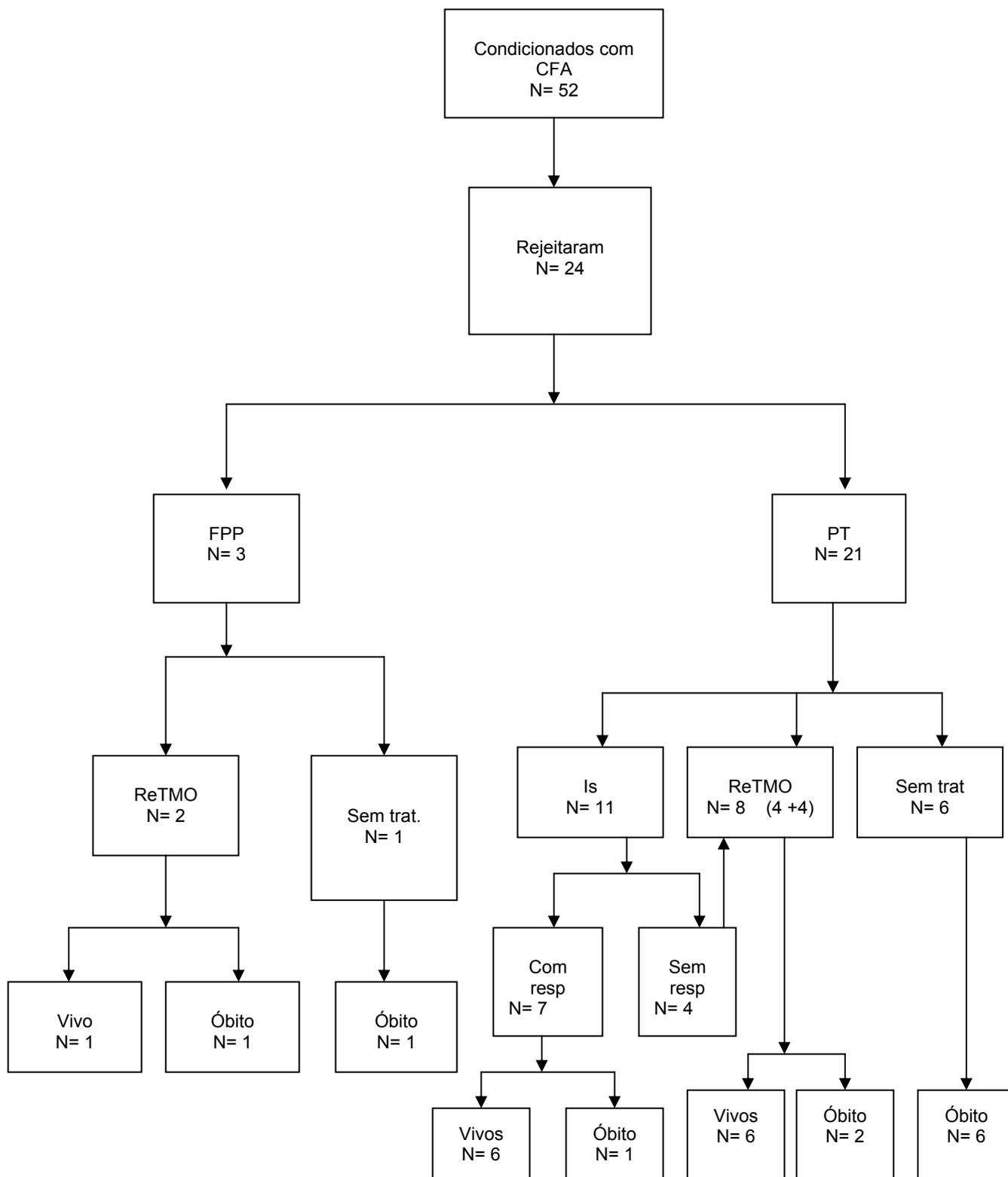
Nº pacientes	10
Dia da rejeição	218 – 1203
Varição – Mediana	M= 685
Resposta hematológica	
Completa	6
Parcial	2
Sem resposta	2
Recuperação autóloga	3
Evolução	
Vivos	7
Óbitos	3
Causas de óbito	Morte súbita Pneumonia fúngica + rejeição (2 pac)
Sobrevida (dias)	
Varição- Mediana	283 –3130 M= 2274
Tipo de condicionamento	
CFA	7
BU + CFA	3

FONTE: Banco de dados do STMO - UFPR

FLUXOGRAMA 1 : REPRESENTA A EVOLUÇÃO DOS 15 PACIENTES CONDICIONADOS COM BU+CFA QUE APRESENTARAM REJEIÇÃO DA MEDULA ÓSSEA.



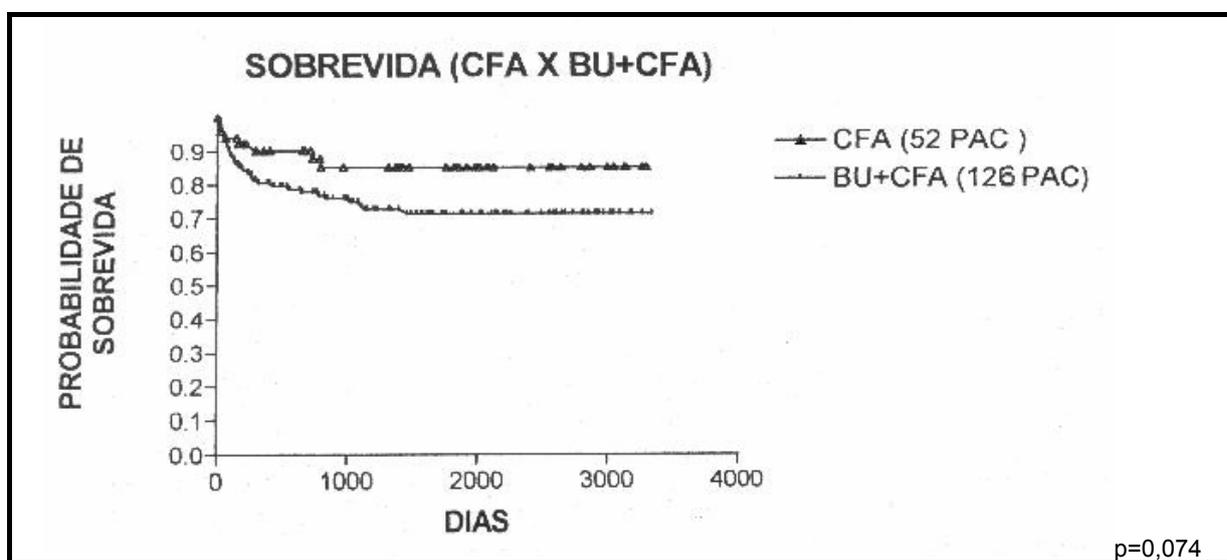
FLUXOGRAMA 2: REPRESENTA A EVOLUÇÃO DOS 24 PACIENTES CONDICIONADOS COM CICLOFOSFAMIDA QUE REJEITARAM A MEDULA ÓSSEA TRANSPLANTADA



9 - SOBREVIDA

Na figura 5 temos a sobrevida global dos 52 pacientes condicionados com CFA e dos 126 pacientes condicionados com CFA+BU submetidos a TMO na UFPR no período de janeiro de 1993 a novembro de 2001. Deste total, 138 pacientes estavam vivos no momento da análise dos dados, variando a sobrevida de 146 a 3330 dias (mediana =1781). A curva de sobrevida de Kaplan Meier estima a probabilidade de sobrevida de 85 % para os condicionados com CFA e de aproximadamente 75 % para os condicionados com CFA+BU após 3000 dias. Não há diferença estatística significativa entre as duas curvas ($p= 0,0741$).

FIGURA 5 - ESTIMATIVA DE SOBREVIDA DOS PACIENTES CONDICIONADOS COM CFA E BU+CFA. MÉTODO DE KAPLAN-MEIER



FONTE: Banco de dados do STMO- UFPR

Quando se observa a estimativa de sobrevida para os pacientes que rejeitaram (24 dos condicionados com CFA e 15 dos condicionados com BU+CFA) observamos uma diferença expressiva de resultados. Os pacientes inicialmente

condicionados com CFA e que rejeitaram têm uma sobrevida de aproximadamente 80%, enquanto os pacientes condicionados com BU+CFA têm aproximadamente 35%. Há uma diferença estatisticamente significativa entre as curvas ($p= 0,0017$). (figura 6).

Inferimos que os pacientes politransfundidos condicionados com BU+CFA embora apresentem um menor índice de rejeição, apresentam uma maior dificuldade de salvamento pós-rejeição.

FIGURA 6 - ESTIMATIVA DE SOBREVIDA DOS PACIENTES QUE REJEITARAM CONFORME O REGIME DE CONDICIONAMENTO USADO. MÉTODO DE KAPLAN - MEIER.

FONT

E:

Banco

de

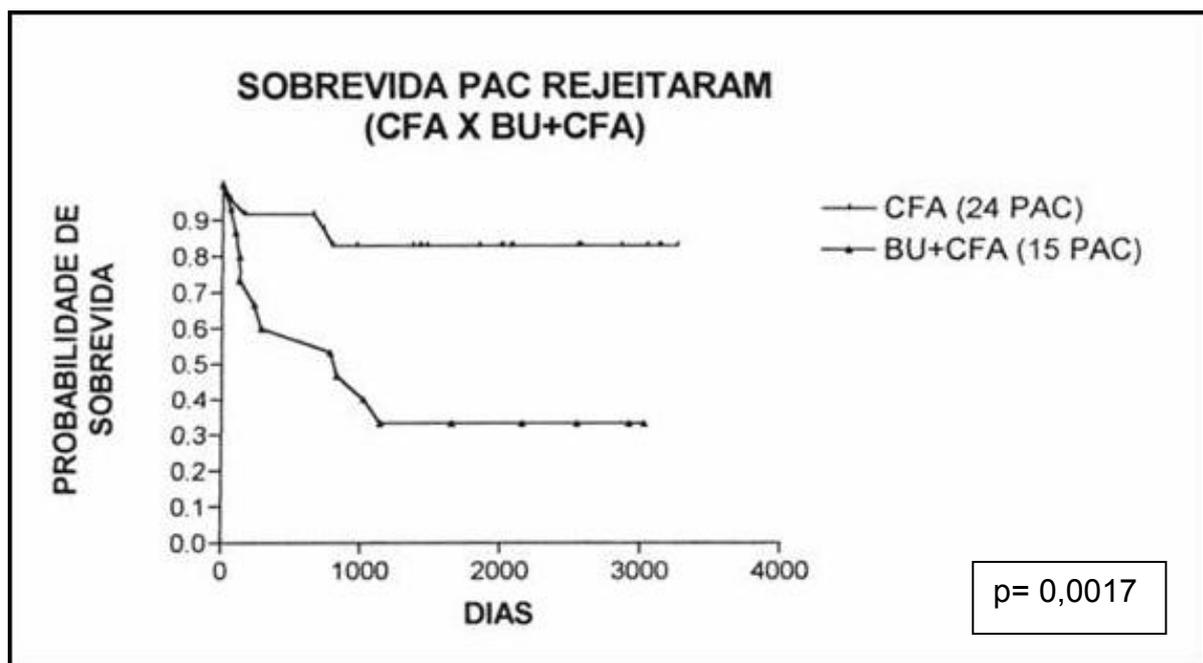
dados

do

STMO

-

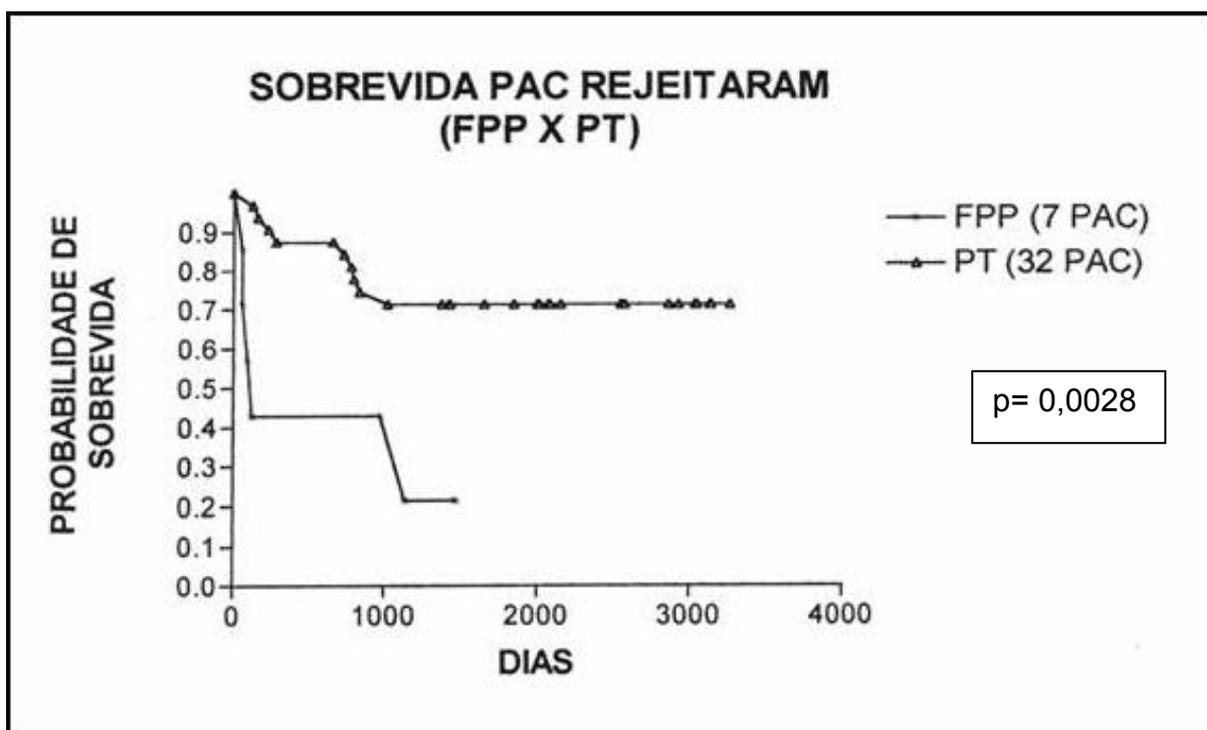
UFPR



análise da sobrevida considerando-se os pacientes com pega transitória ($n=32$) e dos pacientes com falha primária de pega ($n=7$) mostra que a ocorrência desta última compromete o sucesso do TMO (figura 7). A superioridade nos resultados da sobrevida dos pacientes com pega transitória é expressiva quando se compara com os

resultados dos pacientes com FPP (70% x 20 % após 1000 dias). Há significância estatística entre as duas curvas ($p=0,0028$).

FIGURA 7 - ESTIMATIVA DE SOBREVIVÊNCIA DOS PACIENTES QUE APRESENTARAM FALHA PRIMÁRIA DE PEGA (FPP) E PEGA TRANSITÓRIA (PT). MÉTODO KAPLAN-MEIER.



FONTE: Banco de dados do STMO - UFPR

10 - DISCUSSÃO

O TMO alogênico é hoje aceito como uma modalidade terapêutica para o tratamento de pacientes com AAS que possuem um doador aparentado compatível. Apesar da taxa de sobrevida destes pacientes estar entre 60 e 80%, temos alguns problemas a serem resolvidos (DEEG et al., 1986). Diferente do que ocorre no tratamento das leucemias agudas e crônicas, a rejeição permanece como um problema significativo para os pacientes com AAS após o transplante. Vários fatores contribuem para a possibilidade de rejeição, incluindo a transfusão prévia de hemácias e plaquetas (NEIDERWIESER et al., 1988), a infusão de pequena quantidade de células do doador (STORB; CHAMPLIN, 1991), o grau de disparidade dos antígenos HLA e a natureza auto-imune da doença de base (CHAMPLIN et al. 1984b). A administração do creme leucocitário (“buffy coat cells”) do doador (STORB et al., 1982) e a administração de esteróides também tem mostrado alterar o risco de rejeição (CHAMPLIN et al., 1989c). Conforme este último autor, as estratégias empregadas na profilaxia da DECH, como a depleção de células T, também contribuem para o risco de rejeição, assim como a adição de irradiação ao regime de condicionamento aumenta a chance de pega. O prognóstico após a rejeição é ruim, apesar de em um pequeno número de casos detectar-se recuperação autóloga (STORB et al., 1987).

O Serviço de TMO do HC da UFPR acumula a experiência de 178 casos de AAS transplantados desde 1993, usando como condicionamento a CFA ou a combinação desta ao bussulfano. Todos os pacientes receberam medula óssea repleta de células T e como imunoprofilaxia para a DECH o methotrexate associado a ciclosporina. Esta experiência reveste-se da maior importância, pois apresenta uma casuística expressiva para uma doença rara e avalia o índice de rejeição nos pacientes condicionados com BU+CFA, o que é uma casuística ímpar na literatura. Com a melhora da sobrevida após o transplante ao longo do tempo (PASSWEG et al., 1997), podemos avaliar qual o impacto atual da rejeição nesses resultados.

As características clínicas da nossa casuística assemelham-se aos outros estudos de porte semelhante. A etiologia da AA, a idade mediana dos pacientes, as características dos doadores, a incompatibilidade ABO, o número de transfusões prévias, o tratamento da aplasia pré-transplante são similares aos estudos publicados na literatura médica. O intervalo entre o diagnóstico da AAS e a realização do TMO foi de 3 meses, sendo que apenas 18 pacientes (10%) foram transplantados no primeiro mês de diagnóstico. No estudo do IBMTR 20% dos casos estavam diagnosticados a menos de um mês quando transplantados e a análise estatística destes dados demonstraram que o risco de insucesso do TMO (morte por qualquer causa) é significativa para aqueles com mais de um mês de diagnóstico (GLUCKMAN et al., 1992). Em nosso país o atraso na realização do TMO deve-se a baixa capacidade de execução do procedimento e aos obstáculos gerados pelos enormes problemas sócio-econômicos.

As transfusões sangüíneas administradas antes do transplante são fatores desfavoráveis para a sobrevida. Os resultados do TMO nos pacientes não transfundidos são claramente superiores, pois o índice de rejeição é menor (STORB et al., 1980), (ANASETTI et al., 1986). Esta superioridade dos resultados também é nítida no grupo recebendo até 20 transfusões na análise feita pelo IBMTR (GLUCKMAN et al., 1992). No serviço de TMO da UFPR ficou estabelecido o limite de corte de 15 transfusões, baseado nos dados da tese defendida pelo Dr. Ricardo Pasquini para o concurso de professor titular, que mostrava uma sobrevida de 74% naqueles pacientes que receberam um menor número de unidades e de 46% para os que receberam mais de 15 unidades de hemoderivados (MCGLAVE et al., 1987). Nos países mais desenvolvidos os pacientes portadores de AA são referidos aos centros de transplante mais precocemente e conseqüentemente com menor exposição às transfusões (NISSEN et al., 1988). As alternativas de se expor as frações do sangue a serem transfundidas a radiação ionizante foram propostas para reduzir a influência das transfusões na evolução do TMO (DEEG et al., 1986).

O grupo dos 52 pacientes condicionados com CFA e os 126 condicionados com BU+CFA diferiram em relação à idade dos pacientes, à raça, a duração da doença, o número de transfusões prévias, a performance pré - TMO, o número de pacientes infectados previamente ao condicionamento e quanto ao tipo de tratamento prévio ao transplante. Alguns fatores podem estar interligados, por exemplo quanto mais longa for a duração da doença, maior será a necessidade transfusional e o risco de infecções pela neutropenia prolongada, com uma conseqüente piora na performance.

No grupo condicionado com BU+CFA há maior número de pacientes submetidos ao tratamento prévio com ciclosporina e prednisona, esta tentativa de tratamento imunossupressor pode atrasar o transplante, tendo em vista que a resposta terapêutica é avaliada em média com 4 semanas de tratamento (FRICKHOFEN; ROSENFELD, 2000).

Não houve diferença estatisticamente significativa em relação ao sexo dos pacientes, ao número de granulócitos, a etiologia da hepatite, ao número de células mononucleares infundidas, a relação entre o sexo do paciente e do doador e a incompatibilidade ABO.

A incidência de rejeição entre os pacientes condicionados com CFA foi alta (46%), tendo 6% dos pacientes apresentado FPP e 40% pega transitória. No estudo realizado pelo IBMTR (CHAMPLIN et al., 1988), o grupo comparável com a nossa estatística, isto é, aqueles condicionados com CFA isolada, apresentou 18% de rejeição. O Dr. Ricardo PASQUINI (1991), quando avaliou 108 pacientes transplantados com AAS no HC da UFPR, tendo 100 pacientes desse grupo recebido 200 mg/kg de ciclofosfamida e os oito restantes a associação desta a diferentes doses de radioterapia verificou a incidência de rejeição em 26 de 104 pacientes, isto é 25% (STORB; DEEG, 1986).

Entre os fatores que podem reduzir o risco de rejeição inclui-se a transfusão de hemácias depletadas de leucócitos e o uso de plaquetas de doador único (STORB; DEEG, 1986). Os estudos mais recentes em modelos animais

mostram que o risco de sensibilização a antígenos menores (mas não aos maiores) de histocompatibilidade podem ser praticamente eliminados quando os produtos sanguíneos são expostos a irradiação gama (2000 cCy) (BEAN et al., 1991). Estes dados experimentais sugerem que todo produto sanguíneo deve ser irradiado antes de ser transfundido, antes e após o transplante.

A prática de se irradiar os hemoderivados, bem como a leucodepleção não fazem parte da realidade da maioria dos hemobancos brasileiros, seja por falta de acesso a serviços bem estruturados, seja por problemas econômicos. O Hospital de Clínicas da UFPR em Curitiba iniciou a irradiação de hemoderivados em 1989. Utilizamos o filtro desde 1997 para os pacientes politransfundidos ou com indicação de TMO, porém este uso não é sistemático. Não há uma regulamentação por parte das autoridades e não há pagamento pelo Sistema Único de Saúde (SUS). Fato que explicaria em parte o alto índice de rejeição dos pacientes condicionados somente com ciclofosfamida. Em contrapartida, a intensificação do regime de condicionamento funciona como um fator a mais na tentativa de minimizar a rejeição (DEEG et al., 1996). Isto pode explicar termos apenas 12% de rejeição entre os 126 pacientes condicionados com a associação de CFA+BU.

Ao comparar a média das variáveis relacionadas aos pacientes, à doença e ao transplante nos 139 pacientes que não rejeitaram com os 39 que rejeitaram, obteve-se significância estatística entre os seguintes fatores: idade do paciente ($p=0,001$), número de transfusões pré-transplante ($p=0,0036$), performance pré-TMO ($p=0,0375$), tratamento prévio da aplasia ($p=0,0181$) e tipo de condicionamento ($p=0,0000$). As outras variáveis analisadas não foram estatisticamente significantes.

A quantidade de células mononucleares infundidas não foi associado a rejeição, entretanto 91% dos pacientes receberam mais do que $2,0 \times 10^8$ células/Kg. Se doses menores do que essa podem estar associadas a falha de pega não se sabe.

O tratamento da aplasia com corticosteróide antes de referir o paciente ao transplante foi associado a baixa incidência de falha do enxerto. A explicação para

esse fato não é clara e também foi observada em outro trabalho do IBMTR (CHAMPLIN et al., 1989d). O corticóide inibe a imunidade celular e humoral nos pacientes com AA e a pega pode ser facilitada por este mecanismo (ELFENBEIN et al., 1979).

Os pacientes com falha primária de pega estão associados a um pior prognóstico. No Hospital de Clínicas 7 pacientes não tiveram evidência de pega e dentre estes somente um sobreviveu ao segundo TMO. Esse subgrupo é pequeno e não apresentou uma curva de distribuição normal. Não estão definidos na literatura os fatores relacionados à FPP e nós também não conseguimos evidenciar uma diferença estatística entre os fatores relacionados a este evento. A possibilidade de um defeito no microambiente da medula óssea tem sido considerada nesses casos em que a pega do enxerto não se faz, mesmo com mais de um condicionamento.

Dentre os 39 pacientes que apresentaram rejeição, 20 foram retransplantados (10 pacientes pertencem ao grupo inicialmente condicionado com CFA e 10 ao grupo do BU+CFA) e 10 pacientes foram submetidos a tratamento imunossupressor. A evolução desses pacientes (isto é a proporção entre pacientes vivos e mortos) foi praticamente a mesma independente do tipo de tratamento pós rejeição.

A sobrevida após o TMO para os pacientes com anemia aplástica tem melhorado nos últimos 15 anos, possivelmente devido ao uso de novos antibióticos e antifúngicos, ao uso da ciclosporina na profilaxia da DECH (PASSWEG et al., 1997) e a outros fatores difíceis de mensurar. Pelo apresentado não podemos associar a maior sobrevida a um menor índice de rejeição nos últimos anos, o que nos faz sugerir o uso sistemático do filtro, da leucodepleção e da irradiação dos hemoderivados para os pacientes candidatos ao TMO.

11 - CONCLUSÕES

1- O regime de condicionamento usando ciclofosfamida (200 mg/kg) é efetivo para o tratamento dos pacientes com anemia aplástica. Apesar do alto índice de rejeição apresentado pelos pacientes (46%), a sobrevida daqueles que rejeitam também é alta (aproximadamente 80%), pois conseguem ser resgatados por um novo transplante ou pelo tratamento imunossupressor com ciclosporina.

2- O regime de condicionamento com a associação de ciclofosfamida e bussulfano é efetivo para os pacientes politransfundidos transplantados por anemia aplástica. Apresenta um índice de rejeição de 12% e uma sobrevida total de aproximadamente 75%. Os pacientes que rejeitam apresentam uma sobrevida de aproximadamente 35%.

3- O Teste t- Student mostrou uma média diferente entre as variáveis idade do paciente, número de transfusões prévias, desempenho pré- TMO, tratamento prévio e regime de condicionamento dos pacientes que rejeitaram (n= 39) e aqueles que não rejeitaram (n= 139) . Ao se correlacionar estas variáveis à sobrevida pela análise multivariada não se obteve um valor de p estatisticamente significativo.

4- A falha primária de pega está relacionada a um mal prognóstico.

5- Não há diferença estatística entre as médias das variáveis estudadas relacionadas à falha primária de pega e a não rejeição.

6- O índice de rejeição para os pacientes transplantados por anemia aplástica continua alto no nosso país, ao contrário do que se tem observado nos países desenvolvidos. Isso implica na necessidade de criação de novos centros de transplante de medula óssea e na agilização do procedimento, diminuindo o número de transfusões pré- TMO, bem como na padronização do uso de filtros e irradiação dos hemoderivados para os pacientes candidatos a transplante.

**ANEXO 1 - ESTATÍSTICAS:
ANÁLISE DE REGRESSÃO MULTIVARIADA**

GRUPO A : PACIENTES SEM REJEIÇÃO

- Y₁: Idade do paciente ao transplante de medula óssea
 Y₂: Tipo de tratamento da aplasia previamente ao TMO
 Y₃: Número de transfusões previamente ao TMO
 Y₄: Regime de condicionamento
 Y₅: Desempenho pré - TMO (Escala de Karnofsky)

Multiple Regression Analysis

Dependent variable: SBUA

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-Value
CONSTANT	852,07	618,436	1,37778	0,1709
Y1	5,84317	10,0799	0,532168	0,5956
Y2	27,3852	73,8102	0,371022	0,7113
Y3	-1,60489	1,44577	-1,11006	0,2693
Y4	-51,1616	262,779	-0,194694	0,8460
Y5	7,75119	6,50165	1,19219	0,2356

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	3,75788E6	5	751576,0	0,68	0,6427
Residual	1,29033E8	116	1,11236E6		
Total (Corr.)	1,32791E8	121			

R-squared = 2,82992 percent
 R-squared (adjusted for d.f.) = 0,0 percent
 Standard Error of Est. = 1054,68
 Mean absolute error = 887,197
 Durbin-Watson statistic = 2,36035 (P=0,0231)
 Lag 1 residual autocorrelation = -0,194728

The StatAdvisor

The output shows the results of fitting a multiple linear regression model to describe the relationship between SBUA and 5 independent variables. The equation of the fitted model is

$$SBUA = 852,07 + 5,84317*Y1 + 27,3852*Y2 - 1,60489*Y3 - 51,1616*Y4 + 7,75119*Y5$$

Since the P-value in the ANOVA table is greater or equal to 0.10, there is not a statistically significant relationship between the variables at the 90% or higher confidence level.

The R-Squared statistic indicates that the model as fitted explains 2,82992% of the variability in SBUA. The adjusted R-squared statistic, which is more suitable for comparing models with different numbers of independent variables, is 0,0%. The standard error of the estimate shows the standard deviation of the residuals to be 1054,68. This value can be used to construct prediction limits for new observations by selecting the Reports option from the text menu. The mean absolute error (MAE) of 887,197 is the average value of the residuals. The Durbin-Watson (DW) statistic tests the residuals to determine if there is any significant correlation based on the order in which they occur in your data file. Since the P-value is less than 0.05, there is an indication of possible serial correlation. Plot the residuals versus row order to see if there is any pattern which can be seen.

In determining whether the model can be simplified, notice that the highest P-value on the independent variables is 0,8460, belonging to Y4. Since the P-value is greater or equal to 0.10, that term is not statistically significant at the 90% or higher confidence level. Consequently, you should consider removing Y4 from the model.

GRUPO B: PACIENTES COM REJEIÇÃO

a) Multiple Regression Analysis

Dependent variable: SBVB

Parameter	Estimate	Standard Error	T Statistic	P-Value
CONSTANT	3314,15	2391,74	1,38567	0,1761
X1	-11,3515	23,0496	-0,492484	0,6260
X2	-166,311	184,301	-0,902384	0,3740
X3	1,90694	10,9308	0,174456	0,8627
X4	-785,42	545,881	-1,43881	0,1606
X5	-13,2938	26,5608	-0,500504	0,6204

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	7,11151E6	5	1,4223E6	1,40	0,2509
Residual	3,03757E7	30	1,01252E6		
Total (Corr.)	3,74872E7	35			

R-squared = 18,9705 percent

R-squared (adjusted for d.f.) = 5,46556 percent

Standard Error of Est. = 1006,24

Mean absolute error = 783,29

Durbin-Watson statistic = 1,37158 (P=0,0284)

Lag 1 residual autocorrelation = 0,272517

The StatAdvisor

The output shows the results of fitting a multiple linear regression model to describe the relationship between SBVB and 5 independent variables. The equation of the fitted model is

$$SBVB = 3314,15 - 11,3515 \cdot X1 - 166,311 \cdot X2 + 1,90694 \cdot X3 - 785,42 \cdot X4 - 13,2938 \cdot X5$$

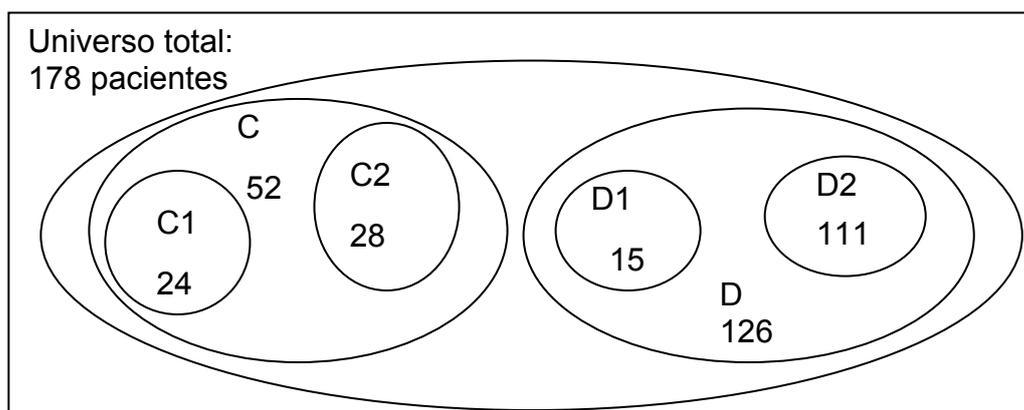
Since the P-value in the ANOVA table is greater or equal to 0.10, there is not a statistically significant relationship between the variables at the 90% or higher confidence level.

The R-Squared statistic indicates that the model as fitted explains 18,9705% of the variability in SBVB. The adjusted R-squared statistic, which is more suitable for comparing models with different numbers of independent variables, is 5,46556%. The standard error of the estimate shows the standard deviation of the residuals to be 1006,24. This value can be used to construct prediction limits for new observations by selecting the Reports option from the text menu. The mean absolute error (MAE) of 783,29 is the average value of the residuals. The Durbin-Watson (DW) statistic tests the residuals to determine if there is any significant correlation based on the order in which they occur in your data file. Since the P-value is less than 0.05, there is an indication of possible serial correlation. Plot the residuals versus row order to see if there is any pattern which can be seen.

In determining whether the model can be simplified, notice that the highest P-value on the independent variables is 0,8627, belonging to X3. Since the P-value is greater or equal to 0.10, that term is not statistically significant at the 90% or higher confidence level. Consequently, you should consider removing X3 from the model.

ANEXO 2 – DIAGRAMAS DOS CONJUNTOS ANALISADOS

a) 1º Caso:



A: Pacientes que não rejeitaram

A1: Pacientes que não rejeitaram condicionados com CFA

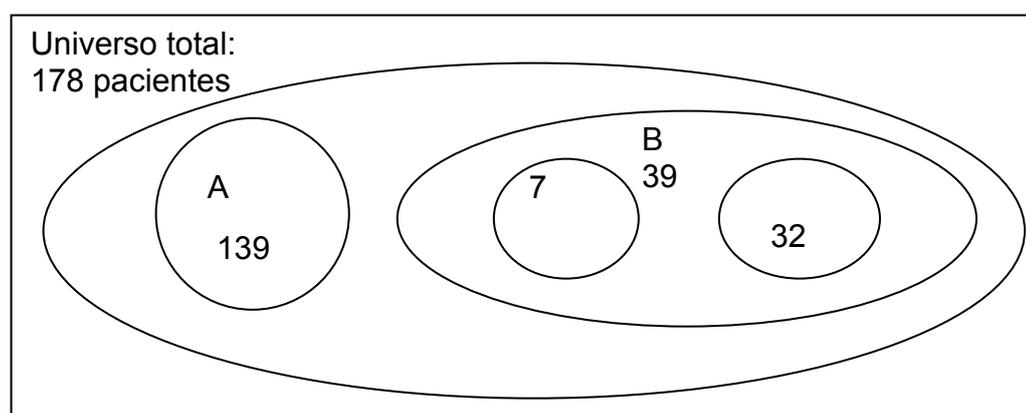
A2: Pacientes que não rejeitaram condicionados com CFA + BU

B: Pacientes que rejeitaram.

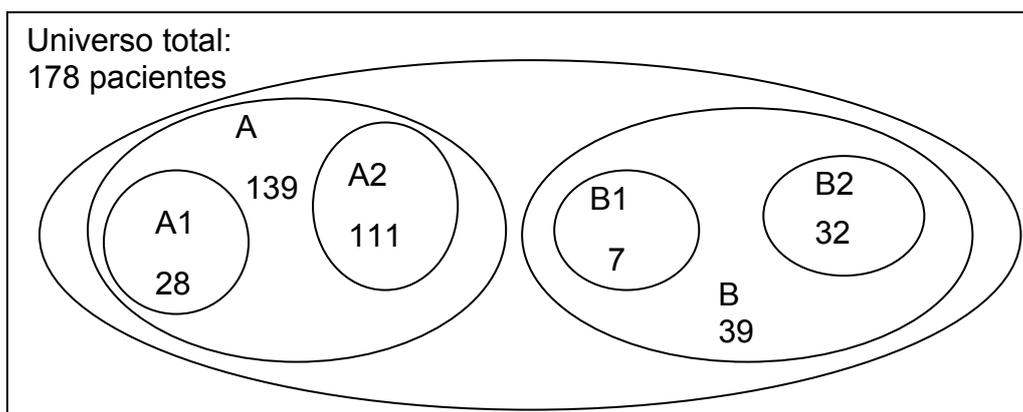
B1: Pacientes com falha primária de pega (FPP)

B2: Pacientes com falha tardia de pega

b) 2º Caso:



c) 3º Caso:



C: Pacientes condicionados com CFA

C1: Pacientes condicionados com CFA que rejeitaram

C2: Pacientes condicionados com CFA que não rejeitaram

D: Pacientes condicionados com CFA + BU

D1: Pacientes condicionados com CFA + BU que rejeitaram

D2: Pacientes condicionados com CFA + BU que não rejeitaram

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTER BP, POTTER NU, LI FP. **Classification and aetiology of the aplastic anaemias.** Clin Hematol 7:431,1978.

ANASETTI C, DONEY KC, SORB R, et al. **Long-term outcomes in fifty untransfused patients.** Ann Intern Med, 104; 361-366, 1986.

ANASETTI, C; STORB, R; LONGTON, G; WITHERSPOON, R; et al. **Donor buffy coat cell infusion after marrow transplantation for aplastic anemia.** Blood 72: 1099.

AZUMA E, KOKIMA S, KATO K, et al. **Conditioning with cyclophosphamide / antithymocyte globulin for allogeneic bone marrow transplantation from HLA-matched siblings in children with severe aplastic anemia.** Bone Marrow Transplant 19:1085-1087,1997.

BACIGALUPO A, HOWS J, GLUCKMAN E et al. **Bone marrow transplantation (BMT) versus immunosuppression for the treatment of severe aplastic anaemia (SAA): a report of the European Group for Bone Marrow Transplantation (EBMT) SAA working party.** Br J Haematol,70: 177-182, 1988.

BACIGALUPO A, HOWS J, GLUCKMAN E, et al. **Bone marrow transplantation (BMT) versus immunosuppression for the treatment of severe aplastic anaemia (SAA): A report of the EBMT Working Party.** Br J Haematol 70:177-182, 1988.

BACIGALUPO, A; BROCCIA, G; CORDA, G; et al. **Antilymphocyte globulin, cyclosporin, and granulocyte colony-stimulating factor in patients with acquired severe aplastic anemia (SAA): a pilot study of the EBMT SAA Working Party.** Blood, 85: 1348-53, 1995.

BEAN MA, STORB R, GRAHAN T, et al. **Prevention of transfusion-induced sensitization to minor histocompatibility antigens on DLA-identical canine marrow grafts by gamma irradiation of marrow donor blood.** Transplantation 52: 956-960, 1991.

BEAN MI, STORB R, GRAHAM T, et al. **Prevention of transfusion-induced sensitization to minor histocompatibility antigens on HLA-identical canine marrow grafts by gamma irradiation of marrow donor blood.** Transplantation 52:956-960,1991.

BENSINGER WI, WEAVER CH, APPELBAUM FR, et al. **Transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells mobilized by recombinant human granulocyte colony-stimulating factor.** Blood 85:1655-1658,1995.

BORTIN MM, RINGDEN O, HOROWITZ MM, et al. **Temporal relationship between the major complications of bone marrow transplantation for leukemia.** Bone Marrow Transplant 4:339-344, 1989

BORTIN MM, RIMM AA. **Treatment of 144 patients with severe aplastic anemia using immunosuppression and allogeneic marrow transplantation: A report from the International Bone Marrow Transplant Registry.** Transplant Proc 8:227-229,1981.

BORTIN, MM; GALE, RP; RIMM, AA. **Allogeneic bone marrow transplantation for 144 patients with severe aplastic anemia.** JAMA 245: 1132.1981.

BOTTIGER, L.E. and WESTERHOLM, B. **Aplastic anaemia I. Incidence and aetiology.** Acta Medica Scandinavica, 192, 315-18, 1972.

BOTTIGER, L.E.; WESTERHOLM, B. **Aplastic anemia III: aplastic anemia and infectious hepatitis.** Acta Med Scand, v.192, p.323-326, 1972.

BRODSKY, RA; SENSENBRENNER, LL; JONES, RJ. **Complete remission in severe aplastic anemia after high dose cyclophosphamide without bone marrow transplantation.** Blood, 87:491-4, 1996.

BRON D. **Graft-versus-host disease.** Curr Opin Oncol 6:358-364,1994.

BROWN KE, TISDALE J, DUNBAR CE, BARRET AJ, YOUNG NS. **Hepatitis – associated aplastic anemia.** N Engl J Méd, 336: 1059-64, 1997.

BUNIN N, LEAHY A, KAMANI N, et al. **Bone marrow transplantation in pediatric patients with severe aplastic anemia: Cyclophosphamide and antithymocyte globulin conditioning followed by recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor.** J Pediatr Hematol Oncol 18:68-71,1996

CAMITTA BM, THOMAS ED, NATHAN DG et al: **Severe aplastic anemia: a prospective study of the effect of early marrow transplantation on acute mortality.** Blood 48: 63, 1976.

CAMITTA BM, THOMAS ED, NATHAN DG, et al. **Severe aplastic anemia: A prospective study of the effect of early marrow transplantation on acute mortality.** Blood 48:63-70,1976.

CAMMITTA, BM; THOMAS, ED; NATHAN, DG; et al. **A prospective study of androgens and bone marrow transplantation for treatment of severe aplastic anemia.** Blood 53: 504, 1979.

CHAMPLIN RE, FEIG SA, SPARKES RS, GALE RP. **Bone marrow transplantation from identical twins in the treatment of aplastic anaemia: implications for the pathogenesis of the disease.** Br J Haematol, 56:455-463, 1984.

CHAMPLIN RE, HOROWITZ MM, van BEKKUM DW et al. **Graft failure following bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: risk factors and treatment results.** Blood, 73: 606-613, 1989.

CHAMPLIN RE, HOROWITZ MM, VAN BEKKUM et al. **Graft failure following bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: risk factors and treatment results.** Blood, 73: 606-613, 1988.

CHAMPLIN RE, HOROWITZ MM, VAN BEKKUM, et al. **Graft failure following bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: risk factors and treatment results.** Blood, Vol 73, n° 2 (February),pp 606-613, 1989.

CHAMPLIN RE, HOROWITZ MM,VAN BEKKUM DW, et al. **Graft failure following bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: Risk factors and treatment results.** Blood 73:606-613,1989.

CHAMPLIN, R HO W; GALE, RP. **Antithymocyte globulin treatment in patients with aplastic anemia : a prospective randomized trial.** N Engl J Med, 308: 113-8, 1983.

CHAMPLIN, RE; FEIG, SA; SPARKES, RS; GALE, RP. **Bone marrow transplantation from identical twins in the treatment of aplastic anaemia: implication for the pathogenesis of the disease.** Br J Haematol; 56: 455-63, 1984.

CHAMPLIN, RE; HOROWITZ, MM; VAN BEKKUM, DW; et al. **Graft failure following bone marrow trasplantation for severe aplastic anemia: Risk factors and treatment results.** Blood 73: 606,1989.

CHONGLI, Y.; XIAOBO, Z. **Incidence survey of Aplastic Anemia in China.** Chin Med Sci CHJ, Beijing, v.6, p.203-7, 1991.

CLEMENT-DEBOERS A, OOSTDIJK W, VAN WEEL-SIPMAN MH, et al. **Final height and hormonal function after bone marrow transplantation in children.** J Pediatr 129:544-550,1996.

CRONKITE, E.P. **Radiation-induced aplastic anaemia.** Seminars in Hematology, 4, 273-7, 1967.

CURTIS RE, ROWLINGS PA, DEEG HJ, et al. **Solid cancer after bone marrow transplantation.** N Engl J Med 336;897-904,1997.

DAS RE, MILNE A, ROWLEY M, SMITH EC, COTES PM. **Serum immunoreactive erythropoietin in patients with idiopathic aplastic and Fanconi's anaemias.** Br J Haematol, 82: 6601-7, 1992.

DEEG HJ, APRILE J, GRAHAM TC, et al. **Ultraviolet irradiation of blood prevents transfusion induced sensitization and marrow graft rejection in dogs.** Blood, 67: 537-539, 1986.

DEEG HJ, LEISENRING W, STORB R, et al. **Long-term outcome after marrow transplantation for severe aplastic anemia.** Blood 91 : 3637-3645, 1998.

DEEG HJ, SELF S, STORB R et al. Decreased incidence of marrow graft rejection in patients with severe aplastic anemia: changing impact of risk factors. **Blood, 68: 1363-1368, 1986.**

DEEG HJ, SOCIÉ G, SCHOCH G, et al. **Malignancies after marrow transplantation for aplastic anemia and Fanconi anemia: A joint Seattle and Paris analysis of results in 700 patients.** Blood 87:386-392,1996.

DEEG HJ. Graft failure. In: _ BURT RK, DEEG HJ, LOTHIAN ST, et al. **On call in...bone marrow transplantation**. Austin: R.G. Landes Company, 1996. p.312.

DEVETTEN MP, YOUNG NS. **Hematopoietic growth factors in the pathophysiology a treatment of aplastic anemia**. In: Hoelzer D, Ganser A, eds. Cytokines in the treatment of hematopoietic failure. New York: Marcel Dekker (in press).

DONEY K, LEISENRING W, STORB R, et al. **Primary treatment of acquired aplastic anemia: Outcomes with bone marrow transplantation and immunosuppressive therapy**. Ann intern Med 126:107-115,1997

ELFENBEIN GJ, CLAYTON HK, TUTSCHKA PJ, et al. **The immune system in 40 aplastic anemia patients receiving conventional therapy**. Blood 53: 652, 1979.

EMMONS RVB, REID DM, COHEN RI, et al. **Human thrombopoietin levels are high when thrombocytopenia is due to megakaryocyte deficiency and low when due to increase platelet destruction**. Blood, 87:4068-71, 1996.

FEIG SA, CHAMPLIN R, ARENSON E, et al. **Improved survival following bone marrow transplantation for aplastic anemia**. Br J Haematol 54:509-517, 1983.

FRICKHOFEN N, ROSENFELD SJ. **Immunosuppressive treatment of aplastic anemia with antithymocyte globulin and cyclosporine**. Seminars in Hematology, Vol 37, n° 1(January), pp 56-68, 2000.

GEWIRTZ, A.M.; HOFFMAN, R. **Current considerations of the etiology of aplastic anemia**. Crit Rev Oncol Hematol, Amsterdam, v.4, p.1-30, 1985.

GIBSON FM, SCOPES J, DALY S, BALL S, GORDON-SMITH EC. **Haemopoietic growth factor production by normal and aplastic anaemia stroma in long term bone marrow culture**. Br J Haematol, 91: 551-61, 1995.

GLUCKMAN E, HOROWITZ MM, CHAMPLIN RE, et al. **Bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: Influence of conditioning and graft-versus host disease prophylaxis regimens on outcome**. Blood 79:269-275, 1992.

GLUCKMAN E, SOCIE G, DEVERGIE A, 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 78:2451-2455, 1991.

GLUCKMAN E; HOROWITZ MM; CHAMPLIN RE et al. **Bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: influence of conditioning and graft-versus-host disease prophylaxis regimens on outcome**. Blood, 79: 269 – 275, 1992.

GLUCKSBERG H, STORB R, FEFER A, et al. **Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HLA-matched sibling donors**. Transplantation 18:295-304,1974.

GORDON, SMITH E.C. **Aplastic anaemia - aetiology and clinical features**. Baillière's Clin Haematol, London, v.2, p.1-18, 1989.

GORDON, Smith EC. **Epidemiology of aplastic anaemia.** Baillière's Clin Haematol, London, v.5, p.475-491,1992.

GUIGUET, M.; BAUMELOU, E.; MARY, J.Y. **A case-control study of aplastic anaemia: occupational exposures.** Int J Epidemiol, London, v.24, p.993-999,1995.

HORSTMANN M, STOCKSCHLADER M, KRUGER W, et al. **Cyclophosphamide/antithymocyte globulin conditioning of patients with severe aplastic anemia for marrow transplantation from HLA-matched siblings: Preliminary results.** Ann Hematol 71:77-81,1995.

ISSARAGRISIL, S; et al. **Incidence of aplastic anemia in Bangkok.** Blood, New York, v.77, p.2166-2168, 1991.

KAGAN WA, ASCENSAO JA, PAHWA RN, et al **Aplastic anemia: presence in human bone marrow of cells that suppress myelopoiesis.** Proc Natl Acad Sci USA, 73: 2890-4, 1976.

KALHS P, WHITE JS, GERVASSI A, et al. **In vitro recall of proliferative and cytolytic response to minor histocompatibility antigens by dendritic cell enriched canine peripheral blood mononuclear cells.** Transplantation 59: 112-118,1995.

KAUFMAN D.W., KELLY J.P. LEVY M., SHAPIRO S. **The drug etiology of agranulocytosis and aplastic anemia.** Vol.18 of Monographs in epidemiology and biostatistics. New York: Oxford University Press,1991.

KOJIMA S, MATSUYAMA T, KODERAY. **Hematopoietic growth factors released by marrow stromal cells from patients with aplastic anemia.** Blood, 79: 2256-61, 1992.

KORBLING M, PRZEPIORKA D, HUH YO, et al. **Allogeneic blood stem cell transplantation for refractory leukemia and lymphoma: Potential advantage of blood over marrow allografts.** Blood 85:1659-1665, 1995.

LANGNAS, A.N; et al. **Parvovirus B19 as a possible causative agent of fulminant liver failure and associat aplastic anemia.** Hepatology, Philadelphia, v.22, p.1661-1665, 1995.

LAVAR J, CASTRO-MALASPINA H, KERNAN NA, et al. **In vitro interferon-gamma production by cultured T-cells in severe aplastic anaemia :correlation with granulomonopoietic inhibition in patients who respond to anti-thymocyte globulin.** Br J Haematol, 69: 545-50, 1988.

LEONARD, EM; RAEFSKY, E; GRIFFITH, P; KIMBALL, J; NIENHUIS, AW; YOUNG, NS. **Cyclosporine therapy of aplastic anaemia, congenital and acquired red cell aplasia.** Br J Haematol, 72: 278-84, 1989.

LEWIS SM. **Course and prognosis in aplastic anaemia.** Br Med J I: 1027, 1965.

LEWIS, S.M. **Course and prognosis in aplastic anemia.** British Medical Journal, 1, 1027-34, 1965.

LI, F.P., ALTER, BP. AND NATHAN, D.G. **The mortality of acquired aplastic anemia in children.** Blood, 40, 153-62, 1972.

LOCASCIULLI A, van't Veer L, BACIGALUPO, A; et al. **Treatment with marrow transplantation or immunosuppression of childhood acquired severe aplastic anemia: A report from the EBMT SAA Working Party.** Bone Marrow Transplant 6:211, 1990.

LUCARELLI G, GALIMBERTI M, POLCHI P, ANGELLUCI E, BARONCIANI D, GIARDINI C, POLITI P, DURAZZI SMT, MURETTO P, ALBERTINI F. **Bone marrow transplantation in patients with thalassemia.** N Eng J Med 322:417– 423,1993.

MACIEJEWSKI JP, HIBBS JR, ANDERSON S, KATEVAS P, YOUNG NS. **Bone marrow and peripheral blood lymphocyte phenotype in patients with bone marrow failure.** Exp Hematol, 22: 1102-10,1994.

MACIEJEWSKI JP, SELLERI C, ANDERSON S, YOUNG NS. **Fas antigen expression on CD 34+ human marrow cells is induced by interferon gamma and tumor necrosis factor alpha and potentiates cytokine-mediated hematopoietic suppression in vitro.** Blood ; 85: 3183-90, 1995.

MACIEJEWSKI JP, SELLERI C, SATO T, ANDERSON S, YOUNG NS. **Increased expression of Fas antigen on bone marrow CD 34+ cells of patients with aplastic anaemia.** Br J Haematol, 91: 245-52, 1995.

MALUF, EC. **Epidemiologia da anemia aplástica adquirida severa.** Um estudo caso controle realizado no Brasil. Curitiba: Ed. do Autor,p.82, 2001.

MARÍN, P. **Aplasia medular: análisis de los factores pronósticos.** PhD Thesis.University of Barcelona, 1981.

MARMONT, AM; BACIGALUPO, A; VAN, Lint MT; et al. **Treatment of severe aplastic anemia with high-dose methylprednisolone and antilymphocyte globulin.** In: Young NS, Levine AS, Humphries RK, eds. Aplastic anemia: stem cell biology and advances in treatment. Vol 148 of Progress in clinical and biological research. New York: Alan R. Liss, 271-87, 1984.

MARSH JCW, CHANG J, TESTA NG, HOWS JM, DESTER TM. **In vitro assessment of marrow stem cell and stromal cell function in aplastic anaemia.** Br J Haematol, 78:258-67, 1991.

MARSH, JC; SOCIÉ, G; SCHREZENMEIER, H; et al. **Haematopoietic growth factors in aplastic anaemia: A cautionary note. European Bone Marrow Transplant Working Party for Severe Aplastic Anaemia.** Lancet 344: 172, 1994.

Mary M. Horowitz. **Current status of allogeneic bone marrow transplantation in acquired aplastic anemia.** Seminars in Hematology, V. 37, nº 1 (January), 30-42, 2000.

MARY, J.Y. et al. **Epidemiology of aplastic anemia in France: a prospective multicentric study.** Blood, New York, v.75, p.1646-1653, 1990.

MATHÉ G, AMIEL JL, SCHWARZENBERG L et al. **Bone marrow graft in man after conditioning by antilymphocyte serum.** Br Med J 2: 131, 1970.

MATHÉ, G; AMIEL, JL; SCHWARZENBERG, L; et al. **Bone marrow graft in man after conditioning by antilymphocytic serum.** BMJ, 2: 131-6, 1970.

MCCANN SR, BACIGALUPO A, GLUCKMAN E, et al. **Graft rejection and second bone marrow transplants for acquired aplastic anaemia: a report from the Aplastic Anaemia Working Party of the European Bone Marrow Transplant** 13:233-237, 1994.

MCCANN, SR; BACIGALUPO, A; GLUCKMAN, E; et al. **Graft rejection and second bone marrow transplants for acquired aplastic anaemia: A report from the Aplastic Anaemia Working Party of the European Bone Marrow Transplant Group.** Bone Marrow Transplant 13:233, 1994.

MCGLAVE PB, HAAKE R, KIM T, et al. **Therapy of severe aplastic anemia in young adults and children with allogeneic bone marrow transplantation.** Blood, 70: 1325-1330, 1987.

MCGLAVE PB, HAAKE R, MILLER W, et al. **Therapy of severe aplastic anemia in young adults and children with allogeneic bone marrow transplantation.** Blood 70:1325-1330, 1987.

MIGLIACCIO AR, MIGLIACCIO G, ADAMSON JW, TOROK-STORB B. **Production of granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte / macrophage-colony-stimulating factor after interleukin-1 stimulation from marrow stromal cell cultures from normal or aplastic anemia donors.** J Cells Physiol, 152:199-206, 1992.

MODAN, B. et al. **Aplastic anemia in Israel: evaluation of etiological role of chloranphenicol on a community-wide basis.** Am J Med Sci, Philadelphia, v.270, p.441-445, 1975.

NAGAFUJI K, SHIBUYA T, HARADA M, et al. **Functional expression of Fas antigen (CD 95) on hematopoietic progenitor cells.** Blood 1995: 86:883-9.

NAJEAN, Y., BERNARD, J., WAINBERGER, M., DRESCH, C., BOIRON, M. AND SELIGMANN, M. **Evolution et pronostic des pancytopenies idiopathiques.** Nouvelle Revue Française d'Hématologie Blood Cells, 5, 639-56, 1965.

NAKAO S, TAKAMATSU H, CHUHJO T, et al. **Identification of a specific HLA class II haplotype strongly associated with susceptibility to cyclosporine – dependent aplastic anemia.** Blood, 84: 4257-61, 1994.

NEIDERWIESER D, PEPE M, STORB R, LOUGHRAN TP, LONGTON G. **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, 69: 23-28, 1988.

NIMER SD, IRELAND P, MESHKINPOUR A, FRANE M. **An increased HLA DR2 frequency is seen in aplastic anemia patients.** Blood, 84: 923-7, 1994.

NISSEN C, TICHELLI A, GRATWHOL A et al. **Failure of recombinant therapy in aplastic anemia patients with very severe neutropenia.** Blood,72:2045-2047, 1988.

NISSEN,C. **Pathophysiology of aplastic anaemia.** Acta Haematol, Basel, v.86, p.57-60, 1991.

NOVITZKY N, JACOBS P. **Immunosuppressive therapy in bone marrow aplasia: the stroma functions normally to support hematopoiesis.** Exp Hematol, 23: 1472-7, 1995.

O' GORMAN HUGHES, D.W. **Aplastic anaemia in childhood: a reappraisal II. Idiopathic and acquired aplastic anemia.** Medical Journal of Australia, 2, 361-9, 1973.

PAQUETTE RL, TEBYANI N, FRANE M, et al. **Long-term outcome of aplastic anemia in adults treated with antithymocyte globulin: Comparison with bone marrow transplantation.** Blood 85:283-290,1995.

PAQUETTE, RL; TEBYANI, N; FRANE, M; et al. **Long-term outcome of aplastic anemia in adults treated with antithymocyte globulin: Comparison with bone marrow transplantation.** Blood 85: 283, 1995.

PASQUINI R. **Transplante de medula óssea na anemia aplástica severa.** Curitiba,1991.Tese (Professor Titular do Departamento de Clínica Médica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

PASSWEG JR, SOCIÉ G, HINTERBERGER W et al. **Bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: Has outcome improved?** Blood, 90: 858-864, 1997.

PASSWEG JR, SOCIÉ G, HINTERBERGER W, et al. **Bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: has outcome improved?** Blood, Vol 90, N° 2 (July 15), p. 858-864, 1997.

PASSWEG JR, SOCIÉ G, HINTERBERGER W, et al. et al.: **Has outcome improved?** Blood 90:858-864,1997.

PASSWEG JR; SOCIÉ, G; HINTERBERGER, W; et al. **Bone marrow Transplantation for severe aplastic anemia: has outcome improved?** Blood 90: 858,1997.

PHILPOTT NJ, SCOPES J, MARSH JCW, GORDON – SMITH EC, GIBSON FM. **Increase apoptosis in aplastic anemia bone marrow progenitor cells: possible pathophysiologic significance.** Exp. Hematol, 23: 1642-8, 1995.

PLATANIAS L, GASCON P, BIELORY L, GRIFFITH P, NIENHUIS A, YOUNG N. **Lymphocyte phenotype and lymphokines following anti-thymocyte globulin therapy in patients with aplastic anaemia.** BrJ Haematol; 66: 437-43,1987.

RAMSAY NK, KIM TH, MCGLAVE P, et al. **Total lymphoid irradiation and cyclophosphamide conditioning prior to bone marrow transplantation for patients with severe aplastic anemia.** Blood 62:622-626,1983.

ROSENFELD, SJ; KIMBALL, J.; VINING, D; YOUNG, NS. **Intensive immunosuppression with antithymocyte globulin and cyclosporine as treatment for severe acquired aplastic anemia.** Blood, 85: 3058-65, 1995.

SANDERS JE, STORB R, ANASETTI C, et al. **Marrow transplant for children with severe aplastic anemia.** Am J Pediatr Hematol Oncol 16:43-49, 1994.

SANTOS, GW; SENSENBRENNER, LL; ANDERSON, PN; BURKE, PJ; KLEIN, DL; et al. **HLA- identical marrow transplantation in aplastic anemia, acute leukemia, and lymphosarcoma employing cyclophosphamide.** Transplant Proc 8: 607, 1976.

SCHMITZ N, BACIGALUPO A, LABOPIN M, et al. **Transplantation of peripheral blood progenitor cells from HLA-identical sibling donors. European Group for Blood and Marrow Transplantation.** Br J Haematol 95:715-723, 1996.

SCHMITZ N, DREGER P, SUTTORP M, et al. **Primary transplantation of allogeneic peripheral blood progenitor cells mobilized by filgrastim (granulocyte colony-stimulating factor).** Blood 85:1666-1672, 1995.

SELLERI C, MACIEJEWSKI JP, SATO T, YOUNG NS. **Interferon gamma constitutively expressed in the stromal microenvironment of human marrow cultures mediates potent hematopoietic inhibition.** Blood; 87: 4149-57, 1996.

SELLERI C, SATO T, ANDERSON S, YOUNG NS, MACIEJEWSKI JP, **Interferon-gamma and tumor necrosis factor α suppress both early and late stages of hematopoiesis and induce programmed cell death.** J Cell Physiol, 165: 538-46, 1995.

SHADDUCK, R. K. **Aplastic anemia.** In: -----. Williams Hematology. 5. ed. United States of America: McGraw Hill, 1995.

SOCIÉ G, HENRY-AMAR M, COSSET JM, et al. **Increased incidence of solid malignant tumors after bone marrow transplantation for severe aplastic anemia.** Blood 78:277-279, 1991.

SOCIÉ G, SCIEUX C, GLUCKMAN E, et al. **Squamous cell carcinomas after allogeneic bone marrow transplantation for aplastic anemia.** Transplantation 66:667-670,1998.

SOCIÉ G, VEUM-STONE J, WINGARD JR, et al. **Long term survival and late deaths after allogeneic bone marrow transplantation: implications for cure.** N Engl J Med 341:14-21,1999.

SPEACK B, GLUCKMAN E, HAAK HL, VAN ROOD JJ. **Treatment of aplastic anaemia by antilymphocyte globulin with and without allogeneic bone marrow infusions.** Lancet 2: 1145, 1977.

SPEACK, B; GLUCKMAN, E; HAAK, HL; VAN, Rood JJ. **Treatment of aplastic anaemia by antilymphocyte globulin with and without allogeneic bone marrow infusions.** Lancet, 2: 1145-8, 1977.

STARK R, ANDRÉ C, THIERRY D, CHEREL M, GALIBERT F, GLUCKMAN E. **The expression of cytokine and cytokine receptor genes in long-term bone marrow culture in congenital and acquired bone marrow hypoplasias.** Br J Haematol, 83: 560-6, 1993.

STORB R, CHAMPLIN RE. **Bone marrow transplantation for severe aplastic anemia.** Bone Marrow Transplant, 8:69-72, 1991.

STORB R, DEEG HJ. **Failure of allogeneic canine marrow grafts after total body irradiation: Allogeneic "resistance" vs transfusion induced sensitization.** Transplantation 42: 571-580, 1986.

STORB R, DONEY KC, THOMAS ED et al. **Marrow transplantation with and without donor buffy coat cells for transfused aplastic anemia patients.** Blood, 59: 236-246,1982.

STORB R, DONEY KC, THOMAS ED, et al. **Marrow transplantation with or without donor buffy coat cells for 65 transfused aplastic anemia patients.** Blood 59:236-246, 1986.

STORB R, EPSTEIN RB, RUDOLPH RH, et al. **The effect of prior transfusion on marrow grafts between histocompatible canine siblings.** J Immunol 105:627-633, 1970.

STORB R, ETZIONI R, ANASETTI C, et al. **Cyclophosphamide combined with antithymocyte globulin in preparation for allogeneic marrow transplants in patients with aplastic anemia.** Blood 84:941-949,1994.

STORB R, LEISENRING W, ANASETTI C, et al. **Long-term follow-up of allogeneic marrow transplants in patients with aplastic anemia conditioned by cyclophosphamide combined with antithymocyte globulin.** Blood 89: 3890-3891,1997

STORB R, LEISENRING W, DEEG HJ, et al. **Long-term follow-up of a randomized trial of graft-versus-host disease prevention by methotrexate/ cyclosporine versus methotrexate alone in patients given marrow grafts for severe aplastic anemia.** Blood 83:2749-2756, 1994.

STORB R, PRENTICE RL, THOMAS ED, et al. **Factors associated with graft rejection after HLA-identical marrow transplantation for aplastic anemia.** Br J Haematol 55: 573-585, 1983.

STORB R, PRENTICE RL, THOMAS ED, et al. **Factors associated with graft rejection after HLA-identical marrow transplantation for aplastic anemia.** Br J Haematol 55:573-585,1983.

STORB R, PRENTICE RL, THOMAS ED, et al. **Marrow transplantation of aplastic anemia: An analysis of factors associated with graft rejection.** N Engl J Med 296:61-66, 1977.

STORB R, THOMAS ED, BUCKNER CD et al: **Marrow transplantation in thirty untransfused patients with severe aplastic anemia.** Ann Intern Med., 92: 30-36, 1980.

STORB R, Thomas ED, Buckner CD, Clift RA, Johnson FL, Fefer A, et al. **Allogeneic marrow grafting for treatment of aplastic anemia.** Blood, 1974.

STORB R, WEIDEN PL, SULLIVAN KM et al. **Second marrow transplants in patients with aplastic anemia rejecting the first graft: use of a conditioning regimen including cyclophosphamide and anti-thymocyte globulin.** Blood, 70:116-121, 1987.

STORB, R; ETZIONI, R; ANASETTI, C; et al. **Cyclophosphamide combined with antithymocyte globulin in preparation for allogeneic marrow transplants in patients with aplastic anemia.** Blood 84: 941, 1994.

STORB, R; LONGTON, G; ANASETTI, C; et al. **Changing trends in marrow transplantation for aplastic anemia.** Bone Marrow Transplant 10:45, (suppl 1) 1992.

STOREK J, GOOLEY T, SIADAK M, et al. **Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation may be associated with a high risk of chronic graft-versus –host disease.** Blood 90:4705-4709, 1997.

SULLIVAN KM, WITHERSPOON R, STORB et al. **Alternating day cyclosporine and prednisone for treatment of high risk chronic graft-versus-host disease.** Blood, 72:555-561, 1988.

SULLIVAN KM. **Long-term follow-up and quality of life after hematopoietic stem cell transplantation.** J Rheumatol 24:S46-S52,1997.

TANI K, OZAWA K, OGURA H, et al. **The production of granulocyte colony-stimulating factor and interleukin 6 by human bone marrow stromal cells in aplastic anemia.** Tohoku J Exp Med, 169:325-34, 1993.

URBANO-ISPIZUA A, GARCIA-CONDE J, BRUNET S, et al. **High incidence of chronic graft versus host disease after allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation.** Haematologica 82:683-689, 1997.

VAN DER WEYDEN, M., and FIRKIN, B. G. **The management of aplastic anaemia in adults.** British Journal of Haematology, 22, 1-7, 1972.

VICENT, P.L. and De GRUCHY, G.C. **Complications and treatment of acquired aplastic anemia.** British Journal of Haematology, 13, 977-84, 1967.

VOGELSANG B. **How I treat chronic graft-versus-host disease.** Blood, 97:1196-1201, 2001.

VOGELSANG G.B; WAGNER. J.E. **Graft-versus-host disease.Hematol/ Oncol Clin North Am, 4: 625-639, 1990.**

WATARI K, ASANO S, SHIRAFUJI N, et al. **Serum granulocyte colony-stimulating factor levels in healthy volunteers and patients with various disorders as estimated by enzyme immunoassay.** Blood, 73:117-22, 1989.

WILLIAMS, D. M., LYNCH, R.E. and CARTWRIGHT, G.E. **Drug-induced aplastic anemia.** Seminars in Hematology, 10, 195-223, 1973.

WINGARD J. **Functional ability and quality of life of patients after allogeneic bone marrow transplantation.** Bone Marrow Transplant 14:S29-S33,1994.

YOUNG N.S, ALTER B.P. **Aplastic anemia: acquired and inherited.** Philadelphia: W.B. Sanderrs,1994.

YOUNG NS, Barrett AJ. **The treatment of severe acquired aplastic anemia.** Blood 85: 3367, 1995.

YOUNG NS, BARRETT AJ. **The treatment of severe acquired aplastic anemia.** Blood, 85: 3367-77, 1995.

YOUNG NS. **Aplastic anaemia.** LANCET 346:228-232,1995.

YOUNG, N. S. **Aplastic anemia: research themes and clinical issues.** Progress in Hematol, Philadelphia, v.12, p.227-273, 1981.

YOUNG, N.S.; ALTER, B.P. **Drugs and chemicals.** In -----. Aplastic anemia acquired and inherited. Philadelphia: W.B. Sanders, 1994a. p.100-132.

YOUNG, N.S; ALTER, B.P. **Epidemiology of acquired aplastic anemia.** In: -----. Aplastic anemia acquired and inherited. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994b. p.24-31.