

CARLOS ROBERTO DE MEDEIROS

TRATAMENTO DA ANEMIA APLÁSTICA SEVERA
ADQUIRIDA COM GLOBULINA ANTITIMOCÍTICA
ANÁLISE DE 21 PACIENTES

Dissertação apresentada para conclusão de
Mestrado em Medicina Interna da Univer-
sidade Federal do Paraná.

CURITIBA

1987

Professor Orientador

Dr. Ricardo Pasquini

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Ricardo Pasquini, orientador desta Dissertação, pelo seu estímulo e grande auxílio em minha formação profissional.

Ao grupo da Unidade de Transplantes de Medula Óssea, pela participação efetiva neste trabalho com sua admirável dedicação.

A todos que de forma direta ou indireta auxiliaram, tornando possível esta realização.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS	2
1.2 HEMATOPOESE NORMAL	3
1.2.1 A linhagem eritróide	4
1.2.2 A linhagem granulocítica-monocítica .	5
1.2.3 A linhagem megacariocítica	6
1.2.4 O micro-ambiente hematopoético	6
1.3 INCIDÊNCIA DE ANEMIA APLÁSTICA	7
1.4 FISIOPATOLOGIA DA ANEMIA APLÁSTICA	7
1.4.1 Lesão direta à célula tronco hemato- poética	8
1.4.2 Anormalidades no micro ambiente da me- dula óssea	10
1.4.3 Supressão imune da hematopoese	11
1.5 CLASSIFICAÇÃO DAS ANEMIAS APLÁSTICAS	12
1.5.1 Anemia aplástica adquirida	13
1.5.2 Anemias aplásticas constitucionais ..	17
1.6 TRATAMENTO DA ANEMIA APLÁSTICA	18
1.7 MORTALIDADE DA ANEMIA APLÁSTICA	23
2. OBJETIVOS	31

	Página
3. CASUÍSTICA	33
3.1 PACIENTES	34
3.2 MATERIAL	35
4. RESULTADOS	40
5. DISCUSSÃO	58
5.1 DURAÇÃO DA DOENÇA E RESPOSTA À GAT	61
5.2 ETIOLOGIA DA DOENÇA E RESPOSTA À GAT	62
5.3 NÚMERO DE LINFÓCITOS E RESPOSTA À GAT	63
5.4 NÚMERO DE GRANULÓCITOS E RESPOSTA À GAT	64
5.5 IDADE E RESPOSTA À GAT	65
6. RESUMO E CONCLUSÕES	70
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

LISTA DE ABREVIATURAS

- CFU-C: unidade formadora de colônias em cultura
(colony forming unit-culture)
- CFU: unidades formadoras de colônias-baço
(colony forming unit-spleen)
- BFU-E: unidade explosiva formadora de eritrócitos
(erythroid burst forming-unit)
- CFU-E: unidade formadora de colônias de eritrócitos
(erythroid colony forming-unit)
- CSA: atividade estimuladora de colônias
(colony stimulating activity)
- CIA: atividade inibitória de colônias
(colony inhibit activity)
- MSC: estroma de células da medula
(marrow stromal cells)
- MO: medula óssea
- TMO: transplante de medula óssea
- HLA: human leukocyte antigens
(antígeno leucocitário humano)

AA: anemia aplástica

AAS: anemia aplástica severa

DNA: ácido desoxirribonucleico

GAT: globulina antitimocítica

SNC: sistema nervoso central

UTI: unidade de terapia intensiva

1. INTRODUÇÃO

1.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Anemia aplástica foi descrita pela primeira vez em 1888 por Erlich, ao relatar um caso rapidamente fatal de uma jovem com anemia, leucopenia, febre, metrorragia e lesões ulceradas em orofaringe. Ao realizar a autópsia, ele demonstrou a ausência de medula óssea funcionante¹. A doença que provocou a morte dessa paciente foi por ele denominada "depressão primária da função medular"². Em 1904, Chauffard utilizou pela primeira vez o termo "aplástica", ao descrever um caso de "anemia perniciosa aplástica", expressão usada com sentido de aplasia global da medula óssea⁸⁰. Em 1959, em decorrência de um estudo de 39 casos, propôs-se que o termo "anemia aplástica" se reservasse somente às situações de pancitopenia com evidência de produção diminuída de todos os elementos do sangue formados na medula óssea, também hipoplasia ou aplasia severa da medula óssea não associada a doença primária que infiltrasse, substituísse ou suprimisse o tecido hematopoético ativo³. Atualmente, não se considera anemia aplástica como uma doença única, mas como um grupo de enfermidades. De acordo com o Grupo Internacional de Estudo da Anemia Aplástica, esta pode ser classificada em severa ou moderada. Os critérios para definir a forma severa se baseiam nos achados de medula óssea de menos de 25% da celularidade normal ou menos de 50% da celularidade

ridade com precursores hematopoéticos abaixo de 30% e pelo menos dois dos seguintes três valores de sangue periférico: granulócitos abaixo de $500/\mu\text{l}$, plaquetas abaixo de $20.000/\mu\text{l}$ e contagem de reticulócitos corrigida de menos de 1% em presença de anemia²³. As situações onde o grau de celularidade da medula óssea e a intensidade de pancitopenia não atingem a severidade acima são classificadas como forma moderada de anemia aplástica²³.

1.2. HEMATOPOESE NORMAL

A hematopoese normal ocorre em um ambiente especializado física e funcional e a partir do segundo trimestre de gestação se origina da medula óssea, tornando-se quantitativamente importante. O tecido hematopoético mantém suas estruturas e funções pela contínua produção de células em seu interior, possibilitando a reposição das que se perdem. Como um tecido de alta renovação, tem uma produção celular realmente surpreendente. Por exemplo, um homem de 70 kg produz cerca de 2×10^{11} eritrócitos por dia durante toda sua vida adulta. Além disso, perdas anormais de sangue são rapidamente compensadas por um aumento de produção⁵. O tecido hematopoético tem sua origem a partir de uma célula tronco, com capacidade de auto-renovação, e que, sob determinadas influências, se diferencia até uma célula funcionalmente madura. A célula tronco é pluripotencial e esta característica demonstra-se em animais (ratos) que recebem irradiação corporal total seguindo-se de infusão de medula óssea singênica. Após 8 a 10 dias, desenvol-

vem-se no baço destes animais colônias de várias linhagens, em populações puras ou mistas, as quais são chamadas "colônias no baço" (spleen-colonies) e as células que as formam são denominadas de "unidades formadoras de colônias-baço" (colony forming unit-spleen, CFU-S). A auto-renovação destas "unidades" demonstra-se quando ao se retirar células das mesmas e injetar em outros animais previamente irradiados, novas colônias se formam após 10 a 14 dias. Estas colônias, através da determinação de seus cariotipos, mostram-se idênticas, sem a presença de nenhum cariotipo misto, caracterizando a clonalidade⁶.

1.2.1 A linhagem eritróide:

A partir da célula tronco pluripotencial, formam-se as denominadas células comissionadas. A primeira delas é a "unidade explosiva formadora de eritrócitos" (erythroid burst forming-unit, BFU-E). BFU-E é um sistema mais primitivo, com menor diferenciação e com capacidade para evoluir até seu sucessor mais diferenciado, a "unidade formadora de colônias de eritrócitos" (erythroid colony forming-unit, CFU-E). Estas células comissionadas dependem diretamente de eritropoetina, cuja ação induz a diferenciação e a proliferação das células eritróides da medula óssea, estimula a formação de CFU-E a partir de BFU-E garantindo a funcionabilidade de CFU-E^{7, 11, 28}. Os rins produzem 90% da eritropoetina que aumenta em resposta à hipóxia tissular, e age como o órgão sensor desta hipóxia^{8, 9, 10}.

Existem trabalhos demonstrando que a eritropoetina é potencializada por dexametazona¹², hormônio de crescimento¹³ e hormônio tireoidiano¹⁴, in vivo.

1.2.2 A linhagem granulocítica-monocítica:

A célula tronco comissionada que dá origem aos granulócitos e monócitos é denominada "unidade formadora de colônias em cultura" (colony forming unit culture, CFU-C). Tem sua origem a partir de CFU-S e em contraste à esta apresenta maior capacidade de diferenciação e pequena capacidade de auto-renovação¹⁵. CFU-C é regulada por uma substância denominada "atividade estimuladora de colônias" (colony stimulating activity, CSA)¹⁶, que encontra-se em fluidos biológicos e na maioria dos tecidos de mamíferos estudados. Ela é produzida por monócitos-macrófagos¹⁷, linfócitos ativados¹⁸ e células endoteliais¹⁹. A sua ausência impede a formação de granulócitos-monócitos-macrófagos in vitro. O compartimento de células comissionadas e granulócitos-monócitos tem capacidade de se diferenciar em dois sentidos, o granulocítico e o monocítico. A linhagem granulocítica ainda se divide em colônias de neutrófilos e eosinófilos, sendo este o primeiro degrau de diferenciação^{9, 81, 82}. Recentemente, descreveu-se a existência de uma substância nos grânulos secundários de granulócitos maduros, a "atividade inibitória de colônias" (colony-inhibint activity, CIA), com a capacidade de bloquear ou estimular a produção de CSA pelos monócitos. É interessante o fato que toxinas bacterianas também produzem esta substância, indepen-

dente da atividade dos granulócitos²⁰. Ainda participa da formação de colônias de granulócitos-monócitos o fator "atividade liberadora de neutrófilos", que intermedia a liberação de granulócitos maduros do "pool" de reserva da medula óssea²⁷.

1.2.3 Linhagem megacariocítica:

As células tronco comissionadas aos megacariócitos também derivam de CFU-S. Sua diferenciação sofre influências marcantes do micro ambiente da medula óssea. Trombocitopenia estimula a megacariocitopoese e trombocitose tem efeito inverso²¹. Trombopoetina é o fator regulador da produção de plaquetas.

1.2.4 O Micro-ambiente hematopoético:

É um local especializado física e funcionalmente onde ocorre a hematopoese. É composto por células reticulares e endoteliais dos sinusóides da medula óssea, por células neurogênicas, por células osteogênicas, por adipócitos e por fibroblastos. Em culturas celulares tem se demonstrado que estes componentes se unem de modo a formar um estroma, denominado de "estroma de células da medula", com capacidade de servir de suporte para a hematopoese^{106, 107} (marrow stromal cells, MSC). Nestas culturas, as células hematopoéticas envolvidas no estroma mantêm-se por períodos de tempo que variam de 2 meses (para a eritropoese e megacariocitopoese) a 12 meses (pa-

ra a granulopoeses). Este microambiente que propicia uma estrutura capaz de servir de suporte à célula tronco pluripotencial, dimensiona-se de modo a permitir o seu alojamento, facilitar a sua diferenciação e seu comissionamento e perpetuar a sua linhagem através de proliferação de células idênticas ou descendentes^{22, 83}.

1.3 INCIDÊNCIA DE ANEMIA APLÁSTICA

Existem inúmeros relatos de literatura com resultados conflitantes, dificultando a retirada de informações definitivas. Em uma análise de 666 casos, de continuadas séries, concluiu-se que aproximadamente um terço dos casos publicados envolve pacientes acima dos 60 anos de idade e um quarto dos casos está abaixo dos 20 anos de idade³⁷ (Figura 1).

Mais recentemente, um estudo combinado englobando informações colhidas na Alemanha, Espanha, Israel, Hungria, Suécia, Itália e Bulgária mostrou a incidência de 2,2 casos por ano por um milhão de habitantes (variando de 0,6 a 3,1)¹³¹.

1.4 FISIOPATOLOGIA DA ANEMIA APLÁSTICA

Podemos diferenciar dois grandes grupos de anemias aplásticas. Um grupo induzido por drogas ou agentes físicos em que a redução da celularidade medular está na direta dependência da dose utilizada e o outro grupo de aplasias que se

desenvolve em padrão indefinido, após o uso de droga ou agressão tóxica não identificável. O primeiro grupo é muito mais comum, visto que a maioria das drogas ou agentes físicos utilizados no tratamento de neoplasias, doenças autoimunes e transplantes tem propriedade citostática. No entanto, após a retirada do agente agressor, comumente ocorre a recuperação medular, apesar da morbidade e mortalidade eventuais do período citopênico. No outro grupo de aplasias, a recuperação é incomum, e quando eventualmente ocorre ela não é total, por isso persistindo algumas anormalidades²⁴.

Os mecanismos potencialmente envolvidos na origem das anemias aplásticas incluem lesão direta à célula tronco hematopoética, anormalidades no micro ambiente da medula óssea e supressão imune da hematopoese⁵⁹.

1.4.1 Lesão direta a célula tronco hematopoética:

A anemia aplástica parece não poder ser induzida pela simples redução no número de células tronco. Este fato simplesmente levaria a posterior replicação, até que este compartimento fosse novamente preenchido. Em seguida ocorreria a diferenciação celular com completa reconstituição do sistema⁴⁸. Para poder-se explicar a persistência da aplasia após a retirada do agente agressor é necessário procurar outros mecanismos. Defeitos qualitativos da hematopoese foram observados em ratos, consistindo na diminuição de células tronco que por sua vez determinaria um aumento compensatório destas células por auto-replicação, porém com diferenciação ineficaz.

Isto sugere que a falha medular resulta de um desequilíbrio entre estas duas funções⁴⁷. Um outro tipo de anormalidade é observado quando a medula recupera-se parcialmente e os valores de sangue periférico retornam a níveis normais, apesar da marcada redução no número de CFU-E²⁵. Esta alteração ocorre ao nível de célula tronco e é corrigida com transplante de células normais. Já o transplante de medula retirada dos ratos previamente expostos a busulfan a ratos previamente irradiados não é capaz de restaurar a hematopoese normal⁴⁹. Este fato sugere que a diferenciação celular de uma medula exposta a agente citostático ocorre em prejuízo da auto-replicação, caracterizada pela manutenção de valores de sangue periférico normais mesmo com marcada redução do número de CFU-S na medula óssea. Acrescente-se que estes ratos tornam-se mais sensíveis ao cloranfenicol do que ratos normais, e, em alguns casos, anemia aplástica se estabelece após exposição a esta droga, sugerindo que a destruição medular anterior contribui para este fato⁵⁰. Em transplantes seriados de medula óssea também podemos observar a ocorrência de diferenciação em prejuízo da auto-replicação. Nestes experimentos, idênticos números de células são transplantados a determinados intervalos de tempo. A cada novo transplante, o número de CFU-S transfundido vai diminuindo, praticamente desaparecendo entre o 3º e 5º transplante, após o que o recipiente não mais acusa pega do mesmo. Os ratos que são transplantados com sucesso apresentam valores de sangue periférico normais, embora as quantidades de CFU-S se apresentam cada vez menores⁴. Em seres humanos, o transplante de medula óssea a pacientes com anemia aplástica reconstitui a hematopoese normal na maioria dos receptores,

provavelmente pelo número adequado de células hematopoéticas fornecidas. Ao se estudar pacientes portadores de anemia aplástica através de cultura de células hematopoéticas, demonstrouse claramente que o número de CFU-S encontra-se severamente deprimido ²⁶.

Estes trabalhos tem conduzido à confirmação da hipótese que uma lesão direta à célula tronco hematopoética é capaz de provocar anemia aplástica, quer de modo isolado ou produto da somatória de vários fatores.

1.4.2 Anormalidades no micro ambiente da medula óssea:

As anormalidades no micro ambiente hematopoético levam a alterações da função medular. Áreas de medula óssea severamente irradiadas tornam-se incapazes de promover hematopoese, por lesões do micro ambiente a nível de circulação sanguínea ²⁹. Outra maneira de se comprovar sua importância na hematopoese foi claramente evidenciada no estudo de ratos com anemia congênita (Sl/Sld). Quando estes ratos são utilizados como doadores para transplante de medula óssea, a pega do transplante ocorre sem maiores problemas. No entanto, quando estes ratos são utilizados como receptores, a pega não ocorre em nenhuma hipótese ^{29, 51, 108}. Outra evidência de defeito do micro ambiente como causa de anemia aplástica, foi demonstrada a partir do relato de um caso de paciente portador de anemia aplástica congênita, que teve sua medula óssea colocada em cultura de células. Houve crescimento normal, com a habitual quantidade de CFU-S e BFU-E e incorporação de ferro pelo he-

me, sugerindo que o defeito poderia estar em nível de micro ambiente²⁹. Quando se compara a capacidade de produção de colágeno pelos fibroblastos do estroma medular de pacientes normais com a de pacientes com anemia aplástica, estes últimos apresentam alterações bem definidas¹⁰⁹.

1.4.3 Supressão imune da hematopoese:

Considerando que a anemia aplástica se deve simplesmente à perda de células tronco pluripotenciais, a infusão de medula de um gêmeo idêntico deveria reconstruir a hematopoese normal. Porém, em apenas 50% dos transplantes de medula óssea em gêmeos idênticos a pega do enxerto ocorre sem o condicionamento prévio do receptor com altas doses de ciclofosfamida^{32, 33}. Também alguns pacientes submetidos a transplantes alogênicos, recebendo condicionamento prévio rejeitam as células do doador, e a seguir as suas próprias células passam a proliferar e reconstituem a medula óssea^{31, 53, 54, 55, 56}. Alguns pacientes com anemia aplástica que não tem doadores para TMO, ao serem submetidos a tratamento com imunossupressores recuperam a sua função medular^{76, 79, 84, 85, 86, 100, 103}. A ocorrência de maior índice de rejeição entre transplantados de medula óssea politransfundidos⁵⁷, quando comparados com não transfundidos pré-transplante de medula óssea, sugere que a presença de antígenos HLA menores induzidos pelas transfusões tenham participação nestas rejeições⁵⁸. O achado de inibidores para CFU-C nestes pacientes que apresentam rejeição leva a crer que eles tornam-se responsáveis não somente pela rejei-

ção mas também pelo aparecimento da anemia aplástica⁵⁹. Alguns pacientes submetidos a TMO que apresentam rejeição na evolução, quando expostos a terapia imunossupressora voltam a desenvolver funcionamento medular. Estas evidências clínicas sugerem a existência de um mecanismo imune capaz de inibir o crescimento e a diferenciação da célula tronco normal.

Ao se fazer culturas de CFU-C de portadores de anemia aplástica, percebe-se que a retirada dos linfócitos T destas culturas propicia prontamente seu crescimento normal. A colocação destes linfócitos torna a inibi-las³. Anticorpos com capacidade de inibição de hematopoese^{34, 35} e de células progenitoras normais³⁶ tem sido frequentemente detectados, apesar de situações semelhantes se encontrarem em pacientes politransfundidos²⁵. Em culturas mistas de linfócitos, devido à reatividade autóloga, linfócitos de portadores de anemia aplástica tem se mostrado incapazes de agir como estimuladores³. Estas são evidências laboratoriais que sugerem mecanismo imune na patogênese da doença.

Em sumário, ainda não se obteve evidências totalmente convincentes que a anemia aplástica é uma doença "autoimune", mas existem boas probabilidades de que alguns casos de anemia aplástica são iniciados ou mantidos por supressão imune da célula tronco.

1.5 CLASSIFICAÇÃO DAS ANEMIAS APLÁSTICAS

As AA podem ser adquiridas ou constitucionais. (Tabela 1). São consideradas adquiridas quando não há uma evidente

predisposição ao desenvolvimento da anemia aplástica e constitucionais nas situações em que a falha da medula óssea está associada a determinadas doenças congênitas, genéticas ou familiares.

As AA adquiridas podem ocorrer após exposição a drogas, agentes químicos e toxinas, radiação, agentes virais e gravidez, porém a causa não é determinada em número expressivo de casos³⁷. (Tabela 2)

1.5.1 Anemia Aplástica Adquirida:

Ao se estudar anemia aplástica adquirida, nota-se que 42,5% dos casos são considerados idiopáticos. A dificuldade de se relacionar um agente agressor à etiologia da doença é grande, visto que muitos casos revelam exposição a múltiplos agentes. Uma droga ou toxina só pode ser considerada causa da doença se houver definida exposição a ela. Em referência às drogas relacionadas à AA tentou-se categorizá-las de acordo com a sua potencialidade agressora. Ela é considerada "definitivamente" responsável pela agressão quando se evidencia que indivíduos expostos a ela apresentam risco muito maior de doença que os não expostos, quando há freqüentes relatos de doença após uso de drogas de indicação clínica limitada e quando há associação da AA em gêmeos idênticos⁹⁸. (Tabela 3)

Uma droga é considerada "provável" causadora de anemia aplástica quando esparsos relatos de casos durante vários anos são atribuídos a ela, ou quando ocorrem sem exposição simultânea a outras drogas⁹⁸. (Tabela 4)

São chamadas de "possíveis" causadoras de anemia aplás-tica todas as outras drogas mencionadas em publicações isola-das ou em registros de drogas. (Tabela 5)^{71, 127, 128, 129, 130}

Parece ser possível definir três mecanismos gerais de desenvolvimento de AA por drogas. O primeiro é dependente de dose e com efeitos previsíveis como encontrado na quimiotera-pia antineoplásica. O segundo inclui drogas que afetam apenas alguns pacientes e após a sua retirada ocorre a regeneração medular, sem sequelas³⁷. O terceiro é denominado idiossincrásico ou reação de hipersensibilidade, em que se faz o diagnós-tico meses ou semanas após o uso e com alto índice de morta-lidade. A mesma droga pode causar a doença em um mesmo pacien-te através de diferentes mecanismos de ação⁶⁰. A reação idios-sincrásica pode levar à anemia aplástica por metabolismo anor-mal da droga, por anormalidade genética da célula tronco tor-nando-a mais sensível, por lesão prévia de célula tronco, por reação imune envolvendo a droga e por agressões simultâneas tornando a célula tronco mais susceptível⁶⁵. O cloranfenicol é conhecido por sua ação supressora da medula óssea. Pode ser dependente de dose, por sua ação inibitória a nível de mito-côndrias³⁸. Essa ação é totalmente diversa daquela que assume proporções catastróficas e que atinge de 1/10.000 a 1/30.000 das pessoas expostas a ele, levando à anemia aplástica seve-ra. Quando ocorre ação idiossincrásica do cloranfenicol, mos-trou-se que seu anel nitrobenzênico leva a síntese de nitro-socloranfenicol, cujo efeito não é reversível após a retirada da droga. Esta síntese não é comum a todos os indivíduos, ocorrendo apenas naqueles que desenvolvem a doença. Tem ação diretamente em nível de DNA, acumulando-se nas células hema-

topoéticas, com posterior morte destas em fase G2 e M⁶⁴. A existência de gêmeos com AAS após uso de cloranfenicol sugere uma predisposição à droga³⁹. Estudos com CFU-C de pacientes que se recuperaram de AAS induzida por cloranfenicol mostram que estas células são mais sensíveis a droga do que CFU-C de indivíduos normais, quando ocorre nova exposição. Também ratos tratados com busulfan que persistem com "lesão medular residual" são mais sensíveis à exposição ao cloranfenicol do que ratos normais⁴⁰. A butazolidina, quando relacionada com anemia aplástica, geralmente tem seu "clearance" retardado, sugerindo uma anormalidade de metabolismo da droga nestes indivíduos⁴⁰. Difenilhidantoína é responsável por depressão medular relacionada a dose ou por idiosincrasia e mostrou-se capaz de inibir, em algumas culturas, o crescimento celular, mesmo em doses muito baixas, contrastando com ausência de efeito em outras. A sua ação se fazia por inibição da síntese de DNA, efeito também demonstrado com a clorpromazina^{61, 62}. Culturas de CFU-C de pacientes recuperados de agranulocitose por quinina e quinidina, quando expostas a estas drogas, são severamente inibidas em seu crescimento⁶³.

Irradiação quando considerada como causa de AA está relacionada à dose e é irreversível. No entanto, existe alta incidência de AA entre pacientes submetidos a radioterapia para tratamento de espondilite anquilosante, bem como entre os radiologistas norte-americanos⁴¹. Cerca de 50% dos cães expostos a doses baixas e diárias de radiação gama durante 200 dias, morriam de AAS. A outra metade recuperava parcialmente a medula óssea, mas dentro de 800 dias alguns apresentavam doença mieloproliferativa. Estas observações levam a concluir que AA

após irradiação está relacionada com destruição de célula tronco e com a dose, e que a ocorrência de anemia após longo tempo de exposição, está mais relacionada à doença mieloproliferativa⁴².

Infecções virais podem ser causa de AA. Em seres humanos, praticamente todos os casos se seguem a uma hepatite não-A não-B, mas existem outras infecções virais também relacionadas com AA, como mononucleose infecciosa⁴³, dengue e influenza⁴³. O mecanismo pelo qual uma infecção viral leva à AA é desconhecido. Caso de gêmeos idênticos submetidos a TMO por AA pós-hepatite tem demonstrado resultados contraditórios. Um deles apresentou pronta resposta ao TMO sem condicionamento, sugerindo lesão a nível de célula tronco⁴⁴. Outro mostrou que a pega do transplante somente ocorreu após o condicionamento com droga imunossupressora, sugerindo doença de causa imune⁴⁵. Estes fatos podem nos indicar que na AA pós-hepatite existe mais de um mecanismo e que o comportamento tão diverso, talvez se explique pelos estágios diferentes da doença. No entanto, como houve adequada resposta ao TMO, não deve existir anormalidade em nível de microambiente de MO. Cerca de 25% dos pacientes com AA tem provas de função hepática alteradas, sugerindo infecção sub-clínica, exposição anterior a uma droga hepatotóxica e pelas sucessivas transfusões a que são submetidos³. O interferon leucocitário humano, que se encontra aumentado em infecções virais in vitro, é capaz de bloquear a diferenciação mielóide. Mas os pacientes com AA pós-infecção viral estudados não apresentam níveis aumentados de interferon⁴⁰. O prognóstico de AA pós-hepatite, de modo geral, é considerado ruim⁴³.

AA de aparecimento após contacto com produtos químicos está relacionada com benzeno ou outros componentes orgânicos. A maioria dos solventes comerciais apresenta benzeno em sua fórmula. Como a maioria dos inseticidas é dissolvida nestes derivados benzênicos, é difícil estabelecer a real etiologia das AA que se seguem a essas exposições. Pacientes que trabalham em fábricas aonde se manipulam estes componentes benzênicos apresentam maior incidência de AA quanto maior for a duração da exposição, porém o mecanismo idiossincrásico também é postulado³⁷.

A associação de gravidez com AA é descrita e em oito desses casos houve surgimento da doença durante a gestação, melhora com a interrupção prematura da mesma e recidiva após nova gravidez. Não se conseguiu identificar o mecanismo etiológico³, embora estudos in vitro demonstrem que altas doses de estrogênio inibem a eritropoese em cães⁴⁰.

1.5.2 Anemias aplásticas constitucionais:

Na anemia de Fanconi encontram-se anormalidades físicas características como hiperpigmentação, ausência ou hipoplasia de polegares, aplasia radial, anomalias da estrutura renal, microcefalia, estrabismo, retardamento mental, surdez e baixa estatura. Na grande maioria dos pacientes, pelo menos uma destas anormalidades é encontrada. A transmissão é autossômica recessiva e em 10% dos casos há menção de casamento consanguíneo. As manifestações hematológicas aparecem, em geral, entre 5 e 10 anos de idade. Laboratorialmente o achado

mais característico são as quebras cromossômicas e reajustamentos tanto em linfócitos de sangue periférico como de medula óssea. Nesta, a anormalidade é em nível de célula tronco, com diminuição de CFU-E e CFU-C³⁷. Também tem-se descrito vários casos de anemia aplástica em uma mesma família, com características constitucionais, mas sem achados típicos que permitam a sua colocação no grupo dos portadores de anemia de Fanconi. A disqueratose congênita aparece na primeira década de vida, com hiperpigmentação reticular, distrofia de unhas e leucoplasia de mucosas. Metade destes pacientes desenvolvem pancitopenia entre a segunda e terceira décadas de vida. Não existem anormalidades cromossômicas detectáveis e as três linhagens embrionárias estão envolvidas: o ectoderma (pela disqueratose) o endoderma (pela leucoplasia) e o mesoderma (com a pancitopenia). A síndrome de Schwachman-Diamond constitui-se de insuficiência pancreática e neutropenia, a qual evolui, em um terço dos casos, para pancitopenia. A transmissão é autossômica recessiva, geralmente com evolução fatal por infecção não controlável⁴⁰. Ainda deve ser destacada a associação de anemia aplástica com a hemoglobinúria paroxística noturna, que se pode manifestar antes ou após o diagnóstico da aplasia medular, em 10% a 20% dos casos^{40, 46}.

1.6 TRATAMENTO DA ANEMIA APLÁSTICA

Devido a grande variedade de apresentações de AA e pela inadequada metodologia nos ensaios terapêuticos, é impossível avaliar a real eficácia de todos os tratamentos já uti-

lizados.

Os andrógenos são hormônios com a capacidade de estimular a hematopoese desde que existam ninhos de células tronco. Caso não existam tais ninhos ou o seu número seja insuficiente, não ocorre a recuperação da hematopoese⁶⁶. Também postula-se que a alternância de vários andrógenos pode ser de utilidade no tratamento da AA⁶⁷. Em virtude do número pequeno de pacientes, falta de grupos controles adequados e classificação incorreta da doença quanto à severidade e etiologia os resultados publicados na literatura são conflitantes^{68, 69,70,71}. Os resultados mais favoráveis sempre estão relacionados com AA moderada^{72, 73}. O trabalho mais elucidativo em termos de avaliar a eficácia do tratamento com andrógenos foi realizado com o objetivo de eliminar todas as causas anteriores de falha, com a utilização principalmente de um grupo controle. Neste estudo, foram utilizados apenas pacientes novos com exclusão de doenças associadas. Pacientes com doador de MO foram submetidos a TMO e pacientes sem doador foram submetidos a tratamento com andrógenos ou apenas a tratamento de suporte. Após 3 anos concluiu-se que aqueles tratados com andrógenos apresentaram a mesma evolução que os não tratados, mostrando desta forma a ineficácia deste tipo de terapêutica⁷⁴.

A esplenectomia, realizada a partir das hipóteses da existência de um fator inibidor da hematopoese produzido no baço e da destruição das células neste órgão, não demonstrou nenhuma evidência de benefício. O índice de resposta a este tratamento não é diferente daquele observado com a remissão espontânea da doença⁷⁵.

Os corticosteróides em doses moderadas (0.2 a 1.0 mg

de prednisona ou equivalente por Kg de peso por dia) parecem apenas melhorar a integridade capilar, como visto em animais trombocitopênicos. O seu uso prolongado propicia o aparecimento de vários efeitos colaterais que agravam o prognóstico de AA, sendo sua utilização discutível e até contraindicada¹¹⁰.

A terapia imunossupressora, representada principalmente por altas doses de corticosteróides e globulina anti-timocítica, é utilizada atualmente como forma promissora de tratamento de anemia aplástica. O uso de corticosteróides em altas doses (metilprednisolona, 20 mg por Kg de peso/dia, em doses progressivamente decrescentes, durante 30 dias) mostrou-se eficaz, com respostas em 20 a 50% dos casos. As respostas são em geral rápidas, manifestando-se em torno de 18 dias após o uso da droga e persistindo até 244 dias após os sinais de recuperação da MO¹¹¹. Geralmente não se acompanha de efeitos colaterais relevantes e pode ser utilizado sem prejuízo a outras formas de tratamento de anemia aplástica, como TMO e GAT.

A globulina antitimocítica (GAT) é produzida a partir da imunização de cavalos com linfócitos humanos obtidos de sangue periférico, de baços de cadáveres e de timos retirados durante cirurgias. Além de cavalos são utilizados coelhos e cabritos para a preparação deste soro. Os linfócitos são purificados a cada duas semanas durante 3 meses e injetados nos animais. O plasma é então retirado em frascos heparinizados estéreis duas vezes por semana e o "pool" de plasma é processado para o isolamento de IgG monomérico. Este é colocado em contacto com estroma de eritrócitos e proteínas plasmáticas humanas, para que haja a remoção de anticorpos reativos a estas estruturas. Para cada litro de plasma se consegue 9.16

gramas de IgG quando o animal utilizado é o cavalo. Para se determinar a potência de cada lote de GAT, são realizados testes *in vitro* e *in vivo*. O prolongamento da sobrevida de enxerto de pele em macacos de 10 para 30 dias, após o uso de GAT, é um dos mais usados. No entanto, apesar destes cuidados, a variabilidade de atividade de cada lote é reconhecida e é uma causa de falha que não pode ser desprezada.

O preciso mecanismo de ação da GAT não está bem elucidado. Em geral, ocorre imunossupressão pela sua ligação aos linfócitos T. Esta ligação causa destruição do linfócito T por citotoxicidade mediada por complemento, ativação de macrófagos e fagocitose. Alternativamente, a GAT inibe a ativação das células T por alteração a nível de membranas celulares não permitindo as trocas necessárias e ainda neutraliza a produção de linfocinas pelas células T. Claramente fica demonstrado que a ação da GAT se faz de modo primordial no sistema imune mediado por células, com mínimos efeitos na imunidade humoral⁷⁶. Também se descreveu que a ação do GAT é efetiva sobre linfócitos T de sangue periférico ou de medula óssea, mas que esta ação não se estende até os seus precursores. Ao se realizar a incubação destes precursores com timosina, demonstra-se que 10% destes continuam formando E-rosetas, caracterizando-se a diferente ação sobre células maduras e precursoras. Quando se associa complemento a GAT, ocorre inibição de função tanto das células maduras como das precursoras⁷⁷.

Além de sua função linfocitotóxica, a GAT também afeta a função linfocitária. Quando acrescentando à culturas celulares, mostra-se tóxico aos linfócitos que elaboram fator de crescimento. No entanto, quando adicionado a estas culturas

em doses baixas, em ausência de complemento, estimula a produção de fator de crescimento, através de células acessórias existentes⁷⁸. A retirada de linfócitos T de culturas de células através de tratamento destas culturas com GAT, favorece o crescimento de colônias e o crescimento de BFU-E. O retorno das células T a estas colônias determina novamente inibição de crescimento das mesmas⁷⁹.

Com base nestas informações, a GAT é utilizada no tratamento de anemia aplástica, com resultados variados.

O transplante de medula óssea, nos últimos 15 anos, é utilizado como tratamento de eleição das anemias aplásticas severas. Infelizmente apenas 20-40% dos pacientes tem doadores compatíveis e este procedimento não é correntemente indicado em pessoas acima de 45 anos de idade. Numa análise de transplantes realizados em 28 centros, os resultados mostram 60% dos pacientes vivos após 2 anos do TMO. Os melhores resultados de transplantes alogênicos são obtidos em pacientes sem transfusão prévia, com 83% dos casos vivos entre 2.5 e 10 anos após TMO. Do grupo com transfusão prévia, os que recebem creme leucocitário ("buffy-coat") durante 5 dias após a infusão de medula óssea apresentam os melhores resultados, com 70% vivos num período que oscila entre 2 a 6 anos pós-TMO. Entre os que não recebem o creme leucocitário, a sobrevida é de 45%. Os transplantes singênicos de experiência reduzida, pois existem cerca de 30 casos descritos, podem ser realizados com ou sem condicionamento prévio, com resultados em torno de 85% mostrando longa sobrevida. As principais complicações dos pacientes com TMO capazes de levá-los ao óbito são a rejeição, os problemas infecciosos na fase inicial do procedimento e a rea-

ção aguda de enxerto contra hospedeiro¹³³.

1.7 MORTALIDADE DA ANEMIA APLÁSTICA

As informações colhidas na literatura não são realmente confiáveis. Os critérios para diagnóstico não são uniformes e a maioria dos estudos baseiam-se em casuísticas bastante heterogêneas e em populações mal definidas.

Alguns estudos mostram que a mortalidade para indivíduos abaixo de 50 anos de idade varia de 1 a 3 casos por ano por um milhão de habitantes, não havendo diferenças quanto ao sexo³⁷. Quando são analisados indivíduos acima de 50 anos, a mortalidade aumenta de modo importante, ultrapassando a marca de 20 casos por ano por um milhão de habitantes (Figura 2).

TABELA 1 - CLASSIFICAÇÃO DE ANEMIA APLÁSTICA

1. ADQUIRIDA:

- a. idiopática
- b. drogas e químicos
- c. radiação
- d. viral
- e. gravidez

2. CONSTITUCIONAL:

- a. anemia de Fanconi
 - b. anemia aplástica familiar
 - c. trombocitopenia amegacariocítica (TAR)
 - d. disqueratose congênita
 - e. síndrome de Schwachman-Diamond
 - f. doenças metabólicas congênitas
-
-

Tabela 2 - AGENTES ETIOLÓGICOS EM ANEMIA APLÁSTICA
ADQUIRIDA³⁷

Idiopática	800 casos	42,5%
Cloranfenicol	481 casos	25,5%
Benzeno	45 casos	2%
Sulfonamidas	38 casos	2%
Inseticidas	48 casos	2,5%
Anticonvulsivantes	35 casos	2%
Fenilbutazona	81 casos	4%
Solventes	20 casos	1%
Ouro	11 casos	1%
Hepatite	14 casos	1%
Outros	311 casos	16,5%
Total	1.882 casos	100%

TABELA 3 - DROGAS "DEFINIDAMENTE" RESPONSÁVEIS
POR ANEMIA APLÁSTICA

agentes anticonvulsivantes

cloranfenicol

ouro

mepacrina

arsenicais orgânicos

penicilamina

fenilbutazona

oxifenilbutazona

agentes tirostáticos

TABELA 4 - DROGAS "PROVAVELMENTE" RESPONSÁVEIS
POR ANEMIA APLÁSTICA

acetazolamida

clorotiazida e diuréticos relacionados

antihistamínicos

cloroquina

fenotiazinas

quinidina

sulfonamidas

antireumáticos não esteróides

TABELA 5 - DROGAS CONSIDERADAS "POSSÍVEIS"
CAUSADORAS DE ANEMIA APLÁSTICA

ácido acetil salicílico	sulfisoxazol
anfotericina B	inseticidas
bismuto	meprobamatos
carbamazepina	metecilina
cabutamida	oxitetraciclina
clordiazepóxido	penicilina
cimetidine	estreptomicina
corantes	cetoconazol

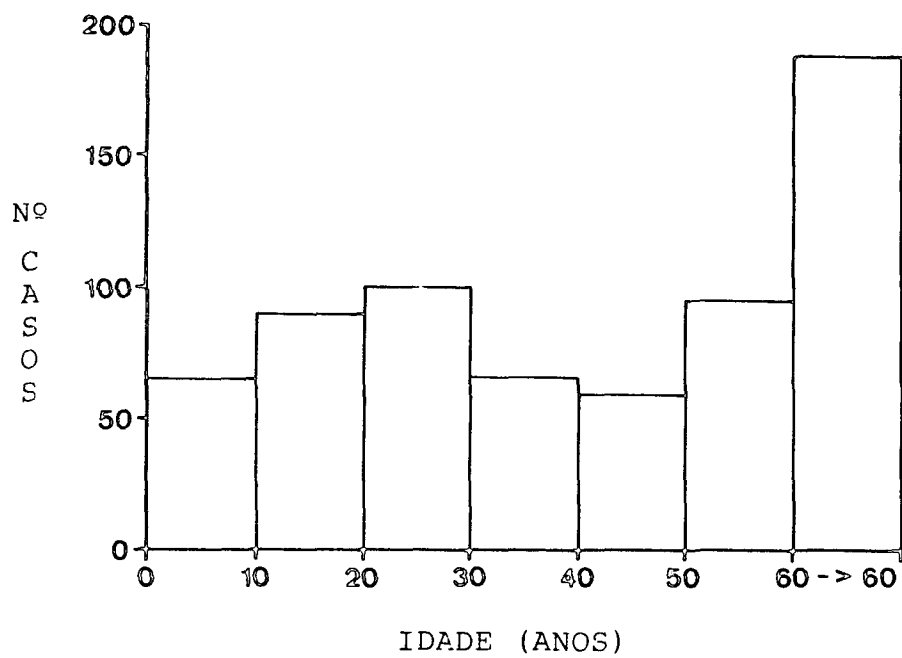


Fig. 1 - Idade ao diagnóstico de anemia aplástica adquirida.³⁷

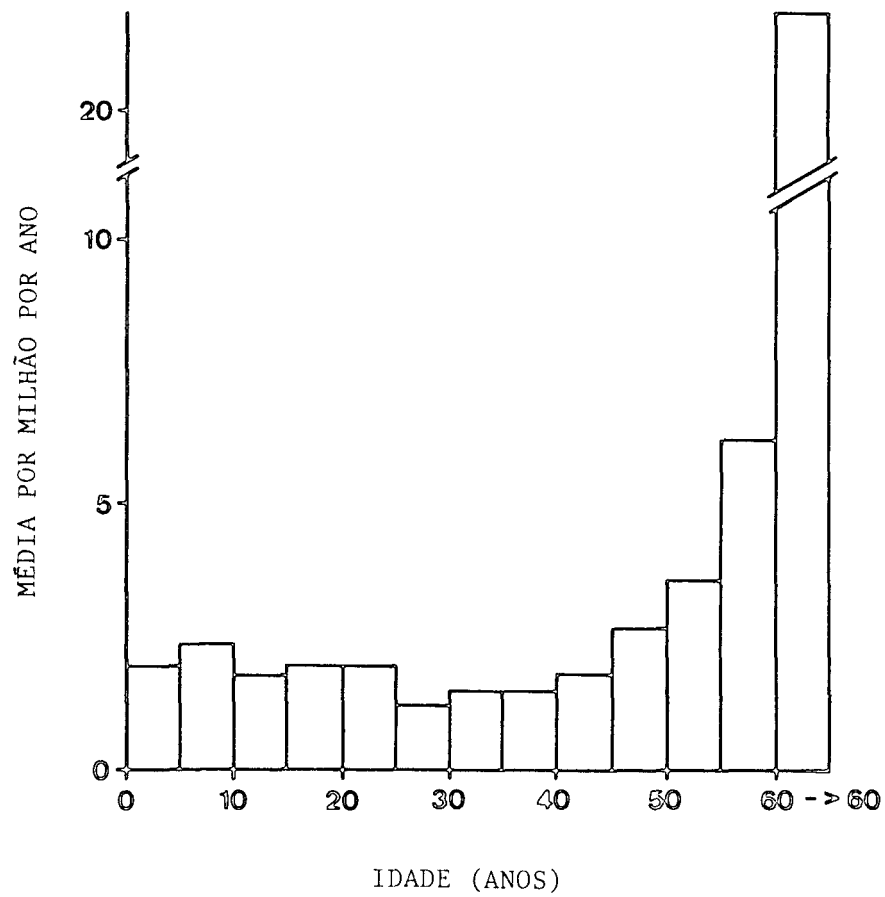


Fig. 2 - Mortalidade relacionada à idade de pacientes com anemia aplás-tica adquirida.³⁷

2. OBJETIVOS

Devido ao grande número de portadores de anemia aplás-tica severa encaminhados a nossa Unidade de TMO que não possuíam condições de se submeter a este procedimento, sur-giu a motivação para a realização deste estudo, visto a glo-bulina ser um tratamento alternativo a estes pacientes.

Além de se avaliar a eficácia da GAT no tratamento de portadores de anemia aplástica severa adquirida em nosso meio, ainda se procuraria detectar variáveis que eventualmente propiciassem à sua indicação. Assim, escolhemos como variáveis a duração da doença até o início do tratamento, a etiologia da doença, o número de granulócitos e de linfócitos ao início da infusão e a idade do paciente. Também se avaliaria a viabili-dade da utilização da droga em nosso meio quanto aos seus efei-tos colaterias e as causas de óbitos que porventura ocorres-sem.

3. CASUÍSTICA

3.1 PACIENTES

Durante o período de agosto de 1984 a junho de 1986, foram tratados 21 pacientes portadores de anemia aplástica severa adquirida, assim classificados de acordo com os seguintes critérios:

a) Celularidade da medula óssea inferior a 25% ou com menos de 50% e com precursores hematopoéticos abaixo de 30% (avaliação histológica) e (b) pelo menos dois dos seguintes três valores de sangue periférico: granulócitos abaixo de 500/ μ l, contagem de plaquetas inferior a 20.000 por μ l e anemia associada a contagem de reticulócitos abaixo de 1% (corrigida pelo hematócrito)²³. Estes pacientes não apresentavam evidências de melhora espontânea, e, à exceção de dois, não possuíam doadores compatíveis para TMO. Um destes recusou o transplante e o outro foi submetido a GAT após rejeição de TMO previamente realizado em nossa unidade. Portadores de outras doenças hematológicas foram excluídos. Foram considerados aptos somente após a concordância por escrito consentindo em sua participação neste estudo, cientes dos propósitos, benefícios e riscos do mesmo através de entrevista. Este estudo foi autorizado pela Direção do Departamento de Clínica Médica e Direção Geral do Hospital de Clínicas da UFPR.

Os dados clínicos relevantes à admissão estão sumari-

zados nos quadros demonstrativos 1A e 1B.

3.2 MATERIAL

Foi utilizada a globulina antitimocítica equina, ATGAM The Upjohn Company, fornecida à Unidade de TMO após o Coordenador desta Unidade, Dr. Ricardo Pasquini, ser considerado apto por este laboratório a dirigir este estudo em nosso meio. A GAT foi utilizada na dose de 15mg/Kg/dia durante 10 dias, diluída em 250 ml de solução salina isotônica e infundida em seis horas. Os pacientes se encontravam internados em quartos comuns, mas durante a infusão eram atentamente vigiados para prevenção de situações que pudessem colocá-los em risco. Material de atendimento de emergência (para entubação endotraqueal e para complicações alérgicas) era mantido à cabeceira do paciente para sua pronta utilização. Apenas o paciente de nº 18 recebeu a GAT dentro da unidade de TMO, por se encontrar em período pós-transplante. Eram transfundidos com papa de hemácias quando apresentavam anemia sintomática ou quando a hemoglobina estava abaixo de sete gramas por decilitro e com concentrados de plaquetas de doador não relacionado quando apresentassem sangramentos ou contagem de plaquetas inferior a 15.000/ μ l. Quando refratários a plaquetas, recebiam transfusões de doadores haplo ou aloidênticos. Pacientes febris com temperatura acima de 38,5°C e menos de 1.000 granulócitos/ μ l foram colocados em regime de antibioticoterapia de amplo espectro. Não foram utilizadas transfusões de granulócitos. Após a alta, foram acompanhados em regime ambulatorial e hospita-

lizados quando manifestações hemorrágicas ou infecções maiores ocorressem.

Durante o uso de GAT, os principais efeitos colaterais foram manejados com acetaminofen, difenidramina e prednisona. Estas drogas foram suspensas após o tratamento e nenhuma outra droga foi adicionada a não ser para o tratamento de complicações ocorridas.

Previamente ao uso de GAT, os pacientes foram submetidos à avaliação de função renal, hepática, hemograma com reticulócitos e plaquetas, aspiração e biópsia de medula óssea. Após seis semanas e seis meses da infusão de GAT, eram novamente avaliados com hemograma, reticulócitos e plaquetas, aspiração e biópsia de medula óssea. Os exames de sangue periférico foram realizados pelos métodos habituais. A aspiração de medula óssea foi realizada em osso ilíaco, com a agulha desenvolvida na Universidade de Illinois, e a biópsia do mesmo local, com a agulha de Jamshidi.

Convencionou-se realizar a primeira avaliação após seis semanas porque os primeiros sinais de regeneração medular nos respondedores ocorrem entre quatro a 12 semanas após o uso da droga. A segunda avaliação realizada aos seis meses objetivava verificar a persistência da resposta. Foram estabelecidas as seguintes categorias de resposta:

a) Tipo I: pacientes tornaram-se assintomáticos no que se relaciona à pancitopenia, associado a aumento de pelo menos 50% dos valores de duas linhagens não relacionado a transfusão de sangue.

b) Tipo II: melhora dos índices hematológicos mas ain-

da com necessidade de transfusão de papa de hemácias ou concentrados de plaquetas ou com infecções que necessitassem internamentos para sua resolução.

c) Tipo III: sem evidências de melhora dos índices hematológicos quando comparados ao período prévio ao uso de GAT.

Para definir a presença da doença do soro era necessária a constatação de febre, erupção cutânea, artralgias e lesões de pele características em região plantar e palmar¹⁰².

A análise estatística foi realizada utilizando-se o teste da aproximação da binomial para a normal, unilateral. O nível de significância aceito foi de 0,05 (5%).

Para estimativa de sobrevida utilizou-se o método do produto limite de Kaplan e Meier.³⁰

QUADRO DEMONSTRATIVO Ia: Informações ao início do tratamento.

PACIENTE	IDADE	SEXO	ETIOLOGIA	HEMAT.	LEUCO	GRAN.	LINFO	RETIC.	PLAQ.	M.O.	DURAÇÃO	TRATAMENTOS
1	26	M	Idiopática	15%	2225	178	2024	0,68%	10.000	10%	10 meses	pred + androg
2	13	F	Idiopática	15%	3800	190	3610	0,51%	10.000	10%	02 meses	não
3	3	F	Idiopática	25%	2900	174	2697	0,44%	10.000	< 5%	01 mes	pred
4	15	F	Idiopática	18%	1600	752	544	0,04%	8.000	10%	23 meses	androg
5	28	F	Idiopática	20%	2560	333	1971	0,49%	6.000	5%	24 meses	pred
6	60	F	Fenilbut.	22%	3200	44	3116	1,61%	6.000	5%	04 meses	pred
7	10	M	Inseticida	21%	2500	450	1950	0,43%	5.000	10%	02 meses	pred + androg
8	6	M	Idiopática	32%	2200	154	1650	1,52%	5.000	5%	02 meses	não
9	8	F	Hepatite	25%	1100	792	209	0,38%	6.000	5%	12 meses	pred + androg
10	22	F	Idiopática	25%	2800	924	1365	0,91%	13.000	10%	11 meses	pred + androg
11	19	M	Fenilbut.	24%	3200	256	2560	0,47%	12.000	< 5%	02 meses	pred + androg
12	27	M	Hepatite	28%	4200	588	3444	0,06%	6.000	5%	06 meses	não
13	10	M	Idiopática	25%	4460	489	3880	1,3%	5.000	5%	02 meses	pred
14	1 ¹ / ₂	M	Hepatite	28%	2500	125	2250	0,42%	8.000	5%	02 meses	não
15	10	M	Inceticida	23%	4990	100	4640	0,11%	7.000	5%	09 meses	pred
16	24	F	Cloranfen.	26,7%	1800	432	1260	0,06%	29.000	5%	10 meses	pred + androg
17	38	M	Idiopática	35,7%	1200	96	1104	0,07%	25.000	5%	06 meses	pred + androg
18	10	F	Idiopática	21%	955	200	955	0,05%	33.700	< 5%	04 meses	T.M.O
19	36	M	Hepatite	34%	930	65	837	0,07%	15.000	< 5%	02 meses	pred + androg
20	24	M	Idiopática	37%	2100	651	1260	1,57%	18.000	5%	03 meses	pred + androg
21	6	F	Idiopática	42%	2300	322	1817	0,1%	1.000	10%	14 meses	pred

Fonte: Unidade de TMO do HC da UFPR.

Hemat. - Hematócrito Leuco - Leucócitos Gran. - Granulócitos Linfo - Linfócitos

Retic. - Reticulócitos corrigidos para o hematócrito

Plaq. - Plaquetas M.O. - Celularidade de medula óssea à biópsia

Duração - Intervalo de tempo entre diagnóstico e tratamento com GAT

Tratamento - Drogas utilizadas antes da GAT.

QUADRO DEMONSTRATIVO 1b: Informações ao início
do tratamento.

Nº de pacientes	21
Idade média (anos)	19 (1 $\frac{1}{2}$ - 60)
Sexo (M/F)	11/10
Etiologia idiopática/Droga/Viral	12/5/4
Tempo Diagnóstico/Tratamento (meses) ...	7 (1 - 24)
Granulócitos Início Tratamento (por μ l):	339 (zero - 924)
Linfócitos Início Tratamento (por μ l) ..	2054 (209 - 4640)
Plaquetas Início Tratamento (por μ l \times 1000):	11.4 (1.0-33.7)

Fonte: Unidade de TMO do HC da UFPR.

4. RESULTADOS

O objetivo do estudo foi avaliar a resposta de portadores de anemia aplástica severa adquirida ao tratamento com GAT, tentando-se reconhecer fatores que identifiquem possíveis respondedores à droga, os principais efeitos colaterais decorrentes do seu uso e as causas de óbitos.

Dos 21 pacientes incluídos no estudo, seis foram a óbito em período imediato ao uso da droga, não atingindo a avaliação de seis semanas. Deste modo, 15 pacientes submeteram-se à primeira avaliação e cinco (33,3%) mostravam resposta tipo I e um (6,7%) resposta tipo II. Todos os pacientes com resposta tipo I tinham sinais de regeneração medular às seis semanas, persistindo aos seis meses (quadro demonstrativo 2). O único paciente com resposta tipo II às seis semanas mostrava-se em recidiva aos seis meses. Na análise de sobrevivência, independente de resposta, a probabilidade de os pacientes estudados estarem vivos aos 960 dias chegou a 47% (Figura 3).

Na tentativa de relacionar resposta a GAT com fatores que identifiquem possíveis respondedores a ela, foram estudadas a relação entre resposta a GAT e duração e etiologia da doença, número de linfócitos e granulócitos ao início do tratamento e idade do paciente.

Ao se analisar resposta e duração da doença, os pacientes foram distribuídos em três grupos (Tabela 7). Notamos que dos sete casos do grupo 1, um mostrou resposta tipo I e um resposta tipo II na avaliação de seis semanas. Na avaliação de

seis meses, apenas aquele com resposta tipo I continuava em remissão. No grupo 2, quatro dos 11 pacientes apresentaram resposta tipo I às seis semanas e seis meses. No grupo 3 nenhum paciente apresentou resposta. Estes dados estão nos quadros demonstrativos 3 e 4. Na análise estatística, não existe diferença significativa entre o tempo decorrido do diagnóstico ao início da GAT no tocante à resposta, mas existe significativa diferença na sobrevida, com pacientes doentes há mais tempo apresentando sobrevida mais longa que os doentes há menos tempo.

Ao se analisar resposta a GAT e número de linfócitos que os pacientes apresentavam ao início do tratamento, consideramos os seguintes grupos:

Grupo A: linfócitos normais (1160 a 3660/ μ l).

Grupo B: linfócitos acima dos valores normais (acima de 3660/ μ l).

Grupo C: linfócitos abaixo dos valores normais (abaixo de 1160/ μ l).

O maior número de pacientes apresentava linfócitos normais em valores absolutos. Do total de casos estudados 14 (66,7%) tinham entre 1160/ μ l e 3660/ μ l, cinco (23,8%) menos de 1160/ μ l e dois (9,5%) mais de 3660/linfócitos/ μ l. Todos os respondedores tipo I estavam entre aqueles do grupo A, com cinco (35,7%) em remissão as seis semanas e aos seis meses. Entre os do grupo B, um (50%) mostrou resposta tipo II às seis semanas, não persistindo até os seis meses. Não houve resposta entre os pacientes do grupo C. Quanto à sobrevida, os pacientes do grupo B não apresentaram resposta à GAT mas esta-

vam vivos aos seis meses pós-tratamento, enquanto 50% dos pacientes do grupo A e 40% do grupo C sobreviveram até esta avaliação (quadro demonstrativo 5 e 6).

Não houve possibilidade de correlação estatística dentro deste grupo com referência à resposta e número de linfócitos. No entanto, com relação à sobrevida, ao se fazer a análise estatística, esta foi significativamente favorável ao grupo com linfócitos normais quando comparada aos outros dois.

Ao se analisar resposta a GAT e número de granulócitos ao início do tratamento tivemos a distribuição de casos observada nos quadros demonstrativos 7 e 8. Em 76,2% dos pacientes os granulócitos estavam abaixo de $500/\mu\text{l}$ e nos restantes 23,8% acima de 500 granulócitos/ μl . Encontramos resposta tipo I presente das seis semanas aos seis meses em ambos os grupos. No grupo com granulócitos mais baixos, três pacientes (18,75%) responderam à GAT, enquanto no grupo com granulócitos acima de $500/\mu\text{l}$, dois pacientes responderam (40%). Em relação à sobrevida, oito pacientes (50%) do primeiro grupo estavam vivos aos seis meses e 3 (60%) do segundo grupo sobreviveram este período.

Não detectamos diferença significativa entre resposta à globulina e número de granulócitos ao início do tratamento, mas ao se correlacionar com a sobrevida, esta é significativamente favorável ao grupo com contagem granulocítica superior a $500/\mu\text{l}$.

No quadro demonstrativo 9 podemos observar resposta a GAT relacionada à etiologia da doença. A maior incidência foi de natureza idiopática, seguida pelos de etiologia viral.

Não houve possibilidade de análise estatística dentro

deste grupo.

De acordo com a idade, os pacientes estudados foram distribuídos nos seguintes grupos:

- Grupo 1: 0 - 10 anos
- Grupo 2: 11 - 20 anos
- Grupo 3: 21 - 30 anos
- Grupo 4: 31 - 40 anos
- Grupo 5: acima de 40 anos.

As informações comparando idade, tipo de resposta e sobrevida estão nos quadros demonstrativos 10 e 11.

No grupo 1 ocorreu a maior concentração de casos e o menor índice de resposta. O único paciente deste grupo que respondeu teve uma resposta tipo II não persistente até os seis meses. Os outros respondedores, todos tipo I, encontravam-se nos grupos 2, 3 e 5. No grupo I a sobrevida decresceu de modo importante entre as seis semanas e seis meses, mantendo-se estável nos grupos 2, 3 e 5. Ao se analisar resposta à GAT e idade, este é significativamente favorável aos pacientes com idade superior a 10 anos. Na análise de sobrevida, esta também foi significativamente favorável ao grupo acima dos 10 anos, com a probabilidade de 63% dos pacientes estarem vivos aos 960 dias, enquanto no grupo abaixo de 10 anos esta probabilidade atinge apenas 33% dos pacientes, aos 780 dias (Figura 4).

Também analisamos as causas de óbito dos pacientes com AAS submetidos ao tratamento imunossupressor, considerando-se que todos foram tratados do mesmo modo quanto à terapêutica

de suporte.

Dos 21 pacientes que iniciaram o estudo, seis foram à óbito antes da primeira avaliação e mais quatro tiveram intercorrências fatais entre esta e a avaliação de seis meses. Nenhum paciente com resposta a GAT foi a óbito (Tabela 8).

O sangramento em sistema nervoso central predominou como causa de óbito e salientamos que estes pacientes eram refratários às transfusões de plaquetas. Os casos de nº 8, 10, 11 e 16 foram a óbito entre a infusão da GAT e a avaliação de seis semanas. Os casos de nº 3, 7, 17 e 21 foram a óbito entre a primeira e segunda avaliação, todos por sangramento em sistema nervoso central. Alguns destes pacientes foram a óbito mesmo em regime hospitalar, com adequada reposição de concentrados de plaquetas e com níveis em sangue periférico não habitualmente associados a sangramentos fatais.

Entre os pacientes com intercorrências fatais por infecção, o número 19 apresentou septicemia por bactéria gram-negativa (*Klebsiella*), o número 16 teve septicemia pela mesma bactéria e sangramento em SNC, o nº 11 apresentou candidíase sistêmica associada ao sangramento em SNC e o nº 18 pneumonite intersticial por *Pneumocystis carinii* a qual o levou a óbito por insuficiência respiratória.

A análise das reações colaterais apresentadas durante o uso da GAT foi um dos objetivos do estudo. Nenhum paciente apresentou complicações severas, a nível de risco de vida, durante a infusão. As anormalidades ocorridas durante este período foram manejadas com sucesso com uso de antihistamínicos e corticosteróides. Na Tabela 9, as principais complicações detectadas são apresentadas.

As manifestações, de modo geral, foram as características descritas quando do uso da GAT. É relevante assinalar no nosso estudo o achado de hipertensão arterial que se desenvolveu durante o tratamento em 33,3% dos casos, melhorando após o término da droga.

Nenhum dos nossos casos apresentou hipotensão arterial. A baixa incidência de doença do soro (14,3%), talvez pelo precoce uso de antihistamínicos e prednisona, foi achado contrastante.

QUADRO DEMONSTRATIVO 2 - Resultados laboratoriais dos pacientes com resposta tipo I após 6 semanas e 6 meses do uso da GAT.

AVALIAÇÃO APÓS 6 SEMANAS								AVALIAÇÃO APÓS 6 MESES							
Paciente nº	Hemat. %	Hemogl. g%	Leuco x1000	Gran. %	Plaq. x1000	M.O. %	Transfusões	Paciente nº	Hemat. %	Hemogl. g%	Leuco x1000	Gran. %	Plaq. x1000	M.O. %	Transfusões
1	39.4	12.8	4	30	44	60	não	1	44,5	15,2	3,8	26	83	60	não
2	26	8.8	4	22	55	60	não	2	40,7	13,7	6,5	65	230	60	não
6	36.6	12.3	4.5	21	27	35	não	6	39.4	13,8	4,5	18	16	40	não
12	32.4	10.6	4.2	46	25	25	não	12	40,5	13	4,2	54	36	30	não
20	35	12.5	3.8	57	35	30	não	20	45	15,9	3,7	60	38	50	não

Fonte: Unidade de TMO do HC da UFPR.

Hemat.: hematócrito Hemogl.: hemoglobina Leuco: leucócitos Gran.: granulócitos Plaq.: plaquetas M.O.: Biópsia de Medula óssea

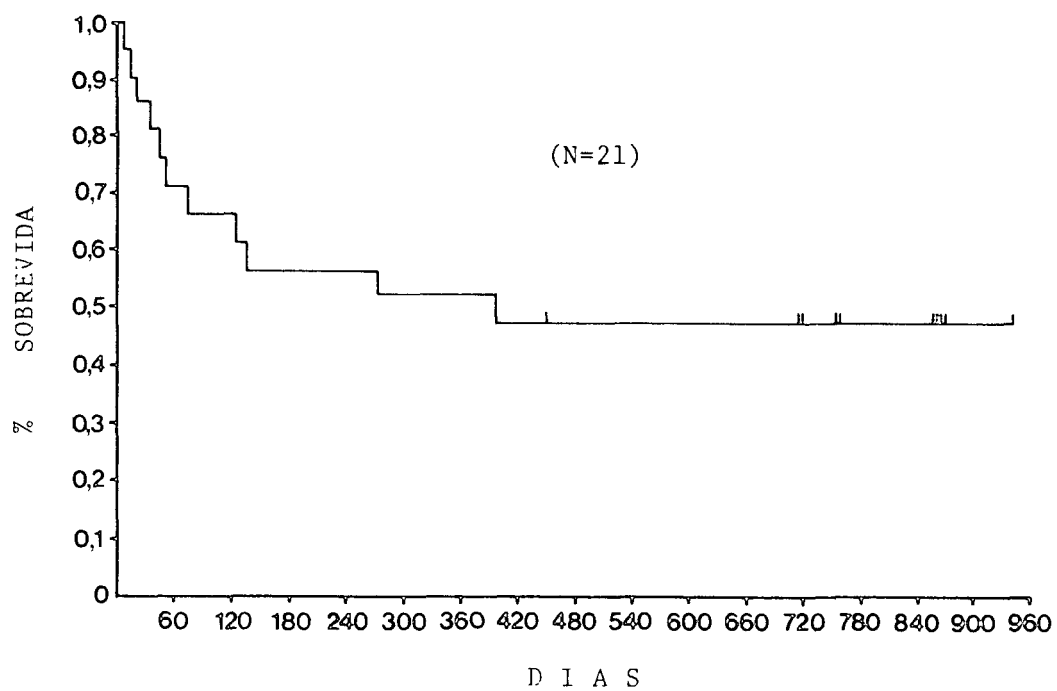


Fig. 3 - Anemia Aplástica Severa Adquirida — Estimativa da sobrevivida global dos pacientes submetidos a GAT (Método do Produto Limite de Kaplan e Meier).

TABELA 7 - DISTRIBUIÇÃO DOS DADOS PELO GRUPO E
DURAÇÃO DA DOENÇA

Grupo	Duração da doença	nº de pacientes	%
1	0 - 2 meses	7	33,3
2	2 - 12 meses	11	52,4
3	acima de 12 meses	3	14,3
Total		21	100,0

Fonte: Unidade de TMO do HC da UFPR.

QUADRO DEMONSTRATIVO 3 - Distribuição dos dados pela duração da doença, tipo de resposta e sobrevivência às 6 semanas.

		6 S E M A N A S		
Duração da doença (meses)	Nº de casos	Tipo I	Tipo II	Vivos
0 - 2	7	1(14,3%)	1(14,3%)	4(57,1%)
2 - 12	11	4(36,4%)	zero	8(72,7%)
acima de 12	3	zero	zero	3(100%)

Fonte: Unidade de TMO do HC da UFPR.

QUADRO DEMONSTRATIVO 4 - Distribuição dos dados pela duração da doença, tipo de resposta e sobrevivência aos 6 meses.

		6 M E S E S		
Duração da doença (meses)	Nº de casos	Tipo I	Tipo II	Vivos
0 - 2	7	1(14,3%)	zero	3(42,8%)
2 - 12	11	4(36,4%)	zero	6(54,5%)
acima de 12	3	zero	zero	2(66,7%)

Fonte: Unidade de TMO do HC da UFPR.

QUADRO DEMONSTRATIVO 5 - Distribuição dos dados pelo número de linfócitos, tipo de resposta e sobrevivida às 6 semanas.

		6 S E M A N A S		
Nº de linfócitos por μ l	Nº de casos	Tipo I	Tipo II	Vivos
1160 a 3660	14(66,7%)	5(35,7%)	zero	12(85,7%)
acima de 3660	2(9,5%)	zero	1(50%)	2(100%)
abaixo de 1160	5(23,8%)	zero	zero	3(60%)

Fonte: Unidade de TMO do HC da UFPR.

QUADRO DEMONSTRATIVO 6 - Distribuição dos dados pelo número de linfócitos, tipo de resposta e sobrevivida aos 6 meses.

		6 M E S E S		
Nº de linfócitos por μ l	Nº de casos	Tipo I	Tipo II	Vivos
1160 a 3660	14(66,7%)	5(35,7%)	zero	7(50%)
acima de 3660	2(9,5%)	zero	zero	2(100%)
abaixo de 1160	5(23,8%)	zero	zero	2(40%)

Fonte: Unidade de TMO do HC da UFPR.

QUADRO DEMONSTRATIVO 7 - Distribuição dos dados pelo número de granulócitos, tipo de resposta e sobrevivência às 6 semanas.

		6 S E M A N A S		
Nº de granulócitos por μ l	Nº de casos	Tipo I	Tipo II	Vivos
0 - 499	16(76,2%)	3(18,7%)	1(6,3%)	12(80%)
500 - 1000	5(23,8%)	2(40%)	zero	3(60%)

Fonte: Unidade de TMO do HC da UFPR.

QUADRO DEMONSTRATIVO 8 - Distribuição dos dados pelo número de granulócitos, tipo de resposta e sobrevivência aos 6 meses.

		6 M E S E S		
Nº de granulócitos por μ l	Nº de casos	Tipo I	Tipo II	Vivos
0 - 499	16(76,2%)	3(18,7%)	zero	8(50%)
500 - 1000	5(23,8%)	2(40%)	zero	3(60%)

Fonte: Unidade de TMO do HC da UFPR.

QUADRO DEMONSTRATIVO 9 - Distribuição dos dados pela etiologia, tipo de resposta e sobrevida.

Etiologia	Nº de casos	Resposta Tipo I	Resposta Tipo II	Vivos 6 semanas	Vivos 6 meses
Idiopática	12 (57,1%)	3 (25%)	1 (8,3%)	9 (75%)	6 (50%)
Hepatite viral	4 (19,0%)	1 (25%)	zero	3 (75%)	3 (75%)
Fenilbutazona	2 (9,5%)	1 (50%)	zero	1 (50%)	1 (50%)
Inseticidade em zona rural	2 (9,5%)	zero	zero	2 (100%)	1 (50%)
Cloranfenicol	1 (4,8%)	zero	zero	zero	zero

Fonte: Unidade de TMO do HC da UFPR.

QUADRO DEMONSTRATIVO 10 - Distribuição de dados pela idade, tipo de resposta e sobrevivida às 6 semanas.

		6 S E M A N A S		
Idade (anos)	Nº de casos	Tipo I	Tipo II	Vivos
0 - 10	9 (42,8%)	zero	1 (11,1%)	7 (77,8%)
11 - 20	3 (14,3%)	1 (33,3%)	zero	2 (66,7%)
21 - 30	6 (28,6%)	3 (50%)	zero	4 (66,7%)
31 - 40	2 (9,5%)	zero	zero	1 (50%)
acima de 40	1 (4,8%)	1 (100%)	zero	1 (100%)

Fonte: Unidade de TMO do HC da UFPR.

QUADRO DEMONSTRATIVO 11 - Distribuição de dados pela idade, tipo de resposta e sobrevivida aos 6 meses.

		6 M E S E S		
Idade (anos)	Nº de casos	Tipo I	Tipo II	Vivos
0 - 10	9 (42,8%)	zero	zero	4 (44,4%)
11 - 20	3 (14,3%)	1 (33,3%)	zero	2 (66,7%)
21 - 30	6 (28,6%)	3 (50%)	zero	4 (66,7%)
31 - 40	2 (9,5%)	zero	zero	zero
acima de 40	1 (4,8%)	1 (100%)	zero	1 (100%)

Fonte: Unidade de TMO do HC da UFPR.

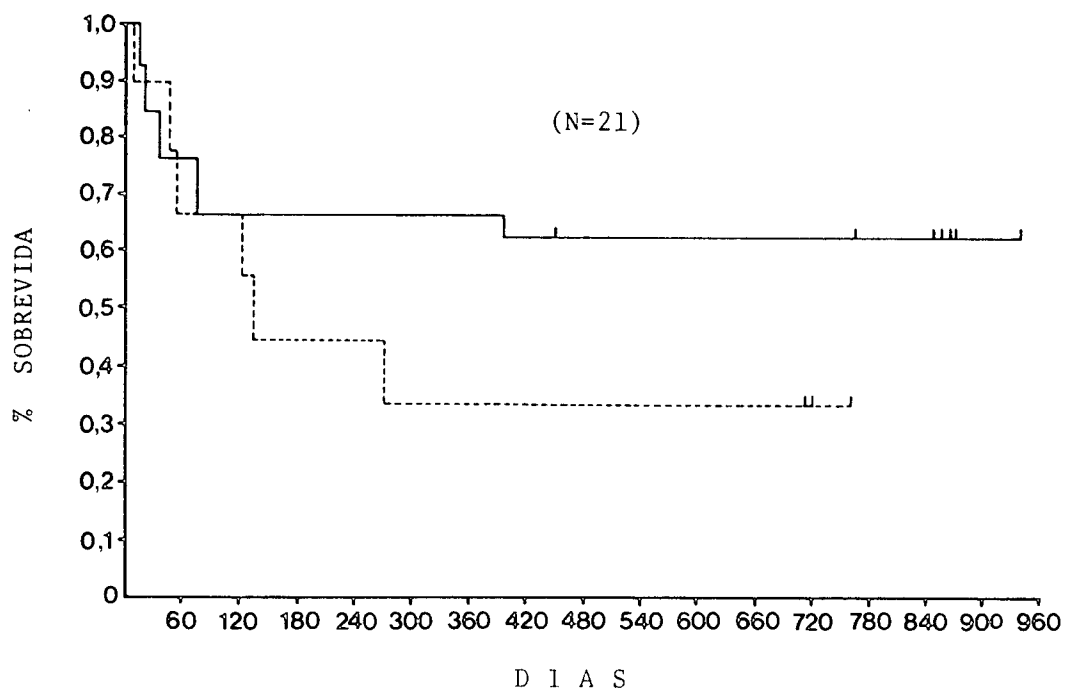


Fig. 4 - Anemia Aplástica Severa Adquirida — Comparação de sobrevida entre pacientes acima (—) e abaixo (----) de 10 anos de idade após terapêutica com GAT. (Método do Produto Limite de Kaplan e Meier).

TABELA 8 - Distribuição dos dados segundo as causas de óbito.

Causas de óbito	Nº de pacientes	%
Sangramento SNC	8	66,7
Infecção bacteriana	2	16,7
Infecção fúngica	1	8,3
Infecção protozoária	1	8,3
Total	12	100,0

Fonte: Unidade de TMO do HC da UFPR.

TABELA 9 - Distribuição dos dados segundo as complicações detectadas.

Complicações detectadas	Nº de casos	Porcentagem
Febre	19	90,5
Eritema disseminado	18	85,7
Calafrios	7	33,3
Hipertensão arterial	7	33,3
Vasculite	5	23,8
Flebite	5	23,8
Artralgia	3	14,3
Doença do soro	3	14,3
Prurido	3	14,3
Linfonodomegalia	2	9,5
Descamação de mãos e pés	2	9,5
Cãimbras	1	4,0
Cefaléia	1	4,8
Total	76	100,0

Fonte: Unidade de TMO do HC da UFPR.

5. DISCUSSÃO

Anemia aplástica severa é uma doença hematológica que apesar das medidas de suporte adequadas resulta em morte de 80% dos pacientes dentro dos primeiros seis meses de diagnóstico¹¹². Dos 20% restantes que vivem mais de seis meses com persistente aplasia, apenas 45% sobrevivem 5 anos^{52,120,121}. Aqueles que sobrevivem por longo tempo tem suas atividades bastante restringidas e dependem de transfusões, expondo-se as suas complicações. O transplante de medula óssea alterou substancialmente este quadro, com recuperação da função medular em 70 a 80% dos casos sem transfusão prévia¹²². Infelizmente, apenas 20-40% dos casos possuem doadores compatíveis¹²³ e pacientes mais idosos não suportam este procedimento¹²⁴.

Como tratamento alternativo, a imunossupressão tem sido utilizada nos últimos anos com resultados promissores, principalmente pelo uso de corticosteróides em altas doses¹¹¹ e da globulina antitimocítica^{79, 84, 85, 86, 100, 101, 103}. A partir destas informações foi iniciado este estudo tentando comprovar a eficácia, em nosso meio, da globulina antitimocítica em portadores de anemia aplástica severa adquirida. Foram estudados 21 pacientes durante um período de 23 meses, excluindo-se seis pacientes que foram a óbito antes da primeira avaliação às seis semanas, obtivemos resposta de 40% (seis respostas ao tratamento). Dos pacientes que responderam, cinco mostraram resposta do tipo I e um resposta do tipo II. Os pacientes que apresentaram resposta do tipo I na avaliação de seis semanas

persistiram com este tipo de resposta na segunda avaliação. Já o paciente com resposta do tipo II na primeira avaliação mostrava-se em recidiva quando avaliado aos seis meses. Deste modo, 33,3% dos pacientes foram considerados respondedores aos seis meses. Na literatura, os índices de resposta variam de 50% a 70%^{81, 84, 85, 86, 100, 101, 103}. Os nossos resultados, de 33% de resposta a GAT, apesar de inferiores a alguns citados na literatura, são superiores aos esperados sem este tratamento¹²¹. A probabilidade de sobrevida de 47% dos pacientes aos 960 dias também é maior entre os nossos casos que entre os submetidos apenas a tratamento de suporte e é muito improvável que estas respostas representem remissões espontâneas devido a sua raridade¹⁰⁰. Deve ser frisado que a metodologia utilizada nos diversos estudos é variada, havendo associação de outras drogas a terapêutica imunossupressora, utilização de doses mais altas e por períodos mais longos de GAT, pacientes com diferentes graus de gravidade da doença e baixa incidência de pacientes com idade inferior a dez anos submetidos a este tratamento. Também a diferença de potência da GAT deve ser levada em consideração¹²⁵. Durante o nosso estudo, foram utilizados três lotes diferentes da droga não se notando maior índice de resposta dentro de lotes específicos.

Os pacientes com resposta persistente a GAT já demonstravam os primeiros sinais de regeneração medular na avaliação de seis semanas, com alguns índices hematológicos ainda melhorando aos seis meses, comprovando informações de que os primeiros sinais de recuperação da hematopoese ocorrem de um a três meses após a GAT^{79, 85}. Esta regeneração, embora de modo geral não seja completa, é suficiente para que a pancito-

penia se amenize e em consequência desapareça o risco de vida⁸⁵.

De modo similar à hematopoese pós-transplante em AAS, é citado que a reconstituição se inicia pela periferia, com focos de eritropoese e granulopoese independentes, sugerindo sua derivação de células comissionadas específicas⁸⁴. Não detectamos estes achados, seguramente por termos avaliado as medulas ósseas em fases mais tardias de sua regeneração.

Existe uma tentativa de detecção de grupos de pacientes com características mais propícias ao tratamento imunossupressor visando selecioná-los como possíveis respondedores a GAT. Dentro desse raciocínio foram analisadas algumas variantes, objetivando-se detectar esses grupos. Utilizamos como variantes a serem analisadas a duração da doença até o início da droga, a etiologia, o número de linfócitos e o número de granulócitos ao início do tratamento e a idade do paciente.

5.1 RESPOSTA A GAT E DURAÇÃO DA DOENÇA

Com relação a duração da doença e resposta a GAT, o maior índice ocorreu entre os pacientes diagnosticados entre dois e 12 meses antes da terapêutica imunossupressora. Apesar do pequeno número de casos, a maior sobrevida ocorreu no grupo que iniciou o tratamento com mais de 12 meses de diagnóstico, demonstrando que apesar de portadores de anemia aplásica severa, estes pacientes possuem doença de características menos agressiva o que proporcionou a eles esta sobrevida longa.

Não existe diferença significativa entre o intervalo de tempo decorrido entre o diagnóstico e o início da GAT com relação a resposta, mas existe significativa diferença de sobrevivência, com pacientes doentes há mais tempo apresentando sobrevivência mais longa que os com doença há menos tempo. As informações da literatura não são definitivas. Alguns trabalhos demonstram que quando este intervalo de tempo é menor de dois meses, há influência positiva na resposta ao tratamento imunossupressor, podendo ser inclusive critério para seleção de pacientes a este tratamento^{84, 86, 101}. Mas estas informações não foram por todos comprovadas, afirmando-se que não há diferença estatística quando o tratamento se faz antes ou após 250 dias de diagnóstico⁸⁵. É bem conhecida a existência de "subgrupos" entre os portadores de anemia aplástica severa. Alguns destes pacientes, mesmo com contagens extremamente baixas de granulócitos e plaquetas sobrevivem com infecções leves e discretos sangramentos em locais não fatais por longos períodos. No nosso estudo este fato se evidencia, pois a maior sobrevivência dentre os não respondedores ocorreu justamente entre os pacientes com doença há mais de 12 meses.

5.2 RESPOSTA À GAT E ETIOLOGIA DA DOENÇA

No grupo estudado, não houve possibilidade de análise entre etiologia da doença e resposta a GAT e não há relatos na literatura mostrando correlação entre a causa da AA e a resposta ao tratamento imunossupressor^{85, 100}.

5.3 RESPOSTA A GAT E NÚMERO DE LINFÓCITOS

No nosso grupo, 66,7% dos pacientes tinham valores linfocitários absolutos dentro da faixa considerada normal. Apenas estes pacientes apresentaram resposta tipo I à terapêutica imunossupressora manifesta seis semanas após a GAT e persistente até a avaliação de seis meses. Dos pacientes dos outros dois grupos, apenas um do grupo B mostrou resposta do tipo II não perdurando seis meses pós-tratamento.

Encontramos uma diferença significativa quanto à sobrevivência que foi maior entre os pacientes com contagem linfocitária normal do que entre os pertencentes aos outros dois grupos.

Na literatura existem inúmeras referências relacionadas ao número de linfócitos e suas subpopulações em portadores de anemia aplástica^{87, 88, 89, 90, 91, 93}. Ao se comparar esfregaços de sangue periférico de indivíduos normais com os de portadores de AA, os últimos apresentam uma contagem linfocitária inferior^{88, 94}, o que não detectamos. A relação entre os linfócitos T auxiliares e supressores não se mostrou anormal, mas nos estudos de subpopulações linfocitárias foram detectadas diminuição de linfócitos B e aumento de linfócitos T^{96, 97} diminuição de linfócitos B e normalidade entre os linfócitos B e T^{87, 88} e diminuição de linfócitos T com linfócitos B normais, elevados ou diminuídos⁹⁹.

5.4 RESPOSTA A GAT E NÚMERO DE GRANULÓCITOS

No nosso estudo, 76,2% dos pacientes tinham menos de 500 granulócitos por μl e 23,8% acima de 500 granulócitos por μl . No grupo com granulócitos mais baixos, três pacientes (18,75%) responderam à GAT e no grupo com contagem superior de granulócitos dois pacientes responderam (40%). Não detectamos diferença significativa entre número de granulócitos ao início do tratamento e resposta à GAT. No entanto, com relação a sobrevida, há diferença significativa a favor do grupo com contagem granulocítica mais alta. A maior sobrevida encontrada entre os pacientes com contagem granulocítica superior a 500/ μl pode se explicar pelo menor risco de infecções a que eles estão sujeitos, quando comparados aos do outro grupo, atenuando-se desta forma um dos fatores capazes de levá-los a óbito. Estas infecções principalmente se originam de flora microbiana endógena de pele e tracto gastrointestinal e seguem-se a contaminação por germes hospitalares durante as várias internações a que eles estão sujeitos¹²⁶. Fato bem documentado é a relação entre número de granulócitos e infecções. Em pacientes com granulócitos acima de 500/ μl estas são cerca de cinco vezes menos frequentes do que naqueles com menos de 100 granulócitos/ μl . A incidência de infecções graves também segue esta proporção¹⁰⁴.

As transfusões de granulócitos, que nós não utilizamos, apesar de diminuir o número de episódios de infecções não altera a sobrevida dos pacientes^{115, 116}. No entanto, estas levam a uma maior sensibilização a posteriores transfusões e aumentam a exposição ao vírus da hepatite e citomegalovírus^{117, 118}.

O achado de linhagem granulocítica/monocítica parcialmente preservada frente a severas alterações das linhagens eritrocítica e megacariocítica não é incomum em portadores de anemia aplástica severa. No nosso estudo, cinco pacientes apresentavam granulócitos acima de $500/\mu\text{l}$. Esta parcial preservação se deve a uma perda progressiva da capacidade de diferenciação da célula tronco, visto a linhagem granulocítica/monocítica se encontrar em nível de diferenciação mais próximo desta célula precursora que as linhagens eritrocítica e megacariocítica ^{44, 95}.

Na literatura, enquanto alguns autores demonstram que o maior número de granulócitos influencia de modo positivo a resposta à terapêutica imunossupressora ^{81, 86}, outros não encontraram os mesmos resultados acreditando não haver influência do número de granulócitos na resposta ao tratamento ^{84, 85}. Há também a citação de que pacientes com menos de 200 granulócitos/ μl além de terem uma maior mortalidade não respondem à imunossupressão ¹⁰³.

5.5 RESPOSTA A GAT E IDADE

Com relação à idade do paciente e resposta a GAT no nosso estudo, dos nove pacientes com idade abaixo de 10 anos apenas um mostrou resposta do tipo II na avaliação de seis semanas, mas aos seis meses este paciente mostrava-se em recidiva.

Na análise de sobrevida entre os grupos acima e abaixo dos 10 anos de idade, esta foi significativamente favorável

ao primeiro, com a probabilidade de 63% dos pacientes estarem vivos aos 960 dias, enquanto no segundo apenas 33% deles tem esta probabilidade após 780 dias.

Na literatura encontramos variadas informações. Foi demonstrada melhor resposta em pacientes acima dos 30 anos⁸⁴, maior mortalidade acima dos 40 anos⁸⁴ e a idade não tendo relação com a resposta a este tratamento⁸⁵.

Recentemente descreveu-se que culturas de células de portadores de AA contém duas substâncias distintas estimuladoras da hematopoese. A primeira estimula principalmente a formação de colônias a partir de BFU-E e macrófagos precursores. A segunda age através da produção de "atividade estimuladora de colônias" (CSA-colony stimulating activity) e da liberação de "atividade promotora de explosão" (BPA-burst promoting activity) e é denominada "atividade liberadora". A partir do estudo destas substâncias em culturas, formaram-se grupos de pacientes nos quais se pode predizer se terão ou não alguma resposta ao tratamento imunossupressor. Concluiu-se que a maioria das crianças entra no grupo com baixa produção de "atividade liberadora", tornando-os pobres respondedores à terapêutica imunossupressora. Desta forma, os resultados desanimadores após o uso da GAT neste grupo parece ter fundamento¹¹⁹.

Com relação às reações a GAT durante sua infusão, as principalmente encontradas são febre, calafrios, erupção cutânea, artralgias, angiodema, sensação de desconforto e hipotensão arterial^{84, 85, 86, 101}. A presença de doença do soro durante e após a infusão é descrição mais recente mas com frequência cada vez maior. Para sua caracterização são necessá-

rios febre, mal-estar, erupção cutânea, artralguas, linfonomegalia, distúrbios gastrointestinais e a característica lesão eritematosa, purpúrica, serpigínoza nos limites das regiões dorsal e palmar e dorsal e plantar das mãos e pés¹⁰².

De modo geral os pacientes estudados em nosso trabalho apresentaram as mesmas características descritas na literatura. As exceções foram a hipotensão arterial, citadas com frequência^{84, 85, 86, 101}, mas não detectada por nós. Seguramente a hipotensão está associada a fenômenos imuno-alérgicos de maior intensidade nestes relatos e no nosso grupo não foram tão intensos porque usamos precocemente antihistamínicos e corticosteróides aos primeiros sinais de urticária. Este raciocínio também é válido para explicar a baixa incidência de doença do soro entre nossos pacientes (14,3%). Para se explicar a hipertensão arterial detectada em 33,3% dos nossos casos, ao lado da utilização da prednisona, pode ter influenciado a hiperhidratação associada à infusão da GAT e às constantes verificações de pressão arterial, inclusive em períodos que os pacientes apresentavam febre e calafrios. De todas as manifestações colaterais que acompanham o uso da GAT a trombocitopenia estabelece o maior risco aos pacientes. Esta acentuada baixa de plaquetas durante a infusão da droga pode ser explicada por presença de anticorpos com atividade contra plaquetas, supressão adicional de medula óssea e consumo exagerado pela resposta inflamatória frente a um soro heterológico¹⁰⁰.

Por este motivo, a transfusão de plaquetas tem destacado papel no manejo destes doentes, mesmo quando de doadores não relacionado e possivelmente levando ao desenvolvimento de

anticorpos antiplaquetários e diminuindo sua função e sobrevida¹¹³, embora não haja uma constante relação entre o número de transfusões e uma maior sensibilização às mesmas¹¹⁴. Além do uso da GAT, outros fatores aumentam seu consumo, como febre, infecção, esplenomegalia e coagulação intravascular. Os riscos de hemorragia grave aumentam com níveis de plaquetas inferiores a 20.000/ μ l, embora muitos pacientes suportem níveis mais baixos sem evidência de sangramentos²⁵. Entre os tratados com GAT, deve ser destacado como um fator adicional capaz de provocar sangramentos, diminuição dos níveis de fator VII associada a deficiência adquirida de fibrinogênio¹⁰⁵.

Em contraste ao resto do nosso grupo e às informações colhidas na literatura, um dos nossos pacientes apresentou acentuado aumento de plaquetas durante a infusão da GAT, dispensando a necessidade de reposições constantes. Na evolução, apresentou resposta do tipo III (paciente nº 15).

Apesar da toxicidade relacionada ao tratamento com GAT e de informações de literatura sugerirem acomodações especiais aos pacientes quando se utiliza este tratamento (UTI ou mesmo uma unidade de TMO, pelos maiores recursos nestes locais⁸⁵), acreditamos que possa ser administrada em quartos comuns desde que os cuidados de assistência se intensifiquem principalmente durante a infusão da droga. Não observamos nenhuma manifestação colateral que não pudesse ser manejada nestes aposentos. É importante citar que os pacientes que foram a óbito por sangramento em SNC em período imediatamente posterior ao uso da GAT não teriam sua evolução fatal evitada se estivessem em outro tipo de aposento (pacientes nº 10, 11 e 16), visto que apresentavam adequado número de plaquetas quando da

ocorrência dos óbitos com exceção da refratariedade apresentada pelo paciente nº 16.

A globulina antitimocítica tem propriedades que com segurança a incluem dentre as alternativas de tratamento da AAS. Em pacientes que não possuem doadores compatíveis e naqueles cuja idade contraindique o transplante de medula óssea, a GAT constitui-se o tratamento de escolha.

A melhor definição da patogenia da AAS, a caracterização de subgrupos de doença com maior resposta a GAT, a precocidade no início do tratamento particularmente para evitar a refratariedade às plaquetas e a melhor padronização e especificidade do soro antitimocítico são áreas que deverão ser melhor examinadas, podendo constituir-se em progressos na terapêutica da AAS.

6. RESUMO E CONCLUSÕES

No presente trabalho, avalia-se a resposta de portadores de anemia aplástica severa adquirida ao tratamento imunossupressor com a globulina antitimocítica, tentando-se identificar grupos de pacientes mais propícios a este tratamento, seus principais efeitos colaterais e as causas de óbitos.

Para tanto, foram estudados 21 pacientes avaliados seis semanas e seis meses através de exames de sangue periférico, aspiração e biópsia de medula óssea. Utilizamos três grupos de resposta, denominadas tipo I, II e III, de acordo com a regeneração medular.

Assim, concluimos:

6.1) a globulina antitimocítica é um tratamento eficaz para os portadores de anemia aplástica severa adquirida.

6.2) a sobrevida dos pacientes submetidos a este tratamento é superior a aquela citada em controles históricos.

6.3) os pacientes com idade inferior a dez anos são maus respondedores a esta terapêutica.

6.4) não identificamos outros fatores que possam ser considerados favoráveis para a utilização da terapêutica com a globulina antitimocítica.

6.5) pacientes com contagens de granulócitos acima de 500/ μ l ao início do tratamento tem sobrevida mais longa que aqueles com contagem abaixo deste valor.

6.6) pacientes com intervalo de tempo superior a 12 me-

ses entre o diagnóstico e a terapêutica imunossupressora tem sobrevida mais longa que os com intervalo de tempo inferior a 12 meses.

6.7) pacientes com número normal de linfócitos ao início do tratamento tem sobrevida mais longa que aqueles com linfócitos acima e abaixo do normal.

6.8) os efeitos colaterais secundários a esta forma de tratamento podem ser manejados em instalações hospitalares comuns, dispensando as consideradas especiais (UTI ou unidade de TMO).

6.9) a maioria dos óbitos ocorreu por sangramento em sistema nervoso central, apesar da adequada reposição de plaquetas.

6.10) a regeneração medular, nos pacientes respondedores, se fez presente às seis semanas pós-tratamento, persistindo até os seis meses.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. WINTROBE, M.M. Clinical Hematology, Philadelphia, Lea & Febiger, 1981.
2. SCOTT, J.L. Acquired aplastic anemia: an analysis of thirty-nine cases and review of pertinent literature. Medicine, 38:119-150, 1959.
3. CAMITTA, B.M.; STORB, R.; THOMAS, D. Aplastic anemia. N.Engl.J.Med., 306:645-52, 1982.
4. WOLF, N.S. The hematopoietic microenvironment. Clin.Hematol., 8: 469-500, 1979.
5. SCHEFFIELD, R. Pluripotent stem cell. Clin.Hematol., 8:221-37, 1979.
6. QUESEMBERRY, P.& LEVITT, L. Hematopoietic stem cell. N.Engl.J.Med., 301:755-60, 1979.
7. GOLDWASSER, E. Erythropoietin. Blut, 33:135-40, 1970.
8. FAURA, J.; RAMOS, J.; REYNAFARJA, C. Effect of altitude in erythropoiesis. Blood., 33:668-76, 1969.
9. GALLO, R.C.; FRAIMOW, W., CATHCART, R.T. Erythropoietic response in chronic pulmonary disease. Arc.Intern.Med., 133:559-68, 1964.
10. WETHWALD, D.J. Polycythemia resulting from abnormal hemoglobins. N. Eng.J.Med., 280:604-6, 1969.
11. QUESEMBERRY, P.& LEVITT, L. Hematopoietic stem cell. N.Eng.J.Med., 301:819-23, 1979.
12. GOLDE, D.W.; BERSCH, N.; CLINE, M.J. Potentiation of erythropoiesis in vitro by dexamethazone. J.Clin.Invest., 57:57-62, 1976.
13. GOLDE, D.W.; BERSCH, N.; LI, C.H. Growth hormone: species-specific stimulation of erythropoiesis in vitro. Science, 196:1112-3, 1977.
14. GOLDE, D.W.; BERSCH, N.; CHOPRA, I.J. Thyroid hormones stimulate erythropoiesis in vitro. Br.J.Hematol., 37:173-7, 1977.
15. PAVAN, M. & SACHS, L. The single cell origin of normal granulocyte colonies in vitro. J.Cell.Physiol., 73:91-2, 1969.
16. PAVAN, M. & SACHS, L. The continued requirement for inducer for the development of macrophage and granulocyte colonies. J.Cell.Physiol., 72:247-50, 1968.

17. GOLDE, D.W. & CLINE, M.J. Identification of the colony-stimulating cell in human perypheral blood. J.Clin.Invest., 51:2981-3, 1972.
18. CLINE, M.J. & GOLDE, D.W. Production of colony-stimulating activity by human lymphocytes. Nature, 248:703-4, 1974.
19. QUESEMBERRY, R.; GIMBRONE, M.A.; MACDONALD, M.J. Endothelial derived colony stimulating activity. Exp.Hematol., 6:4-12, 1978.
20. BROXMEYER, H.E. Inhibition in vivo of mouse granulopoiesis by cell free activity derived from human polymorphonuclear neutrophils. Blood, 51:889-901, 1978.
21. OBELL, T.T.; JACKSON, C.W.; FRIDAY, T.J. Effects of thrombocytopenia in megakaryocytopoiesis. Br.J.Haematol., 17:91-101, 1969.
22. NORMAN, S.W. The hematopoietic microenvironment. Clin.Hematol., 8:469-93, 1979.
23. CAMITTA, B.M.; THOMAS, E.D.; NATHAM, D.G. A prospective study of androgens and bone marrow transplantation for treatment of severe aplastic anemia. Blood, 53:504-14, 1979.
24. BOGGS, D.R. & BOGGS, S.S. Possible pathogenic mechanisms in aplastic anemia. Transplant.Proc., 18:124-30, 1978.
25. GALE, R.P. Aplastic anemia: biology and treatment. Ann.Intern.Med., 95:477-94, 1981.
26. SINGER, J.M. & BROWN, J.E. In vitro marrow culture techniques in aplastic anemia and related disorders. Clin.Hematol., 7:487-99, 1978.
27. KERN, P.; HEIMPEL, H.; HEIT, W.; KUBANEK, B. Granulocytic progenitor cell in aplastic anemia. Br.J.Hematol., 35:613-23, 1977.
28. NATHAN, D.G.; CHESS, L.; HILLMANN, D.G. Human erythroid burst forming unit: T-cell requirement for proliferation in vitro. J.Exp.Med., 147:324-39, 1978.
29. ERSCHLER, W.B., ROSS, J.; FINLAY, J.L.; SHAIDI, N.T. Bone marrow micro environment defect in congenital hypoplastic anemia. N.Eng.J.Med., 302:1321-7, 1980.
30. KAPLAN, E.L. & MEIER, P. Nonparametric estimation from incomplete observations. J.Am.Stat.Assoc., 53:457-81, 1958.
31. TERRITO, M.C. Autologous bone marrow repopulation following high dose cyclophosphamide and allogenic marrow transplantation in aplastic anemia. Br.J.Hemmatol., 36:305-12, 1977.
32. GALE, R.P. Bone marrow transplantation in identical twins with aplastic anemia. Blood, 54:299-305, 1979.
33. APPELBAUM, F.R.; FEFER, A.; CHEEVER, M.A. Treatment of aplastic anemia by bone marrow transplantation in identical twin. Blood, 55:1033-9, 1980.

34. FITCHEN, J.J.; CLINE, M.J., SAXON, A., GOLDE, D.W. Serum inhibitors of hematopoiesis in a patient with aplastic anemia and systemic lupus erythematosus: recovery after exchange plasmapheresis. Am. J. Med., 66:537-42, 1979.
35. FREDMAN, M.H.; GELSAND, E.W.; SAUDERS, E.F. Acquired aplastic anemia antibody mediated and hematopoietic failure. Am.J.Hematol., 6:135-41, 1979.
36. FITCHEN, J.H. & CLINE, M.J. Serum inhibitors of hematopoiesis. Br. J. Haematol., 44:7-16, 1980.
37. ALTER, B.P.; POTTER, N.V.; LI, F.P. Classification and etiology of the aplastic anemia. Clin.Hematol., 7:431-65, 1978.
38. YUNIS, A.A. Drug induced marrow injury. Sem.Hematol., 10:225-34, 1974.
39. NAGAO, T. & MAUER, A.M. Concordance for drug induced aplastic anemia in identical twins. N.Eng.J.Med., 281:7-11, 1969.
40. APPELBAUM, F.R. & FEFER, A. The pathogenesis of aplastic anemia. Sem. Hematol., 18:241-57, 1981.
41. LEWIS, E.B. Leukemia, multiple myeloma and aplastic anemia in american radiologists. Science, 142:1492-4, 1963.
42. SEES, T.M.; CULLEN, S.M.; KARPAN, L.U. Hemopathologic consequences of protracted gamma irradiation: alterations in granulocytic reserves and granulocytic mobilization. Blood, 56:42-51, 1980.
43. HAGLER, L.; PASTORE, R.A.; BERGIN, J. Aplastic anemia following viral hepatitis: report of two cases and literature review. Medicine, 54: 139-64, 1975.
44. JOHNSON, G.R. Hematopoietic multipotential stem cell in culture. Clin.Hematol., 13:309-27, 1984.
45. THE ROYAL MARSDEN BONE MARROW TRANSPLANTATION TEAM: Failure of syngeneic bone marrow graft without preconditioning in pos-hepatitis marrow aplasia. Lancet, 2:742-4, 1977.
46. ROSSE, W.F. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in aplastic anemia. Clin.Hematol., 7:541-3, 1978.
47. CAMITTA, B.M.; STORB, R.; THOMAS, D. Aplastic anemia: pathogenesis, diagnosis, treatment and prognosis. N.Eng.J.Med., 15:712-8, 1982.
48. BOGGS, D.R. & BOGGS, S.S. The pathogenesis of aplastic anemia: a defective pluripotent hematopoietic stem cell with inappropriate balance of differentiation and self-replication. Blood, 48:71-6, 1976.
49. MORLEY, A.; TRAINOR, K.; BLAKE, J. A primary stem cell lesion in experimental chronic hypoplastic marrow failure. Blood, 45:681-8, 1975.

50. MORLEY, A.; TRAINOR, K.; REMES, J. Residual marrow damage: possible explanation for idiosyncrasy to chloranphenicol. Br.J.Haematol. 32: 535-41, 1976.
51. HARRISON, D.E. Use of genetics anemias in mice as tools for hematologic research. Clin.Hematol., 8:239-62, 1979.
52. ROZMAN, C.; MARIN, M.; GRANENA, A. Prognosis in adquired aplastic anemia a multivariate statistical analysis of 80 cases. Scand.J.Hematol. 26: 321-329, 1981.
53. STORB, R.; THOMAS, E.D.; BUCKNER, C.D. Allogenic marrow grafting for treatment of aplastic anemia: a follow-up term survivors. Blood, 49:485-90, 1976.
54. THOMAS, E.D.; STORB, R.; GIBLET, E.R. Recovery from aplastic anemia following attempted marrow transplantation. Exp.Hematol., 4:97-102, 1976.
55. SENSENBRENNER, L.L.; STEELE, A.A.; SANTOS, G.W. Recovery of hematologic competence without engraftment following attempted bone marrow transplantation for aplastic anemia. Report of a case with chambers study. Exp.Hematol., 5:51-8, 1977.
56. SPECK, B.; CORNU, P.; NISSEN, J.C. Autologous marrow recovery following allogeneic marrow transplantation in a patient with severe aplastic anemia. Exp.Hematol., 4:131-7, 1976.
57. STORB, R.; THOMAS, E.D.; FEFER, A.; GOODWELL, B.W.; WEIDEN, P.L.; BUCKNER, C.D.; CLIFT, R.A.; JOHNSON, F.L.; NEIMAN, P.E.; SANDER, J.E.; SINGER, L. One hundred ten patients with aplastic anemia treated by marrow transplantation in Seattle. Transplant.Proc., 10:135-45, 1978.
58. STORB, R.; THOMAS, E.D.; BUCKNER, C.D.; FEFER, A.; GOODELL, B.W.; NEIMAN, P.E.; SANDERS, J.E.; SINGER, J.; WEIDEN, P.L. Marrow transplantation in untransfused patients with severe aplastic anemia. Blood, 50:316-25, 1977.
59. FITCHEN, J.H. & CLINE; M.J. Recent developments in understanding the pathogenesis of aplastic anemia. Am.J.Hematol., 5:365-72, 1978.
60. YUNIS, A.A. & BLOOMBERG, G.R. Chloranphenicol toxicity: clinical features and pathogenesis. Prog.Hematol., 4:138-59, 1964.
61. YUNIS, A.A.; ARIMURA, G.K.; LUTCHER, C.L.; BLASQUES, J.; HAMMORAN, M. Biochemical lesion in dilantin induced erythroid aplasia. Blood, 30:587-600, 1967.
62. PISCIOTTA, A.J. Drug induced leukopenia and aplastic anemia. Clin. Pharmacol.Ther., 12:13-43, 1971.
63. SUTHERLAND, R.; VIVENT, R.E.; RAIK; E.; BURGESS, K. Quinine induced agranulocytosis:toxic effect of quinine bisulfate on bone marrow cultures in vitro. Br.Med.J., 1:605-7, 1977.
64. VICENT, P.C. Drug induced aplastic anemia and agranulocytosis. Incidence and mechanism. Drugs., 13:53-63, 1986.

65. YUNNIS, A.A.; MILLER, A.M.; SALEM, Z.; ARIMURA, G.K. Chloranphenicol toxicity: pathogenic mechanisms and the role of the p-N02 in aplastic anemia. Clin.Toxicol., 17:359-73, 1980.
66. GARDNER, F.H. Androgen therapy of aplastic anemia. Clin.Hematol., 7:571-85, 1978.
67. NAJEM, Y. Androgen therapy in aplastic anemia in childhood. In Congenital Disorders of erythropoiesis. Ciba Foundation Symposium n° 37, Amsterdam, Elsevier.
68. SANCHEZ-MEDAL, L.; GOMES-LEAL, C.; DUARTE, L.; GUADALUPE, M.R. Anabolic androgens steroids in the treatment of acquired aplastic anemia. Blood, 34:288-300, 1969.
69. HEYN, R.M.; ERTEL, I.J.; TUBERGEN, D.J. Course of acquired aplastic anemia in children treated with supportive care. JAMA; 208:1372-8, 1969.
70. LI, F.P.; ALTER, B.P.; NATHAN, D.G. The mortality of acquired aplastic anemia in children. Blood, 40:153-62, 1972.
71. WILLIAMS, D.M.; LYNCH, R.E.; CARTWRIGHT, G.E. Drug induced aplastic anemia. Sem.Hematol., 10:195-223, 1973.
72. DUARTE, L.; SANDOVAL, R.L.; ESQUIVEL, F.; SANCHEZ-MEDAL, L. Androstane therapy of aplastic anemia. Acta Hematol., 47:140-5, 1972.
73. LYNCH, R.E.; WILLIAMS, D.M.; READING, J.C.; CARTWRIGHT, G.E. The prognosis in aplastic anemia. Blood, 45:517-28, 1975.
74. CAMITTA, B.M. & THOMAS, D.E. Severe aplastic anemia: a prospective study of the effect of androgens or transplantation on hematological recovery and survival. Clin.Hematol., 7:587-95, 1978.
75. WILLIAMS, D.M. Drug induced aplastic anemia. Sem.Hematol., 10:195-205, 1973.
76. GILBERT, C. Clinical uses of antithymocyte globulin. NCJM, 45:737-9, 1984.
77. HARADA, M. & GALE, R.P. Evaluation of antithymocyte globulin for human bone marrow transplantation. Transplant., 31:233-7, 1981.
78. GASCON, P.; ZOUMBOS, N.C.; SCALA, G.; DJEV, J.Y.; MOORE, J.G.; YIUNG, N.S. Lymphokine abnormalities in aplastic anemia: implications for the mechanism of action of antithymocyte globulin. Blood, 65:407-13, 1985.
79. COSIMI, A.B.; PETERS, C.; HARMON, D.; ELLMAN, L. Treatment of severe aplastic anemia with a prolonged course of antithymocyte globulin. Transplant.Proc., 14:761-4, 1982.
80. OLIVEIRA, H.P. Anemias aplásticas e agentes mielotóxicos. Revista Médica do HSE, 23, 1971.
81. GLUCKMAN, E.; MARMONT, A.; SPECK, B.; GORDON-AMITH, C. Immunosuppressive treatment of aplastic anemia as an alternative treatment for bone marrow transplantation. Sem.Hematol., 21:11-19, 1984.

82. MESSNER, H.A. Human stem cell in culture. Clin.Hematol., 13:393-404, 1984.
83. BENTLEY, S.A.; KNUTSEN, T.; WHANG, P.J. The origin of the hematopoietic microenvironment in continuous bone marrow culture. Exp.Hematol., 10: 367-72, 1982.
84. MARMONT, A.M.; BACIGALUPO, A.; VAN LIFT, M.T.; FRASSONI, F.; PODESTA, M.; REALI, G.; PIAFFIO, G. Treatment of severe aplastic anemia with high dose methylprednisolone and antithylymphocyte globulin. Prog. Clin.Biol.Res., 148:271-87, 1984.
85. CHAMPLIN, R.; HO, W.; GALE, R.P. Antithymocyte globulin treatment in patients with aplastic anemia. N.Eng.J.Med., 308:113-8, 1983.
86. DONEY, K.C.; STORB, B.T.; DAHLBERG, S.; BUCKNER, C.D.; MARTIN, P.; HANSEN, J.A.; THOMAS, E.D.; STORB, R. Immunossuppression therapy of severe aplastic anemia. Progr.Clin.Biol.Res., 148:259-70, 1984.
87. ELFENBEIN, G.J.; KALMANN, C.H.; TUTSCHKA, P.J.; ADKINSON, N.F.; BIAS, W.B.; BRAINE, H.G.; HUMPHREY, R.L.; SARAL, R.; MELLITS, E.D.; SANTOS, G.W. The immune system in 40 aplastic anemia patients receiving conventional therapy. Blood, 53:652-65, 1979.
88. FALCÃO, R.P.; VOLTARELLI, J.C., BOTTURA, C. Some immunological studies in aplastic anemia. J.Clin.Lab.Immunol., 10:25-8, 1983.
89. _____. T-cell subsets in patients with aplastic anemia. Brazil.J.Med. Biol.Res., 17:151-6, 1984.
90. FOON, K.A.; MITSUYASU, R.T.; SCHROFF, R.W.; MACINTYRE, R.E.; CHAMPLIM, R.; GALE, R.P. Immunologic defects in young-male patient with hepatitis associated aplastic anemia. Ann.Int.Med., 100:657-62, 1984.
91. KURIYAMA, K.; TOMONAGA, M.; JINNAI, I.; MATSUDA, T.; YOSHIDA, Y.; AMENOMORY, T.; YAMADA, T.; ICHIMARU, M. Reduced helper-supressor ratios in aplastic anemia: relation to immunessuppression therapy. Br.J.Haematol., 57:329-36, 1984.
92. RUIZ-ARGUELLES, G.J.; KATZMANN, J.A.; GREIP, P.R.; MARIN-LOPEZ, A.; GONZALLES-LAVEN, L.; CANO-CASTELLANO, R. Lymphocytes subsets in patients with aplastic anemia. Am.J.Hematol., 16:267-75, 1984.
93. SABBE, L.J.; HASK, H.L.; TEVELDE, J.; BRADLEY, B.A.; BODE, L.; BLOM, J.; VAN ROOD, J.J. Immunological investigation in aplastic anemia patients. Acta Hematol., 71:178-88, 1984.
94. FALCÃO, P.R.; VOLTARELLI, J.C.; BOTTURA, C. T-lymphocytes subpopulation in the peripheral blood and bone marrow of patients with aplastic anemia. BLUT, 50:103-7, 1985.
95. TWOMMY, J.J.; DOUGLAS, C.C.; SHARKEY, O. The monocytopenia of aplastic anemia. Blood, 41:187-95, 1973.
96. NAKATA, Y.; ARIMORI, S.; TADA, S.; KOBASHI, H. Studies on the sub-population of perypheral lymphocytes of patients with idiopathic aplastic anemia. Jpn.J.Clin.Hematol., 14:1075-9, 1973.

97. NAKAGAWA, T.; YATA, T.; NAKAYAMA, K. B and T lymphocytes subpopulation in peripheral blood and bone marrow from aplastic anemia in childhood. Jpn.J.Clin.Hematol., 16:850-8, 1975.
98. HEIMPEL, H. & HEIT, W. Drug-induced aplastic anemia. Clinical aspects. Clin.Hematol., 9:641-62, 1980.
99. GALE, R.P.; MITSUYASU, R.; YALE, C. Immunologic function in aplastic anemia. In H.Heimpel, E.C.Gordon-Smith, W.Weit and P.KubaneK, Springer-Verlag, Heidelberg, 1979.
100. MILLER, W.J.; BRANDA, R.F.; FLYNN, P.J.; HOWE, R.B.; RAMSAY, N.K.; CONDIE, R.M.; JACOBS, H.S. Antothymocyte globulin treatment of severe aplastic anemia. Br.J.Hematol., 55:17-25, 1983.
101. FAIRHEAD, S.M.; CHIPPING, P.M.; GORDON-SMITH, E.C. Treatment of aplastic anemia with antilymphocyte globulin. Br.J.Hematol., 55:7-16, 1983.
102. LAWLEY, T.J.; BIELORY, L.; GASCON, P.; YANCEY, K.B.; YOUNG, N.S.; FRANCK, M.M. A prospective clinical and immunological analysis of patient with serum sickness. N.Eng.J.Med., 311:1407-13, 1984.
103. GLUCKMANN, E. Comparison of immunosuppression and the bone marrow transplantation for severe aplastic anemia. J.Cell.Biochem., 7:311-5, 1983.
104. JORHI, J.H. Epidemiology of infection in cancer patients. Mediguide to Oncology, 6:1-12, 1986.
105. FISCHER, M.; DUDZAK, R.; HINTERBERGER, W.; KORNINGER, C.; LECHNER, K.; NEUMAN, E.; NIESNER, H.; PABINGER, I. Acquired deficiency of fibrinogen and factor VII during and following immunosuppression for severe aplastic anemia with antithymocyte globulin and high dose methylprednisolone. Exp.Hematol., 13:88-92, 1985.
106. FRIEDSTEIN, A.J.; CHALAKYAN, R.K.; LATSINIK, N.U.; PANASYUK, A.F.; KEILISS-BOROK, I.V. Stromal cell responsible for transferring the micro environment of the hemopoietic-cell: cloning in vitro and retransplantation in vivo. Transplant., 17:331-5, 1974.
107. DEXTER, D.M. Hemopoiesis in long term bone marrow culture. A review. Acta Hematol., 62:299-304, 1979.
108. BROCKBANK, H.G. & PLOEMACHER, R.E. Quantitation of stromal and hemopoietic progenitors in spleen and femoral marrow derived from steel mice and their normal littermates. Ex.Hematol., 11:467-75, 1983.
109. JUNE, H.S. & GARDNER, F.H. Functionally abnormal marrow stromal cells in aplastic anemia. Exp.Hematol., 13:194-9, 1985.
110. Cooperative Group for the Study of Aplastic and Refractory Anemias. Androgen therapy in aplastic anemias. Prospective study of 352 cases. Scand.J.Hematol., 22:343-56, 1979.
111. BACIGALUPO, A.; GIORDANO, D.; VANLINT, M.T.; VIMERCAT, R.; MARMONT, A.M. Bolus methylprednisolone in severe aplastic anemia. N.Eng.J.Med., 300:501-2, 1979.

112. CAMITTA, B.M.; RAPPEPORT, J.M.; PARKMAN, R.; NATHAN, D.G. Selection for bone marrow transplantation in severe aplastic anemia. Blood, 45:355-63, 1975.
113. AHN, T.S. & HARRINGTON, W.J. Platelet transfusion in clinical medicine. Ann.Int.Med., 20:379-98, 1975.
114. HOWAERD, J.E. & PERKINS, H.A. The natural history of alloimmunization to platelets. Transfusion, 18:496-503, 1978.
115. HERZIG, R.H.; HERZIG, G.P.; GRAW, R.J.; BULL; M.I.; RAY, K.K. Successful granulocyte transfusion therapy for gram-negative septicemia. A prospective randomized controlled study. N.Eng.J.Med., 296:701-5, 1977.
116. CLIFT, R.A.; SANDERS, J.E.; THOMAS, E.D.; WILLIAMS, B.; BUCKNER, C.D. Granulocyte transfusions for the prevention of infection in patients receiving bone marrow transplants. N.Eng.J.Med., 298:1052-7, 1978.
117. WINSTON, D.S.; HO, W.G.; TOUNG, O.S.; GALE, R.P. Prophylactic granulocyte transfusions during human bone marrow transplantation. Am.J.Med., 68:893-7, 1980.
118. WINSTON, D.J.; HO, W.G.; HOWELL, C.L. Cytomegalovirus infections associate with leukocyte transfusion. Ann.Int.Med., 93:671-5, 1980.
119. NISSEN, C.; MOSER, T.; SPECK, B.; GRATWOHL, A.; WEISS, J. Stimulatory serum factors in aplastic anemia. Am.J.Hematol., 61:499-512, 1985.
120. HAAK, H.L.; HARTEKINK-GROENVELD, C.A.; EERNISSE, J.G.; SPECK, B.; VAN ROOD, J. Acquired aplastic anemia in adults. Acta Hematol., 58:257-77, 1977.
121. SLEIJFERD, T.H.; MULDER, N.H.; NIEWEG, H.O. The value of prognostic indices in aplastic anemia. Blut., 42:69-77, 1981.
122. STORB, R.; THOMAS, E.D.; BUCKNER, C.D.; CLIFT, R.A.; DEEG, H.J.; FEFER, A.; GOODELL, B.W.; SALE, G.E.; SAUNDERS, J.E.; SINGER, J.; STEWART, P.; WEIDEN, P.L. Marrow transplantation in thirty "untransfused" patients with severe aplastic anemia. Ann.Int.Med., 92:30-8, 1980.
123. DICKE, K.A.; LOTZOUA; E.; SBITZER, G.; MACCREDIE, K.B. Immunobiology of bone marrow transplantation. Sem.Hematol., 15:263-82, 1978.
124. BORTIN, M.M.; GALE, R.P.; RIMM, A.A. Allogeneic bone marrow transplantation for 144 patients with severe aplastic anemia. JAMA, 245:1132-9, 1981.
125. GILBERT, C. Clinical uses of antithymocyte globulin. NCMJ, 11:737-9, 1984.
126. PIZZO, P.A.; ROBICHAUD, K.J.; GILL, F.A.; WIJEBSKY, F.G. Empiric antibiotic and antifungal therapy for cancer patients with prolonged fever and granulocytopenia. Am.J.Med., 72:101-9, 1982.

127. BITHELL, T.C. & WINTROBE, M.M. Drug induced aplastic anemia. Sem. Hematol., 4:194-205, 1967.
128. NIEWEG, H.O. Aplastic anemia. Blood disorders due to drugs and other agents. Girdwood, R.H. Amsterdam.
129. GRUCHY, G.C. Drug induced blood disorders. Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1975.
130. GEARY, C.G. Aplastic anemia. London, Balliere-Tindall, 1979.
131. International Agranucytosis and Aplastic Anemia Study. Risks of Agranulocytosis and Aplastic Anemia. JAMA; 256:1749-57, 1986.
132. OLIVEIRA, H.P. Hematologia Clínica. 3.ed., Rio de Janeiro, São Paulo, Livraria Atheneu, 1985.