

J O S É Z A N I S N E T O

TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA EM ANEMIA DE FANCONI

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE MEDICINA INTERNA
DO DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA
DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

- C U R I T I B A -

1 9 9 2

ORIENTADOR:

PROF. DR. RICARDO PASQUINI

DEDICAÇÃO

À minha mulher: CÁSSIA,

e aos meus filhos: BRUNO HENRIQUE

e

EDUARDO VINÍCIUS

AGRADECIMENTOS

À todos profissionais e amigos, que com idealismo, trabalho, dedicação e competência tornaram possível o transplante de medula óssea.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	01
1.1. Considerações gerais.....	01
1.2. Características clínicas.....	03
1.3. Fisiopatologia.....	12
1.4. Diagnóstico.....	20
1.5. Tratamento.....	22
1.5.1. Tratamento hormonal e de suporte.....	22
1.5.2. Transplante de medula óssea.....	22
1.5.3. Resultados do transplante de medula óssea em AF.....	24
2. Objetivos:.....	41
3. Casuística.....	42
4. Resultados.....	48
5. Discussão.....	53
6. Conclusões.....	68
7. Referências bibliográficas.....	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Bases de diagnóstico dos pacientes do Registro Internacional de anemia de Fanconi (I.F.A.R.).....	09
Tabela 2. Resultados do TMO em AF empregando altas doses de ciclofosfamida (Gluckman e cols.).....	25
Tabela 3. Resultados do TMO de Gluckman e cols. empregando ciclofosfamida 20mg/Kg e 5 Gy de irradiação toracoabdominal como regime de condicionamento.....	28
Tabelas 4 e 5. Características clínicas e resultados do TMO de Hows e cols.....	32
Tabela 6. Resultados de TMO em alguns outros centros.....	34
Tabela 7. Resultados do TMO do grupo europeu.....	35
Tabelas 8 e 9. Resultados de TMO no Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle.....	39
Tabelas 10, 11 e 12. Resultados do TMO no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do paraná.....	43
Tabela 13. Comparação entre os principais grupos de transplante de medula óssea para anemia de Fanconi, com relação à doença enxerto contra hospedeiro aguda e crônica, rejeição e sobrevida.....	62

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS: ANEMIA APLÁSTICA SEVERA.

AF: ANEMIA DE FANCONI.

CFA: CICLOFOSFAMIDA.

CSA: CICLOSPORINA-A.

DEB: DIEPOXIBUTANO.

DECH: DOENÇA ENXERTO CONTRA HOSPEDEIRO.

DVO: DOENÇA VENOCLUSIVA DE FÍGADO.

e cols: e colaboradores.

HLA: ANTÍGENOS DE HISTOCOMPATIBILIDADE HUMANOS.

MTX: METHOTREXATE.

TMO: TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA.

RESUMO

Esta dissertação de mestrado teve por objetivo rever a literatura sobre transplante de medula óssea em anemia de Fanconi, demonstrar a viabilidade de TMO em AF em nosso meio, analisar os nossos resultados de dez casos transplantados por esta doença, e comparar com os resultados dos grupos com a maior experiência mundial, que são os de Gluckman, Hows e Seattle, com o que pudemos notar uma incidência variável de complicações, principalmente em relação à doença enxerto contra hospedeiro aguda e crônica e rejeição, diferença explicável pelo pequeno número absoluto de pacientes ou talvez por diferenças institucionais de amostragem. Porém constatamos os mesmos efeitos tóxicos da ciclofosfamida em altas doses nestes pacientes peculiarmente hipersensíveis à agentes alquilantes. Tivemos sobretudo uma sobrevida global comparável. Também ficamos alertados para a necessidade de desenvolvermos e aperfeiçoarmos novas técnicas de condicionamento, com toxicidade aceitável, para esta grave e invariavelmente fatal doença, curável apenas com transplante de medula óssea.

TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA EM ANEMIA DE FANCONI

1-INTRODUÇÃO

1.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

A anemia de Fanconi foi primeiramente descrita por Guido Fanconi em 1927, em tres irmãos¹⁻². Os pacientes apresentavam anemia, hemorragias cutâneas e múltiplas anomalias congênitas. A este quadro, Fanconi denominou Anemia Perniciosiforme. Dois anos mais tarde, Uehlinger, descreveu uma síndrome com as mesmas características, mas acrescentou anomalias renais e dos polegares. Em 1931, Naegeli, propôs o nome de anemia de Fanconi para aqueles pacientes com anemia constitucional de natureza familiar associada a más-formações congênitas²⁻³.

A anemia de Fanconi é uma doença de evolução fatal, em que a falha de medula óssea não é, em geral, aparente ao nascimento e com maior freqüência se desenvolve ao fim da primeira década. O defeito genético subjacente é desconhecido, mas conduz a uma falha nos mecanismos de reparação do DNA e a uma predisposição ao desenvolvimento de leucemia aguda⁴⁻³. O transplante de medula óssea é a única alternativa terapêutica com possibilidade

potencial de cura.

No serviço de TMO do HC da UFPr, nos últimos 13 anos, tivemos a oportunidade de realizar 380 procedimentos e dentre eles dez eram portadores de AF. Constituindo-se de casuística uni-institucional expressiva, especialmente por tratar-se de uma rara doença com características peculiares ao TMO. A discussão destes casos visa analisar o comportamento destes pacientes submetidos ao TMO em nosso meio.

1.2. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Anemia de Fanconi é uma doença herdada com padrão autossômico recessivo, acomete igualmente sexo masculino e feminino, ocorre em todos grupos étnicos e que se caracteriza por insuficiência de medula óssea e más-formações congênicas: pigmentação anormal de pele ocorrendo em 60 a 80% dos pacientes, más-formações esqueléticas, renais, cardíacas e outras⁵.

Relação de más-formações congênicas

a) Pigmentação anormal de pele:

- hiperpigmentação/manchas café com leite, e
- hipopigmentação.

b) Más-formações cardíacas (com e sem insuficiência cardíaca).

c) Más-formações renais:

- aplasia de um rim,
- hidronefrose,
- rim em ferradura,
- rim ectópico ou de topografia pélvica,
- rim policístico, e
- duplicação de pelve ou ureter.

d) Defeitos esqueléticos:

- ausência do rádio e polegar,
- polegar hipoplásico, extranumerário, ausente e de topografia anômala,
- clinodactilia,
- sindactilia,
- dedos e falanges extranumerários,
- microcefalia,
- baixo desenvolvimento pômdero-estatural,
- nanismo (por deficiência de produção de hormônio do crescimento),
- ausência e hipoplasia do primeiro metacarpiano,
- hipoplasia tenar,
- luxação congênita do quadril,
- anormalidades de face ou mandíbula,
- microdontia,
- escoliose,
- pescoço curto,
- deformidade de Sprengel,
- Síndrome de Klippel-Feil,
- spina bífida,
- impressões digitiformes do crânio, e
- osteoporose.

e) Outras alterações:

- artéria radial ausente ou anômala,
- microftalmia,
- microstomia,
- estrabismo,
- nistagmo,
- retardo mental,
- más-formações de orelhas e/ou surdez,
- hiperreflexia,
- atrofia esplênica,
- hipogenitalismo,
- baixo peso neonatal,
- blefaroptose,
- prega de epicanto,
- efélides, e
- sela túrcica anômala.

É uma doença que em geral leva à morte por evoluir para anemia aplástica severa com as complicações infecciosas e hemorrágicas inerentes. Menos freqüentemente AF evolui para leucemia aguda, que em geral é mielóide, mais raramente linfóide e neoplasias malignas de outra natureza³. A pancitopenia instala-se lentamente, manifestando-se clinicamente, em geral, entre os

cinco e dez anos de idade, porém, de maneira muito variável⁷. Os sintomas e o curso clínico dessa doença são variáveis, diferindo entre as várias famílias e mesmo nos membros afetados da mesma família. As primeiras manifestações clínicas, em geral, devem-se à trombocitopenia e, evolutivamente, acontece anemia e leucopenia². Ainda não está estabelecido se pacientes heterozigotos também possuem maior risco para desenvolver doença maligna. As inúmeras anormalidades cromossômicas estudadas, principalmente em linfócitos de sangue periférico são imprescindíveis para a certeza diagnóstica e para predizer a hipersensibilidade a agentes alquilantes. As alterações cromossômicas são: instabilidade cromossômica, endorreduplicações, rearranjos, isocromátides, poliploidia, translocações, trocas em nível de cromátides, falhas e quebras cromossômicas, anéis dicêntricos, figuras tri e quadrirradiais que são os achados específicos da anemia de Fanconi⁵. (Figura 1)

Os tipos e a freqüência das alterações cromossômicas variam, marcadamente, de paciente para paciente.

Cerca de 20 a 40% dos indivíduos doentes possuem aparência normal ao exame clínico⁶. A freqüência estimada de heterozigotos na população é de 1/300 habitantes. A idade em que é feito o diagnóstico, em média está por volta dos sete aos oito anos, mas pode variar desde o nascimento até 39 anos (um caso descrito como o mais velho)⁸. Um número significativo de pacientes chega à idade adulta. Respondem à terapêutica hormonal com andrógenos 50%

dos pacientes, fato que pode duplicar a sobrevida⁸⁻⁹⁻¹⁰⁻¹¹. Há porém quem não concorde com este efeito positivo na sobrevida², ao passo que, essencialmente, nenhum dos pacientes com anemia aplástica severa adquirida responde a hormônio-terapia. Ainda se deve ressaltar que andrógeno não tem capacidade de curar a anemia de Fanconi. Embora haja vários pacientes com anemia de Fanconi que tenham recebido globulina antitimocítica ou ciclosporina A, não há indícios de resposta significativa.

Sem tratamento, os pacientes, certamente, vão a óbito em um período médio de tres a cinco anos após a instalação da pancitopenia.

A sobrevida média a partir da instalação da pancitopenia é de 48% em cinco anos e de 16% em dez anos. Dentre os, aproximadamente, 750 casos descritos na literatura⁸, 50 pacientes desenvolveram leucemia aguda⁸, sendo, em geral mieloblástica. A média de idade na época da transformação leucêmica foi de 16 anos, variando de quatro aos 29 anos. Em sete casos a leucemia ocorreu como apresentação inicial da doença⁸⁻²⁴. A sobrevida desses pacientes é pobre devido à sua extrema sensibilidade e por consequência alta toxicidade induzida pela quimioterapia, pois nas suas células há um defeito global na reparação do DNA. Há 25 casos de tumores hepáticos descritos em pacientes com anemia de Fanconi, com idade média de aparecimento aos 18 anos, com variação dos 3 aos 48 anos⁸. Todos tinham anemia aplástica e apenas um não havia recebido andrógenos, o que implica também considerar alguma relação dos tumores hepáticos na anemia de

Fanconi com o uso prévio de andrógenos. Sendo possível que estes hormônios exacerbem a propensão genética para o desenvolvimento de tumores hepáticos. Há outros tipos de tumores descritos: esofágico, orofaríngeo, vulvar, anal, carcinoma escamoso cutâneo, pulmonar e mamário, em 20 pacientes. A idade média de aparecimento foi 26 anos, variando dos 17 aos 38 anos. A relação masculino/feminino neste foi 1/2, apesar da incidência global de anemia de Fanconi ser superior no sexo masculino. Apenas um destes pacientes não tinha anemia aplástica e sete não haviam recebido andrógenos, fazendo supor que estes tumores sólidos se desenvolvem em pacientes mais velhos e não associados a andrógenos. Há um outro relato isolado de anemia de Fanconi em paciente de raça oriental com 39 anos de idade e que desenvolveu carcinoma de células escamosas de pulmão⁸⁻¹².

A diversidade clínica da anemia de Fanconi é muito maior do que previamente reconhecida. A tabela 1 publicada pelo IFAR (Registro Internacional de anemia de Fanconi)¹³⁻¹⁴, compara as manifestações congênitas e hematológicas na época do encaminhamento do paciente para o teste com DEB, tanto para anemia de Fanconi como para pacientes sem AF. Ambas, manifestações congênitas e hematológicas, estavam presentes em apenas 39% dos pacientes com anemia de Fanconi e 30% deles tinham apenas anemia aplástica, e deste grupo de 61 pacientes, dez foram originalmente diagnosticados como tendo anemia aplástica adquirida. Dos pacientes analisados na tabela em discussão, 24% estavam em estado pré anêmico e foram referidos apenas

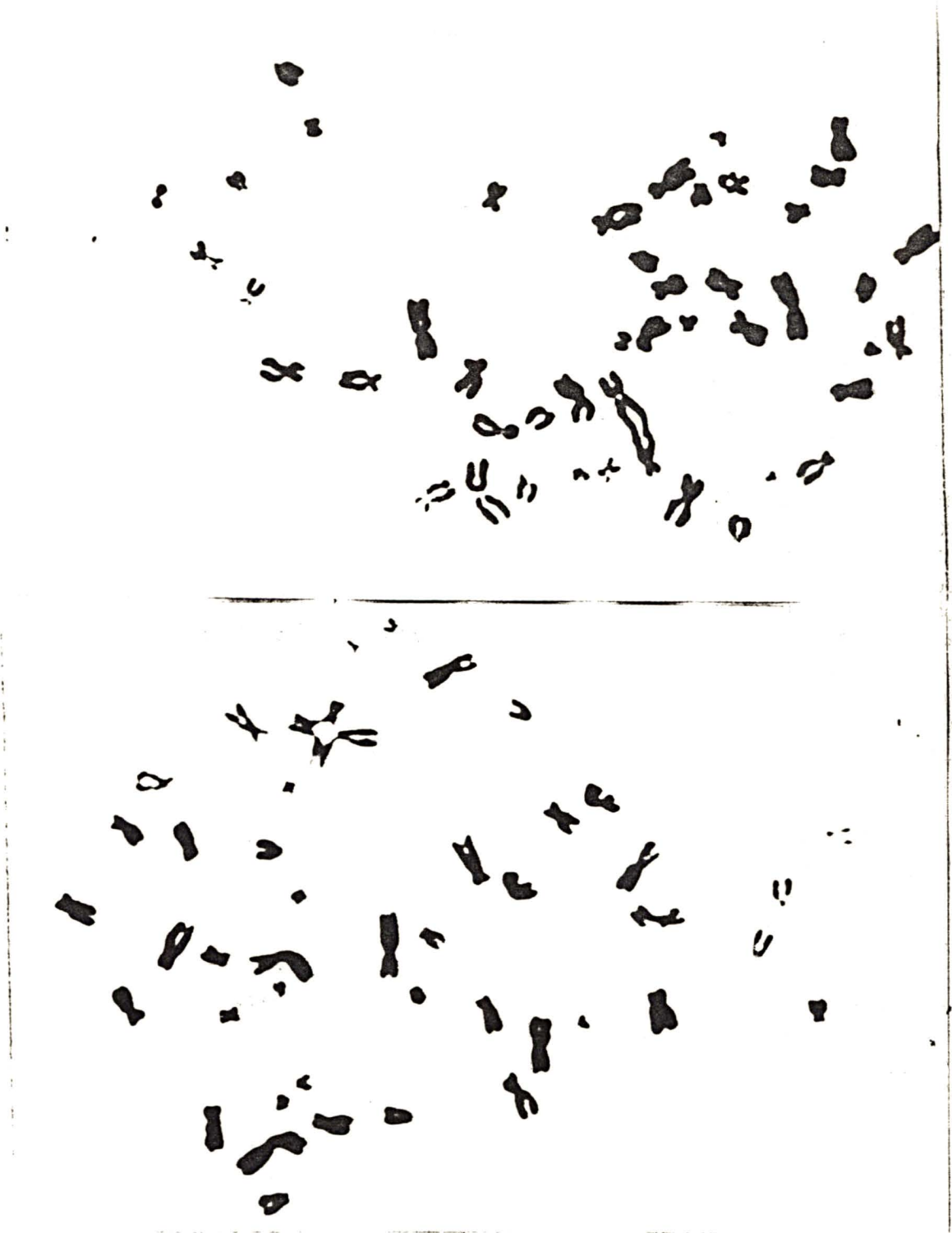
por terem más-formações encontradas em anemia de Fanconi, enquanto que 7% não tinham anemia aplástica nem más-formações. Um grupo de pacientes com anemia congênita, sem más-formações, chamada, previamente, de Síndrome de Estren-Dameshek, tendo irmãos na família com clínica clássica de anemia de Fanconi, demonstra a diversidade fenotípica da AF. Um recente estudo demonstra que eles têm quebras cromossômicas e são homozigotos para AF, e sua evolução clínica assemelha-se aos casos clássicos¹⁵. Esta diversidade fenotípica não é portanto baseada somente na heterogeneidade genética. Entre os pacientes sem anemia de Fanconi, aproximadamente 10% manifestam anemia aplástica e curiosamente algumas más-formações associadas com anemia de Fanconi.

TABELA 1 - BASES DE DIAGNÓSTICO DOS PACIENTES DO I.F.A.R. ¹³					
	MÁS-FORMAÇÕES				
	NÃO		SIM		TOTAL
GRUPO AF					
APLASIA...NÃO	14	(6.9%)	48	(23.8%)	62 (30.7%)
APLASIA...SIM	61	(30.2%)	79	(39.1%)	140 (69.3%)
TOTAL	75	(37.1%)	127	(62.9%)	202 (100%)
GRUPO NÃO-AF					
APLASIA...NÃO	0		27	(25%)	27 (25%)
APLASIA...SIM	70	(64.8%)	11	(10.2%)	81 (75%)
TOTAL	70	(64.8%)	38	(35.2%)	108 (100%)

IFAR: Registro internacional de anemia de Fanconi.

Com a finalidade de substanciar o uso de DEB para classificar pacientes como afetados e não afetados pela anemia de Fanconi, Auerbach¹⁴ analisou os dados fornecidos pelo IFAR e fundamentou o conceito de que a sensibilidade do DEB provê um modo de dividir os pacientes em dois grupos que são entidades geneticamente distintas. Um modo de herança monogênica, autossômica recessiva que é confirmada pelo grupo DEB +, enquanto que o grupo DEB- exibe um excesso de casos esporádicos que podem ser devidos a fatores como novas mutações, fenocópias e herança poligênica. O grupo DEB- parece ser provavelmente heterogênico, consistindo de entidades genéticas e não genéticas.

Já que um número significativo de pacientes com anemia de Fanconi chegam à idade adulta, deve-se considerá-la no diagnóstico diferencial da anemia aplástica, particularmente em pacientes pediátricos e adultos jovens.



A figura 1 mostra alterações citogenéticas características de AF.

1.3.FISIOPATOLOGIA

A apresentação inicial, usualmente, é trombocitopenia, com granulocitopenia e anemia desenvolvendo-se mais lentamente. A medula óssea mostra hipoplasia progressiva com hemofagocitose proeminente nos estágios iniciais.

A falha da medula óssea, em geral, é associada com um aumento na hemoglobina fetal. Estudos, "in vitro", demonstram que AF é associada com depleção de células hematopoiéticas progenitoras e o estroma parece ser normal, embora estes estudos tenham somente sido feitos em pacientes com sintomas hematológicos. É interessante que a terapia com andrógenos produz melhora marcante da pancitopenia e esta pode durar vários anos. Contudo, na maioria dos pacientes a pancitopenia retorna apesar da continuidade da terapia com andrógenos e também o paciente pode desenvolver leucemia aguda. O desenvolvimento desta pode ser precedida por síndrome mielodisplásica com marcadores cromossômicos, caracterizando um estado pré maligno que pode ser de duração longa ou curta⁷.

A heterogeneidade da AF pode ser explicada pela existência de múltiplos alelos em um único locus, por mais de um locus para AF e ambos. No entanto, a heterogeneidade na expressão dos defeitos de desenvolvimento, pode ser observada em membros da

mesma família. Isto pode ser causado pela existência de outros locus genéticos modificando a expressão do gene AF e pelo efeito do meio ambiente.

Em 1964, Shroeder e cols, reportaram que células de anemia de Fanconi tem instabilidade cromossômica aumentada¹⁶.

Em 1969, Schuler e cols, relataram que células de anemia de Fanconi são particularmente sensíveis à atividade quebradora de cromossomos, ou também chamada efeito clastogênico, de um agente alquilante polifuncional¹⁷. Também foi observado que as células da AF são sensíveis à mitomicina-C.

Berger e cols¹⁸ estudaram o efeito de metabólitos da ciclofosfamida, demonstrando o aumento de quebras cromossômicas em linfócitos de pacientes com anemia de Fanconi, quando incubados com baixas concentrações de soro de pacientes tratados com esta droga. Nenhum efeito foi observado com concentrações comparáveis de ciclofosfamida nas células dos pais desses pacientes e de controles normais. Além disso, a adição de mostarda nitrogenada, a uma concentração final de 0.085 µg/litro após um dia de cultura de linfócitos estimulados com fitohemoaglutinina, aumentou drasticamente o nível de quebras cromossômicas nas células dos pacientes⁵. A distinção entre pacientes e seus pais (heterozigotos), foi possível quando mostarda nitrogenada adicionada inicialmente, às culturas, aumentou significativamente as trocas de cromátides irmãs⁵. Um efeito similar foi observado por Auerbach e cols¹⁹ que também confirmaram esta mesma sensibilidade a agentes alquilantes, e

mais especificamente ao efeito clastogênico do DEB. DEB é um agente carcinogênico que induz ligações cruzadas de DNA. Agentes indutores de ligações cruzadas de DNA podem produzir, tanto ligações cruzadas únicas quanto múltiplas que podem resultar em quebras cromossômicas. A frequência destas quebras diferem entre os diversos agentes indutores utilizados. Variáveis como esta podem afetar a fidedignidade de um agente particular quando usado como teste diagnóstico, sendo isto, um especial problema em pessoas normais. Auerbach definiu a existência de pacientes com AF como sendo DEB+ e DEB- de acordo com a porcentagem de células com quebras e o número destas. Na anemia de Fanconi a maioria das células mostram quebras, porém, 10% de pacientes tem duas populações de células, e nestes 60 a 80% das células podem não apresentar quebras cromossômicas. Este teste é específico para a AF, desconhe-se outras condições em que ele se altere. Também é usado para o diagnóstico de anemia de Fanconi pré natal. A frequência de quebras em indivíduos normais é bastante baixa, fato que freqüentemente ocorre em heterozigotos, dificultando discriminá-los.

Um estudo de estímulo com cisplatina foi realizado por integrantes do Departamento de Pediatria da Universidade Federal do Paraná, onde se demonstrou, claramente, a possibilidade de distinção entre pacientes com anemia de Fanconi, heterozigotos e pessoas normais²⁻⁵¹. Foram estudadas células de nove pacientes, seus pais (presumivelmente heterozigotos) e 20 controles normais. Todas culturas consistiram de 0,4 ml de sangue heparinizado em

5 ml de meio de cultura. Cisplatina (2,5 μ g) foi adicionada ao completar-se 72 horas de incubação. As metáfases eram consideradas anormais quando falhas, quebras ou rearranjos estavam presentes. Sem cisplatina (instabilidade espontânea), nos pacientes, a proporção de metáfases anormais variou de zero a 30% (média de 14%), nos heterozigotos variou de zero a 15% (média de 2%) e nos controles variou de zero a 10% (média de 1,5%). Apresentaram instabilidade metáfases de dois pacientes, sete heterozigotos e 16 controles. A incidência de instabilidade espontânea foi maior nas células dos pacientes quando comparadas com os heterozigotos e os controles, porém, não houve diferença significativa entre heterozigotos e controles. Nas culturas de linfócitos com cisplatina (instabilidade induzida) a proporção de metáfases anormais aumentou no grupo de pacientes para dez a 98% (média de 37%), entre heterozigotos para cinco a 25% (média 14%) e permaneceu inalterada nos controles. Células de todos pacientes e heterozigotos tinham metáfases anormais, mas apenas tres controles.

Outros agentes clastogênicos permitem diagnóstico pré e pós natal de AF, como a mitomicina-C e 8-metoxipsoralen. Este efeito também pode ser obtido, em fibroblastos e nas células da vilosidade corial, sendo estas utilizadas para diagnóstico pré natal.

Gluckman e cols. descreveram uma hipersensibilidade dos pacientes com AF à radioterapia em uma experiência classicamente conhecida⁵⁻²⁰. Linfócitos de pacientes com AF expostos a 1 Gy de

radiação mostram alto nível de quebras cromossômicas por célula, comparada a controles normais ($p < 0.01$)²¹. Foi descrito um teste "in vivo" de radiosensibilidade e restauração celular tentando prever a resposta do paciente à radiação utilizada como condicionamento para transplante de medula óssea²². A sensibilidade da pele à radiação foi testada de duas maneiras. Um primeiro teste (medida da radiosensibilidade global), duas áreas da pele com 15 mm de diâmetro na face anterior da coxa, são irradiadas com uma fonte de Rx de 50 KV, a 0.5 Gy/segundo. Uma área recebeu 8 Gy e a outra 10 Gy. Esta pele era examinada a cada duas semanas para detectar pigmentação e descamação. Em um estudo prévio de 20 controles normais, pequena descamação apareceu entre 30 e 40 dias após a irradiação²³. Em um segundo teste a regeneração celular foi avaliada pela comparação da reação da pele a uma dose única de radiação com a reação após irradiação dada em duas frações iguais, separadas por um intervalo de tres a quatro horas. Frações de 4, 5, 6 ou 7 Gy foram dadas. A regeneração celular foi considerada normal se a reação da pele a uma simples dose de 10 Gy fosse similar a uma dose fracionada de 2 x 6 Gy. Doze pacientes com AF foram estudados antes do transplante de medula óssea para radiosensibilidade de pele com este mesmo teste. A anormalidade mais comum foi uma demora na maior intensidade da reação cutânea, variando de 40 a 55 dias em comparação com 30 dias para 20 controles normais. Esta observação pode estar relacionada ao aumento no tempo de trânsito das células da camada basal para a camada superficial da

pele. Uma segunda anormalidade observada em dez pacientes foi a sensibilidade aumentada a uma simples dose de 10 Gy. A implicação prática da demonstração do aumento da radiosensibilidade é um ajuste apropriado na dose empregada para condicionamento. Ausência de reparação foi demonstrada em apenas três casos. Este achado pode estar relacionado à baixa sensibilidade do método e à fisiopatologia da doença. A ausência de reparação implica em que não será possível a proteção relativa esperada da taxa de dose baixa e radiação fracionada em tecidos exibindo regeneração celular rápida, tais como: intestino, mucosas e pulmões. Em consequência dos achados acima foi proposto uma dose de radiação mais baixa, de 5 a 6 Gy aplicados em uma fração única a uma taxa de dose média de 6 cGy/min. Os campos foram programados para proteção completa dos pulmões, de parte do fígado, dos testículos, da cabeça e dos dois terços inferiores das pernas.

O valor prognóstico deste teste de radiosensibilidade ainda requer confirmação. Na série de pacientes utilizada, não foi encontrado qualquer correlação entre os resultados deste teste, a severidade da doença e a evolução do enxerto⁵⁻⁶.

A freqüência de aberrações cromossômicas, nas culturas de linfócitos de anemia de Fanconi, é diretamente relacionada com a tensão parcial de oxigênio, sugerindo que o sítio primariamente afetado pela mutação na AF, é um sistema complexo de defesa (de proteção e reparação), contra a toxicidade genética do oxigênio. A adição exógena da enzima superóxido dismutase demonstrou diminuir a freqüência das quebras cromossômicas na AF. Também é

possível que anormalidades em células linfoides reguladoras da hematopoiese, resultem numa interação celular defeituosa que pode ser responsável indiretamente pela falência da medula óssea. Defeito no estroma hematopoiético é improvável, porque fibroblastos da medula óssea da AF estimulam normalmente o crescimento de colônias de granulócitos e tem poucas alterações cromossômicas⁶.

Vellenga²⁴ demonstrou que eritropoietina recombinante falhou em corrigir a anemia, em AF.

Shaham²⁵ fazendo coculturas "in vitro" não detectou a presença de fator clastogênico, uma vez que células cocultivadas mantêm níveis de quebras cromossômicas de acordo com o genoma.

A AF deve-se, definitivamente, a um defeito da célula tronco pluripotente, nos mecanismos de reparação do DNA. Digweed²⁶ relata haver deficiência de uma proteína de até 20 KDa nas células de pacientes com AF, como fator responsável pela instabilidade cromossômica.

Rumiantsev²⁷ descreve uma diminuição de enzimas antioxidantes: superóxido dismutase e catalase, nas células doentes, o que levaria a uma produção excessiva de radicais superóxido, peróxido e hidroxila, o que também seria fator corresponsável pelos efeitos celulares de instabilidade cromossômica.

Há outros postulados recentes, citados por Gordon, que transcrevo a seguir, apenas com objetivo de notificar⁷.

Althoff postulou que todas as anormalidades em AF podem

ser explicadas pelo dano às células durante um breve período na vida fetal: entre os dias 25 e 34.

Nordensen estudou a frequência de aberrações cromossômicas em culturas de linfócitos de pacientes com AF e descobriu que superóxido dismutase e catalase diminuem a frequência de aberrações cromossômicas, tanto isoladas como em combinação.

Raj e Heddle também encontraram um efeito protetor da superóxido dismutase, catalase e L-cisteína contra quebras cromossômicas em fibroblastos de AF, tanto contra quebras espontâneas quanto induzidas por mitomicina-C.

Dallapicolla e cols encontraram efeito protetor de uma variedade de antioxidantes em células AF.

Joenje e cols encontraram um aumento nas anormalidades cromossômicas com aumento da tensão de oxigênio e propõem que o sítio, primariamente, afetado pela mutação em AF é o sistema de defesa contra a toxicidade genética do oxigênio, ao passo que Schindler e Hoehn encontraram diminuição das quebras cromossômicas em células AF sob baixa tensão de oxigênio.

Tudo isto são pequenas peças de um grande enigma que é a fisiopatologia de AF. Há, ainda, muitos detalhes para serem esclarecidos e melhor compreendidos.

1.4. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico de AF é fundamentado na história familiar, na consangüinidade, na clínica e confirmado pelas alterações citogenéticas próprias e principalmente pela hipersensibilidade ao efeito clastogênico das várias drogas. A positividade do teste é de alta especificidade para AF, inclusive utilizando-o para diagnóstico pré-natal²⁸.

O encontro do "The Fanconi Anemia Writing Committee" em dezembro de 1991 durante o congresso da American Society of Hematology em Denver, para discutir a evolução do TMO alogênico para AF, estabeleceu os seguintes critérios para diagnóstico de AF, propostos por Auerbach²⁹:

1. CITOGENÉTICO: evidência de quebras cromossômicas em preparações de células de sangue periférico ou medula óssea, submetidas ou não a stress provocado por agente indutor de ligações cruzadas de DNA.

OU

2. CLÍNICO: um score total de 3 ou mais, seguindo o seguinte sistema de critérios clínicos²⁹:

VARIÁVEL

score

retardamento de crescimento.....	+1
pigmentação anormal.....	+1
anormalidade renal/urinária.....	+1
microftalmia.....	+1
dificuldade de aprendizado.....	+1
trombocitopenia.....	+1
anormalidades de rádio/polegar.....	+1
outra anormalidade esquelética.....	+1

1.5. TRATAMENTO

1.5.1. TRATAMENTO HORMONAL E DE SUPORTE

Esta forma de tratamento é essencialmente paliativo, eventualmente cirúrgico em algumas más-formações com possibilidades de correções. A pancitopenia pode apresentar melhora temporária com o uso de andrógenos, até com prolongamento da sobrevida. O tratamento transfusional de suporte e das complicações infecciosas é idêntico ao tratamento das pancitopenias de outras naturezas. Há dificuldade para tratamento quimioterápico nos pacientes que desenvolvem leucemia e outras neoplasias malignas devido à já comentada hipersensibilidade à agentes alquilantes e radioterapia⁵.

1.5.2. TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA

O transplante de medula óssea é o único recurso terapêutico com possibilidade potencial de cura definitiva, por ser uma doença de evolução habitualmente letal, acometendo crianças e adultos jovens, relacionada a um defeito que envolve a célula tronco pluripotente da hematopoiese. O momento ideal para a realização de transplante de medula óssea parece ser na instalação de níveis de citopenias com risco de vida e antes que transfusões regulares de hemoderivados se tornem necessárias, uma

vez que as transfusões prévias ao transplante desencadeiam mecanismos imunológicos, responsáveis por uma maior incidência de falha de pega do enxerto ou de rejeição, complicando a evolução pós transplante de medula óssea e diminuindo a sobrevida. E não havendo doadores familiares deve haver esforço na procura de doadores não familiares.

No passado, os resultados foram insatisfatórios por causa da toxicidade severa e prolongada dos regimes de condicionamento utilizados relacionada à instabilidade cromossômica e a pobre tolerância à doença enxerto contra hospedeiro. Mais recentemente foram feitas modificações do regime de condicionamento de acordo com a sensibilidade celular à agentes alquilantes e à irradiação⁵.

1.5.3. RESULTADOS DO TRANSPLANTE DE MEDULA OSSEA EM ANEMIA DE FANCONI

Antes de 1980, na experiência de Gluckman, foram transplantados cinco casos de anemia de Fanconi, cujas características principais se encontram na tabela 2, e que foram condicionados com ciclofosfamida em dose alta (100 - 200 mg/Kg). Estes cinco pacientes evoluíram mal, com alta incidência de complicações graves e alta mortalidade precoce⁵⁻³⁰. Estas complicações foram: cistite hemorrágica, sobrecarga de volume, insuficiência cardíaca, mucosite, diarreia, hemorragia gastrointestinal, doença enxerto contra hospedeiro aguda severa com pega precoce. Somente uma paciente se tornou longo sobrevivente. Nove anos após o transplante ela tem um crescimento normal, com sinais de puberdade, as contagens sanguíneas são normais e a análise cromossômica mostra ausência de quebras cromossômicas anormais. Os outros pacientes morreram precocemente após o transplante. Todos tiveram complicações tóxicas relacionadas a ciclofosfamida.

TABELA-2 - Resultados do TMO em AF usando altas doses de ciclofosfamida⁵.

PAC. PN	IDAD	MÁS F.	DOAD HLA ID.	SEXO D/R	DECH			SOBREVIDA
					DIA	-GRAU-	CR.	
22	7	S+T	IRMÃO	M/F	12	III	O	> 6 ANOS
35	11	S+T+H+K	IRMÃO	M/M	12	IV	NE	48, DECH-A
31	11	S+T+H+K	MÃE	F/M	9	IV	NE	40, DECH-A
44	10	S+T+H	MÃE	F/F	1	IV	NE	48, DECH-A
50	7	S+T	IRMÃ	F/F	1	III	NE	150, NECROSE HEPÁTICA E ATROFIA CEREBRAL

Pacientes 31 e 44 são irmãos. A mãe era HLA A,B,DR idênticos (consangüinidade).

Representação: S= pele, T= polegar, H= coração, K= rim;
DECH= doença enxerto contra hospedeiro; R= receptor, D= doador.
NE= não avaliável; PN= número do paciente na instituição.
CR.= crônico. DIA: dia pós TMO da ocorrência de DECH agudo.

Após o reconhecimento da hipersensibilidade dos linfócitos a agentes alquilantes "in vitro", e a maior radiosensibilidade "in vivo", Gluckman idealizou um novo tipo de condicionamento semelhante a um regime utilizado para transplante de medula óssea em anemia aplástica não constitucional, mas com doses de quimioterapia menores.

Um dos condicionamentos para anemia aplástica não constitucional consiste de ciclofosfamida 50 mg/Kg endovenosa, dada nos dias -6, -5, -4, e 6 Gy de irradiação toracoabdominal no dia -1³¹. Na AF foi marcadamente reduzida a dose de ciclofosfamida, de uma dose total de 150-200 mg/Kg para 20 mg/Kg dividida em 4 doses de 5 mg/Kg nos dias -6, -5, -4 e -3. Os testes de radiosensibilidade não parecem dar qualquer orientação para a redução da dose para o paciente individualmente. Gluckman⁵⁻³⁰ optou pela redução da dose de seis para 5 Gy toracoabdominal em dose única, dados a uma taxa de dose média de 6 cGy/min. O campo envolve o pescoço, o tronco, a parte superior da coxa e os braços, com proteção total do pulmão e a parte direita do fígado. Não pareceu ser útil fracionar a dose. Utilizou-se apenas ciclosporina-A como profilaxia para doença enxerto contra hospedeiro. Este regime de condicionamento foi bem tolerado, exceto nos primeiros cinco pacientes, pois dois meses após o TMO, desenvolveram esofagite severa e associada à estenose em tres casos. Subseqüentemente, todos os pacientes passaram a receber tratamento preventivo com ranitidina. Nenhum dos pacientes teve cistite hemorrágica ou qualquer sinal de intolerância observada após altas doses de ciclofosfamida. Os resultados globais estão na tabela 3. Na publicação do trabalho, 14/19 pacientes estavam vivos, 74% com uma mediana de seguimento de dois anos, variando de seis meses a seis anos. Nove pacientes estão vivendo bem, sem sintomas e com desenvolvimento normal. Um paciente teve falha do enxerto e morreu no dia +40 de sepsis por *Candida sp*, todos os

outros pacientes tiveram pega pronta com um tempo médio de 15 dias para alcançar 500 granulócitos, e um tempo médio de 25 dias para manutenção de plaquetas não dependente de transfusão. Em um dos pacientes, por apresentar citopenia prolongada pós transplante, fez-se análise citogenética que mostrou a persistência de um clone celular com alterações cromossômicas típicas da AF. Este achado alertou para estudar-se o quimerismo dos longos sobreviventes. E assim foram analisados tres pacientes, apesar da normalização completa das contagens sangüíneas, dois pacientes mostraram quimerismo misto. Deste achado pôde-se postular que um regime de condicionamento modificado pode não ser suficiente para permitir o estabelecimento de um quimerismo completo em todos os casos. Doença enxerto contra hospedeiro aguda grau II ou mais, foi observada em 11/19 casos, 58%. Doença enxerto contra hospedeiro crônica foi observada em somente cinco casos, e foi, em todas, limitada. Este número relativamente baixo de doença enxerto contra hospedeiro crônica, cinco em 15 pacientes avaliáveis (33%), levou Gluckman a postular que esta diferença pode ser devida ao pequeno número de pacientes ou talvez a um defeito do fibroblasto da AF em produzir fibrose através de ativação pelo linfócito do doador ou pela ocorrência de um quimerismo misto.

TABELA-3

GLUCKMAN e cols⁵.

Resultados do transplante de medula óssea após condicionamento com CFA 20 mg/Kg e 5 Gy de irradiação toracoabdominal.

Nº Pac	ID/Sx	PEGA	DECH-A	DECH-C	EVOLUÇ.	CAUSA ÓBITO
SLA 87	15/M	MISTA	0	0	>6a v/b	
SLA 92	10/F	+	III	0	>5a v/b	
SLA 97	15/M	MISTA	0	LEVE	>5a v/b	
SLA100	10/M	+	I	LEVE	>5a v/b	
SLA101	13/M	+	III	LEVE	♦996 d	SEPS+insHEP
SLA103	12/M	+	II	0	5a v/b	
SLA116	5/F	+	II	0	>4a	
SLA118	14/M	+	III	NE	♦60 d	S.H.U.
SLA126	17/F	+	III	NE	♦104 d	PI CMV+DECH
SLA134	11/F	0	NE	NE	♦40 d	SEPSIS CAND
SLA139	19/M	+	0	0	>3a v/b	
SLA141	11/M	+	II	LEVE	>3a v/b	
SLA148	9/F	+	II	0	>2a v/b	
SLA165	12/M	+	II	0	>2a v/b	
SLA166	7/M	+	II	0	>2a v/b	
SLA180	6/M	MISTA	0	0	>1a	
SLA184	12/F	+	I	LEVE	>10 m	
SLA187	20/F	+	III	NE	♦58 d	ASPERGILOSE
SLA188	8/M	+	0	0	>6 m	

Nº Pac: número do paciente; DECH: doença enxerto contra hospedeiro; A: aguda; C: crônica; CMV: Citomegalovírus; PI: pneumonite intersticial; SHU: síndrome hemolítico urêmico; v/b: vivo e bem; insHEP: insuficiência hepática; NE: não avaliável.

Os resultados de Hows e cols. estão nas tabelas 4 e 5³²⁻³³. Entre 1977 e 1989 foram transplantados 21 pacientes com AF no Hospital Hammersmith. Os primeiros dois transplantados antes de 1980 foram condicionados com altas doses de ciclofosfamida: 50 mg/Kg por 4 vezes, ambos morreram, um por toxicidade da ciclofosfamida em pele, intestino e bexiga. Desde 1983, 19 pacientes foram transplantados usando baixa dose de ciclofosfamida e irradiação corporal total. A distribuição dos grupos de acordo com as várias características, estão na tabela 4. Em dez pacientes foi usado irmão genotipicamente idêntico. Um estudo cuidadoso do doador, tanto clínico, como citogenético e hematológico foi usado para afastar a possibilidade de AF no doador. Em um caso de anemia de Fanconi, no doador potencial foi descoberto AF, e ambos os irmãos foram subseqüentemente transplantados pelo mesmo doador não familiar. Em nove casos, nenhum irmão HLA idêntico foi identificado. Em cinco casos, pais haploidênticos com locus HLA parcialmente compatível no haplotipo mismatch foram escolhidos como doadores, e em quatro casos HLA A, B, DR compatível de doador voluntário não familiar foram selecionados do painel Anthony Nolan. Todos os 19 pacientes foram transplantados usando dose baixa de ciclofosfamida que inclui 5 mg/Kg nos dias -5 até -2 inclusive, mesna 20 mg/Kg sete vezes ao dia, do dia -5 até -1 inclusive, para prevenir cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida.

Irradiação corporal total 6 Gy com proteção orofaríngea, foi dada em tres frações de 2 Gy, duas no dia -1 e uma no dia zero. A taxa de dose de irradiação foi de 15 cGy/minuto, de um acelerador linear. A profilaxia da doença enxerto contra hospedeiro foi feita com ciclosporina isolada. Em dez casos, a medula óssea foi tratada "ex vivo" para remover células T, sete eram de transplantes feitos com HLA não idêntico, e em tres transplantes HLA idênticos.

A sobrevida global em primeiro de janeiro de 1989 era 9\19 (47%), ou 8/19 (42%), se considerarmos a morte de um longo sobrevivente aos 2008 dias de pneumonite intersticial por vírus, com uma média de seguimento dos sobreviventes de 1253 dias, variando de 110 a 1825 dias. Seis dos dez (60%) transplantados com doadores HLA idênticos sobreviveram, comparados com 2/9 (22%) dos pacientes transplantados com doador HLA não idêntico. Todos os longos sobreviventes tem contagem sangüínea normal, com morfologia normal. Um paciente no grupo HLA idêntico morreu no dia +6, e não é avaliável para pega do enxerto. No grupo idêntico: 8/9 (89%) dos pacientes avaliáveis tiveram pega sustentada. Em um paciente falhou o enxerto após um transplante com depleção de células T, um segundo transplante de medula óssea, não manipulada, do mesmo doador, também não obteve sucesso. No grupo HLA não idêntico: 5/9 (55%) tiveram pega sustentada, dois tiveram falha precoce após uma pega inicial e dois não mostraram nenhum sinal de pega do enxerto. Quatro de cinco do total de pacientes avaliáveis com falha do enxerto

tinham recebido medula óssea com depleção de células T, um de doador compatível e tres de doadores não compatíveis.

Doença enxerto contra hospedeiro aguda significante clinicamente, grau II a IV, ocorreu em seis de oito (75%) dos pacientes avaliáveis no grupo HLA idêntico, em 3/7 (43%) em pacientes avaliáveis no grupo HLA não idêntico. No grupo HLA idêntico 3/7 (43%) de pacientes avaliáveis, subsequêntemente desenvolveram doença enxerto contra hospedeiro crônica, comparado com 2/4 (50%) no grupo não HLA idêntico. Houve duas mortes atribuíveis parcialmente à toxicidade do regime condicionante. Um de cardiotoxicidade e outro de doença venoclusiva hepática. Cinco mortes foram primariamente devidas à falência do enxerto, quatro dos cinco pacientes que tinham recebido medula óssea com depleção de células T.

TABELA-4

J. M. HOWS e cols³³.

Detalhes de pacientes e doadores em 19 transplantes em AF

a) Grupo HLA idêntico

Nº Pac	id/sx pac	id/sx doa	SIT CLÍN	T. PREV.	D.C. T
AF 68	8/F	18/F	H	0	+
AF 76	6/M	30/M	H	0	-
AF 84	7/M	10/M	H	>10	-
AF 85	23/M	17/M	T	>10	+
AF 91	8/F	10/F	H*	0	-
AF 95	14/M	32/M	H	>10	+
AF 97	14/M	19/F	T	>10	-
AF 99	11/M	6/F	H	<10	-
AF 112	8/F	15/M	H	<10	-
AF 114	9/F	7/M	H	>10	-

b) Grupo NAO HLA IDÊNTICO

AF 56	13/M	30/M	H	>10	-
AF 69	10/F	32/F	H	<10	+
AF 72	9/F	34/F	H	>10	+
AF 77	12/M	43/M	H	0	+
AF 80	5/M	31/M	H	<10	+
AF 82	10/M	28/F	T	>10	+
AF 83	6/F	35/F	H	>10	+
AF 86	12/F	45/F	H	<10	+
AF 96	9/M	26/F	H	<10	-

H: hipoplasia de medula óssea; H*: hipoplasia de medula óssea com translocação cromossômica (3q+); T: transformação leucêmica; DCT: depleção de células T do doador. T. PREV.: número de transfusões prévias ao transplante.

TABELA-5

J. M. HOWS e cols³³.

a) Grupo HLA idêntico

Nº pac	NCD E*	PEGA	DECH-A	DECH-C	SOBREV.	C/ÓBIT
AF 68	3.7	SUSTENT	0	0	>1825	
AF 72	5.0	SUSTENT	0	0	>1635	
AF 84	5.0	SUSTENT	II	+	>1253	
AF 85	1.6	NE	NE	NE	○ +6	I.CARD
AF 91	9.8	SUSTENT	III	+	>1099	
AF 95	3.9	NÃO PEG	NE	NE	○ +44	REJEIÇ
AF 97	3.5	SUSTENT	III	NE	○ +50	DVO
AF 99	3.0	SUSTENT	III	0	>785	
AF 112	4.8	SUSTENT	III	+	○+120	MIOC.VI
AF 114	5.4	SUSTENT	III	0	>110	

b) Grupo NAO HLA idêntico

AF 56	4.0	SUSTENT	III	+	○+2008	PNI.VIR
AF 69	4.1	SUSTENT	II	+	>1775	
AF 72	4.0	SUSTENT	III	NE	○ +23	SEP.KEB
AF 77	2.1	SUSTENT	0	0	>1520	
AF 80	11.6	FAL PRC	I	NE	○ +90	REJEIÇ
AF 82	4.0	NÃO PEG	NE	NE	○ +43	REJEIÇ
AF 83	5.7	FAL PRC	I	NE	○ +56	REJEIÇ
AF 86	2.6	SUSTENT	I	0	○ +120	PNI.CMV
AF 96	5.5	NÃO PEG	NE	NE	○ +30	REJEIÇ

C/ÓBIT: causa do óbito; NCD E*: número de células de medula óssea infundidas X 10⁸/Kg de peso corporal; I.CARD: insuficiência cardíaca; DVO: doença venooclusiva de fígado; MIOC.VI: miocardite viral; PNI.VIR: pneumonite viral; SEP.KEB: sepsis por *Klebsiella sp*; PNI.CMV: pneumonite intersticial por CMV; NE: não avaliável.

Alguns outros casos da experiência internacional estão publicados na tabela 6³⁴.

TABELA-6

DADOS DE PACIENTES COM AF TRATADOS COM TMO EM OUTROS CENTROS.

REFER.	Nº	I/S	CONDIC	NCE*	DECHa	DECHc	SOBREV	EVOLUÇÃO
DOOREN	1	10M	CF 200	2.0	SIM		○ +40	○/GVHD
BARRET	1	14M	CFPATG	6.0	NÃO	NÃO	> 11m	v/b
KERSEY	1	12M	CF 6MP	13.7	SIM		○ +35	○/GVHD
RAMSAY	1	13M	CF TLI	7.6	SIM		○ +20	○/GVHD
BORTIN	2	9F	CF 200	4.8	SIM		○ +42	○/SHR
		8M	CF 250	4.6	SIM		○ +75	○/GVHD
HOLL	1	12F	CFPATG	1.5	NÃO	NÃO	> 4.5a	v/b

I/S: idade/sexo; CONDIC: regime de condicionamento; NCE*: número de células infundias x 10⁸/Kg de peso corporal; Nº: número de pacientes; CF 200: ciclofosfamida 200 mg/Kg de peso corporal; CFPATG: ciclofosfamida + procarbazona + ATG; CF 6MP: ciclofosfamida + 6-mecaptopurina; TLI: irradiação linfonodal total; ○/: causa da morte; SHR: síndrome hepatorenal; v/b: vivo e bem.

Alguns resultados do grupo europeu na tabela 7⁶.

TABELA-7

Resultados de TMO em AF do grupo Europeu, publicado por Gluckman, Berger e Dutreix⁶

REFERENC	I/Sx	DOAD.	CONDIC.	PEGA	DECHa	SOBREV	EVOLUÇ
BARRET	10/F	HLA=U	CF 180	SIM	II	○ +96	spsPSE
BARRET	15/M	HLA=B	CFPATG	SIM	0	> 6a	v/b
BARRET	9/F	HLA=S	CF 200	SIM	IV	○ +73	DECH
PRENTICE	5/F	HLA=?	CF 160	SIM	III	> 4a	v/b
DOOREN	12/F	HLA=S	CFPATG	SIM	0	> 7a	v/b
DOOREN	12/F	HLA=S	CFPATG	SIM	IV	○ +30	DECH
DOOREN	10/F	HLA=B	CF 200	SIM	IV	○ +40	DECH

HLA=: HLA idêntico; U: doador não familiar; B: doador o irmão; S: doador a irmã; CF 180: ciclofosfamida 180 mg/Kg de peso corporal; CFPATG: ciclofosfamida + procarbazina + ATG; spsPSE: sepsis por *Pseudomonas sp*; v/b: vivo e bem.

Friedrich³⁵ descreve transplante em oito pacientes com AF, com idade variando de cinco a 17 anos, todos transplantados com doadores irmãos HLA compatíveis, o regime de condicionamento consistiu de ciclofosfamida 5 mg/Kg/dia por quatro dias, associada com irradiação toracoabdominal 5 Gy. com proteção pulmonar completa. Ocorreu doença enxerto contra hospedeiro em dois casos, sete pacientes sobreviveram, com pega sustentada em seis pacientes, que agora tem função medular normal e estável. A profilaxia para doença enxerto contra hospedeiro foi ciclosporina-

A, exceto em tres casos que receberam medula óssea com depleção de células T, porém, dois destes últimos casos, rejeitaram medula óssea, complicação revertida com sucesso em um, com retransplante. Todos os outros mostraram pega pronta e estável das células do doador. A doença enxerto contra hospedeiro que ocorreu em dois pacientes, necessitou tratamento imunossupressor prolongado.

Sokal³⁶ transplantou um paciente de oito anos de idade com doador não relacionado, o paciente desenvolveu uma doença enxerto contra hospedeiro aguda grau III, e está vivo seis meses após o transplante, desenvolveu ainda anemia hemolítica auto-imune, Coombs + e com anticorpos livres anti-Rh e uma síndrome hemofagocítica associada a vírus, esta última tratada com sucesso com acyclovir. Seis meses após transplante ele tem reconstituição hematológica completa, mas persiste com hemólise auto-imune.

Zintl³⁷ transplantou um caso de AF que foi a óbito no dia +25 por doença enxerto contra hospedeiro aguda e septicemia.

Broxmeyer³⁸ utilizou, pela primeira vez, sangue de cordão umbilical criopreservado como fonte de células progenitoras. O sangue obtido na hora do parto, de uma menina sabidamente não afetada por AF, avaliada por testes pré-natais e HLA compatível com receptor portador de AF, que fora condicionado com regime modificado de ciclofosfamida em dose baixa e radioterapia. Houve reconstituição hematológica eficaz. Pega completa do doador foi evidenciada por citogenética.

O grupo de Seattle publicou inicialmente o resultado de

transplante em oito pacientes com AF³⁴⁻³⁹, cujas características principais estão incluídas nas tabelas 8 e 9.

Uma atualização do grupo de Seattle⁴⁰ mostra os resultados de transplante de medula no período compreendido entre março de 1973 e agosto de 1990, em 17 pacientes com AF. Os doadores foram irmãos HLA idênticos em 14, pais com HLA fenotipicamente idêntico em dois, e um pai com um antígeno incompatível. Pacientes sem evidência de transformação leucêmica foram 12, e foram condicionados com 140-200 mg/Kg de ciclofosfamida, um único paciente recebeu globulina antitumoral associada a ciclofosfamida, e outro único recebeu creme leucocitário. De cinco pacientes com transformação leucêmica, quatro receberam ciclofosfamida (120 mg/Kg) mais 12 Gy de irradiação corporal total fracionada, e um paciente recebeu bussulfan (14 mg/Kg) e ciclofosfamida (100mg/Kg), e todos os pacientes tiveram pega do enxerto, contudo, um paciente cujas células do doador mostraram resultados variáveis quando testadas para instabilidade cromossômica requereu mais duas infusões adicionais de medula óssea. A toxicidade associada com o regime de condicionamento incluiu mucosite oral severa (14 pacientes), cistite hemorrágica (11 pacientes), eritrodermia difusa (tres pacientes). Dez pacientes (59%) não tiveram ou tiveram apenas mínima (grau I) doença enxerto contra hospedeiro, e sete pacientes (41%) tiveram doença enxerto contra hospedeiro graus II-IV. Quatro destes sete pacientes tinham recebido apenas MTX para profilaxia de DECH, e tres tinham recebido MTX e CSP. Quatro de 12 pacientes transplantados sem transformação leucêmica

desenvolveram DECH graus II-IV, assim como tres de cinco pacientes com transformação. DECH crônica extensa ocorreu em quatro de dez pacientes avaliáveis (40%), sendo que, nove destes dez avaliáveis, foram transplantados por AF sem transformação leucêmica. Sete de 12 pacientes sem transformação leucêmica estão sobrevivendo 1-18 anos (media de cinco anos) após TMO, com uma probabilidade de sobrevida em cinco anos de 65%. Dois pacientes desenvolveram carcinoma de células escamosas da língua após dez anos de transplante. Um destes pacientes morreu 10.3 anos em consequência desta neoplasia, o outro está livre de doença há mais de 12 anos após o transplante. Um dos cinco pacientes com transformação leucêmica está vivo, oito anos após TMO.

Sumarizando os resultados de TMO em AF, há dificuldade no encontro de regime ideal de condicionamento que resulte em maior índice de cura com menor toxicidade.

TABELA-8

Experiência do FRED HUTCHINSON CANCER RESEARCH CENTER - SEATTLE⁴⁰

Nº PAC	IDAD/SEXO	SIT CLÍN	DOADOR	CONDICION	CEL.E*
302	6/F	AA	HLA=I	CF200	11.2
317	8/M	AA	HLA=I	CF150	6.7
398	4/F	AA	HLA=I	CF200	6.5
717	12/M	AA	HLA=I	CF200	2.5
821	5/M	AA	HLA=I	CF200+BC	4.2
927	20/F	AA	HLA=I	CF200	5.9
983	14/F	AA	HLA=I	CF200	4.8
1286	9/M	AA	HLA=I	CF200	3.3
1779	12/F	LEUCEMIA	HLA=I	CF120+TBI	2.5
2173	19/F	LEUCEMIA	HLA=I	CF120+TBI	1.3
2855	22/M	LEUCEMIA	HLA=I	CF120+TBI	3.1
3140	5/M	AA	HLA=I	CF180	2.9
3955	8/F	AA	HLA=M	CF200	5.4
4224	6/F	AA	HLA=I	CF140	1.9
4765	14/M	LEUCEMIA	HLA=P	CF120+TBI	4.8
5003	23/M	LEUCEMIA	HLA1Ag<>P	B14+CF100	4.2
5666	8/F	AA	HLA=I	CF140+ATG	5.1

AA: fase de aplasia medular; CEL E*: número de células de medula óssea infundida x 10⁸/Kg de peso corporal; HLA=I: irmão HLA idêntico; M: mãe; P: pai; 1Ag<>: um antígeno incompatível; CF200: ciclofosfamida 200mg/Kg de peso corporal; BC: creme leucocitário; TBI: irradiação corporal total (2Gy x 6); B14: Bussulfan 14 mg/Kg de peso corporal.

TABELA-9

Experiência do FRED HUTCHINSON CANCER RESEARCH CENTER - SEATTLE⁴⁰

Nº PAC	PROFILAX	PEGA	DECH a/c	SOBREVIDA	C/ÓBITO
302	MTX	SIM	I/NÃO	> 18 anos	
317	MTX	SIM	III/NE	+19 d	DECH
398	MTX	SIM	III/NE	+82 d	DECH
717	MTX	SIM	I/SIM	+540 d	HEMORSNC
821	MTX	SIM	III/NE	+56 d	DECH
927	MTX	SIM	I/SIM	+10.4anos	C.E.CP
983	MTX	SIM	0/NÃO	> 12 anos	
1286	MTX	SIM	III/SIM	> 10 anos	
1779	MTX + CSA	SIM	III/NÃO	> 8 anos	
2173	MTX + CSA	SIM	0/NE	+12 d	INS.REN.
2855	MTX + CSA	SIM	0/NE	+39 d	PNEUM.ID
3140	MTX + CSA	SIM	0/SIM	> 5 anos	
3955	MTX + CSA	SIM	I/NÃO	> 4 anos	
4224	MTX + CSA	SIM	0/NÃO	> 3 anos	
4765	MTX + CSA	SIM	II/NE	+43 d	PN/CAND.
5003	MTX + CSA	SIM	III/NE	+41 d	ASPERGIL
5666	MTX + CSA	SIM	0/NÃO	> 1 ano	

MTX: methotrexate; CSA: ciclosporina; a/c: agudo/crônico;
 NE: não avaliável; HEMORSNC: hemorragia em sistema nervoso
 central; C.E.CP: carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço;
 INS.REN.: insuficiência renal; PNEUM.ID: pneumonia idiopática;
 PN/CAND.: pneumonia por *Candida sp*;

2. OBJETIVOS

O objetivo desta dissertação é analisar os casos de AF transplantados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná. Comparar nossa experiência com a dos principais centros mundiais de transplante de medula óssea, principalmente com relação à doença enxerto contra hospedeiro, rejeição, infecções, toxicidade do regime de condicionamento e sobrevida. Tentar demonstrar a viabilidade do TMO nesta doença com características próprias.

3. CASUÍSTICA

Na Unidade de Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, no período de 1983 a 1990, foram submetidos a TMO, dez pacientes portadores de AF. A idade variou de quatro a 14 anos, com uma mediana de oito anos, sendo cinco pacientes do sexo masculino e cinco do sexo feminino. A duração da doença, considerando-se a data do diagnóstico até o dia do transplante de medula óssea, variou de sete a 84 meses, com uma mediana de 36 meses. O número de transfusões prévias ao transplante variou de 2 a 151, com uma mediana de 30 transfusões por paciente.

O diagnóstico foi fundamentado nos achados citogenéticos típicos, nas alterações de exame físico próprios da doença, na história familiar e pela consangüinidade dos pais. Todos foram transplantados em fase de pancitopenia severa, com risco de vida, requerendo transfusões. Nenhum em transformação leucêmica. Um fato curioso, é que neste grupo há dois irmãos transplantados (um menino e uma menina) tendo como doadora uma terceira irmã hígida, sem alterações citogenéticas. Todos pacientes pertenciam a grupos de poucos recursos socioeconômicos e culturais.

Todos os transplantes foram feitos utilizando-se doadores irmãos HLA idênticos. Nenhum dos doadores tinha más-formações ou alterações citogenéticas associadas com AF. Tres doadores eram do

sexo masculino e sete do sexo feminino.

A idade dos doadores variou de dois a 27 anos, com uma mediana de oito anos. A distribuição da compatibilidade de sexo doador/ receptor e a relação de grupos sanguíneos doador x receptor encontram-se na tabela 10.

TABELA-10 CASUÍSTICA

PAC.ID.	IDAD/SEX	DUR.DOENÇ	TRAN.PREV	I/Sx DOAD	ABO DxR
034	10/M	36	4	20/M	A+ X A-
064	4/M	42	71	7/F	O+ X O+
066	6/M	7	2	5/F	O+ X O+
148	8/F	84	6	6/M	O- X A-
153	8/F	7	151	13/M	A+ X A+
169	14/F	84	30	2/F	AB+ X A+
170	14/M	84	70	27/F	A+ X A+
195	4/M	47	35	8/F	O+ X O+
212	12/F	24	50	19/F	A+ X A+
253	4/F	36	3	9/F	O+ X O+

PAC.ID.: identificação do paciente; DUR.DOENÇ: tempo entre o diagnóstico da doença e o transplante, em meses; TRAN.PREV: número de transfusões prévias ao transplante; I/Sx DOAD: idade e sexo do doador; ABO DxR: grupo sanguíneo do doador e receptor.

Uma menina com incompatibilidade ABO maior, tinha uma titulação anti-B de 1:4 na fase salina da titulação, e 1:32 na fase de Coombs da mesma, a titulação de anticorpos anti-B foi reduzida a zero com a transfusão de concentrado de hemácias B+ no dia precedente à infusão de medula óssea. Esta transfusão incompatível, feita lentamente e apoiada com hiperhidratação e medicação sintomática, foi bem tolerada, apenas, com hemólise leve, mas sem qualquer outra forma de complicação. A infusão da medula óssea pôde ser feita num prazo de tres horas, agora, sem qualquer evidência de hemólise.

Todos pacientes ao serem admitidos na unidade de transplante eram submetidos à implantação de cateter venoso central, tipo Hickman ou Broviac, por punção de veia suclávia ou por dissecação de veias jugular interna, externa ou cefálica. Todos receberam antibióticos profiláticos: sulfametoxazol + trimetropin em doses habitual desde a admissão até o dia -2, como profilaxia para infecção por *Pneumocistis carinii*. Este medicamento é de rotina suspenso no dia -2 e reiniciado no dia +50 e continuado até o dia +150, período em que a referida infecção é mais freqüente. Acyclovir nos primeiros 30 dias pós TMO como profilaxia para *Herpes simplex* tipos I e II, Zoster e, possivelmente citomegalovírus. Norfloxacin como profilaxia contra infecção bacteriana, continuamente, desde a internação até a alta. Nistatina: durante o tempo de pancitopenia, como profilaxia contra infecção fúngica.

O condicionamento, empregado em sete pacientes, para o

transplante de medula óssea foi: ciclofosfamida 50 mg/Kg de peso corporal por dia por quatro dias, perfazendo uma dose total de 200 mg/Kg. Ciclofosfamida 5 mg/Kg de peso corporal por dia por quatro dias, numa dose total de 20 mg/Kg de peso corporal, associada com irradiação corporal total de 4 Gy sem proteção de pulmões ou fígado, foi empregado em dois pacientes. Um único e último paciente recebeu condicionamento com ciclofosfamida 35 mg/Kg de peso corporal por dia, por quatro dias (dose total 140 mg/Kg de peso corporal) associada com globulina antitimocítica 30 mg/Kg de peso corporal por dia por tres dias (dose total de 90 mg/Kg de peso corporal).

O condicionamento foi sempre apoiado com hiperhidratação para evitar cistite hemorrágica provocada por ciclofosfamida em altas doses.

Os pacientes que desenvolveram mucosite severa, vômitos freqüentes, ou que por qualquer outra razão não se alimentavam adequadamente, recebiam alimentação parenteral total.

Os pacientes que se tornavam febris eram tratados com antibioticoterapia empírica de amplo espectro.

A imunoprofilaxia utilizada pós-transplante como método de prevenção da DECH foi methotrexate isoladamente em tres pacientes iniciais e associado com ciclosporina A em seis pacientes e ciclosporina isoladamente em um paciente. Creme leucocitário foi empregado em um paciente.

O número de células de medula óssea infundido variou de 2,2 a 13,4 x 10⁸/Kg de peso, com uma médiana de 6,36 x 10⁸.

Ainda, como suporte, os pacientes recebiam transfusões de concentrados de hemácias para manter hemoglobina em torno de 10 g/dl, e plaquetas para manter um nível maior que 20000/ μ l.

O número de transfusões pós-transplante de medula óssea foi o seguinte: concentrados de hemácias variou de duas a 25 unidades, com uma mediana de sete unidades por paciente, concentrados de plaquetas variou de seis a 244 unidades, com uma média de 119 unidades por paciente.

Os pacientes que desenvolvessem DECH aguda grau II ou maior recebiam como tratamento inicial corticosteróide em altas doses e os que desenvolvessem DECH crônica de alto risco recebiam uma associação de corticóide em geral associado com ciclosporina.

A tabela 11 complementa de forma visual as principais características citadas acima.

TABELA-11 CASUÍSTICA

PAC.ID.	CONDICION	PROFILAX.	B.C.	CEL. x 10 ⁸
034	CF200	MTX	20 u	8.8
064	CF20+TBI	MTX	0	8.24
066	CF20+TBI	MTX	0	3.46
148	CF200	MTX + CSA	0	5.3
153	CF200	MTX + CSA	0	13.4
169	CF200	MTX + CSA	0	2.2
170	CF200	MTX + CSA	0	6.36
195	CF200	MTX + CSA	0	10.5
212	CF200	MTX + CSA	0	5.34
253	CF140+ATG	CSA	0	3.86

PAC.ID.: identificação do paciente; B.C.: uso de creme leucocitário; CEL. x 10⁸: número de células de medula óssea infundidas x 10⁸/Kg de peso corporal; DECH A/C: doença enxerto contra hospedeiro aguda e crônica; CF200: ciclofosfamida 200mg/Kg de peso corporal; TBI: irradiação corporal total; MTX: methotrexate; CSA: ciclosporina; NE: não avaliável; MOD.: moderado.

4. RESULTADOS

A sobrevida global é de 40%, todos os quatro sobreviventes estão com recuperação hematológica completa. A incidência global de DECH aguda é 4/10 pacientes (40%), sendo em tres pacientes DECH aguda grau I e em um paciente grau III. A incidência global de DECH crônica é: 3/4 pacientes avaliáveis, 75%, sendo leve e limitada em dois e extensa e moderada em um. Rejeição ocorreu em apenas um paciente. DVO severo ocorreu em tres pacientes.

Na tabela 12 encontra-se a distribuição das principais complicações.

TABELA-12 SOBREVIDA e COMPLICAÇÕES

PAC.ID.	REJEIÇÃO	DVO	DECH A/C	SOBREVIDA	C/ÓBITO
034	NÃO	SEVERO	0/NE	17	S.Ps+Can
064	SIM +32 d	NÃO	0/NE	44	PN.ASPER
066	NÃO	NÃO	0/NE	9	S. Ps
148	NÃO	NÃO	0/0	1238	0
153	NÃO	NÃO	I/LEVE	1184	0
169	NÃO	SEVERO	II/NE	27	CH.SEP.
170	NÃO	SEVERO	I/NE	27	IC + AM
195	NÃO	NÃO	I/LEVE	871	0
212	NÃO	NÃO	0/NE	23	PANC.NH
253	NÃO	NÃO	I/MOD.	441	0

PAC.ID.: identificação do paciente; DVO: doença venooclusiva de fígado; S.:sepsis; Ps: *Pseudomonas sp*; Can: *Candida sp*; PN:pneumonia; ASPER: *Aspergillus sp*; CH.SEP: choque séptico; IC: insuficiência cardíaca; AM: acidose metabólica; PANC.NH: pancreatite necrohemorrágica. SOBREVIDA: é em DIAS.

Os demais resultados serão apresentados, separadamente, por grupos de pacientes de acordo com o tipo de condicionamento, para uma análise mais apropriada.

Dos sete pacientes condicionados com ciclofosfamida 200 mg/Kg, as complicações relacionadas ao condicionamento foram:

- Mucosite severa:..... 7 pacientes.
 - com eliminação de cilindro epitelial mucoso necrótico de esôfago:..... 3 pacientes.
 - formação de pseudomembranas em mucosa oral:..3 pacientes.
- Hemorragia gastrointestinal:..... 4 pacientes.
- Eritema cutâneo extenso:..... 3 pacientes.
- Cistite hemorrágica:..... 2 pacientes.
- Diarréia:..... 2 pacientes.
- Acantose nigricans:..... 1 paciente.
- Insuficiência cardíaca:..... 1 paciente.
- Retenção hídrica:..... 1 paciente.
- Hepatomegalia e icterícia (não relacionadas a insuficiência cardíaca, retenção hídrica ou doença venooclusiva hepática):..... 1 paciente.
- Pancreatite necrohemorrágica:..... 1 paciente.
- Acidose metabólica:..... 1 paciente.
- Vulvovaginite severa:..... 1 paciente.

Outras complicações ocorridas neste grupo:

- Doença venooclusiva hepática severa:..... 3 pacientes.
- Doença enxerto contra hospedeiro aguda: em 4 de 7 pacientes (57,1%), sendo grau I em 3, e grau II em 1 paciente.
- Doença enxerto contra hospedeiro crônica: em 2 de 3 pacientes avaliáveis. Foram considerados avaliáveis os pacientes deste grupo com sobrevida maior que 70 dias.
A complicação foi leve e limitada em ambos.

Infecções:

Ocorreram episódios de septicemias por:

- *Enterobacter agglomerans*:..... 1 paciente.
- *Pseudomonas sp*:..... 1 paciente.
- *Klebsiella pneumoniae*:..... 1 paciente.
- *Acinetobacter calcoaceticus*:..... 1 paciente.
- *Candida sp*:..... 1 paciente.
- Bactéria não identificada:..... 3 pacientes
(estes pacientes tinham clínica de septicemia).

Pega do enxerto ocorreu em todos, documentada pela elevação no número de leucócitos no sangue periférico.

Sobrevida: tres estão vivos (42.8%) aos 871, 1184 e 1238 dias pós-transplante de medula óssea, contados da data do transplante até 31/01/92. Quatro pacientes morreram aos 17, 23, 27 e 27 dias.

As causas de óbito foram:

- | | |
|--|-------------|
| - DVO severo + sepsis por <i>Pseudomonas sp</i> e <i>Candida sp</i> :..... | 1 paciente. |
| - Pancreatite necrohemorrágica:..... | 1 paciente. |
| - DVO severo + insuficiência cardíaca:..... | 1 paciente. |
| - DVO severo + choque endotóxico:..... | 1 paciente. |

Os dois pacientes condicionados com ciclofosfamida 20 mg/Kg de peso corporal associada com irradiação corporal total 4 Gy, baseado no protocolo idealizado por Gluckman, receberam apenas methotrexate como imunoprofilaxia, pelo fato de que, nesta época, não tínhamos ciclosporina ainda disponível em nosso meio. Ambos desenvolveram apenas mucosite leve. A pega do enxerto ocorreu em ambos. Um paciente rejeitou o transplante no dia +32, após pega documentada por elevação do número de leucócitos em sangue periférico. Este paciente foi recondicionado com ciclofosfamida 200 mg/Kg de peso corporal, associada com irradiação corporal total 4 Gy, e recebeu a segunda infusão de

medula óssea no dia +39 (contagem a partir do primeiro transplante). Porém, complicou com retenção hídrica, hepatomegalia, pneumonia por *Aspergillus sp* e sepsis por *Staphylococcus aureus*, foi a óbito no dia +44 por hemorragia pulmonar maciça. A pega do segundo transplante não foi avaliável.

O segundo paciente transplantado com o mesmo condicionamento fez infecção de túnel de cateter por *Pseudomonas sp*, com necrose que evoluiu para septicemia apesar de cobertura antibiótica adequada, insuficiência cardíaca, hemorragia pulmonar maciça e foi a óbito no dia +9, porém já com evidências de pega do enxerto em sangue periférico, com elevação do número de leucócitos.

A última paciente transplantada foi condicionada com ciclofosfamida 140 mg/Kg de peso corporal, associada com globulina anti-timocítica 90 mg/Kg de peso corporal. Evoluiu com mucosite insignificante clinicamente, complicou com doença enxerto contra hospedeiro aguda grau I, que evoluiu para doença enxerto contra hospedeiro crônica extensa, moderada, com contagem plaquetária normal. Está viva e bem no dia +441 pós-transplante. Esta paciente é irmã do outro sobrevivente condicionado com ciclofosfamida 200 mg/Kg de peso e que desenvolveu mucosite severa após condicionamento.

5. DISCUSSÃO

O TMO na AF tem características peculiares, pela sua hipersensibilidade, que provocaram várias mudanças estratégicas em regimes de condicionamento, profilaxia e suporte.

Ao compararmos a nossa experiência institucional com outras, análise estatística não tem sentido, pela sua óbvia não significância, devido ao pequeno número de casos. Os resultados universais de TMO, em anemia aplástica não Fanconi têm melhorado, assim como têm melhorado os resultados em AF. Uma sobrevida longa em AAS de até 90% tem sido obtida em diferentes centros³¹⁻⁴¹⁻⁴²⁻⁴³ e até resultados surpreendentes de quase 95% foram alcançados em nossa própria instituição, em determinados grupos de pacientes⁵². Esta melhora se deve a vários avanços como o melhor conhecimento da fisiopatologia da doença, a melhor indicação, a melhora das técnicas de tratamento suportivo, o suporte transfusional, a utilização de novos regimes de condicionamento e os novos agentes imunossupressores tal como a ciclosporina-A.

Portanto, o diagnóstico preciso da doença é mandatório pois anemia de Fanconi, é bastante diferente das outras anemias aplásticas, mesmo das constitucionais como a disceratose congênita que tem sido precocemente distinguida pela sua manifestação inicial mais tardia, ocorrência de distrofia

ungueal, leucoplasia de superfícies mucosas e alta incidência de tumores malignos epiteliais. Os achados cromossômicos tem sido normais na maioria dos casos publicados, mas alguns autores tem descrito um número aumentado de quebras cromossômicas. Na experiência de Gluckman facilmente se distinguem estas duas doenças. Ela transplantou dois casos de disceratose congênita complicada por anemia aplástica severa e nenhum tinha anormalidade cromossômica. Ambos foram condicionados com o protocolo para anemia aplástica severa, incluído 150 mg/Kg de ciclofosfamida e 6 Gy de irradiação toracoabdominal. Não houve sinais de intolerância à ciclofosfamida, a evolução imediata pós-transplante foi sem complicações. Ambos desenvolveram, tres e sete anos pós transplante, sinais de lesão endotelial com vasculite difusa. Por esta observação sugere-se que as células endoteliais da disceratose congênita podem ser anormalmente sensíveis aos agentes usados no condicionamento.

O diagnóstico preciso torna-se um aspecto crítico quando a história familiar é negativa ou más-formações não são observadas. Parece que, particularmente para TMO, é mandatário testar todas as anemias aplásticas juvenis, não só para quebras cromossômicas espontâneas, mas também para o aumento de quebras após incubação com drogas apropriadas. A padronização de tais técnicas será muito útil na detecção de tais casos. Na série, de Gluckman⁵⁰, com 183 casos transplantados por anemia aplástica severa, o diagnóstico de AF era geralmente fácil, no entanto erros foram cometidos em dois casos. Um paciente desenvolveu anemia

aplástica severa com idade de dez anos, não tinha más-formações sugestivas de AF e nem história familiar. Vários estudos citogenéticos foram realizados, alguns eram normais e um mostrou 4% de quebras cromossômicas com um aumento para 16% após incubação com mostarda nitrogenada. Esta anormalidade foi interpretada como insuficiente para confirmar o diagnóstico de AF. O paciente foi transplantado com idade de 16 anos, condicionado com ciclofosfamida 150 mg/kg e irradiação de 6 Gy toracoabdominal. Logo após TMO desenvolveu cistite hemorrágica, hemorragia gastrointestinal e rash de pele, todos sintomas similares àqueles vistos nos cinco pacientes iniciais transplantados após alta dose de ciclofosfamida, morreu no dia 40, de edema pulmonar agudo. Posteriormente foi classificado como tendo anemia de Fanconi. O outro paciente foi diagnosticado, aos tres meses de idade, como tendo anemia de Blackfan-Diamond. Ele tinha várias más-formações, incluindo microftalmia e anormalidade do esqueleto e polegar e más-formações cardíacas similares às observadas na AF. Com dois anos de idade, em adição à anemia, desenvolveu agranulocitose com infecções severas repetidas, a sua contagem plaquetária permaneceu normal. Repetidas análises cromossômicas foram discordantes. Uma mostrou aumento nas quebras cromossômicas nos linfócitos de sangue periférico e duas análises foram normais, sem aumento da sensibilidade a agentes alquilantes. Um estudo da medula óssea mostrou um aumento nas quebras cromossômicas, o teste da pele para radiosensibilidade foi anormal. Ele foi condicionado

como AF. Teve boa pega, mas seis meses após o transplante rejeitou o enxerto com um reaparecimento de eritroblastopenia e agranulocitose.

A prevenção da AF pode ser feita por diagnóstico pré-natal se houver história familiar positiva. A chance de encontrar um doador em AF é um pouco maior que o habitual por causa da freqüência de consangüinidade nas famílias dos pacientes. Para aqueles que não tem doador familiar HLA idêntico, há estudos em progresso para o uso de doadores compatíveis não familiares ou para o uso de doadores familiares parcialmente compatíveis, a exemplo da série que comentaremos a seguir.

Hows³²⁻³³ descreveu experiência de dez anos, sendo que 19/21 pacientes receberam um regime de condicionamento utilizando baixa dose de ciclofosfamida e radioterapia, baseado no protocolo de Gluckman. Nenhuma correlação foi encontrada entre a radiosensibilidade testada pré-transplante e a toxicidade clinicamente observada do regime de radiação administrado para transplante de medula óssea. Na série de Hows, somente uma morte ocorreu de cardiotoxicidade em 19 pacientes recebendo regime de baixa dose. Uma morte adicional por doença venoclusiva hepática foi associada com a toxicidade do regime de condicionamento.

Apesar da sobrevida global de nossos pacientes, ser de 40%, não será, provavelmente, inferior à dos outros centros, pois o pequeno número de casos, por si só, justifica essa diferença. Nós experimentamos a mesma toxicidade severa com ciclofosfamida em altas doses.

Nos resultados globais da literatura, de um total de 21 pacientes com AF revisados por Gluckman⁵⁰, condicionados com uma dose alta de ciclofosfamida, 38% tornaram-se longos sobreviventes.

O grupo de Seattle⁴⁰ descreveu, inicialmente, TMO em oito pacientes com AF, usando dose padrão de ciclofosfamida: 200 mg/Kg, sem a irradiação. Quatro de 8 pacientes sobreviviam na época da publicação, esta experiência inicial sugeria que uma toxicidade decorrente das altas doses de ciclofosfamida não era inevitável, podendo depender da severidade subjacente do defeito de reparação do DNA que varia em diferentes famílias afetadas pela AF. Atualmente, com um total de 17 pacientes transplantados por AF, confirmam toxicidade moderada a severa em pacientes que foram condicionados com regimes convencionais associando ciclofosfamida + irradiação corporal total, bussulfan + ciclofosfamida ou ciclofosfamida somente. Estes resultados devem ser comparados com o regime de condicionamento modificado, que inclui ou não uma dose bem mais baixa de ciclofosfamida. Auerbach demonstrou que as células de Fanconi não eram mais sensíveis do que as células normais, à quebra cromossômica induzida por procarbazina. Assim idealizou um condicionamento com 12.5 mg/Kg/dia administrada em tres doses no decorrer de seis dias, alternando com tres doses de ATGAM 15 mg/Kg/dia e seguida por uma radiação corporal total de baixa dose: 7 Gy, este regime foi usado em tres pacientes, com boa tolerância, apresentando mucosite leve. Destes tres pacientes,

dois estão vivos, mas o seguimento era curto na época da publicação dos resultados. Um paciente morreu precocemente de hemorragia cerebral. Subseqüentemente com a diminuição da dose ou com a omissão da ciclofosfamida do regime condicionante os resultados melhoraram passando de 38% para 70% de sobrevida longa.

Os resultados obtidos por Gluckman com o regime modificado de condicionamento não variam, marcadamente, em relação àqueles observados em pacientes transplantados por outras causas de anemia aplástica. Informações preliminares, não publicadas, informam que Gluckman⁵⁰ soma atualmente um total de 26 pacientes transplantados para AF, tendo 70% deles uma sobrevida longa, todos condicionados com ciclofosfamida 20 mg/Kg de peso corporal (dose total), associada com irradiação toracoabdominal 5 Gy, e não encontrou influência do sexo do doador na incidência da DECH e na sobrevida.

Também no grupo de Hows nenhum problema tóxico infreqüente foi encontrado com o regime usado, de ciclofosfamida em baixa dose. A sobrevida global no grupo de baixa dose de ciclofosfamida é de 9/19 (47%), com 6/10 (60%) dos pacientes transplantados com doador HLA idêntico, mas somente 2/9 (22%) sobrevivendo nos transplantes com doador HLA não idêntico. Ambos os sobreviventes do grupo HLA não idênticos, têm um doador HLA fenotipicamente idêntico. Um é familiar, o outro não familiar, eram minimamente transfundidos e em boas condições físicas, na época do transplante. Todos os sobreviventes tem sangue periférico normal,

quimerismo doador/receptor não tem sido testado em sobreviventes longos, contudo, recorrência da AF parece improvável na presença de contagem sangüínea normal. O padrão de crescimento pós-tmo tem sido muito variável, mas todos os pacientes, segundo Hows, tem apresentado algum crescimento.

O grupo de Seattle, com 17 pacientes transplantados, mostra sem surpreender, que a evolução pós-transplante é marcadamente superior em pacientes sem transformação leucêmica. Quatro de cinco pacientes transplantados em transformação leucêmica morreram precocemente: dias +12, +39, +41, e +43 pós TMO. As causas de morte foram:

- insuficiência renal,
- pneumonite intersticial idiopática,
- pnemunonia por *Candida* e
- aspergilose;

Os pacientes morreram sem evidência periférica ou em medula óssea de leucemia. O material da medula óssea do paciente que morreu no dia +12 não era avaliável.

Tivemos uma incidência relativamente baixa de DECH aguda (10%), e relativamente alta de DECH crônica.

Nos resultados globais da literatura, de um total de 21 pacientes com AF revisados por Gluckman, condicionados com uma dose alta de ciclofosfamida, 71% desenvolveram doença enxerto contra hospedeiro aguda³⁴.

Nos resultados obtidos por Gluckman com o regime modificado de condicionamento observou-se um número relativamente baixo de doença enxerto contra hospedeiro crônica severa, cinco em 15 pacientes avaliáveis (33%). Esta diferença foi postulada ser devida a um número pequeno de pacientes ou talvez, a um defeito do fibroblasto na AF em produzir fibrose através de ativação pelo linfócito do doador ou pela ocorrência de um quimerismo misto.

No grupo com doadores HLA não idêntico, descrito por Hows, entre os dois sobreviventes de longo tempo, um teve doença enxerto contra hospedeiro crônica, que está em fase de resolução. A incidência de doença enxerto contra hospedeiro, tanto aguda quanto crônica, foi mais alta no grupo HLA idêntico com doadores irmãos, do que aquela esperada para crianças em idade similar transplantadas por anemia aplástica severa⁴⁴⁻⁴⁵. Muito poucos pacientes no grupo HLA não idêntico foram avaliáveis para DECH, para se comentar a sua incidência ou severidade.

Tivemos apenas um caso de rejeição. No grupo de Hows sete entre nove pacientes transplantados com doadores não idênticos tiveram a medula óssea do doador depletada de células T com Campath 1-M, um anticorpo anti células T. O uso de depleção de células T pode ser facilmente responsável pela alta incidência de falha de pega do enxerto no grupo HLA não idêntico⁴⁶. Pega do enxerto após transplante HLA idêntico foi satisfatório, com somente uma falha nos casos avaliáveis. A falha ocorreu após infusão de uma medula óssea com depleção de células T. Por causa da sensibilidade da AF à drogas citotóxicas, é difícil modificar

os protocolos imunossupressores para aumentar a pega do enxerto em transplantes com depleção de células T. O uso de globulina antilinfocítica ou anticorpos monoclonais anti T no período pré transplante e precocemente pós TMO (ou imediatamente após TMO) deve ser considerado. No grupo de Seattle, exceto por um paciente, independente da intensidade do regime condicionante, todos tiveram pega sustentada. O fato interessante é que o doador do único paciente que rejeitou, apresentava uma variável instabilidade cromossômica, o que enfatiza a questão acerca do diagnóstico de AF no doador.

Em pacientes sem transformação leucêmica, a dose baixa de ciclofosfamida somente (35 mg/Kg/dia x 4) pode ser suficiente para transplantes com doador irmão HLA compatível. Esta eficácia de ciclofosfamida em baixas doses, em manter uma pega sustentada, pode ser explicada pela alta sensibilidade dos linfócitos de AF à agentes alquilantes.

A tabela 13 compara a incidência de doença enxerto contra hospedeiro aguda e crônica, rejeição e sobrevida entre os resultados de Gluckman, Hows, de Seattle e da UFPr. A figura 1 é uma representação gráfica da tabela 13, apenas como efeito didático para uma melhor visualização e comparação dos resultados.

TABELA 13

Comparação entre os principais grupos de transplante de medula óssea em anemia de Fanconi, com relação à doença enxerto contra hospedeiro aguda e crônica, rejeição e sobrevida.

	GLUCKMAN	HOWS		SEATTLE	UFPR
		HLA=	HLA<>		
DECH-A	11/19 (58%)	6/8 (75%)	3/7 (43%)	7/17 (41%)	1/10 (10%)
DECH-C	5/15 (33%)	3/7 (43%)	2/4 (50%)	4/10 (40%)	3/4 (75%)
REJEIÇÃO	1/19 (5,3%)	1/9 (11%)	4/9 (45%)	0	1/10 (10%)
SOBREVIDA	14/19 (74%)	6/10 (60%)	2/9 (22%)	8/17 (47%)	4/10 (40%)

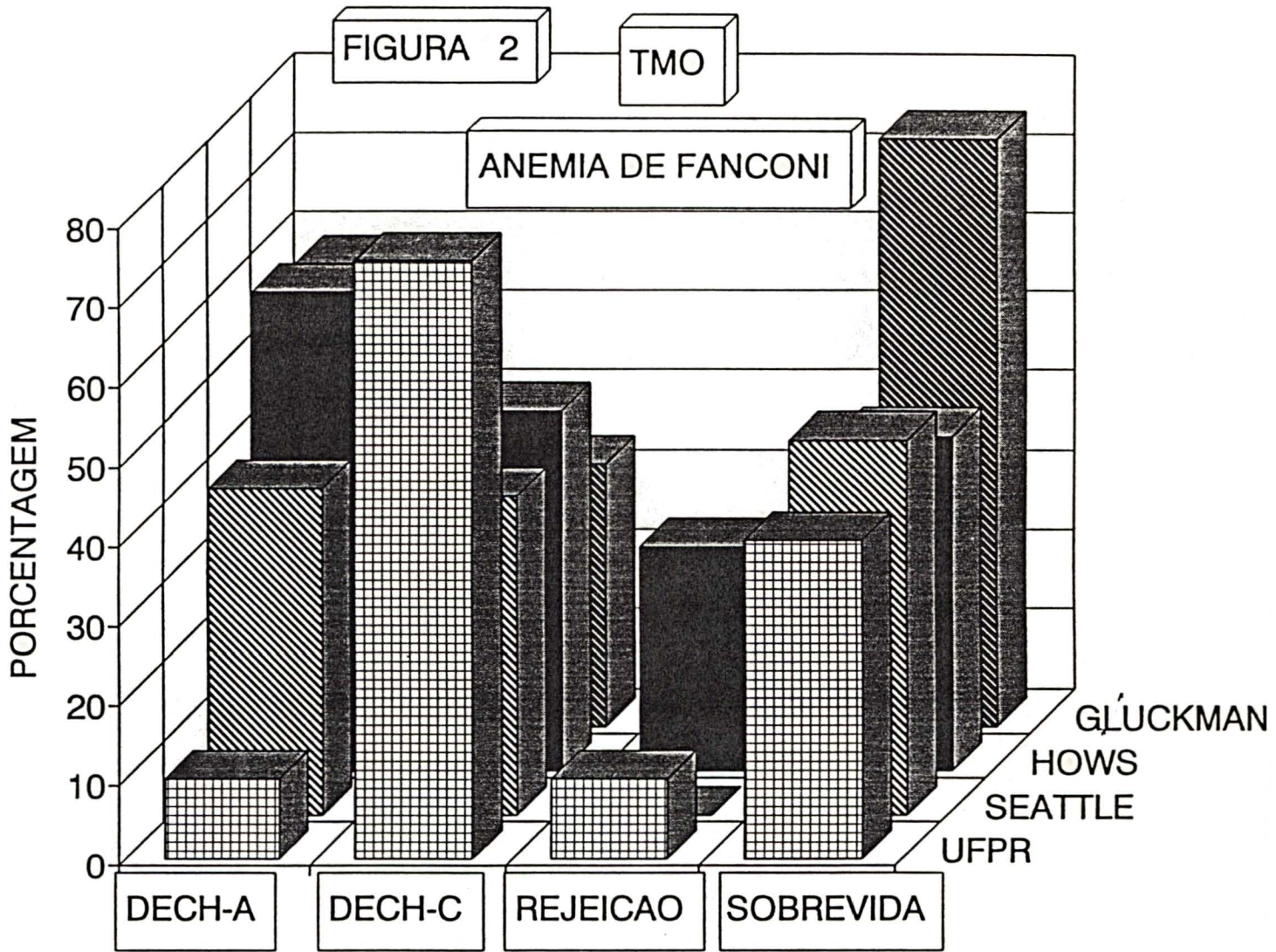
DECH: doença enxerto contra hospedeiro; -A: aguda; -C: crônica.

HLA=: grupo HLA idêntico, HLA<>: grupo incompatível.

FIGURA 2

TMO

ANEMIA DE FANCONI



No entanto, pode-se claramente observar uma marcante heterogeneidade nos regimes de condicionamento, que é uma conseqüência de dois motivos principais: primeiro por um melhor conhecimento das características da doença, ao longo dos anos, em resposta aos regimes condicionantes, e segundo pelo desconhecimento, ainda, de qual a melhor técnica, e portanto, uma constante modificação nos planos de tratamento, na busca do ideal.

Apesar do número, de sobreviventes, apresentados nestes relatos ser pequeno, sugere-se que pacientes recebendo um número mínimo de transfusões pré-transplante e pacientes transplantados em fase hipoplástica, sobrevivem mais freqüentemente do que os pacientes multiplamente transfundidos e do que aqueles transplantados já em transformação leucêmica. É razoável recomendar TMO para AF em pacientes com doadores clinicamente normais, sendo irmãos e HLA idênticos, ou parentes relacionados compatíveis fenotipicamente, na fase de hipoplasia, antes das transfusões regulares tornarem-se necessárias. Baixas doses de andrógenos: oximetolona 0.5 a 1 mg/Kg é associada com melhora temporária na função de medula óssea, na maioria dos pacientes com AF. Esta terapia previne a necessidade de transfusões, enquanto o transplante está sendo planejado, o que na maioria dos casos pode ser um procedimento eletivo, quando for mais apropriado para a família do paciente. A experiência de Hows indica que heterozigotos para AF, incluindo os pais, são doadores possíveis. Deve ser considerada, precocemente, no início da doença, a procura de um

doador não relacionado, no caso de pacientes sem um doador disponível na família. É possível, freqüentemente, manter o paciente independente de transfusões com baixas doses de andrógenos, enquanto um doador não relacionado esteja sendo procurado. Porém os resultados de TMO com doador alternativo tem sido pobre e deve ser melhorado antes que este tipo de transplante seja genericamente recomendado para o tratamento de AF. A principal causa de insucesso no transplante de medula óssea para anemia de Fanconi com doador não relacionado tem sido rejeição⁴⁸. Para pacientes com AF sem doador familiar HLA idêntico, só resta a possibilidade de corrigir a doença com doador não relacionado⁴⁹.

Não há diferença significativa da sobrevida actuarial entre transplantes com doador não relacionado e familiar incompatível⁴⁹. Contudo, ambos os grupos sobrevivem menos que pacientes transplantados com doadores HLA idênticos. Desaconselha-se o uso de doador familiar com incompatibilidade total, devido a alta incidência de complicações relacionadas ao transplante⁴⁹. A sobrevida com doadores fenotipicamente idênticos, sendo familiares ou não familiares é superior à sobrevida dos pacientes transplantados com incompatibilidade de um ou mais antígenos. O número de pacientes é pequeno para análise multivariada ou de outros fatores que possam afetar a sobrevida. Nos transplantes incompatíveis, familiares ou não, a depleção de células T, traz um alto índice de falhas fatais de pega do enxerto. Nos transplantes incompatíveis sem depleção de células T

registra-se uma alta incidência de DECH fatal⁴⁹.

Os maus resultados para transplante em pacientes com transformação leucêmica alerta os hematologistas para um encaminhamento precoce dos pacientes para TMO. O aparecimento de tumor maligno em dois pacientes, mais de dez anos após transplante é de interesse. Desde que, pacientes com AF têm, por si só, alto risco para desenvolver neoplasia maligna, é impossível discernir se o desenvolvimento de tumor foi um evento "endógeno" ou relacionado com o procedimento do transplante, que também pode aumentar o risco de desenvolvimento de neoplasia secundária.

Outra pequena série, que merece ser observada, de pacientes transplantados por AF foi relatada por outros centros³⁴⁻⁴⁷. Os transplantes eram, predominantemente, de doadores irmãos HLA idênticos.

Nós não temos experiência com Fanconi em transformação leucêmica ou transplante de doadores não compatíveis ou não relacionados. Porém, nosso principal objetivo foi cumprido: demonstrar a curabilidade desta, até há pouco incurável e fatal doença, e também de nos defrontarmos com o desafio de aperfeiçoar técnicas de transplante que sobrepujem a toxicidade e reduzam a incidência de doença enxerto contra hospedeiro, e que ao mesmo tempo, também evitem a transformação leucêmica ou segunda neoplasia, inerentes à própria evolução natural da anemia de Fanconi. A idéia do condicionamento associando globulina antitimocítica com doses menores de ciclofosfamida, traz o

vislumbre de um regime do condicionamento pelo menos, menos tóxico, mas que precisa maior número de casos para uma melhor avaliação. Assim como temos que, regularmente, levar em consideração os constantes avanços nas técnicas de transplante e sempre considerarmos sua aplicabilidade na anemia de Fanconi, que esperamos ser uma doença facilmente curável nos próximos anos.

6. CONCLUSÕES

- 1) Nós temos uma das maiores experiências mundiais em transplante de medula óssea, em anemia de Fanconi.
- 2) Também provamos que AF é uma doença atualmente curável, através do transplante de medula óssea.
- 3) Constatamos a mesma toxicidade descrita na literatura nos pacientes condicionados com dose alta de ciclofosfamida, porém, apesar da gravidade das complicações em sete pacientes, conseguimos superá-la em tres.
- 4) Em um dos pacientes condicionados com protocolo semelhante ao descrito por Gluckman, e também único paciente avaliável para tal, ocorreu rejeição, o que nos leva a questionar a possível incidência real de rejeição neste grupo e a possível ineficácia com relação a pega sustentada, e também a validade de se reduzir a dose de ciclofosfamida, mas acrescentar radioterapia no condicionamento à qual estes pacientes são também hipersensíveis.
- 5) Não temos dúvida de que há necessidade de se definir um novo protocolo que use drogas imunossupressoras que sejam bem toleradas por estes pacientes e que permitam uma pega sustentada, com uma incidência aceitável de rejeição, por exemplo: conforme revisto, de procarbazina com ATGAM que parece ter tido sucesso em tres pacientes, assim como, apesar de um único caso nosso (e

outro único de Seattle), do transplante bem sucedido associando ciclofosfamida e ATGAM.

- 6) O melhor conhecimento da fisiopatologia da doença, melhor indicação do transplante, melhor seleção de doadores, o desenvolvimento de melhores técnicas de suporte ao longo dos anos, com certeza, nos levarão a um índice bem maior de sucesso.
- 7) Há necessidade de se universalizar estudos citogenéticos evolutivos pós transplante de medula óssea, para melhor entendimento do quimerismo em AF pós TMO.
- 8) Há particular necessidade de se comparar a incidência de neoplasia secundária pós TMO no grupo AF e não AF, para melhor entendermos a influência da AF nesta complicação a longo prazo quando comparada com a teratogenicidade habitual dos regimes de condicionamento.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FANCONI, G. Familiare infantile periziosaartige anaemie (perizioses Blutbild and Konstitution). Z Kinderheilk, 117:257-268, 1927.
2. PASQUINI, R.; RIBEIRO, R.C.; CAT, I.; MENDONÇA, C.M.C. ; SILVA, P.H.; MAGDALENA, N I.R.; BARALDI, M.C.S.; BONFIN, C.; BARROS, L.R. Heterogeneidade Clínica e Biológica da Anemia de Fanconi. Anais do XII Congresso Nacional do Colégio Brasileiro de Hematologia. Fortaleza, 24 a 29 setembro de 1989.
3. NAEGELI, O. 1931. Blutkrankheiten and blutdiagnostic, 5 Aufl. Berlin - citado por BEARD et alii. Fanconi's anaemia - Quarterly Journal of Medicine, 166:403-422, april, 1973.
4. AUERBACH, A.D.; WEINER, M.A.; WARBURTON, D. et alii. Acute myeloid leukemia as the first hematological manifestation of Fanconi,s anemia. Am. J. Hematol., 12:289-300, 1982.
5. GLUCKMAN, E. Bone marrow transplantation for Fanconi's anemia. Aplastic Anemia and Other Bone Marrow Failure Syndromes. Shahidi NT(ed.). Springer-Verlag, :134-144, New York, 1990.
6. GLUCKMAN, E.; BERGER, R.; DUTREIX, J. Bone Marrow Transplantation for Fanconi Anemia. Seminars in Hematology, 21(1) january, 1984.
7. GORDON-SMITH, E.C.; RUTHERFORD, T.R. Fanconi Anemia: Constitutional Aplastic Anemia. Seminars in Hematology, 28

- (2):104-112, april, 1991.
8. ALTER, B.P. Constitutional Aplastic Anemia. Aplastic Anemia and Other Bone Marrow Failure Syndromes. Shahidi, N.T. (ed.). Springer-Verlag: 38-50, New York, 1990.
 9. LI, F.P.; ALTER, B.P.; NATHAN, D.G. The mortality of acquired aplastic anemia in children. Blood, 40:153-162, 1972.
 10. CAMITTA, B.M.; STORB, R.; THOMAS, E.D. Aplastic anemia (second of two parts). Pathogenesis, diagnosis, treatment, and prognosis. New Engl. J. Med., 306:712-718, 1982.
 11. WINDASS, B.; VOWELS, M.R.; HUGHES, D.O.; WHITE, L. Aplastic anaemia in childhood: prognosis and approach to therapy. Med. J. Aust., 146(1):15-9, Jan. 5, 1987.
 12. FUKUOKA, K.; NISHIKAWA, K.; MIZUMOTO, Y.; SHIMOYAMA, T.; MIKASA, K.; KOUNOIKE, Y.; SAWAKI, M.; NARITA, N.; OKA, R.; TSURUTA, Y.; et alii. Fanconi's anemia with squamous cell carcinoma - a case report and a review of literature. Rinsho Ketsueki, 30(11):1992-6, nov., 1989.
 13. AUERBACH, A.D.; ROGATKO, A.; SCHROEDER-KURTH, T.M. International Fanconi Anemia Registry (IFAR): First report. In: SCHROEDER-KURTH, T.M.; AUERBACH, A.D.; OBE, G. Fanconi anemia, Clinical, Cytogenetic and Experimental Aspects. Heidelberg, Springer-Verlag, :3-17, 1989.
 14. AUERBACH, A.D. Cytogenetics in Constitutional Aplastic anemia. Aplastic Anemia and Other Bone Marrow Failure Syndromes. Shahidi NT(ed.), Springer-Verlag, :51-62, New York, 1990.

15. LI, F.P.; POTTER, N.U. Classical Fanconi anemia in a family with hypoplastic anemia. J. Pediatr., 92:943-944, 1978.
16. SCHROEDER, T.M.; ANSCHUTZ, F.; KNOFF, A. Spontane Chromosomenaberrationen bei familiärer Panmyelopathie. Humangenetik, 1:194-196, 1964.
17. SCHULER, D.; KISS, A.; FABIAN, F. Chromosomal peculiarities and "in vitro" examinations in Fanconi's anaemia. Humangenetik, 7:314-322, 1969.
18. BERGER, R.; BERNHEIM, A.; GLUCKMAN, E.; et alii. In vitro effect of cyclophosphamide metabolites of Fanconi anaemia patients. Br. J. Haematol., 45:557-564, 1980.
19. AUERBACH, A.D.; ADLER, B.; O'REILLY, R.J.; et alii. Effects of procarbazine and cyclophosphamide on chromosome breakage in Fanconi anaemia cells - relevance to bone marrow transplantation. Cancer Genet Cytogenet, 9:25-36, 1983.
20. KEABLE, H.; BOURHIS, J.H.; BRISON, O.; LEHN, P.; VILMER, E.; DEVERGIE, A.; GLUCKMAN, E. DNA fingerprinting to study long term chimerism in bone marrow transplantation (BMT) recipients for severe aplastic anemia (SAA). Exp. Hematol., 15:535, 1987.
21. HIGURASHI, M.; CONEN, P.E. In vitro chromosomal radiosensitivity in Fanconi's anaemia. Blood, 38:336-342, 1971.
22. GLUCKMAN, E.; DEVERGIE, A.; DUTREIX, J. Radiosensitivity in Fanconi anaemia, application to the conditioning regimen for bone marrow transplantation ?. Br. J. Haematol., 54:431-440, 1983.

23. DUTREIX, J.; WAMBERSIE, A.; BOUNIK, C. Cellular recovery in human skin reactions. Application to dose fraction number overall time relationship in radiotherapy. Eur. J. Cancer, 9:59-167, 1973.
24. VELLENGA, E.; WOLF, J.T.; HALIE, M.R. Recombinant erythropoietin failed to correct anemia in Fanconi syndrome (letter). Leukemia, 3(12):858, Dec, 1989.
25. SHAHAM, M.; ADLER, B. Chromosome breakage in Fanconi's anemia and normal cells following in vitro and in vivo cocultivation. Cancer Genet Cytogenet, 23(4):315-20, Dec., 1986.
26. DIGWEED, M.; SPERLING, K. Identification of a Hela mRNA fraction which can correct the DNA-repair defect in Fanconi anaemia fibroblasts. Mutat Res., 218(3):171-7, Nov., 1989.
27. RUMIANTSEV, A.G.; SAMOCHATOVA EV, AFANASEV, I.B.; KORKINA, L. G.; SUSLOVA, T.B. Rol'svobodnykh radikalov kislороda v patogeneze anemii Fankoni. (The role of free oxygen radicals in the pathogenesis of Fanconi's anemia.) Ter Arkh, 61(7):32-6, 1989.
28. AUERBACH, A.D.; ADLER, B.; CHAGANTI, R.S.K. Prenatal and post natal and carrier detection of Fanconi anemia by cytogenetic method. Pediatrics, 67:128-135, 1981.
29. AUERBACH, A.D.; ROGATKO, A.; SCHROEDER-KURT, T.M. International Fanconi Anemia Registry: Relation of Clinical Symptoms to Diepoxybutane Sensitivity. Blood, 73:391-396, 1989.
30. GLUCKMAN, E.; DEVERGIE, A.; SCHAUM, G.; et alii. Bone marrow

- transplantation in Fanconi's anaemia. Br. J. Haematol., 45: 557-564, 1980.
31. GLUCKMAN, E.; DEVERGIE, A.; BENBUNAM, M.; et alii. Bone Marrow Transplantation in severe aplastic anaemia using cyclophosphamide and thoraco-abdominal irradiation. Aplastic Anaemia: Stem Cell Biology and Advances in Treatment. : 325-333, New York, Liss, 1984.
32. HOWS, J.; DURRANT, S.; SWIRKEY, D.; YIN, J.; WORSLEY, A.; GORDON-SMITH, E. Fanconi's anaemia treated by allogenic marrow transplantation. Exp. Hematol., 15:566, 1987.
33. HOWS, J.; CHAPPLE, M.; MARSH, J.C.W.; DURRANT, S.; YIN, J.L.; SWIRSKY, D.; GORDON-SMITH, E.C. Bone Marrow transplantation for Fanconi's anaemia: the Hammersmith experience 1977-1989. Bone Marrow Transplantation, 4:629-634, 1989.
34. DEEG, H.J.; STORB, R.; THOMAS, E.D.; et alii. Fanconi's anaemia treated by allogenic bone marrow transplantation. Blood, 61:954-959, 1983.
35. FRIEDRICH, W.; EBELL, W.; BLOTTERS-SAWATZKI, R.; JUNKER, A.; HOBENER, K.H.; SCHROEDER-KURTH, T.; KOHNE, E; KLEIHAUER, E. Die Behandlung der Fanconi Anemie durch Knochenmark transplantation (treatment of Fanconi anemia by bone marrow transplantation). Monatsschr Kinderheilkd, 135 (5): 253-8, May, 1987.
36. SOKAL, E.; MICHEL, M.; NINAME, J.; LATINNE, D.; de BRUYERE, M.; CORNU, G. Bone marrow transplantation from an unrelated donor for Fanconi's anaemia: two unusual complications. Bone

- Marrow Transplant, 2(1):99-102, Jun., 1987.
37. ZINTL, F.; HERMAN, J.; FUCHS, D.; PRAGER, J.; MOLLER, A.; REINERS, B.; BURGER, E.; GOETZ, I.; KOB, D. Status of allogenic bone marrow transplantation in childhood in the GDR. Folia Haematol. (Leipz), 116(3-4):389-96, 1989.
38. BROXMEYER, H.E.; GLUCKMAN, E.; AUERBACH, A.; DOUGLAS, G.W.; FRIEDMAN, H.; COOPER, S.; HAN, G.; KURTZBERG, J.; BARD, J.; BOYSE, E.A. Human umbilical cord blood: a clinical useful source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. Int. J. Cell Cloning, 1(8):76-89 discussion 89-91, Jan., 1990.
39. GLUCKSBERG, H.; STORB, R.; FEFER, A.; et alii. Clinical manifestations of graft versus host disease in human recipients of bone marrow from HLA matched sibling donors. Transplantation, 18:245-304, 1974.
40. FLOWERS, M.E.D.; DONEY, K.C.; STORB, R.; DEEG, H.J.; SANDERS, J.E.; SULLIVAN, K.M.; BRYANT, E.; WITHERSPOON, R.P.; APPELBAUM, F.R.; BUCKNER, C.D.; HANSEN, J.A.; THOMAS, E.D. Marrow transplantation for Fanconi anemia with or without leukemic transformation: an update of the Seattle experience. Bone Marrow Transplantation, 9(3):167-173, Mar., 1992.
41. HOWS, J.; HARRIS, R.; PALMER, S.; et alii. Immunosuppression with ciclosporin A in allogenic bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: Preliminary results. Br. J. Haematol., 48:227-236, 1981.

42. STORB, R.; DONEY, K.C.; THOMAS, E.D.; et alii. Marrow transplantation with or without donor buffy coat cells for 65 transfused aplastic anaemia patients. Blood, 59:236-246, 1982.
43. RAMSAY, N.K.C.; KIM, T.H.; McGLAVE, P.B.; et alii. Bone marrow transplantation for severe aplastic anaemia using the conditioning regimen of Cyclophosphamide and total lymphoid irradiation. Exp. Hematol., 10:139-142, 1983.
44. McGLAVE, P.B.; HAAKE, R.; MILLER, W.; et alii. Therapy of severe aplastic anemia in young adults and children with allogeneic bone marrow transplantation. Blood, 70:1331-1337, 1987.
45. SANDERS, J.E.; WHITEHEAD, J.; STORB, R.; et alii. Bone marrow transplantation: experience for children with aplastic anemia. Pediatrics, 77:179-186, 1986.
46. APPERLEY, J.F.; JONES, L.; HALE, G.; et alii. Bone marrow transplantation for patients with chronic myeloid leukemia: T cell depletion with Campath-1 reduces the incidence of graft versus host disease but may increase the risk of leukaemia relapse. Bone Marrow Transplant, 1:53-66, 1986.
47. GLUCKMAN, E. Bone marrow transplantation for Fanconi's anaemia. Baillieres Clin. Haematol., 1:153-161, 1989.
48. HOWS, J.M. Unrelated donor bone marrow transplantation for severe aplastic anaemia and Fanconi's anaemia. Bone Marrow Transplantation, 4:126-8, Dec., 1989.
49. HOWS, J.M.; YIN, J.L.; MARSH, J.; SWIRSKY, D.; JONES, L.;

- APPERLEY, J.F.; JAMES, D.C.O.; SMITHERS, S.; BATCHELOR, J.R.; GOLDMAN, J.M.; GORDON-SMITH, R.C. Histo incompatible Unrelated Volunteer Donors Compared With HLA Nonidentical Family Donors in Marrow Transplantation for Aplastic Anemia and Leukemia. Blood, 68(6):1322-1328, Dec., 1986.
50. GLUCKMAN, E.; ESPEROU, H.; DEVERGIE, A. Pediatric bone marrow transplantation for leukemia and aplastic anemia. Nouv Rev. Fr. Hematol., 31(2):111-4, 1989.
51. RIBEIRO, R.C.; SILVA, P.H.; MAGDALENA, N.; PASQUINI, R.; CAT, I. Fanconi's anemia: identifying affected patients and heterozygotes by cisplatin's effect on chromosomal instability. Blood, 74(7):102a/382, Dec., 1989.
52. PASQUINI, R. Transplante de medula óssea em anemia aplástica. Estudo em 108 casos. Tese de concurso para professor titular de clínica médica. UFPR, 1991.