

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SAMANTHA NICHELE

TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOÉTICAS PARA O TRATAMENTO DA
FALÊNCIA MEDULAR ASSOCIADA À DISCERATOSE CONGÊNITA: EXPERIÊNCIA DE 28
CASOS REALIZADOS EM UMA ÚNICA INSTITUIÇÃO.

Curitiba
2019

SAMANTHA NICHELE

TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOÉTICAS PARA O TRATAMENTO
FALÊNCIA MEDULAR ASSOCIADA A DISCERATOSE CONGÊNITA: EXPERIÊNCIA DE 28
CASOS REALIZADOS EM UMA ÚNICA INSTITUIÇÃO.

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação
em Clínica Médica, Setor de Ciências da Saúde,
Universidade Federal do Paraná, como requisito
parcial para a obtenção do título de Mestre em Clínica
Médica.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pasquini

Co-orientador: Dr. Rodrigo do Tocantins Calado de
Saloma Rodrigues

Curitiba
2019.

N594 Nichele, Samantha

Transplante de células-tronco hematopoéticas para o tratamento da falência medular associada à disceratose congênita: experiência de 28 casos realizados em uma única instituição. [recurso eletrônico] / Samantha Nichele. – Curitiba, 2023.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna e Ciências da Saúde. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pasquini

Coorientador: Prof. Dr. Rodrigo Calado

1. Disceratose Congênita. 2. Transplante de células-tronco hematopoéticas 3. Telômero. I. Pasquini, Ricardo. II. Calado, Rodrigo. III. Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna e Ciências da Saúde. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS/UFPR
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE, BIBLIOTECÁRIA: RAQUEL PINHEIRO COSTA
JORDÃO CRB 9/991



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MEDICINA INTERNA E
CIÊNCIAS DA SAÚDE - 40001016012P1

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em MEDICINA INTERNA E CIÊNCIAS DA SAÚDE da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de SAMANTHA NICHELE intitulada: **TRANSPLANTE DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOIÉTICAS PARA O TRATAMENTO DA FALÊNCIA MEDULAR ASSOCIADA À DISCRATOSE CONGÊNITA: EXPERIÊNCIA DE 28 CASOS REALIZADOS EM UMA ÚNICA INSTITUIÇÃO**, sob orientação do Prof. Dr. RICARDO PASQUINI, que após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

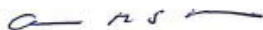
CURITIBA, 11 de Julho de 2019.


RICARDO PASQUINI

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)


RODRIGO DO TOCANTINS CALADO DE SALOMA RODRIGUES

Avaliador Externo (FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO)



CARMEM MARIA SALES BONFIM

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida e pela saúde

À minha família, minha mãe amada e meu irmão, que sempre me apoiam incondicionalmente em todos os passos da minha caminhada. Obrigada por todo o carinho, amor e paciência que me dedicam. Obrigada por continuarem presentes, mesmo quando mais estive ausente.

Aos professores Dra. Carmem Bonfim e Dr. Ricardo Pasquini, que com toda a paciência e seus ensinamentos têm guiado meus passos na minha carreira. Sou muito grata e tenho muito orgulho de trabalhar com vocês.

À toda a equipe do TMO pediátrico por toda a ajuda que me dedicaram durante a construção desse trabalho. Sem vocês seria impossível chegar até aqui.

Aos residentes do programa de Transplante de Medula Óssea Pediátrico, pelo carinho e pela ajuda em todos esses dias de trabalho;

Ao Dr. Rodrigo Calado e sua equipe, pela grande contribuição para o diagnóstico, para o crescimento do conhecimento e para o cuidado com os pacientes com Disqueratose Congênita;

A todos os demais colegas e amigos do serviço de TMO, à equipe de enfermagem, aos pacientes e às suas famílias;

RESUMO

Introdução: a Disceratose Congênita (DC) é uma doença genética rara que resulta de um defeito na estrutura dos telômeros, e é caracterizada por alterações mucocutâneas, falência de medula óssea (FMO) e uma alta predisposição ao câncer e à fibrose pulmonar. A falência de medula óssea continua sendo a principal causa de mortalidade. O transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH) é o único tratamento capaz de restaurar a hematopoiese porém é limitado pela alta mortalidade relacionada ao tratamento. Esta é uma análise retrospectiva de 28 pacientes com DC que foram submetidos ao TCTH no serviço de transplante de medula óssea do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, entre julho de 1993 e novembro de 2017. Resultados: 15 pacientes do sexo masculino e 13 do sexo feminino com mediana de idade de 14 anos (3 – 30 anos) receberam TCTH de um irmão HLA compatível (n=7), doador não aparentado compatível (n = 17) ou de um doador aparentado haploidêntico (n = 4). Vinte e sete pacientes receberam medula óssea (MO) e um paciente recebeu sangue de cordão umbilical (SCU). Dois pacientes receberam condicionamento mieloablativo com bussulfano (Bu) 12mg/Kg + ciclofosfamida (CFA) 120mg/Kg ou fludarabina (Flu) 150mg/m² + globulina antitimocítica de coelho (GAT). Os demais pacientes receberam condicionamento de intensidade reduzida com CFA 200mg/Kg (n=5), Flu 150mg/m² + CFA 60mg/Kg + GAT 5mg/Kg (n=17), e Flu 150mg/m² + CFA 30mg/Kg + irradiação corporal total 200rads (n=4, haploidêntico). A profilaxia da doença do enxerto contra hospedeiro (DECH) consistiu em ciclosporina (CSA) e metotrexate ou corticosteroide (CTC) ou CFA + CSA + micofenolato de mofetila nos transplantes haploidênticos. Vinte e seis de 27 pacientes avaliáveis apresentaram pega neutrofílica com mediana de 20 dias (13 – 36 dias). Um paciente apresentou falha primária de enxertia enquanto a falha secundária ocorreu em 3 pacientes. A doença do enxerto contra hospedeiro (DECH) aguda grau II-IV ocorreu em 6 de 26 pacientes sob risco. A DECH crônica moderada a grave ocorreu em 6 casos sendo que 5 destes tinham apresentado DECH aguda. A sobrevida global (SG) foi de 53,6% na mediana de seguimento de 6 anos. A SG em 5 anos foi discretamente superior para os transplantes com irmão HLA compatível comparado aos demais (54,5% x 52,9% p=0,053, I 95%C). A mortalidade relacionada ao transplante foi de 14%, devido à infecção por adenovírus (n=1), síndrome de obstrução sinusoidal (n=1), falha secundária de enxertia com complicações do segundo transplante (n=1) e sepse grave (n=1). Treze pacientes estão vivos entre 1-16 anos após o TCTH com mediana de seguimento de 8 anos. As causas de morte em sete pacientes foram fibrose pulmonar (n=1), fibrose hepática (n=1), sangramento gastrointestinal (n=1), síndrome hepatopulmonar (SHP) (n=2), DECH crônica e sepse (n=1) e infecção (n=1). Conclusões: o TCTH foi capaz de restaurar a hematopoiese com uma baixa mortalidade relacionada ao transplante. Devido ao pequeno número da amostra não pudemos avaliar o impacto do transplante na evolução das complicações não hematológicas da doença, que continuam sendo a principal causa de óbito após o transplante.

Palavras-chave: Disceratose Congênita. Transplante de células tronco hematopoiéticas. Telômeros.

ABSTRACT

Dyskeratosis Congenita (DC) is a rare genetic disorder that results from a defective telomere length maintenance and is characterized by mucocutaneous features, bone marrow failure (BMF) and a high predisposition to cancer and pulmonary fibrosis. BMF remains the major cause of mortality and hematopoietic stem cell transplant (HSCT) is the only definitive treatment to restore hematopoiesis but is limited by a high incidence of treatment-related mortality. This is a retrospective analysis of 28 patients with DC who underwent HSCT at the Bone Marrow Transplantation Unit in the Clinical Hospital of Federal University of Paraná, Brazil, between July-1993 and November-2017. Results: 15 boys and 13 girls, with a median age of 14 years (range, 3 – 30 years) received a HSCT from a matched sibling donor (MSD) (n=7), matched unrelated donor (MUD) (n=17) or mismatched related donor (MMRD) (haploidentical, n=4). 27 patients received bone marrow (BM) and 1 patient received a cord blood unit (CBU). Two patients received a myeloablative preparatory regimen with busulfan (Bu) 12mg/Kg + cyclophosphamide (Cy) 120mg/Kg or fludarabine (Flu) 150mg/m² + antithymocyte immunoglobulin (ATG). The remaining received a reduced intensity conditioning regimen with Cy 200mg/Kg (n=5), Flu 150mg/m² + Cy 60mg/Kg + ATG 5mg/Kg (n=17), and Flu 150mg/m² + Cy30 + TBI 200rads (n=4, haplo). Graft versus Host Disease (GVHD) prophylaxis consisted of cyclosporin (CSA) and methotrexate or steroids and post-transplant Cy + CSA + mycophenolate mofetil in the haploidentical transplants. Twenty six of 27 evaluable patients engrafted with a median time to neutrophil recovery of 20 days (range:13–36 days). One patient experienced primary graft failure while second graft failure occurred in other 3 patients. Acute GVHD grade II-IV occurred in 6 of 26 pts at risk. Moderate to severe chronic GVHD occurred in 6 patients with 5 cases occurring in those who had previously presented acute GVHD. Overall survival (OS) was 53,6% at a median follow-up of 6y. The 5y OS was slightly better in MSD transplants compared to the others (54,5% x 52,9% p=0,053, CI 95%). Transplant related mortality was 14% and causes of early death include adenovirus sepsis (n=1), sinusoidal obstruction syndrome (n=1), secondary graft failure with fatal complications after second HSCT, lethal infection (n=1). Thirteen patients remain alive between 1-16y after HSCT with a median follow up of 8 years. Causes of death in 7 patients were: pulmonary fibrosis (n=1), liver fibrosis(n=1), gastrointestinal bleeding(n=1), hepatopulmonary syndrome (n=2); chronic GVHD and sepsis(n=1), infection (n=1). Conclusions: In this study HSCT rapidly restored the hematopoiesis with low transplant related mortality. Owing to limited size of sample were not able to access the impact of HSCT on progression of underlying disease, but it remains the major cause of death after transplant.

Keywords: Dyskeratosis Congenita. Hematopoietic Stem Cell Transplant. Telomeres.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 -	ESTRUTURA DOS TELÔMEROS.....	15
GRÁFICO 1 -	GRÁFICO DO COMPRIMENTO DOS TELÔMEROS.....	16
FIGURA 2 -	REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DAS DIFERENTES APRESENTAÇÕES CLÍNICAS DA DC.....	17
GRÁFICO 2 -	CURVA DA INCIDÊNCIA CUMULATIVA DE RECUPERAÇÃO NEUTROFÍLICA.....	29
GRÁFICO 3 -	CURVA DA INCIDÊNCIA CUMULATIVA DE RECUPERAÇÃO PLAQUETÁRIA.....	30
GRÁFICO 4 -	CURVA DE SOBREVIVÊNCIA GLOBAL.....	33
GRÁFICO 5 -	CURVA DE SOBREVIVÊNCIA DOS TRANSPLANTES APARENTADOS E NÃO APARENTADOS.....	33

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	CARACTERÍSTICAS SOMÁTICAS DA DC.....	18
TABELA 2 -	DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES QUANTO AO FENÓTIPO, GENÓTIPO E ANO DE TRANSPLANTE.....	22
TABELA 3 -	CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES.....	24
TABELA 4 -	CARACTERÍSTICAS DOS TRANSPLANTES.....	28

LISTA DE SIGLAS

AAS	- Anemia Aplástica Severa
ACD	- <i>ACD Shelterin Complex Subunit And Telomerase Recruitment Factor gene</i>
AP	- Aparentado
ATG	- Antitumoglobulina de coelho
Bu	- Bussulfano
CEC	- Carcinoma Espinocelular
CFA	- Ciclofosfamida
CMV	- Citomegalovírus
CNT	- Células Nucleadas Totais
CsA	- Ciclosporina
CTC1	- <i>Conserved Telomere Maintenance Component 1 gene</i>
DC	- Disqueratose Congênita
DECH	- Doença do Enxerto Contra Hospedeiro
DECHa	- Doença do Enxerto Contra Hospedeiro Aguda
DECHc	- Doença do Enxerto Contra Hospedeiro Crônica
DKC1	- <i>Dyskerin Pseudouridine Synthase 1 gene</i>
Flu	- Fludarabina
GCS-F	- Fator Estimulador de Colônia de Granulócitos
HC-UFPR	- Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná
ICT	- Irradiação Corporal Total
MO	- Medula Óssea
Mtx	- Metotrexate
NAP	- Não aparentado
NHP2	- <i>NHP2 ribonucleoprotein gene</i>
NIH	- National Institutes of Health
NOP10	- <i>NOP10 Ribonucleoprotein gene</i>
PARN	- <i>Poly(A)-Specific Ribonuclease gene</i>
RTEL1	- <i>Regulator of Telomere Elongation Helicase 1 gene</i>
SCU	- Sangue de Cordão Umbilical

SG	- Sobrevida Global
SHP	- Síndrome Hepatopulmonar
SMD	- Síndrome Mielodisplásica
SOS	- Síndrome de Obstrução Sinusoidal
STMO	- Serviço de Transplante de Medula Óssea
STR	- <i>Short Tandem Repeats</i>
TCTH	- Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas
TERC	- <i>Telomerase RNA Component gene</i>
TERT	- <i>Telomerase Reverse Transcriptase gene</i>
TINF2	- <i>TERF1 Interacting Nuclear Factor 2 gene</i>
VNTR	- <i>Variable Number of Tandem Repeats</i>
WRAP53	- <i>WD Repeat Containing Antisense To TP53 gene</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 OBJETIVOS	13
1.1.2 Objetivo principal	13
1.1.3 Objetivos secundários	13
2 REVISÃO DA LITERATURA	14
3 CASUÍSTICA E MÉTODOS	21
3.1 TIPO DE ESTUDO	21
3.2 LOCAL E PERÍODO	21
3.3 CASUÍSTICA	21
3.4 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA	23
3.5 DEFINIÇÕES	24
3.5.1 Doença do enxerto contra hospedeiro (DECH)	25
3.5.2 Quimerismo	25
3.6 MÉTODOS ESTATÍSTICOS	25
4 RESULTADOS	27
4.1 ENXERTO	29
4.2 MORTALIDADE RELACIONADA AO TRANSPLANTE	31
4.3 DECH AGUDA E CRÔNICA	32
4.4 SOBREVIVÊNCIA	32
4.5 SEGUIMENTO EM LONGO PRAZO	34
5 DISCUSSÃO	36
6 CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
APÊNDICE	47

1 INTRODUÇÃO

A Disceratose Congênita (DC) é uma doença genética rara, multissistêmica, caracterizada por alterações mucocutâneas, falência de medula óssea e um risco elevado para o desenvolvimento de câncer e fibrose pulmonar. Foi descrita pela primeira vez por Zinsser em 1910 e somente em 1998 o primeiro gene ligado à doença foi identificado no cromossomo X. Em seguida foi demonstrado que a proteína codificada por este gene faz parte do complexo da telomerase, uma enzima responsável pela manutenção do comprimento dos telômeros, e que os paciente com DC apresentam telômeros muito curtos em relação aos controles saudáveis. Desde então os avanços da pesquisa genética resultaram na identificação de um amplo espectro de doenças decorrentes de mutações em um dos 11 genes ligados à biologia dos telômeros (WALNE; DOKAL, 2009; CALADO; YOUNG, 2009; GRAMATGES; BERTUCH, 2013; CALADO, 2009).

Trata-se, portanto, de uma condição genética e fenotipicamente heterogênea, que inclui a forma clássica da Disceratose Congênita, as variantes multissistêmicas graves denominadas de síndrome de Hoyeraal-Hreidarsson e síndrome de Revesz, além de um grupo de pacientes com anemia aplástica severa, síndrome mielodisplásica, fibrose pulmonar idiopática e leucemia mielóide aguda (SAVAGE; ALTER, 2009; WALNE *et al.*, 2007; LeGUEN *et al.*, 2013; KOCAK *et al.*, 2014; MARRONE *et al.*, 2013)..

A falência da medula óssea é a principal causa de morte, e o seu tratamento inclui o uso de andrógenos, o suporte transfusional e o TCTH. Embora não haja uniformidade na indicação do transplante devido às altas taxas de morbimortalidade associadas ao procedimento, ele ainda é o único tratamento com potencial curativo. Mesmo quando se alcança a cura hematológica, os pacientes devem ser acompanhados por toda a vida devido ao elevado risco para o desenvolvimento de neoplasias e fibrose pulmonar (ALTER *et al.*, 2009).

O Serviço de Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (STMO do HC-UFPR) é um centro de referência nacional para o tratamento de formas raras de aplasia de medula óssea, dentre as quais está a DC. Ao longo de quase 30 anos de atividade reuniu um número expressivo de pacientes com DC e ainda proporcionou que os pacientes pudessem

ser acompanhados por longos períodos após o transplante. Estes dados são de grande relevância pois contribuem para o conhecimento e tratamento de doenças raras, uma vez que nos permite observar não somente os efeitos precoces do transplante, mas também a evolução das manifestações não hematológicas das doenças de caráter multissistêmico.

1.1 OBJETIVOS

1.1.2 Objetivo principal

Analisar os resultados dos transplantes de célula tronco hematopoiéticas no tratamento da falência de medula óssea em pacientes portadores de Disceratose Congênita, no Hospital de Clínicas da UFPR.

1.1.3 Objetivos secundários

- a) Analisar as características clínicas dos pacientes que possam influenciar os resultados dos transplantes.
- b) Comparar os resultados do transplante em pacientes portadores das formas clássicas e não clássicas.
- c) Verificar a incidência das complicações precoces e tardias relacionadas à toxicidade do regime de condicionamento, a ocorrência da DECH aguda e crônica, rejeição primária e secundária do enxerto e mortalidade relacionada ao transplante.
- d) Avaliar a evolução pós-TCTH das manifestações não hematológicas da doença.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A Disqueratose Congênita é uma síndrome de falência de medula óssea congênita, caracterizada pela tríade clássica de alterações mucocutâneas (leucoplasia oral, distrofia ungueal e hiperpigmentação reticular da pele), falência de medula óssea e elevada predisposição ao câncer (WALNE; DOKAL, 2009).

O primeiro relato da doença foi feito em 1910 por Ferdinand Zinsser (1910, citado por WALNE; DOKAL, 2008) que descreveu dois irmãos com alterações da pigmentação da pele, leucoplasia na língua e distrofia ungueal. Neste primeiro trabalho foi feita a ligação entre essas três manifestações clínicas e constituiu a base para a definição clássica da doença que existe até hoje. Posteriormente Cole (1930, *apud* WALNE; DOKAL, 2008) relatou outro paciente e incluiu uma discussão sobre o paciente que Engman havia descrito em 1926. Esta foi a primeira vez que a doença foi denominada Disqueratose Congênita (WALNE; DOKAL, 2008). Posteriormente Sirinavin e Trowbridge (1975) descreveram nove casos da doença que ocorreram em nove homens de uma mesma família segregados em três gerações. Juntamente com o estudo de outros 46 casos da literatura estes autores apontaram o caráter multissistêmico da doença e propuseram a transmissão genética ligada ao X, autossômica dominante e autossômica recessiva. Somente em 1986 Connor (1986, *apud* WALNE; DOKAL, 2008) localizou a região do cromossomo X (Xq28) que continha o gene da DC. O gene foi clonado e descrito em 1998 por Heiss (1998, *apud* WALNE; DOKAL, 2008), denominado *DKC1*, e a proteína chamada “diskerina” (WALNE; DOKAL, 2008).

O mecanismo fisiopatogênico ligado ao encurtamento dos telômeros foi estabelecido a partir das descrições das mutações nos genes *DKC1* e *TERC* respectivamente em 1998 e em 2001, que codificam proteínas do sistema de telomerasas. Os telômeros consistem em sequências de nucleotídeos no final dos cromossomos, cobertos por um complexo de proteínas denominado shelterina, que juntamente com outros fatores envolvidos na biologia cromossômica, são responsáveis por proteger o DNA de danos a cada divisão celular (figura 1). Quando os telômeros se tornam muito curtos, inicia-se o processo de morte celular por apoptose. A manutenção do comprimento dos telômeros é feita pela telomerase, uma

enzima transcriptase reversa capaz de adicionar sequências de nucleotídeos no final do DNA cromossômico (CALADO; YOUNG, 2009).

Os pacientes com DC possuem telômeros mais curtos em relação aos familiares não afetados e aos controles saudáveis (VULLIAMY *et al.*, 2001; ALTER *et al.*, 2007). Além disso o comprimento dos telômeros também são mais curtos nos pacientes com as formas mais graves da doença (VULLIAMY *et al.*, 2006). A medida do comprimento dos telômeros é altamente sensível, porém não é específica para o diagnóstico de DC (Figura 2).

Atualmente estão identificadas mutações em 11 genes ligados à manutenção do comprimento dos telômeros. Aproximadamente 70% dos pacientes apresentam mutação em um dos genes: *TERT*, *TERC*, *DKC1*, *WRAP53* (codifica TCAB1), *NOP10*, *NHP2*, *TINF2*, *CTC1*, *RTEL1*, *PARN*, *ACD*. A forma de herança pode ser ligada ao X, autossômica recessiva e autossômica dominante. Além disso, casos esporádicos também foram reportados na literatura (WALNE; DOKAL, 2009; CALADO; YOUNG, 2009; GRAMATGES; BERTUCH, 2013; CALADO, 2009).

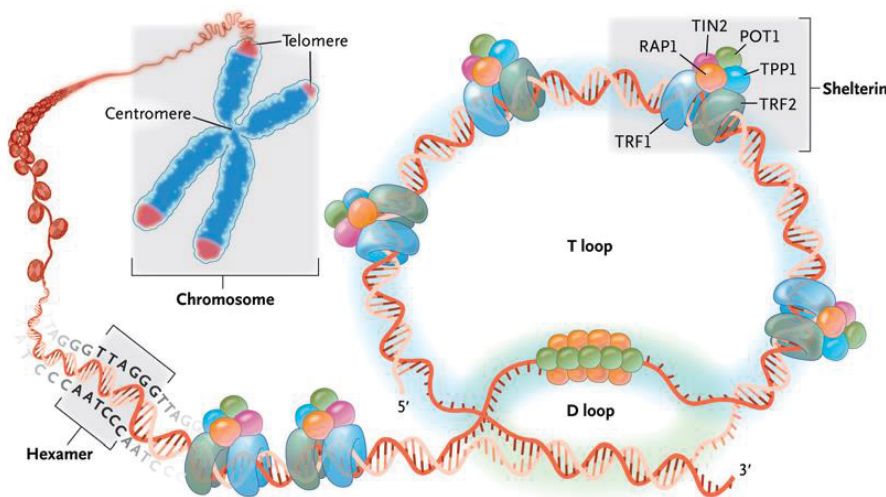


FIGURA 1 – ESTRUTURA DOS TELÔMEROS
FONTE: Adaptado de CALADO; YOUNG, 2009.

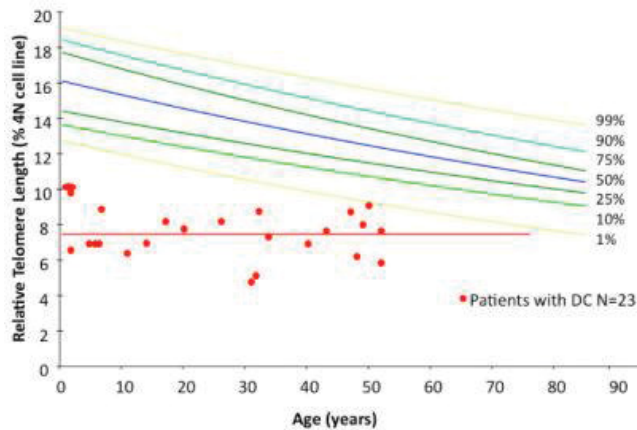


GRÁFICO 1 – GRÁFICO DO COMPRIMENTO DOS TELÔMEROS.

FONTE: BESSLER, 2010.

NOTA: As linhas coloridas representam os percentis do comprimento dos telômeros medidos a partir de células mononucleares de 250 indivíduos normais entre 1 e 94 anos de idade. Em vermelho estão as medidas do comprimento dos telômeros de pacientes com DC com mutação identificada.

A progressiva identificação de mutações nos genes da telomerase levou ao reconhecimento de um amplo espectro de desordens que possuem em comum defeitos na biologia dos telômeros. Trata-se, portanto, de uma condição genética e fenotipicamente heterogênea, que inclui a forma clássica da Disceratose Congênita, um grupo de pacientes com anemia aplástica severa, síndrome mielodisplásica, fibrose pulmonar idiopática e leucemia mielóide aguda, além das duas variantes multissistêmicas graves denominadas síndromes de Hoyeraal-Hreidarsson e de Revesz. (SAVAGE; ALTER, 2009; WALNE *et al.*, 2007; LeGUEN *et al.*, 2013; KOCAK *et al.*, 2014; MARRONE *et al.*, 2013). (Figura 3)

A síndrome de Revesz é caracterizada pela presença de retinopatia exudativa bilateral, hipoplasia de medula óssea, cabelos finos e esparsos, hipoplasia cerebelar e retardo do crescimento. A ligação com a DC foi estabelecida a partir da observação da superposição das manifestações clínicas com a identificação nesses casos da mutação em *TINF2*. A outra variante sistêmica grave, denominada síndrome de Hoyeraal-Hreidarsson (HH), é causada por mutações em *DKC1*, *TINF2* e *TERT*. Os critérios diagnósticos devem incluir quatro das seis características mais comuns: retardo do crescimento intrauterino, atraso do desenvolvimento, microcefalia,

hipoplasia cerebelar, imunodeficiência e anemia aplástica. A maioria dos pacientes com mutação em *DKC1* apresentam as manifestações clássicas da DC, entretanto há pacientes com manifestações apenas da síndrome HH ou uma superposição das duas (DOKAL, 2011).

As características clássicas da DC frequentemente iniciam na primeira década de vida, usualmente com as alterações mucocutâneas e menos frequentemente com a falência da medula óssea. Existe marcada variabilidade de apresentação clínica em relação a idade de apresentação e gravidade, mesmo entre indivíduos de uma mesma família.

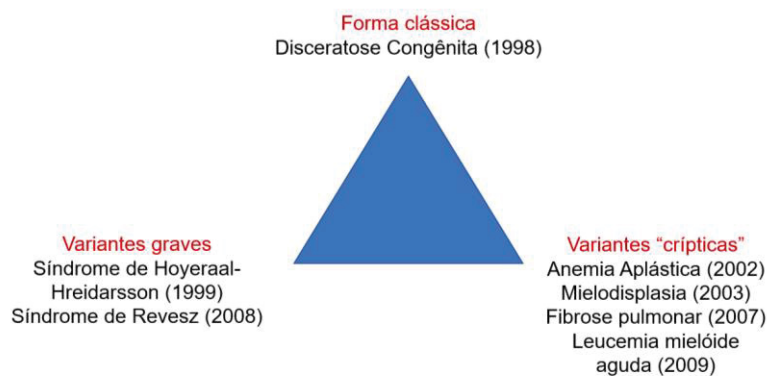


FIGURA 2: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DAS DIFERENTES APRESENTAÇÕES CLÍNICAS DA DC.
FONTE: adaptado de DOKAL, 2011.

O diagnóstico de DC incluiu qualquer um dos seguintes critérios, de acordo com as recomendações de Walne e Dokal, 2009 e Walne, 2016:

- 1) presença das três alterações mucocutâneas clássicas (hiperpigmentação reticular da pele, distrofia ungueal e leucoplasia oral);
- 2) presença de uma das alterações mucocutâneas com falência de medula óssea e duas outras características somáticas menores (Tabela 1);
- 3) anemia aplástica, síndrome mielodisplásica ou fibrose pulmonar idiopática, associadas com a identificação de uma variante patogênica da telomerase;

- 4) síndrome de Hoyeraal-Hreidarsson ou síndrome de Revesz;
- 5) presença de duas ou mais características da DC (Tabela 1) com a identificação de telômeros muito curtos (abaixo do percentil 1 para a idade).

TABELA 1: CARACTERÍSTICAS SOMÁTICAS DA DISCERATOSE CONGÊNITA.

ALTERAÇÕES SOMÁTICAS	Número (%)
Características maiores	
Pigmentação anormal da pele	89
Distrofia ungueal	88
Falência de medula óssea	85,5
Leucoplasia oral	78
Outras características somáticas	
Epifora	30,5
Dificuldade de aprendizado / retardo mental / atraso do desenvolvimento	25,4
Doença pulmonar	20,3
Baixa estatura	10,5
Cárie dentária ou perda extensas dos dentes	16,9
Estreitamento esofágico	16,9
Queda ou branqueamento prematuros dos cabelos / cílios esparsos	16,1
Hiperidrose	15,3
Neoplasia	9,8
Retardo do crescimento intrauterino	7,6
Doença hepática / ulceração péptica / enteropatia	7,3
Ataxia ou hipoplasia cerebelar	6,8
Hipogonadismo ou criptorquidia	5,9
Microcefalia	5,9
Estreitamento uretral ou fimose	5,1
Osteoporose / escoliose / necrose asséptica	5,1
Surdez	0,8

FONTE: Adaptada de WALNE; DOKAL, 2009.

NOTA: As percentagens referem-se à 118 pacientes com DC recrutados no registro de DC em Londres, antes da identificação dos genes da DC.

As principais causas de mortalidade são a falência de medula óssea (60 – 70%) complicações pulmonares (10 – 15%) e neoplasias (10%). As complicações pulmonares são comuns e incluem alterações vasculares e fibrose pulmonar, e estão relacionadas a complicações fatais tanto precoce como tardiamente após o TCTH (AYAS *et al.*, 2013; KHINCHA *et al.*, 2017; GORGY *et al.*, 2015; DOKAL, 2000; GIRI *et al.*, 2011). A predisposição ao câncer é alta, com uma incidência cumulativa estimada de 40 a 50% aos 50 anos de idade. As principais neoplasias são os carcinomas escamosos de cabeça e pescoço, seguidos das neoplasias anorretais e de pele (ALTER *et al.*, 2009).

Até os 30 anos de idade cerca de 90% dos pacientes apresentarão sinais de falência da medula óssea. O seu tratamento está indicado quando os níveis de hemoglobina estiverem abaixo de 8,0g/dL, número de neutrófilos menor de 1000/ μ L e plaquetas abaixo de 30.000/ μ L. Recentemente foi demonstrado que o uso de Danazol é capaz de alongar o comprimento dos telômeros em pacientes portadores de telômeros curtos (TOWNSLEY *et al.*, 2016). Cerca de 2/3 dos pacientes apresentam resposta hematológica com o uso de andrógenos, com incremento nos níveis de hemoglobina, neutrófilos e plaquetas. Entretanto o único tratamento curativo para a falência de medula óssea consiste no TCTH (KHINCHA *et al.*, 2014; CALADO *et al.*, 2009).

Mesmo com os avanços na área, os resultados do TCTH para pacientes com DC são inferiores quando comparados às outras causas de falência de medula óssea hereditárias. A maior mortalidade relacionada ao transplante decorre do maior número de complicações cardiovasculares e pulmonares, provavelmente em decorrência da condição de base (DOKAL, 2011).

Os primeiros relatos de TCTH realizados para pacientes com DC foram feitos na década de 1980 (MAHMOUD *et al.*, 1985; CONTER *et al.*, 1988, *apud* BERTHOU *et al.*, 1991). Nestas primeiras publicações, os regimes de condicionamento utilizados continham ciclofosfamida (CFA) e irradiação corporal total (ICT). Os autores já observavam que os pacientes apresentavam complicações vasculares e renais que lembravam a microangiopatia trombótica além de lesões semelhantes às induzidas pela radioterapia. Além disso, observavam também que a CFA isolada era suficiente para promover a pega do enxerto, e recomendavam que não se utilizasse ICT para pacientes com DC (BERTHOU *et al.*, 1991; PHILLIPS *et al.*, 1992). Vários trabalhos retrospectivos relataram a experiência com variados regimes de condicionamento, utilizando doadores aparentados e não aparentados. Mesmo com a redução da intensidade do condicionamento e com a substituição da ICT por fludarabina, como relatado por Dror *et al.* (2003), as complicações vasculares e pulmonares tardias, além do desenvolvimento de câncer, continuaram a ser observadas resultando em importante redução da sobrevida a longo prazo (LANGSTON *et al.*, 1996; ROCHA *et al.*, 1998; DROR *et al.*, 2003; GUNGOR *et al.*, 2003; DE LA FUENTE; DOKAL, 2007; DIETZ *et al.*, 2011; AYAS *et al.*, 2013; NELSON *et al.*, 2017). No trabalho de Giri *et al.* (2011) a doença pulmonar foi 2,2 vezes mais frequente no grupo que foi transplantado e os sintomas iniciaram numa idade mais precoce. Independentemente de ser ou não

transplantado a doença progrediu rapidamente após o início dos sintomas, com uma mediana de sobrevida após o início dos sintomas de um ano nos transplantados e dois anos nos não transplantados. Recentemente Fioreda *et al.* (2018), analisou 94 pacientes com DC transplantados entre 1979 e 2015. A sobrevida global e a sobrevida livre de eventos em 3 anos foram de 66% e 62% respectivamente, sendo que os resultados são melhores para transplantes com doadores aparentados e nos pacientes abaixo de 20 anos de idade. Assim como em outros trabalhos a curva de sobrevida continua declinando com o tempo, com uma estimativa de sobrevida aos 10 anos inferior a 30% (FIOREDDA *et al.*, 2018).

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

Estudo longitudinal, observacional e retrospectivo.

3.2 LOCAL E PERÍODO

Este estudo foi realizado na Unidade de Hematologia e Oncologia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, no Serviço de Transplante de Medula Óssea. As informações relevantes para o estudo foram obtidas através de um banco de dados e da revisão de prontuários dos pacientes portadores de DC que foram transplantados entre julho de 1993 a novembro de 2017. Os dados da evolução pós-transplante foram analisados até a data de 31 de dezembro de 2018.

3.3 CASUÍSTICA

A população do estudo é constituída de 28 pacientes com diagnóstico de DC e que foram submetidos a um TCTH. O diagnóstico de DC foi estabelecido a partir da presença das manifestações mucocutâneas clássicas (forma clássica) ou com a identificação de telômeros muito curtos em pacientes portadores de anemia aplástica sem outras características da DC (forma não clássica). Dentre os pacientes portadores da forma clássica está incluída uma paciente diagnosticada com síndrome de Revesz.

Entre os anos de 1993 e 2004 o diagnóstico de DC era baseado na presença de alterações somáticas (Ver tabela 1). Neste período 5 pacientes portadores da forma clássica foram transplantados. A partir do ano de 2010, com a realização dos

exames do comprimento dos telômeros e da pesquisa de mutações genéticas, foram transplantados também os pacientes que não apresentavam manifestações mucocutâneas. Esses exames foram realizados através de uma parceria com o laboratório de pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo em Ribeirão Preto-SP, coordenado pelo Dr. Rodrigo Calado.

Todos os doadores familiares foram avaliados para o diagnóstico de DC antes do transplante através de exame clínico e hemograma. O exame do comprimento dos telômeros e a pesquisa de mutações passaram a ser realizados somente a partir de 2010, também com a colaboração do Dr. Rodrigo Calado.

A indicação do transplante em todos os pacientes foi a aplasia de medula óssea com citopenia de risco (neutrófilos < 500/ μ L e plaquetas < 20.000/ μ L).

A tabela 2 mostra a distribuição dos pacientes conforme à sua apresentação fenotípica e genotípica e o ano de transplante.

TABELA 2 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES QUANTO AO FENÓTIPO, GENÓTIPO E ANO DE TRANSPLANTE

continua

Pte	Idade / sexo**	Fenótipo	Comprimento do telômero*	Gene	Mutação encontrada	Ano do TCTH
1	16/m	DC	IND	IND	IND	1993
2	9/m	DC	IND	IND	IND	1997
3	8/m	DC	IND	<i>TINF2</i>	c.851C>A	1998
4	18/m	DC	IND	IND	IND	2000
5	22/f	DC	IND	<i>TERT</i>	c.1072G>A p.Arg358Trp	2001
6	14/f	DC	NR	NR	NR	2004
7	27/f	AAS	IND	<i>TERC</i>	IND	2010
8	3/f	Revesz	NR	NR	NR	2010
9	9/m	DC	NR	NR	NR	2011
10	20/m	DC	<1%	<i>TINF2</i> -EXON 6	c.851_852delCA	2012
11	10/f	SMD	<10%	Nenhuma	Nenhuma	2013
12	18/m	DC	<10%	Nenhuma	Nenhuma	2013
13	14/m	DC	<10%	<i>DKC1</i> -EXON 4	c.196 ^a >G	2013
14	9/f	DC	<1%	<i>TINF2</i> -EXON 6	c.845G>A	2013
15	10/f	DC	<1%	<i>TERT</i> -EXON 10	Polimorfismo	2013
16	30/f	AAS	...	<i>TERC</i>	IND	2013
17	4/m	AAS	<1%	<i>PARN</i> -EXON 21	c.1516T>C	2014
18	12/m	DC	<1%	<i>TINF2</i> -EXON 6	c.845G>A	2014
19	16/m	DC	<1%	<i>TERT</i> -EXON 5	c.2086C>T	2014
20	22/m	DC	<1%	<i>TINF2</i> -EXON 6	c.844C>T	2014
21	21/f	DC	<1%	<i>TINF2</i> -EXON 6	c.859T>G	2014
22	6/m	DC	<1%	<i>TINF2</i> -EXON 6	c.845G>A	2015
23	3/m	DC	<1%	<i>TINF2</i> -EXON 6	c.845G>A	2015
24	3/m	AAS	<1%	IND	IND	2015
25	12/f	DC	<1%	Nenhuma	Nenhuma	2016

conclusão

Pte	Idade / sexo**	Fenótipo	Comprimento do telômero*	Gene	Mutação encontrada	Ano do TCTH
26	7/f	DC	<1%	IND	IND	2017
27	17/m	DC	<1%	TERT-EXON 1 TERT-EXON 3	c.119 ^a >T c.1714delA	2017
28	13/f	DC	<1%	TERT-EXON 2 TERT-EXON 5 TERT-INTRON 4	c.835G>A c.1072 C>T Polimorfismo 2031GGCGGT 5:1280263G/A(rs33948291)	2017

FONTE: O AUTOR (2018)

LEGENDA: DC: AAS: Anemia Aplástica Severa, sem manifestações mucocutâneas; Disceratose Congênita; f: feminino; m: masculino; pte: paciente; IND: resultado indisponível, NR: exame não realizado; SMD: síndrome mielodisplásica.

NOTA: * O resultado do comprimento do telômero é expresso em relação aos percentis do comprimento normal para indivíduos da mesma idade.

** A idade é dada em anos, e se refere à idade do paciente no momento do transplante.

3.4 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA

Todos os pacientes transplantados apresentavam hipoplasia de medula óssea com celularidade média menor de 10%, sendo que 20 (71%) apresentavam plaquetas abaixo de 20.000/ μ L e 13 (46%) tinham neutrófilos abaixo de 500/ μ L. Todos já haviam recebido pelo menos uma transfusão de hemocomponentes e a maioria (n = 25) era dependente de transfusões regularmente. Vinte e seis pacientes haviam recebido tratamento prévio com andrógenos. A alteração citogenética da medula óssea (monossomia do cromossomo 7) foi encontrada em apenas uma paciente a qual era portadora de uma forma não clássica da doença – mielodisplasia hipocelular.

A avaliação dos pacientes antes do transplante constituiu-se de exame clínico, laboratorial e de imagem. Cinco pacientes não apresentavam alterações mucocutâneas antes do transplante (AAS e MDS). A avaliação pulmonar foi realizada através de espirometria (apenas para os pacientes acima de 7 anos) e radiografia simples de tórax. No momento do transplante nenhum paciente apresentava sinais ou sintomas de fibrose pulmonar pelos métodos utilizados e nenhum havia desenvolvido qualquer tipo de neoplasia.

A tabela 3 mostra as características clínicas dos pacientes antes do TCTH.

TABELA 3: CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES.

VARIÁVEIS	N (%)
Sexo	
Feminino	13 (46%)
Masculino	15 (54%)
Idade ao diagnóstico em anos (M)	8 (1 – 20)
Fenótipo	
Forma clássica	22 (82%)
Forma não clássica	5 (18%)
Comprimento dos telômeros*	
<1%	15 (54%)
<10%	3 (11)
Não realizado ou indisponível	10 (35%)
Gene mutado	
<i>TINF2</i>	8 (50%)
<i>TERT</i>	5 (31%)
<i>DKC1</i>	1 (6,2%)
<i>PARN</i>	1 (6,2%)
<i>TERC</i>	1 (6,2%)
Não realizado ou indisponível	12 (43%)
Tratamento prévio	
Apenas transfusões e suporte	4 (93%)
Outros *	24 (7%)
Número de transfusões	
Menos de 10	4 (14%)
Entre 10 e 20	9 (32%)
Mais de 20	15 (54%)

FONTE: O AUTOR (2018)

LEGENDA: *DKC1*: Dyskerin Pseudouridine Synthase 1 gene; *TERC*: Telomerase RNA Component gene; *TERT*: Telomerase Reverse Transcriptase gene; *TINF2*: TERF1 Interacting Nuclear Factor 2 gene; *PARN*: Poly(A)-Specific Ribonuclease gene.

NOTA: *Outros tratamentos incluíram: andrógenos, corticosteroides, ciclosporina, fator estimulador de colônia de granulócitos (G-CSF).

3.5 DEFINIÇÕES

A sobrevida global foi definida como o tempo decorrido entre a data do TCTH e da última avaliação ou do óbito.

A pega neutrofílica correspondeu ao primeiro de três dias consecutivos com a contagem de neutrófilos acima 500/ μ L. A rejeição primária foi definida como uma falha em atingir esta contagem de neutrófilos e a rejeição secundária como uma queda do número de neutrófilos após ter ocorrido uma pega neutrofílica consistente.

3.5.1 Doença do enxerto contra hospedeiro (DECH)

A doença do enxerto contra hospedeiro aguda (DECHa) foi classificada conforme os critérios de Glucksberg, e graduada de graus I a IV, conforme a gravidade das manifestações envolvendo a pele, o fígado e o intestino (GLUCKSBERG *et al.*, 1974).

A doença do enxerto contra hospedeiro crônica (DECHc) foi classificada conforme os critérios do *National Institutes of Health (NIH)*, e dividida em leve, moderada ou grave (FILIPOVICH *et al.*, 2005).

3.5.2 Quimerismo

A análise do quimerismo foi realizada através do método VNTR (*variable number of tandem repeats*) até o ano de 2005 e a partir de então passou a ser realizada pelo método STR (*short tandem repeats*). O exame foi realizado em uma amostra de sangue e expressa a proporção entre células do doador e receptor. O quimerismo total foi definido como a presença de mais de 95% de células do doador e o quimerismo misto como a presença de 95% ou menos de células do doador. A ausência de células do doador foi definida como menos de 5% de células.

3.6 MÉTODOS ESTATÍSTICOS

Os resultados das características clínicas dos pacientes e geral dos transplantes foram descritos por frequências e percentuais. As variáveis quantitativas foram analisadas por meio das estatísticas de média, mediana, valor mínimo e valor máximo. A associação entre variáveis qualitativas dicotômicas foi avaliada pelo teste Qui-quadrado de acordo com as frequências observadas. As estimativas de sobrevida

foram calculadas usando-se o método de Kaplan-Meier. A comparação entre grupos na análise de sobrevida foi feita com o teste não paramétrico de Log-rank. Para a análise das incidências cumulativas de pega neutrofílica e plaquetárias foi utilizada o método Kaplan-Meier.

4 RESULTADOS

Nos 28 pacientes incluídos neste estudo a mediana de idade ao transplante foi de 14 anos (mínimo de 3 anos e máximo de 30 anos), sendo que 22 pacientes (78%) tinham menos de 20 anos e 11 (40%) tinham 10 anos ou menos. O tempo transcorrido entre o diagnóstico e o transplante variou de 6 meses a 17 anos (mediana 3,5 anos).

A maioria dos transplantes (n = 22) foi realizada a partir do ano de 2010 e 6 procedimentos foram realizados entre 1993 e 2004. Entre os anos de 2004 e 2009 nenhum transplante foi realizado devido à frágil recomendação da literatura da época, e não haviam pacientes com doadores aparentados compatíveis. (informação pessoal, Dra. Carmem Bonfim).

Sete pacientes possuíam um doador irmão compatível (AP), 13 receberam o transplante de doadores não aparentados (NAP) totalmente compatíveis e quatro de doadores NAP com uma incompatibilidade em um dos loci: A, DRB1 ou DQB1. Quatro pacientes receberam transplante de doador haploidêmico porque não possuíam doador com compatibilidade. Uma paciente recebeu sangue de cordão umbilical (SCU) como fonte de células e os demais receberam medula óssea. A mediana de células nucleadas totais (CNT) infundidas foi de $4,76 \times 10^8/\text{Kg}$ nos transplantes de medula óssea e $6,50 \times 10^7/\text{Kg}$ no caso do transplante de SCU.

O regime de condicionamento com ciclofosfamida 200mg/Kg foi utilizado para os cinco primeiros pacientes que receberam transplantes de um irmão compatível. Este era o regime de condicionamento utilizado para os transplantes aparentados de pacientes portadores de anemia aplástica adquirida. O condicionamento com ciclofosfamida 60mg/Kg, fludarabina e globulina antitimocítica de coelho passou a ser utilizado a partir de 2010 para todos os transplantes AP e NAP, de acordo com as recomendações da literatura. O regime preparatório dos transplantes haploidêmicos foi realizado com ciclofosfamida, fludarabina e irradiação corporal total.

Apenas dois pacientes receberam um regime de condicionamento mieloablativo com bussulfano. Para a paciente nº6 foi utilizada a associação de bussulfano e fludarabina seguido de um transplante de SCU e no caso nº11 a paciente recebeu o condicionamento com bussulfano e ciclofosfamida que era o regime utilizado na época para os transplantes não aparentados em AAS.

A profilaxia da doença do enxerto contra hospedeiro (DECH) foi realizada com ciclosporina (CsA) e metotrexate (Mtx) para os transplantes aparentados compatíveis e não aparentados, e no caso isolado de SCU foi utilizado CsA e corticoide. Os transplantes haploidênticos utilizaram medula óssea sem depleção ex-vivo de células T e a profilaxia da DECH foi feita com o uso de ciclofosfamida pós transplante 50mg/Kg/dia nos dias +3 e +4, ciclosporina e micofenolato de mofetila oral.

As características clínicas dos transplantes estão descritas na tabela 4 e mais detalhadamente no apêndice.

TABELA 4 – CARACTERÍSTICAS DOS TRANSPLANTES

Continua

VARIÁVEIS	N
Tipo de doador	
Aparentado compatível (irmão)	7
Não aparentado	17
Aparentado haploidêntico	4
Idade do doador em anos (M)	23 (5 – 45)
Fonte de células	
Medula óssea	27
Sangue de cordão umbilical	1
Compatibilidade	
Compatível (locus tipado)	
4/4 (A, B)	2
6/6 (A, B, DR)	1
8/8 (A, B, DR, DQ)	2
10/10 (A, B, C, DR, DQ)	15
Incompatível (LOCUS)	
9/10 (DRB1)	1
9/10 (A)	1
9/10 (DQB1)	2
Haploidêntico 5/10	4
Regime de condicionamento	
CFA 60mg/kg + Flu 150mg + ATG	17
CFA 200mg/kg	5
CFA 29-50mg/kg + Flu 150mg/m ² + ICT 200 rads	4
Bu 12mg/kg + CFA 120mg/kg + ATG	1
Bu 12mg/kg + Flu 125mg/m ² + atg	1
Sexo do doador e do receptor	
Doador feminino / receptor feminino	7
Doador masculino / receptor masculino	9
Doador feminino / receptor masculino	6
Doador masculino / receptor feminino	6
CMV IgG do paciente / doador	
Positivo / positivo	21
Negativo / negativo	0
Positivo / negativo	5
Negativo / positivo	1

Conclusão	
VARIÁVEIS	N
Compatibilidade ABO	
Compatível	11
Incompatibilidade ABO maior	6
Incompatibilidade ABO menor	9
Incompatibilidade ABO maior e menor	2

FONTE: o autor (2018)
LEGENDA: ATG: anti-timoglobulina; Bu: bussulfano; CFA: ciclofosfamida; CMV: citomegalovírus; Flu: fludarabina; ICT: irradiação corporal total.

4.1 ENXERTO

A pega da medula óssea pôde ser avaliada em 27 pacientes que sobreviveram mais de 28 dias. A pega neutrofílica ocorreu em 26 pacientes numa mediana 20 dias (variando de 13 a 36 dias) com a probabilidade de 82% de atingir o número de neutrófilos maior ou igual a 500/μL aos 30 dias de transplante. A pega plaquetária ocorreu em 24 pacientes entre numa 11 e 60 dias (M: 22 dias), com a probabilidade de 88% de atingir a contagem de plaquetas maior ou igual a 20.000/ μL aos 100 dias de transplante. Os gráficos 1 e 2 ilustram as curvas de recuperação neutrofílica e plaquetária.

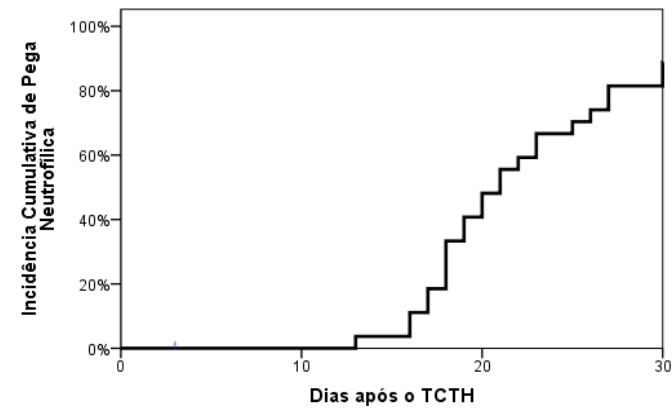


GRÁFICO 2 – CURVA DA INCIDÊNCIA CUMULATIVA DE RECUPERAÇÃO NEUTROFÍLICA.
FONTE: O AUTOR (2018).

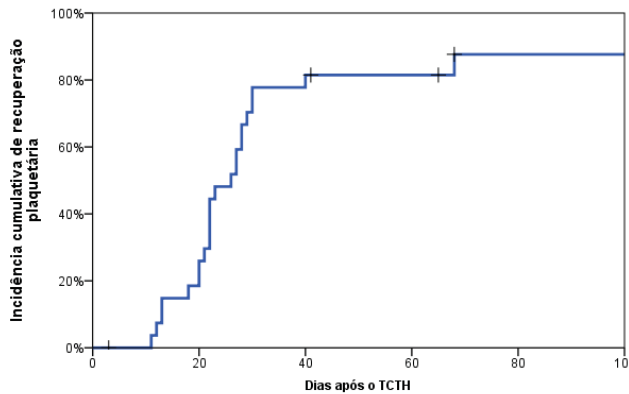


GRÁFICO 3 – CURVA DA INCIDÊNCIA CUMULATIVA DE RECUPERAÇÃO PLAQUETÁRIA.
FONTE: O AUTOR (2018)

A rejeição primária ocorreu somente em uma paciente (paciente n.15). Esta paciente tinha 10 anos de idade, era portadora da forma clássica da doença, havia recebido mais de 50 transfusões. Ela foi submetida a um TCTH haploidêntico e apresentava anticorpos anti-HLA dirigidos contra a sua doadora (mãe), e não foi submetida à dessensibilização de anticorpos. No dia +30 pós-TCTH, apesar de ter sido detectada a presença de 50% de células de origem da doadora não houve recuperação hematológica. A paciente foi submetida a um segundo transplante haploidêntico, com um novo doador (tia) e apresentou recuperação hematológica completa de origem do doador.

A rejeição secundária ocorreu em 3 pacientes: a paciente nº11 de 10 anos de idade, que teve o diagnóstico inicial de SMD com monossomia do cromossomo 7. O resultado do exame do comprimento dos telômeros não foi conhecido antes da realização do transplante e ela foi submetida a um transplante NAP totalmente compatível, utilizando o condicionamento com bussulfano e ciclofosfamida. A paciente atingiu inicialmente a pega total do enxerto, com 100% de células do doador no dia +30 pós-TCTH. No dia +488 pós-TCTH, durante o período de retirada da imunossupressão (ciclosporina), a paciente evoluiu com pancitopenia e houve queda do quimerismo para 65% de células do doador. No momento da rejeição a medula óssea apresentava-se hipocelular, com a mesma alteração genética do diagnóstico e não havia sinais de mielodisplasia. Esta paciente foi submetida a um segundo TCTH

para resgate, desta vez haploidêntico utilizando pai como doador, e até o encerramento do estudo mantinha a pega hematológica completa com 100% de células do doador. O segundo caso (paciente nº24) ocorreu em uma menina três anos que apresentava aplasia de medula óssea e telômeros curtos. Ela foi submetida a um transplante AP totalmente compatível utilizando um regime de condicionamento de intensidade reduzida e inicialmente atingiu quimerismo misto de 60% de células do doador, com recuperação hematológica completa. No dia + 180 pós-TCTH, também durante a retirada gradual da imunossupressão, desenvolveu pancitopenia com medula óssea hipocelular. Esta paciente também foi submetida a um segundo TCTH haploidêntico que utilizou o pai como doador. Após o segundo TCTH apresentou DECHa grau IV tratado com corticosteroide. Até o último contato apresentava hemograma normal com 100% de células do doador. A terceira paciente (paciente nº28), de 13 anos, portadora da forma clássica da doença, foi submetida a um TCTH haploidêntico cuja doadora foi a tia. Após a pega inicial do enxerto com um quimerismo misto (65%) a paciente evoluiu com infecção por citomegalovírus e subsequente rejeição do enxerto e foi submetida a um novo TCTH haploidêntico cuja doadora foi a mãe. Após o segundo procedimento apresentou pega do enxerto com 100% de células do doador. Esta paciente foi a óbito no dia +104 após o segundo TCTH em decorrência de uma série de complicações que incluíram: provável infecção fúngica invasiva pulmonar e em sistema nervoso central, síndrome de obstrução sinusoidal (SOS) hepático e pulmonar, DECH aguda grave de pele, fígado e intestino, infecção por citomegalovírus, sepse e finalmente falência de múltiplos órgãos. O exame de necropsia desta paciente revelou necrose hepática maciça e pancreatite hemorrágica aguda.

4.2 MORTALIDADE RELACIONADA AO TRANSPLANTE

Além da paciente descrita acima, outros três pacientes morreram em decorrência do procedimento. A paciente nº6 que recebeu bussulfano e fludarabina para o transplante de SCU faleceu no dia + 68 pós-TCTH devido síndrome de obstrução sinusoidal hepática grave associada à sepse grave e falência de múltiplos órgãos. O paciente nº12 que recebeu um transplante NAP, faleceu no dia +103 pós-

TCTH devido à infecção disseminada por adenovírus e a paciente nº16 foi a óbito no dia +3 pós-TCTH após apresentar síndrome de extravasamento capilar e sepse grave com disfunção de múltiplos órgãos.

4.3 DECH AGUDA E CRÔNICA

A doença do enxerto contra hospedeiro aguda (DECHa) grau II – IV ocorreu em 6 de 26 pacientes avaliáveis, entre 28 e 78 dias pós-TCTH (mediana de 41 dias). Destes, três pacientes haviam recebido medula óssea de um doador NAP compatível, dois pacientes de um doador NAP com uma incompatibilidade, e um paciente de um doador aparentado haploidêntico. DECH aguda esteve relacionada ao óbito de apenas uma paciente (nº28) citada acima.

A doença do enxerto contra hospedeiro crônica (DECHc) ocorreu em 6 pacientes numa mediana de 337 dias pós-TCTH (variação de 280 a 1287 dias), sendo que 5 deles haviam apresentado DECHa previamente. Os casos ocorreram em receptores de transplantes NAP compatíveis (n = 3), transplantes NAP com uma incompatibilidade (n = 2) e transplante haploidêntico (n=1). Foi classificada como grave em 4 casos e moderada em 2 casos. No momento do último contato, entre 13 e 33 meses pós-TCTH, 4 pacientes ainda recebiam tratamento imunossupressor. A DECHc foi causa contribuinte para o óbito de um paciente (nº10).

4.4 SOBREVIDA

Quinze pacientes (57%) estavam vivos ao final do estudo, com uma mediana de seguimento de 8 anos. A sobrevida global da amostra foi de 53,6% na mediana de seguimento de 6 anos.

A probabilidade de sobrevida em 5 anos foi de 60%, em 10 anos de 37% e em 15 anos de 12%. Houve uma tendência de melhor sobrevida para os pacientes submetidos a um transplante AP quando comparados aos transplantes NAP (54,5% versus 52,9% respectivamente, $p = 0,053$). Outros fatores como a idade ao

transplante, o ano de transplante, o fenótipo, a compatibilidade HLA, a ocorrência de infecções pós-TCTH e a DECH não tiveram impacto na sobrevida. Os gráficos de sobrevida estão ilustrados nos gráficos 3 e 4.

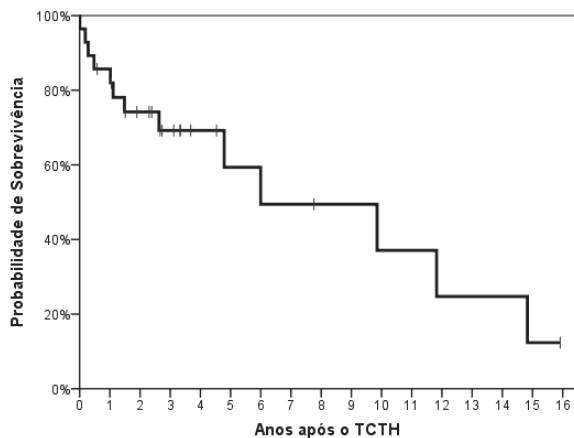


GRÁFICO 4 – CURVA DE SOBREVIDA GLOBAL.
FONTE: O AUTOR (2018).

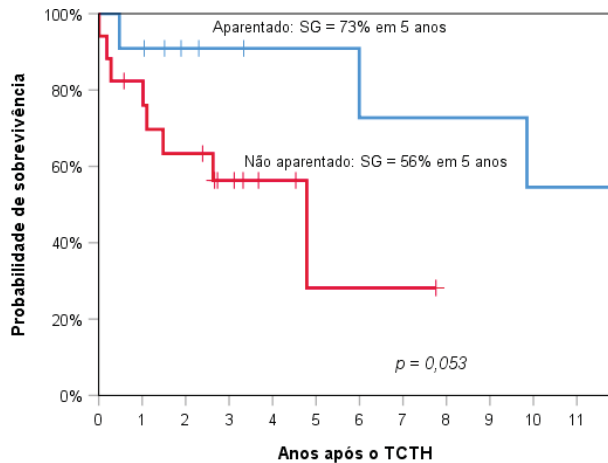


GRÁFICO 5 – CURVA DE SOBREVIDA DOS TRANSPLANTES APARENTADOS E NÃO APARENTADOS.
FONTE: O AUTOR (2018).

4.5 SEGUIMENTO EM LONGO PRAZO

Vinte e quatro pacientes foram acompanhados entre um e 16 anos após o TCTH (M: 8 anos) sendo que seis deles foram acompanhados por no mínimo 8 anos. Quinze pacientes (57%) estavam vivos até o encerramento do estudo.

Dentre os paciente que tiveram um seguimento maior, o paciente nº1 faleceu aos 28 anos de idade, 12 anos após o transplante por fibrose pulmonar complicada com pneumonia necrotizante; o paciente nº2, irmão do paciente nº1, foi perdido de seguimento 6 anos após o transplante, e no momento do último contato apresentava somente a evidência de ceratocone; o paciente nº3 faleceu 10 anos após o TCTH em decorrência de fibrose hepática diagnosticada 8 anos após o transplante; o paciente nº4 perdeu o seguimento 2 anos após o transplante e o último relato informado foi apenas que o paciente encontrava-se vivo aos 15 anos depois o transplante; a paciente nº5 está viva 16 anos após o TCTH e apresenta somente manifestações mucocutâneas da DC; a paciente nº7 está viva 8 anos após o TCTH e não apresenta manifestações da DC e complicações relacionadas ao transplante. Esta paciente teve um filho, saudável.

Dentre os 18 pacientes que foram acompanhados por um tempo entre 1 e 5 anos, cinco foram a óbito neste período: uma paciente portadora de síndrome de Revesz (paciente nº8) faleceu um ano após o TCTH em decorrência de sangramento digestivo difuso. Dois pacientes tiveram o diagnóstico de síndrome hepatopulmonar (SHP), confirmado através do exame de ecocardiograma contrastado com bolhas: o paciente nº9 estava em tratamento de DECH crônica de intestino e boca quando foi observada hipoxemia. A espirometria era normal e a tomografia de tórax mostrou imagens inespecíficas cuja extensão era pequena e desproporcional ao grau de hipoxemia. Na biópsia do pulmão foi observada de inflamação inespecífica sem fibrose. Este paciente faleceu 5 anos após o transplante (1 ano após o diagnóstico da SHP) por embolia séptica e abscesso cerebral decorrente do shunt direita-esquerda. O paciente nº13 também apresentava hipoxemia grave sem sintomas respiratórios e a tomografia de tórax era normal. O diagnóstico de SHP foi realizado 3 anos o TCTH e este paciente faleceu em menos de um ano após este diagnóstico por sepse. Outros

Comentado [SN1]: deb test e HPN - se foi excluído.

***Fazer sequenciamento da família dos pacientes nos quais não foram encontradas mutações.

Acrescentar no manuscrito: a informaçã genética influenciou na seleção do doador.

** paciente 15manuscr pt ASH

colocar a paciet com monossomia do 7 cm MDS na aprsetçao a tabela de rejeiçã ficou melhor

dois pacientes foram a óbito por infecção um ano após o TCTH: o paciente nº 10 que estava em tratamento de DECHc e a paciente nº21 que apresentava sequelas graves de acidente vascular cerebral ocorrido durante o TCTH. Dos 13 pacientes deste grupo que sobreviveram, apenas um apresentava manifestações da DC (SHP) e um estava em tratamento de DECH. Os demais não apresentavam complicações no último contato.

A idade mediana dos sobreviventes é de 14 anos (mínimo de 5 e máximo de 39 anos) e até o momento do fechamento da análise deste estudo nenhum paciente foi diagnosticado com câncer.

5 DISCUSSÃO

A Disqueratose Congênita é uma doença genética rara, com incidência estimada de 1/1.000.000 pessoas, cujo tratamento com TCTH está indicado nos casos de citopenia de risco que não apresentem resposta à terapia com andrógenos (WALNE;MARRONE; DOKAL, 2005; KHINCHA *et al.*, 2014, 2018). Até o momento, estão relatados na literatura pouco mais de 100 pacientes submetidos ao transplante (GADALLA *et al.*, 2013; FIOREDDA *et al.*, 2018). No presente estudo reportamos 28 pacientes transplantados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, constituindo-se no maior número de casos já publicados de pacientes com DC submetidos a TCTH em uma única instituição.

A maioria dos pacientes apresentavam as alterações mucocutâneas antes do transplante, caracterizando a forma clássica da doença, sendo que três mutações diferentes foram encontradas neste grupo. Apenas quatro pacientes não tinham tais manifestações, porém estes apresentavam telômeros muito curtos e em dois deles foi encontrada a mutação característica da doença. Houve também uma ampla variação da faixa etária no momento do TCTH, incluindo pacientes de 3 a 30 anos de idade. Apesar da heterogeneidade do grupo, todos os pacientes apresentavam pancitopenia com medula óssea hipocelular. Até o momento do transplante nenhum paciente apresentava câncer, evidência clínica de fibrose pulmonar, hepática ou comprometimento de outros órgãos pela doença.

O regime de condicionamento variou de acordo com a época e com o tipo de doador (aparentado totalmente compatível, haploidêmico e não aparentado), sendo que maioria dos pacientes recebeu condicionamento de intensidade reduzida. Nos primeiros cinco transplantes com doadores irmãos compatíveis foi utilizado CFA 200 mg/Kg. A partir de 2010 passou-se a utilizar CFA 60mg/Kg, fludarabina 150mg/m² e ATG 5mg/Kg tanto para transplantes aparentados quanto para não aparentados. Duas pacientes receberam condicionamento mieloablativo com bussulfano. O uso de CFA 200mg/Kg não apresentou toxicidade mais grave em relação ao esquema mais recente, ao contrário do que havia sido descrito na literatura (BERTHOU *et al.*) Entretanto, nos trabalhos que relataram o uso de ciclofosfamida com doses entre 140 a 200mg/Kg, a utilizaram em associação com bussulfano ou radioterapia (BERTHOU *et al.*, 1991; LANGSTON *et al.*, 1996). No nosso trabalho não houve diferença

significativa na sobrevida entre esses dois grupos. Isto pode ter ocorrido devido ao pequeno número de casos que receberam apenas ciclofosfamida adicionado ao fato de que estes pacientes haviam recebido transplante de doadores aparentados que pode estar relacionado a uma melhor sobrevida, como sugere a literatura (BARBARO; VEDI, 2016). Neste trabalho a ICT em dose baixa foi usada somente nos transplantes haploidênticos. A toxicidade foi semelhante aos outros regimes, entretanto os seus efeitos tardios não puderam ser avaliados pelo pequeno número de pacientes com seguimento curto. Na literatura a utilização de radioterapia em doses mieloablativas em transplantes na DC tem sido associada a complicações vasculares e pulmonares graves (LANGSTON *et al.*, 1996). O autor Nishio *et al.* (2011) afirma que doses não mieloablativas sejam seguras, enquanto Ayas *et al.* (2013) recomenda que mesmo doses não mieloablativas sejam evitadas devido à instabilidade cromossômica e à predisposição ao câncer (KANO; FUJIWARA, 1982; DEBAUCHE; PAI; STANLEY, 1990; DOKAL; LUZZATTO, 1994; AYAS *et al.*, 2013; ALTER *et al.*, 2009). Os efeitos da radioterapia são difíceis de avaliar devido à variação de doses utilizadas nos trabalhos e à heterogeneidade dos pacientes. Os quatro pacientes que não apresentavam manifestações mucocutâneas também não apresentaram toxicidade diferente dos demais. Em face dos nossos resultados e de acordo com as evidências da literatura (DE LA FUENTE; DOKAL, 2007; FIOREDDA *et al.*, 2018), adotamos o uso de condicionamento de intensidade reduzida que não utilize radioterapia, ficando esta, reservada para os transplantes haploidênticos.

A rejeição primária do transplante aconteceu somente em uma paciente, que possuía anticorpo anti-HLA contra o seu doador haploidêntico, o que poderia estar implicado na causa da rejeição. A rejeição secundária ocorreu em três pacientes que receberam condicionamento de intensidade reduzida e que tinham quimerismo misto. Uma paciente teve infecção por CMV detectada logo após pega de um TMO haploidêntico, o que pode ter contribuído para a perda precoce do enxerto. As outras duas pacientes apresentaram a perda do enxerto tardiamente, com 180 e 485 dias após o transplante. Os dados da literatura demonstram que o uso de regimes de intensidade reduzida está associado a uma maior frequência de quimerismo misto (JILLELLA *et al.*, 2007; OSHRINE; OLSON; BUNIN, 2014), e, embora este seja suficiente para a correção das manifestações de doenças não-malignas, está associado a um maior risco de rejeição (ANDREANI *et al.*, 1996; SVENBERG *et al.*, 2009; MARSH *et al.*, 2010). É importante considerar que estes trabalhos são

retrospectivos e incluíram outras doenças não-malignas, o que torna difícil fazer uma comparação com os casos do nosso estudo. Além disso, os pacientes que apresentaram a rejeição secundária eram muito transfundidas, o que também pode aumentar o risco de rejeição (SRINIVASAN *et al.*, 2006; OSHRINE; OLSON; BUNIN, 2014). A análise dos casos deste estudo sugere que a utilização de regimes de condicionamento de intensidade reduzida possa ser uma alternativa segura para os transplantes para DC. Estudos posteriores poderão esclarecer fatores relacionados à própria doença de base que podem contribuir para a rejeição do transplante.

No presente estudo a sobrevida estimada em 5 anos foi de 60%, resultado semelhante aos reportados em outros estudos retrospectivos multicêntricos (GADALLA *et al.*, 2013; ALTER *et al.*, 2009; FIOREDDA *et al.*, 2018). A maioria das mortes ($n = 13$) ocorreu após 1 ano do transplante, em sua maior parte decorrente da evolução não hematológica da doença, contribuindo para a queda de sobrevida antes dos cinco anos de transplante. O papel do transplante em acelerar a manifestação dessas complicações é objeto de estudo e já foi observada por Giri (2011), em um estudo retrospectivo, onde as complicações pulmonares foram 2,2 vezes mais frequentes entre os pacientes transplantados bem como ocorria nestes em idade mais precoce. É relevante mencionar que a maioria dos pacientes deste estudo que sobreviveram ($n = 11$) tem um tempo de seguimento curto, o que pode ter levado à uma subestimativa das mortes e complicações tardias relacionadas à doença e ao transplante. Nesta análise não houve diferença na sobrevida em relação à época do transplante e à idade do paciente, diferente dos resultados de Fioredda (2018) e Barbaro e Vedi (2016), que relataram uma sobrevida melhor para pacientes abaixo de 20 anos e nos transplantes realizados após o ano 2000. Possivelmente o pequeno número de pacientes nesse estudo não permitiu atingir significância estatística. De forma semelhante aqueles autores encontramos uma tendência de sobrevida melhor para os transplantes aparentados comparados aos não aparentados (SG 73% x 56%, $p = 0,053$).

Neste trabalho a DECH aguda e crônica ocorreram em transplantes com doadores não aparentados e haploidênticos. Apesar do pequeno número de eventos não permitir a análise estatística, é importante destacar que DECH aguda foi causa de óbito em uma paciente e a DECH crônica em outro paciente. Além disso, dois pacientes que desenvolveram síndrome hepatopulmonar apresentavam DECH crônica em atividade. A associação da DECH crônica à maior morbimortalidade e ao

desenvolvimento de carcinoma espinocelular (CEC) de cabeça e pescoço já foi documentada em trabalhos gerais de transplante e em outros com pacientes portadores de síndromes de instabilidade cromossômica (BONFIM *et al.*, 2016; CURTIS *et al.*, 2018). Acrescenta-se a isso o risco de câncer inerente à instabilidade cromossômica que está presente na DC (KANO; FUJIWARA, 1982; DOKAL *et al.*, 1992; DOKAL; LUZZATTO, 1994; ALTER *et al.*, 2009), e o fato de que as próprias lesões orgânicas pré-existentes da DC podem predispor ao desenvolvimento de DECH crônica e contribuir para a morbimortalidade (GIRI *et al.*, 2011; LATOUR *et al.*, 2013). Nesta coorte nenhum caso de câncer foi diagnosticado, porém apenas seis pacientes foram seguidos por um período maior de oito anos, e somente quatro tinham idade superior a 30 anos no último contato. Na última publicação de Alter *et al.* (2018) com 197 pacientes com DC a incidência do câncer antes do transplante alcançou 20% numa mediana de idade de 29 anos (variou entre 1,5 a 68 anos). Na revisão de Alter (2009) a incidência de câncer foi de 40% aos 50 anos e 60% aos 68 anos. O carcinoma espinocelular continua sendo a principal causa de mortalidade independentemente do transplante, o que reforça a necessidade de seguimento desses pacientes em longo prazo.

Embora o uso de regimes de condicionamento de intensidade reduzida tenha proporcionado a redução das complicações precoces, o transplante na DC continua sendo um desafio devido à maior suscetibilidade dos pacientes às complicações tardias, destacando-se as alterações vasculares e a fibrose pulmonar (DOKAL, 2000; AYAS *et al.*, 2013; GORGY *et al.*, 2015; DVORAK *et al.*, 2015; KHINCHA *et al.*, 2017). Na nossa casuística observamos apenas dois casos que desenvolveram fibrose (paciente nº1: pulmonar e paciente nº3: hepática). Possivelmente, o encontro de um número de casos menor que a estimativa da literatura, se deu pela característica da amostra que foi constituída em sua maioria de pacientes mais jovens que foram seguidos por um período curto e insuficiente de tempo para o desenvolvimento de fibrose.

As complicações vasculares foram observadas em quatro pacientes: na paciente portadora de Revesz, que faleceu devido ao sangramento intestinal difuso; em outros três pacientes foram diagnosticados com síndrome hepatopulmonar. As alterações vasculares nos pacientes com DC têm sido descritas atualmente com mais frequência, e incluem o sangramento difuso do trato gastrointestinal, a síndrome hepatopulmonar, as malformações arteriovenosas pulmonares que ocorrem na

ausência de doença hepática e as anormalidades venosas retiniana (HIGGS *et al.*, 2018). Embora os três pacientes do nosso estudo que tiveram o diagnóstico de síndrome hepatopulmonar aparentemente não apresentassem nenhum acometimento hepático, segundo a opinião de Gorgy (2015), as alterações vasculares pulmonares são uma manifestação comum da doença hepática. Este autor descreveu nove casos de pacientes portadores de DC com o diagnóstico de síndrome hepatopulmonar, que não tinham alteração de enzimas hepáticas e evidência de fibrose e no entanto apresentavam malformações arteriovenosas intra-hepáticas e cujo achado mais comum na biópsia foi a hiperplasia nodular regenerativa. Outro fato relevante é que os pacientes portadores de malformações arteriovenosas pulmonares podem ser assintomáticos (KHINCHA *et al.*, 2017), o que foi observado no casos dos três pacientes desse estudo. A nossa experiência junto com os dados da literatura chama a atenção tanto para a necessidade de seguimento e avaliação pulmonar dirigida para as alterações vasculares quando se detecta hipoxemia, quanto para a correta avaliação do envolvimento hepático.

Apesar da relevância da descrição desses casos, seus achados devem ser cuidadosamente interpretados diante de algumas limitações do estudo como seu caráter retrospectivo e a ausência de um grupo controle. O encaminhamento dos pacientes mais graves para o transplante é um viés de seleção que pode prejudicar a interpretação dos efeitos do transplante na evolução da doença me longo prazo. A colaboração entre as pesquisas básica e clínica em estudos adicionais é fundamental para elucidar os mecanismos biológicos da doença e a sua possível relação com os efeitos do transplante e suas complicações.

6 CONCLUSÃO

- A pega do transplante ocorreu em 26 de 27 pacientes avaliáveis. A falha primária de enxertia aconteceu somente em um caso e a falha secundária em três pacientes.
- A mortalidade relacionada ao procedimento foi de 14% em 100 dias.
- A sobrevida global foi de 53,6% na mediana de seguimento de 6 anos. Não houve diferença estatística da sobrevida entre transplantes com doadores aparentados e não aparentados (54,5% versus 52,9%, $p = 0,053$)
- Não foi possível identificar diferenças no resultado entre os transplantes de pacientes portadores de formas clássica e não clássica da DC em virtude da heterogeneidade da coorte e ao pequeno número de casos,
- A incidência de DECH aguda graus II-IV foi de 23%. A DECH crônica moderada a grave ocorreu em 23% dos casos, sendo que a maioria ($n=5$) havia apresentado DECH aguda previamente. Devido ao pequeno número de casos não foi possível identificar fatores relacionados à ocorrência de DECH.
- Durante o seguimento em longo prazo quatro pacientes faleceram em decorrência da evolução não hematológica da doença e dois pacientes por complicações relacionadas ao transplante e dois pacientes foram perdidos de seguimento.
- A observação da progressão não hematológica da doença e a detecção de câncer foram limitadas pela baixa idade e curto tempo de seguimento da maioria dos pacientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFIAS

ALTER, B.P. *et al.* Cancer in dyskeratosis congenita. **Blood**, v.113, n.26, p.6549-6558, 2009.

ALTER, B.P. *et al.* Cancer in the National Cancer Institute inherited bone marrow failure syndrome cohort after fifteen years of follow-up. **Haematologica**, v.103, n.1, p.30-39, 2018.

ALTER, B.P. *et al.* Very short telomere length by flow fluorescence in situ hybridization identifies patients with dyskeratosis congenita. **Blood**, v.110, n.5, p.1439-47, 2007.

ANDREANI, M. *et al.* Persistence of mixed chimerism in patients transplanted for the treatment of thalassemia. **Blood**, v.87, n.8, p.3494-3499, 1996.

AYAS, M. *et al.* Reduced intensity conditioning is effective for hematopoietic SCT in dyskeratosis congenita-related BM failure. **Bone Marrow Transplantation**, v.48, n.9, p.1168-72, 2013.

BARBARO, P.; VEDI, A. Survival following haematopoietic stem cell transplant in patients with dyskeratosis congenita – a systematic review of the literature. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.22, n.7, p.1152-1158, 2016.

BERTHOU, C. *et al.* Late vascular complications after bone marrow transplantation for dyskeratosis congenita. **British Journal of Haematology**, v.79, p.335-344, 1991.

BESSLER, M.; WILSON, D.B.; MASON, P.J. Dyskeratosis Congenita. **FEBS letters**, v.584, n.17, p.3831-3838, 2010.

BONFIM, C. *et al.* Long-term Survival, Organ Function, and Malignancy after Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Fanconi Anemia. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.22, n. 7, p.7-9, 2016.

CALADO, R.T. *et al.* Sex hormones, acting on the TERT gene, increase telomerase activity in human primary hematopoietic cells. **Blood**, v.114, n.11, p.2236-44, 2009.

CALADO, R.T. Telomeres and marrow failure. **Hematology. American Society of Hematology. Educational Program**, p.338-343, 2009.

CALADO, R.T.; YOUNG, N.S. Telomere Diseases. **The New England Journal of Medicine**, v.361, n.24, p.2353-65, 2009.

CURTIS, R. E. *et al.* Impact of chronic GVHD therapy on the development of squamous-cell cancers after hematopoietic stem-cell transplantation : an international case-control study. **Blood**, v.105, n.10, p.3802-3812, 2018.

DE LA FUENTE, J.; DOKAL, I. Dyskeratosis congenita: Advances in the understanding of the telomerase defect and the role of stem cell transplantation. **Pediatric Transplantation**, v.11, n.6, p.584-594, 2007.

DEBAUCHE, D.M.; PAI, G.S.; STANLEY, W. S. Enhanced G2 Chromatid Radiosensitivity in Dyskeratosis Congenita Fibroblasts. **American Journal of Human Genetics**, v.46, n.2, p.350-357, 1990.

DIETZ, A.C. et al. Disease-specific hematopoietic cell transplantation: Nonmyeloablative conditioning regimen for dyskeratosis congenita. **Bone Marrow Transplant**, v. 46, n.1, p.98-104, 2011.

DOKAL, I. Dyskeratosis Congenita. **Hematology. American Society of Hematology. Educational Program**, p.480-486, 2011.

DOKAL, I. et al. Dyskeratosis congenita fibroblasts are abnormal and have unbalanced chromosomal rearrangements. **Blood**, v.80, n.12, p.3090-3096, 1992.

DOKAL, I.; LUZZATTO, L. Dyskeratosis congenita is a chromosomal instability disorder. **Leukemia and Lymphoma**, v.15, n.1-2, p.1-7, 1994.

DOKAL, I. Dyskeratosis congenita in all its forms. **British Journal of Haematology**, v.110, n.4, p.768-79, 2000.

DROR, Y. et al. Low-intensity hematopoietic stem-cell transplantation across human leucocyte antigen barriers in dyskeratosis congenita. **Bone Marrow Transplantation**, v.31, n.10, p.847-50, 2003.

DVORAK, L. A. et al. Pulmonary fibrosis in dyskeratosis congenita: report of 2 cases. **Human Pathology**, v.46, n.1, p.147-152, 2015.

FIOREDDA, F. et al. Outcome of haematopoietic stem cell transplantation in dyskeratosis congenita. **British Journal of Haematology**, v.183, n.1, 2018.

FILIPOVICH, A.H. et al. National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. Diagnosis and Staging Working Group Report. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.11, n.12, p.945-956, 2005.

GADALLA, S.M. et al. Outcomes of allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with dyskeratosis congenita. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.19, n.8, p.1238-1243, 2013.

GIRI, N. et al. Lung transplantation for pulmonary fibrosis in dyskeratosis congenita: Case Report and systematic literature review. **BMC Blood Disorders**, v.11, n.3, p.1-9, 2011.

GLUCKSBERG, H. et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. **Transplantation**, v.18, n.4, p.295-394, 1974.

GORGY, A.L. *et al.* Hepatopulmonary syndrome is a frequent cause of dyspnea in the short telomere disorders. **Chest**, v.148, n.4, p.1019-1026, 2015.

GRAMATGES, M.M.; BERTUCH, A.A. Short Telomeres: From Dyskeratosis Congenita to Sporadic Aplastic Anemia and Malignancy. **Translational research: the journal of laboratory and clinical medicine**, v.162, n.6, p.353-363, 2013.

GUNGOR, T. *et al.* Nonmyeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for treatment of Dyskeratosis congenita. **Bone Marrow Transplantation**, n.6, v.31, p. 407–410, 2002.

HIGGS, C. *et al.* Understanding the evolving phenotype of vascular complications in telomere biology disorders. **Angiogenesis**, v.22, n.1, p.95-102, 2018.

JILLELLA, A.P. *et al.* Mixed Chimerism and Graft Failure Following Conditioning With the Fludarabine and Cyclophosphamide Nonablative Regimen ; Conversion to Full Donor Chimerism. **American Journal of Hematology**, v.426, n.10, p.419–426, 2007.

KANO, Y.; FUJIWARA, Y. Dyskeratosis congenita: survival, sister-chromatid exchange and repair following treatments with crosslinking agents. **Mutation Research Letters**, v.103, n.3–6, p.327–332, 1982.

KHINCHA, P.P. *et al.* Response to androgen therapy in patients with dyskeratosis congenita. **British Journal of Haematology**, v.165, n.3, p.349–357, 2014.

KHINCHA, P.P. *et al.* Similar telomere attrition rates in androgen-treated and untreated patients with dyskeratosis congenita. **Blood**, vol. 2, no. 11, p. 1243–1249, 2018.

KHINCHA, P.P., *et al.* Pulmonary arteriovenous malformations: an uncharacterised phenotype of dyskeratosis congenita and related telomere biology disorders. **The European Respiratory Journal**, v.49, n.1, 2017.

KOCAK, H. *et al.* Hoyeraal-Hreidarsson syndrome caused by a germline mutation in the TEL patch of the telomere protein TPP1. **Genes & Development**, v.28, n.19, p.2090-2102, 2014.

LANGSTON, A.A. *et al.* Allogeneic marrow transplantation for aplastic anaemia associated with dyskeratosis congenita. **British Journal of Haematology**, v.92, n.3, p.758–65, 1996.

LATOUR, R.P. *et al.* Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Fanconi anemia: the European Group for Blood and Marrow Transplantation experience. **Blood**, v.122, n.26, p.4279–4287, 2013.

LeGUEN, T. *et al.* Human RTEL1 deficiency causes Hoyeraal-Hreidarsson syndrome with short telomeres and genome instability. **Human Molecular Genetics**, v.22, n.16, p.3239-49, 2013.

MARRONE, A. *et al.* Telomerase reverse-transcriptase homozygous mutations in autosomal recessive dyskeratosis congenita and Hoyeraal-Hreidarsson syndrome. **Blood**, v.110, n.13, p.4198-205, 2007.

MARSH, R.A. *et al.* Reduced-intensity conditioning significantly improves survival of patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation. **Blood**, v.116, n.26, p.5824–5831, 2010.

NELSON, A.S. *et al.* A Reduced-Intensity Conditioning Regimen for Patients with Dyskeratosis Congenita Undergoing Hematopoietic Stem Cell Transplantation. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.22, n.5, p.884-888, 2017.

NISHIO, N. *et al.* Reduced-intensity conditioning for alternative donor hematopoietic stem cell transplantation in patients with dyskeratosis congenita. **Pediatric Transplantation**, v.15, n.2, p.161–166, 2011.

OSHRINE, B.R.; OLSON, T. S.; BUNIN, N. Mixed Chimerism and Graft Loss in Pediatric Recipients of an Alemtuzumab-Based Reduced-Intensity Conditioning Regimen for Non-Malignant Disease. **Pediatric Blood and Cancer**, v.61, n.10, p.1852–1859, 2014.

PHILLIPS, R.J.; *et al.* Dyskeratosis congenita: delay in diagnosis and successful treatment of pancytopenia by bone marrow transplantation. **British Journal of Dermatology**, v.127, n.3, p.278-280, 1992.

ROCHA, V. *et al.* Unusual complications after bone marrow transplantation for dyskeratosis congenita. **British Journal of Haematology**, v.103, n.1, p.243–248, 1998.

SAVAGE, S.A; ALTER, B.P. Dyskeratosis Congenita. **Hematology Oncology Clinics of North America**, v.32, n.2, p.215-231, 2009.

SIRINAVIN, C.; TROWBRIDGE, A.A. Dyskeratosis Congenita: clinical features and report of a family and review of the literature. **Journal of Medical Genetics**, n.12, p.339-354, 1975.

SRINIVASAN, R. *et al.* Overcoming graft rejection in heavily transfused and allo-immunised patients with bone marrow failure syndromes using fludarabine-based haematopoietic cell transplantation. **British Journal of Haematology**, v.133, n.3, p.305–314, 2006.

SVENBERG, P. *et al.* Allogeneic hematopoietic SCT in patients with non-malignant diseases , and importance of chimerism. **Bone Marrow Transplantation**, v.44, n.11, p.757–763, 2009.

TOWNSLEY, D.M. *et al.* Danazol treatment for telomere diseases. **The New England Journal of Medicine**, v.374, n.20, p.1922–1931, 2016.

VULLIAMY, T.J. *et al.* Mutations on dyskeratosis congenita: their impact on telomere length and the diversity of clinical presentation. **Blood**, v.107, n.7, p.2680-2685, 2006.

VULLIAMY, T.J. *et al.* Very Short Telomeres in the peripheral blood of patients with X-linked and autosomal Dyskeratosis Congenita. **Blood Cells, Molecules and Diseases**, v.27, n.2, p.353-357, 2001.

WALNE, A. J.; MARRONE, A.; DOKAL, I. Dyskeratosis congenita: a disorder of defective telomere maintenance. **Internal Journal of Hematology**, vol. 82, no. 3, p. 184–189, 2005.

WALNE, A.J. *et al.* Genetic heterogeneity in autosomal recessive dyskeratosis congenita with one subtype due to mutations in the telomerase-associated protein NOP10. **Human Molecular Genetics**, v.16, n.13, p.1619-29, 2007.

WALNE, A.J. *et al.* Marked overlap of four genetic syndromes with dyskeratosis congenita confounds clinical diagnosis. **Haematologica**, v.101, n.10, p.1180-89, 2016.

WALNE, A.J.; DOKAL, I. Advances in the understanding of dyskeratosis congenita. **Brithish Journal of Haematology**, v.145, n.2, p.164-72, 2009.

WALNE, A.J.; DOKAL, I. Dyskeratosis Congenita: A historical perspective. **Mechanisms of Ageing and Development**, v.129, n.1-2, p.48-59, 2008.

APÊNDICE

APENDICE 1 – CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS PACIENTES COM DC SUBMETIDOS A TCTH

CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS TRANSPLANTES.

Pte (n°)	Idade/sexo	Fenótipo	Fonte CTH	Regime	Profilaxia da DECH	Quim.	DECH aguda*	DECH crônica**	Desfecho
1	16 / M	DC	AP (4/4)	CFA 200mg/Kg	CsA + Mtx	total	0	0	Óbito (fibrose pulmonar + pneumonia necrotizante com bola fúngica)
2	19 / M	DC	AP (4/4)	CFA 200mg/Kg	CsA + Mtx	total	0	0	Perdido no seguimento em 2003. Em 2002 recebeu um transplante de córnea bilateral por ceratocone.
3	8 / M	DC	AP (8/8)	CFA 200mg/Kg	CsA + Mtx	misto	0	0	Óbito, fibrose hepática, hemorragia pulmonar.
4	18 / M	DC	AP (6/6)	CFA 200mg/Kg	CsA + Mtx	total	0	0	Vivo, sem FU há 3 anos
5	22 / F	DC	AP (8/8)	CFA 200mg/Kg	CsA + Mtx	total	0	0	Vivo, apenas manifestações mucocutâneas.
6	14 / F	DC	SCU (5/6)	Bu / Flu / ATG	CsA + Ctc	misto	0	0	Óbito, VOD grave
7	27 / F	AAS	NAP (10/10)	CFA / Flu / ATG	CsA + Mtx	total	Pele / I	0	Vivo, assintomático
8	3 / F	REVEZ	NAP (9/10)	CFA / Flu / ATG	CsA + Mtx	total	0	0	Óbito, hemorragia digestiva difusa.
9	9 / M	DC	NAP (9/10)	CFA / Flu / ATG	CsA + Mtx	total	Pele, TGI / II	Grave	Óbito, progressão da doença (síndrome hepatopulmonar)
10	20 / M	DC	NAP (9/10)	CFA / Flu / ATG	CsA + Mtx	misto	Pele, TGI/ II	Moderado	Óbito, DECHc + sepse
11	10 / F	AAS	NAP (10/10)	Bu / CFA / ATG	CsA + Mtx	misto	0	0	Vivo, rejeição secundária e segundo TCTH. Em tratamento DECH no último contato
12	18 / M	DC	NAP (10/10)	CFA / Flu / ATG	CsA + Mtx	misto	0	NA	Óbito, rejeição secundária, infecção por adenovírus.
13	14 / M	DC	NAP (10/10)	CFA / Flu / ATG	CsA + Mtx	misto	0	0	Óbito, progressão da doença, síndrome hepatopulmonar, sepse
14	9 / F	DC	NAP (10/10)		CsA + Mtx	total	0	0	Vivo
15	10 / F	DC	Haplo (5/10)	CFA / Flu / ICT	CFA pós + CsA+MMF	misto	0	0	Vivo, rejeição primária e segundo TCTH. Sem complicações no último contato.

Continua

Conclusão

Pte (n°)	Idade/sexo	Fenótipo	Fonte CTH	Regime	Profilaxia da DECH	Quim.	DECH aguda*	DECH crônica**	Desfecho
16	30 / F	AAS	NAP (11/12)	CFA / Flu / ATG	CsA + Mtx	NA	NA	NA	Óbito, sepse no dia +3
17	4 / M	AAS	NAP (10/10)	CFA / Flu / ATG	CsA + Mtx	total	0	0	Vivo, sem imunossupressão.
18	12 / M	DC	NAP (10/10)	CFA / Flu / ATG	CsA + Mtx	total	0	Moderado	Vivo, sem imunossupressão
19	16 / M	DC	NAP (10/10)	CFA / Flu / ATG	CsA + Mtx	Total	0	0	Vivo, sem imunossupressão
20	22 / M	DC	NAP (11/12)	CFA / Flu / ATG	CsA + Mtx	total	Pepe / II	Grave	Vivo, com imunossupressão
21	21 / F	DC	NAP (11/12)	CFA / Flu / ATG	CsA + Mtx	total	0		Óbito. Hemorragia intracraniana pós TMO, sequelas graves, óbito na origem, por infecção.
22	6 / M	DC	NAP (11/12)		CsA + Mtx	total	Pepe/II	Grave	Vivo, com imunossupressão
23	3 / M	DC	Haplo (5/10)	CFA / Flu / TBI	CFA pós + CsA+MMF	total	0	0	Vivo, síndrome hepatopulmonar.
24	3 / F	AAS	AP (10/10)	CFA / Flu / ATG	CsA + Mtx	misto	0	0	Vivo, rejeição secundária e segundo TCTH. Sem complicações no último contato.
25	12 / F	DC	AP (10/10)	CFA / Flu / ATG	CsA + Mtx	misto	0	0	Vivo, sem imunossupressão
26	7 / F	DC	NAP (11/12)	CFA / Flu / ATG	CsA + Mtx	misto	Pepe/II	0	Vivo, sem imunossupressão
27	17 / M	DC	Haplo (6/12)	CFA / Flu / ICT	CFA pós + CsA+MMF	misto	Pepe, TGI /IV	Grave	Vivo, com imunossupressão.
28	13 / F	DC	Haplo (6/12)	CFA / Flu / ICT	CFA pós + CsA+MMF	misto	0	NA	Óbito, rejeição secundária e óbito por complicações do segundo transplante.

FONTE: O AUTOR (2018)

LEGENDA: AP: não aparentado; Haplo: Haploidético, CFA: ciclofosfamida; Flu: fludarabina; ATG: anti-timoglobulina; ICT: irradiação corporal total; CsA: ciclosporina; Mtx: metotrexate; Bu: bussulfano; TGI: trato gastrointestinal, MMF: micofenolato de mofetila; NA: não avaliable.

* Classificação de Glucksberg ** Classificação do NIH.