

**DOENÇA ENXERTO CONTRA HOSPEDEIRO:  
RELATO DE CASO<sup>1</sup>**

*GRAFT-VERSUS-HOST DISEASE: A CASE REPORT*

**Danilo da Silva Soares<sup>2</sup>, Karen Freitas<sup>2</sup>, Gabriela de Moraes  
Barbosa<sup>2</sup> e Maria do Carmo dos Santos Araujo<sup>3</sup>**

**RESUMO**

A DECH é uma patologia que está envolvida em torno de 40% a 50% dos pacientes submetidos a um transplante de medula óssea alogênico por algum distúrbio medular. O transplante se faz necessário quando nenhuma terapêutica anterior demonstrar resultado satisfatório para os efeitos medulares diagnosticados. Esse processo deve ser cuidadosamente avaliado, pois oferece riscos e benefícios, devendo ser contrabalanceado antes de sua aplicação. O objetivo, no presente estudo, é acompanhar o caso de um paciente com DECH diagnosticada verificando as alterações clínicas e laboratoriais. O estudo acompanhou desde os sintomas que levaram o diagnóstico de Síndrome Mielodisplásica por meio de exames laboratoriais a sua necessidade de transplante de medula óssea e procura de indivíduo compatível, o desenrolar da DECH e sua respectível cura com a associação de drogas imunossupressoras. As alterações mais notórias foram nos exames bioquímicos relacionados ao fígado, rins, trato gastrointestinal e índices hematimétricos, correspondendo ao quadro clínico da doença.

**Palavras-chave:** DECH, clínica, transplante.

***ABSTRACT***

*GVHD is a pathology that is involved in 40% at 50% of patients who undergo a bone marrow transplantation allogenic by some marrow disturb. Transplantation is necessary when no other therapy demonstrates a successful result in regards to the diagnose marrow effects. This process must be carefully investigated because it produces risks and benefits, so these have to be measured before being applied. The objective of the present study was to accompany one patient's case with GVHD*

<sup>1</sup> Trabalho de Iniciação Científica - UNIFRA.

<sup>2</sup> Acadêmicos do Curso de Farmácia - UNIFRA.

<sup>3</sup> Orientadora - UNIFRA.

*diagnosed, checking clinic and laboratory alterations. This study recorded the initial symptoms that motivated the ordering of laboratory exams that indicated a Mielodisplasic Syndrome diagnose and the necessity of a bone marrow transplantation and the search for a compatible donor; the unfolding of the GVHD and its respective cure with the association of immunosuppressive drugs. The most perceptible alterations were in the biochemical exams relate the liver, kidney, gastrointestinal tract and hematimetric indexes corresponding the disease symptoms.*

**Keywords:** *GVHD, clinic, transplantation.*

## INTRODUÇÃO

O transplante de medula óssea (TMO) é um procedimento terapêutico que consiste em enxertar a célula progenitora hematopoética para a correção tanto qualitativa quanto quantitativa de um defeito da medula óssea doente. A suspensão da medula contém células hematopoiéticas progenitoras caracterizadas pela presença do antígeno de superfície CD34 assim como seus descendentes já diferenciados, elementos do estroma e outros componentes reguladores e/ou auxiliares como os linfócitos T.

A necessidade da realização de um transplante de medula óssea (TMO) é notada quando nenhuma terapêutica anterior a esta se mostrar eficaz. Relatos dos últimos trinta anos designam a utilização de TMO como uma medida de urgência efetiva em vários casos de doenças hematológicas malignas e não malignas, imunodeficiências, erros inatos de metabolismo e de tumores sólidos.

O transplante pode ser alogênico, singênico ou autogênico. O transplante caracteriza-se como autogênico quando a medula ou as células precursoras de medula óssea provêm do próprio indivíduo transplantado (receptor). Ele é dito alogênico quando a medula ou as células provêm de um outro indivíduo (doador) e singênico é o efetuado entre um doador gêmeo idêntico e o receptor (PASQUINI, 2004).

O TMO alogênico exige que o doador da medula óssea apresente um HLA (Antígeno Leucocitário Humano) compatível. Dois conjuntos do grupo HLA de classe I (loci A e B) e II (HLA-DR) – três loci cada um herdados no cromossomo 6 do pai e da mãe totalizando seis loci precisam ser idênticos no doador e no recipiente para uma histocompatibilidade ideal de 6/6 (JANEWAY et al., 2002). Os antígenos HLA-A, HLA-B, HLA-C, detectados por anticorpos específicos (sorologia), são encontrados principalmente nas células nucleadas e

são referidos como antígenos da classe I. Os antígenos HLA-D, HLA-Dr, HLA-DP, HLA-DQ são expressos somente nos linfócitos B, macrófagos, monócitos e células endoteliais e referidos como antígenos da classe II. Os antígenos HLA-DR e HLA-DQ são identificados por anticorpos específicos, também por meio de técnica sorológica. Os outros antígenos da classe II poderão ser estudados pelo exame denominado cultura mista de linfócitos, que determina a capacidade de proliferação das células linfóides do paciente e do doador quando cultivadas em uma mesma cultura. A “tolerância” mútua das células é evidência indireta da compatibilidade dos antígenos HLA-D. O doador ideal é aquele que apresenta uma tipagem HLA-A, HLA-B, HLA-DR e HLA-D Q idêntica a do paciente e com índice de reatividade na cultura mista dos linfócitos menor do que 30% (STITES et al., 2000).

As síndromes mielodisplásicas constituem um grupo de distúrbios sanguíneos clonais (mesmo patrimônio genético), caracterizado pela diminuição de linhagens celulares no sangue periférico, resultando em uma queda dos elementos que compõe o sangue: a hemoglobina (anemia), os glóbulos brancos (leucopenia) e as plaquetas (plaquetopenia). A Medula Óssea pode ser tipicamente normocelular ou hiperclular. Suas células apresentam anormalidades morfológicas francas, denominadas alterações displásicas (KRENGER et al., 1997).

Uma das causas mais frequentes de mortalidade pós-transplante é causada pela doença enxerto contra hospedeiro (DECH). Essa doença é causada pelo ataque de linfócitos transplantados contra antígenos relacionados ao HLA no receptor.

O transplante de medula óssea é uma forma de tratamento cada vez mais utilizada para doenças hematológicas, oncológicas e imunológicas. No decorrer do processo terapêutico, o paciente perpassa por diferentes sintomas clínicos e alterações em exames laboratoriais. Este estudo objetivou ampliar os conhecimentos sobre esse complexo tratamento, associando a clínica aos testes laboratoriais.

## **METODOLOGIA**

Este estudo caracteriza-se por ser observacional exploratório na forma de um estudo de caso. Baseia-se em um processo particular conhecido que apresenta características peculiares que o diferencia dos demais. Fenômenos são investigados à medida que ocorrem sem qualquer interferência significativa

do observador. Seu objetivo consiste em compreender o evento em estudo e, ao mesmo tempo, desenvolver teorias mais genéricas a respeito dos aspectos do fenômeno observado (PASQUINI, 2004).

O instrumento para análise do estudo foi o prontuário do paciente, no qual foram observados os itens relacionados ao diagnóstico e tratamento ao qual o paciente foi submetido e às avaliações laboratoriais. A identidade do sujeito do estudo será mantida em confidencialidade. Além disso, destaca-se que o projeto obteve aprovação do Comitê de Ética do Centro Universitário Franciscano, sob, número 001.2007.2.

## REFERENCIAL TEÓRICO

O transplante de medula óssea (TMO) visa a enxertar a célula progenitora hematopoética (CPH) com o objetivo de corrigir um defeito quantitativo ou qualitativo da medula. Nos últimos 30 anos, o TMO é utilizado no tratamento de doenças hematológicas malignas e não malignas, imunodeficiências, erros inatos de metabolismo e de tumores sólidos. De acordo com o doador, os transplantes são denominados singênicos quando o doador é um gêmeo univitelino e alogênicos nos casos em que a medula provém de um outro doador, aparentado ou não. O TMO é chamado de autogênico quando a célula progenitora enxertada é do próprio paciente. A CPH poderá se originar da medula óssea, sangue periférico e sangue de cordão umbilical (PASQUINI, 2004).

A suspensão da medula contém células hematopoiéticas progenitoras caracterizadas pela presença do antígeno de superfície CD34, assim como seus descendentes já diferenciados, elementos do estroma e outros componentes reguladores e/ou auxiliares, como os linfócitos T (TSUYOSHI et al., 2004).

Os primeiros TMOs humanos foram realizados por Thomas et al. (1957). Atualmente, centenas de TMOs são realizados anualmente no mundo. A falha na pega do enxerto e a DECH foram as primeiras razões para que o TMO fosse descontinuado até que técnicas para definir a histocompatibilidade humana fossem criadas. Por volta de 1970, os testes para a avaliação da histocompatibilidade e os regimes imunossupressivos reduziram os índices de falha na pega do enxerto (STITES et al., 2000).

O transplante de medula óssea perpassa por três fases: fase pré-transplante, que consiste em regime terapêutico, erradica todos os elementos malignos residuais e proporciona imunossupressão suficiente para evitar a

rejeição; fase de transplante, em que há a reinfusão da medula óssea ou de células tronco progenitoras do sangue periférico; fase de transfusão, na qual receptores com deficiência de imunidade mediada por células correm o risco de desenvolver a doença enxerto contra o hospedeiro mediada por linfócitos T (KRENGER et al., 1997).

A indicação para o transplante de medula óssea é para pacientes que sofrem de doenças que apresentam mal funcionamento do sistema hematopoiético, ou doentes com deficiências de funções enzimáticas específicas e no desenvolvimento e expansão de clones malignos dentro da medula óssea. Assim, a eliminação quimiorradioterápica do clone maligno com erradicação simultânea da medula óssea normal necessita de um resgate hematopoiético: o transplante (TSUYOSHI et al., 2004).

A recuperação imunológica ocorre de uma forma setorial e em diferentes fases. Os granulócitos, as plaquetas e os eritrócitos alcançam números normais dentro dos três primeiros meses após o transplante. A recuperação da imunidade humoral e celular é lenta, podendo não ser completada em dois anos, particularmente em pacientes com DECH crônica (PASQUINI, 2004).

Existem dados suficientes para afirmar que os linfócitos T do doador, contidos no inóculo de medula óssea, proliferam e se diferenciam em resposta aos antígenos de histocompatibilidade distintos. As próprias células T, através de mecanismos secundários, atacam as células do receptor. Quando essas células, presentes no sangue do doador, identificam uma eventual incompatibilidade com o sangue do paciente, começam a atacar direta ou indiretamente alguns sistemas do receptor.

O papel dos linfócitos T foi confirmado por meio de experiências em animais e humanos que demonstraram que a retirada dos linfócitos do inóculo de medula previne o aparecimento de DECH. Todo esse desencadeamento do processo não se deve à incompatibilidade das diferenças de tipo sanguíneo ou de fator RH, mas à disparidade gênica associada ao sistema de histocompatibilidade (capacidade genética de um tecido ou de um órgão ser aceito por um receptor). A DECH pode ser devastadora, porque não responde a nenhum tipo de tratamento e é fatal na maioria dos casos. A irradiação é a forma mais segura de evitar a doença, uma vez que ela quebra a molécula do DNA do linfócito T, impedindo a sua divisão e eliminando a sua capacidade de proliferar-se no organismo do paciente. O ideal seria a ausência de células em condições de montar uma resposta imunológica contra o paciente. No entanto,

segundo a literatura médica atual, considera-se seguro o sangue que contenha até 10 mil linfócitos T viáveis por cada quilo do paciente. Se o doente pesa 70 quilos, por exemplo, só pode haver 700 mil linfócitos T no volume total de sangue que ele receberá (LEITE, 2004).

A DECH ainda é o maior problema após o TMO alogênico, ocorrendo em percentual que varia de 40 a 50% dos receptores e sendo responsável por 15 a 40% da mortalidade aguda do TMO. Consiste em uma síndrome que ocorre nos primeiros cem dias pós-transplante de medula óssea. O grau de gravidade da DECH se relaciona à incompatibilidade de HLA quando o doador é não aparentado, possui sexo diferente, ou idade avançada a do receptor. (TSUYOSHI et al., 2004).

Além disso, a DECH pode dividir-se em aguda ou crônica. A fase aguda ocorre em duas subfases distintas, uma aferente e outra eferente. Na fase aferente, células T CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> reagem a aloantígenos classe I e II do hospedeiro na superfície das células apresentadoras do antígeno (APC). O exato mecanismo de formação desses aloantígenos ainda não é bem explicado. O regime de condicionamento parece iniciar a resposta imune pelo dano aos outros tecidos do hospedeiro, como mucosa intestinal, fígado e outros com indução de liberação de citocinas, em especial interleucina 1, fator de necrose tumoral (TNF)- $\alpha$  e penetração de lipossacarídeos bacterianos entéricos ou endotoxinas que pré-ativam macrófagos a liberar TNF- $\alpha$  e IL-1.

Estudos recentes comprovaram que se a liberação de TNF- $\alpha$  na fase de condicionamento for bloqueada atrasará o início da GVHD aguda e diminuirá a incidência de doenças severas. Esses dados sugerem que a inibição de citocinas inflamatórias podem ser eficazes quando usadas de imediato em períodos peritransplante (KRENGER et al., 1997). As células T são estimuladas pela interleucina-2 (IL-2). Sob influência da IL-2, as células TCD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> se expandem clonalmente e diferenciam-se em células efectoras, as quais induzem a resposta enxerto contra hospedeiro. Essas células efectoras são ativadas por coestimuladores e citocinas proinflamatórias, como interferon gama (INF- $\gamma$ ) e interleucina -12 (IL-12), em células efectoras T helper 1 (incluindo linfócitos citotóxicos CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>), as quais direcionam a resposta enxerto contra hospedeiro. As células T alorreativas podem, ainda, transformar-se em células supressoras T helper 2 antígenos-específicos sob a influência das interleucinas 4 e 10 (IL4 e IL10).

O quadro clínico geralmente se inicia com uma erupção maculopapular envolvendo a pele. A icterícia e a diarreia volumosa com perda de mucosa acompanham os quadros mais graves. Febre, queda do estado geral e disfunção

do enxerto podem ser as causas de infecções virais, geralmente associadas. A toxicidade também ocorre em outros órgãos, como tubo digestivo, fígado, pulmão, coração e outros. No tubo digestivo, a mucosite é bastante comum e, pelo desnudamento das mucosas, a barreira epitelial aos microrganismos é rompida. Alterações hepáticas menores são comuns, porém situações de maior gravidade, como a doença venooclusiva, podem ocorrer, sendo esta, juntamente com infecções, as causas mais comuns de óbito precoce no TMO (PASQUINI, 2004).

O tratamento dessa síndrome inclui drogas imunossupressoras. A prednisona, isoladamente, mostrou-se mais eficaz do que a associação prednisona/azatioprina, quando analisada a sobrevida global dos pacientes. No entanto, em pacientes que apresentam trombocitopenia, a combinação de ciclosporina e prednisona mostrou-se mais eficaz. A talidomida é um medicamento também utilizado. (POLLOK et al., 2006).

Para que esse enxerto tenha sucesso, é fundamental que as células infundidas proliferem no receptor permanentemente, evitando-se a rejeição e que o novo sistema imunológico, originado do doador, tolere os tecidos do receptor, a fim de evitar a doença do enxerto contra o hospedeiro grave e fatal. A pega do enxerto ocorre em mais de 95% dos pacientes e a sua rejeição é raramente observada, sendo mais comum nas anemias aplásicas quando empregados em regimes condicionantes menos agressivos e nas situações em que algum grau de incompatibilidade no HLA esteja presente (PASQUINI, 2004).

A DECH ocorre não somente quando há uma diferença entre um antígeno maior de MHC de classe I ou II, mas também quando há disparidade entre antígenos H menores. Ela é uma complicação comum entre receptores de medula óssea de irmãos HLA-idênticos, que tipicamente diferem um dos outros em muitas proteínas polimórficas codificadas por genes não ligados ao MHC (FERRARA; DEEG, 1991; GÓES et al., 2006).

Embora a DECH seja normalmente nociva ao receptor de um transplante de medula óssea, em certas situações pode haver alguns efeitos benéficos. Parte do efeito terapêutico no transplante de medula óssea em leucemia pode ser devido a um enxerto versus leucemia, em que a medula óssea alogênica reconhece os antígenos H menores ou antígenos tumor-específicos expressos pelas células leucêmicas, levando as células do doador a matar as células leucêmicas. Um desses antígenos H menores, o HB-1, um marcador da linhagem das células B, é expresso pelas células da leucemia linfoblástica aguda, as quais são células da linhagem B, e pelos linfócitos B transformados pelo vírus

Epstein Barr (EBV). Uma das opções terapêuticas para evitar o desenvolvimento da doença enxerto versus hospedeiro é a eliminação das células T maduras da medula óssea do doador *in vitro* antes do transplante, removendo as células T alorreativas. Aquelas células T que subsequentemente amadurecerem *in vivo* no receptor, provenientes da medula óssea do doador, são tolerantes aos antígenos do receptor. Embora a eliminação da DECH traga benefícios para o paciente, existe um aumento no risco da recidiva leucêmica, o que fornece forte evidência em apoio ao efeito enxerto versus leucemia (JANEWAY et al., 2002).

Pelo menos 50% da mortalidade pós-transplante (tanto associada quanto não associada) é causada pela DECH. Todos os pacientes, portanto, com exceção dos receptores de transplante singênico de medula óssea, recebem profilaxia contra DECH por 6-12 meses, composta por combinações de ciclosporina e metotrexano, ciclosporina e prednisona ou das três drogas (MANUAL DE ONCOLOGIA CLINICA, 2006).

Um dos maiores malefícios que pode ocorrer após um transplante de medula óssea alogênico é a DECH. Para o desenvolvimento dessa doença são necessários três pré-requisitos: (1) o enxerto deve conter imunocomponentes capazes de reconhecer e agir contra antígenos do hospedeiro; (2) deve haver incapacidade do hospedeiro de rejeitar o enxerto; (3) deve haver diferenças aloantigênicas entre o doador e o receptor. Caso esses três requisitos ocorram, haverá a manifestação do quadro enfermo.

Estudos comprovaram que existe uma reação imune entre os linfócitos T do doador, contidos no enxerto contra as células do receptor. As células T do doador devem ter a capacidade de se proliferarem e diferenciarem-se frente a antígenos de histocompatibilidade distintos, ocorrendo em poucos dias necrose dos tecidos e falência da medula no hospedeiro (TSUYOSHI et al., 2004).

A fisiopatologia da DECH se apresenta de duas formas, aguda e crônica. A DECH aguda é designada quando manifestada antes dos cem primeiros dias pós-transplante. É o estado patológico que secundariamente resulta no enxerto de células T do doador e manifestações como Rash cutâneo, diarreia, icterícia, na qual os sintomas preponderantes situam-se na pele, fígado e trato gastrointestinal (KRENGER et al., 1997).

Recentes avanços ocorreram no tratamento da DECH, como o controle da resposta imune, buscando o seu equilíbrio por meio de drogas imunossupressoras e aumentando o sucesso do enxerto em receptores livre da forma ativa da doença. Frequentemente, sua reconstituição ocorre de forma lenta e fica suscetível a



infecções fatais. Além disso, a resposta imune do doador pode cobrir o aumento do risco de reincidência leucêmica (TSUYOSHI et al., 2004).

A fase aguda da doença pode ser dividida em três fases: (KRENGER et al., 1997).

1) Dano e ativação celular induzida por pré-condicionamento: a primeira fase da DECH aguda ocorre antes das células do doador serem infundidas. O tecido danificado causado por fatores estritamente ligados à doença de base, no tratamento dessa, como infecção e pré-condicionamento do transplante pode encobrir a ativação celular e liberação de citocinas inflamatórias incluindo fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina I (IL-1) e IL-6. Essas interleucinas induzem o aparecimento de antígenos do hospedeiro e permitem a adesão de células T do doador respondendo a antígenos do hospedeiro. O dano da mucosa do trato gastrointestinal (TGI) é induzido por pré-condicionamento podendo permitir a entrada de bactérias e endotoxinas bacterianas na circulação sistêmica através do TGI, aumentando a secreção de citocinas inflamatórias por macrófagos.

2) Ativação dos linfócitos do doador (Células T): as células T do doador reconhecem as células que possuem de antígenos (APC) do hospedeiro e diferenciam-se em Th1 que secretam INF- $\gamma$  e IL-2.

3) Efeitos celular e inflamatório: as células-alvo são lesadas. Células Th1, que sofreram diferenciação durante a fase 2, induzem linfócitos T citotóxicos e ativam a célula NK. Essas células atacam várias células-alvo do hospedeiro via FAS e outros caminhos. As células Th1 podem, primeiramente, conduzir macrófagos, aumentando a produção de citocinas inflamatórias, TNF- $\alpha$ , IL-1 e óxido nítrico, na resposta de estimulação por endotoxinas que entram na circulação sistêmica pelo TGI. Essas moléculas citotóxicas atacam diretamente vários tecidos do hospedeiro e ficam abaixo as manifestações clínicas da DECH aguda.

Para sua fase crônica, foi atribuída a causa às células T autorreativas, nas quais escaparam da seleção negativa no timo avariado por regime condicional, (DECH aguda) e/ou atrofia relatada pela idade. Estudos sobre a DECH crônica têm revelado involução tecidual do timo, depleção linfocitária, desaparecimento do corpúsculo de Hassal e diminuição da função do timo (KRENGER et al., 1997).

O aparecimento da DECH crônica é dependente de dois fatores: a presença contínua de células T do doador reativas contra o hospedeiro e a eliminação de células T reativas NO Timo.

Devido a essas descobertas, sugestionando a DECH crônica, que pode ocorrer meses depois do transplante de células tronco hematopoiéticas, talvez

pertença a resposta imune Th2 das células T CD4<sup>+</sup> que escaparam da seleção negativa do timo na qual este foi reconhecido os antígenos MHC pela APC do hospedeiro.

Tratamento em comum usado na clínica:

Agentes imunossupressores, que interrompem a fase 2 da cascata da DECH, são usados em larga escala, como, por exemplo, a ciclosporina, corticoides, tacrolimus, micofenolato de mofenil e depleção de células T por Campath-1.

*Ciclosporina*: A ciclosporina é um metabólito obtido por duas espécies de fungos isoladas coletadas em simples amostras de solo em Hardanger nas terras altas da Noruega em 1970. Este é um peptídeo cíclico constituído por 11 aminoácidos residuais e seu mecanismo imunossupressor baseia-se na ativação de calcineurina agonista. A forma complexa da ciclosporina é a ciclofilina, que inibe a defosforilase ativa ativando a calcineurina. Sem a defosforilação ativa da calcineurina, a ativação do fator nuclear citoplasmático de célula T (NFAT) não é translocado dentro dos núcleos e não resulta em supressão de IL-2 na transcrição do RNAm e bloqueio da expressão de muitas outras citocinas (KRENGER et al., 1997). A absorção da ciclosporina envolve enzimas do citocromo p450 e, dessa maneira, pode ser alterada quando usada em combinação com diferentes tipos de drogas, incluindo acetazolamida, aciclovir, inibidores da enzima conversora do angiotensina (ECA), alopurinol, amikacin e rifampina.

*Corticosteroides*: Embora os efeitos imunossupressores dos corticosteroides não estejam completamente elucidados, essas ações surgem mediante a receptores intracelular glucocorticoide (GR). Complexos esteroide-GR na forma de dímeros depois da migração dentro dos núcleos nos quais expressam a ação dos fatores da transcritase que reconhecem a ligação GR com os genes promotores, levando ao bloqueio da expressão de varias citocinas e enzimas. Os corticosteroides também parecem suprimir fatores de transcrição, cada ativação da proteína-1 (complexo Jun/Fos) e fator kappaB nuclear, inibindo, por meio disso, a expressão de moléculas dependentes dos fatores, incluindo citocinas, varias enzimas e receptores (KRENGER et al., 1997).

*Metotrexate*: Metotrexate é um antimetabólito que inibe reversivelmente a redutase diidrofolato, que reduz o ácido fólico a ácido tetraidrofolico e, dessa maneira, interfere na síntese do DNA, reparo e replicação. Essa droga não pode ser administrada sozinha por seu alto grau tóxico. Geralmente, é administrada com Leucovorin (ácido fólico). Seus efeitos mais tóxicos são pancitopenia e anormalidades funcionais do fígado. Há a ocorrência de problemas como mucosites, diarreia, estomatites, náusea e vomito (KRENGER et al., 1997).

Para que o transplante de células tronco hematopoiéticas (HSCT) ocorra com sucesso, é necessário o envolvimento com o enxerto, prevenção da DECH, erradicação da leucemia e reconstituição imune. A DECH e a leucemia versus enxerto (GVL) são ligadas; a DECH é inversamente correlatada com a probabilidade de reincidência depois do HSCT alogênico. Até o presente momento, muitas estratégias são ligadas no desenvolvimento para separar a DECH da GVL ativa. Muitos esforços são focados na identificação específica da DECH, nos antígenos específicos tumorais e na aplicação da resposta de células T a antígenos tumorais por terapia celular adotiva. A neutralização de citocinas inflamatórias por anticorpos ou o bloqueio da translocação de endotoxinas do lumén do TGI para a circulação sistêmica diminuindo a resposta de citocinas inflamatória também pode ser útil na separação da DECH da GVL ativa, embora o controle efetivo da DECH mostre provável envolvimento no bloqueio dos vários estágios da patogênese da DECH (TSUYOSHI et al., 2004).

A DECH crônica ocorre em 60% dos pacientes que ultrapassam os 100 dias pós TMO alogênico ou transplante de células tronco de sangue periférico fora a depleção de células T do enxerto. Isso representa a maior causa de mortalidade e morbidade após HSCT alogênico e sugere que a DECH crônica ocorre devido ao dano causado no timo pelos regimes de condicionamento e a DECH aguda é causada pela atrofia do timo pela idade na qual permite o escape negativo das células T. A DECH crônica é também caracterizada por estimulação das células T do doador em direção ao fenótipo do Th2 (TSUYOSHI et al., 2004).

O envolvimento de citocinas na DECH está relacionado em toda a extensão da doença, mas exclusivamente se nota maior atividade delas nas fases de condicionamento do hospedeiro, na ativação de células T do doador e nos mecanismos efetores inflamatórios (TSUYOSHI et al., 2004).

Dentro do regime de condicionamento (fase I), observa-se o aparecimento do fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) em níveis elevados juntamente com IL-1 e IL-6 notados poucas horas após a irradiação total do corpo ou a quimioterapia, causando danos no tecido do hospedeiro e podendo levar à ativação de células T do doador inoculadas na medula óssea. Na fase II, há a ativação de células T do doador onde secretam várias citocinas, predominantemente IL-2 e INF $\gamma$  (citocinas tipo I), que podem ser produzidas por LTCD4<sup>+</sup> (KRENGER et al., 1997).

A importância do aumento do fator IL-2 por células T pela iniciação da DECH tem sido demonstrada por experimentos da clínica. Primeiramente, a IL-2 é secretada pelas células T CD4 do doador nos primeiros dias depois do transplante

alogênico. Após, ocorre o bloqueio da IL-2 por anticorpos ou receptores que podem inibir o desenvolvimento da doença. O controle da DECH se relaciona com a produção de IL-2 por células T do doador. Com a administração de ciclosporina, que age como um potente inibidor da produção de IL-2, os efeitos de profilaxia aumentam consideravelmente. A administração de IL-2 exógena em hospedeiros tem sido interessante e muito eficaz. Doses recombinantes de IL-2 induzem e exacerbam histológica e clinicamente a síndrome de DECH depois do transplante de medula óssea autólogo em humanos. Desse modo, pode-se administrar seguramente depois do transplante de medula óssea alogênico, no qual há pequenas evidências de aumento na incidência da DECH (KRENGER et al., 1997).

Aumento nos níveis do Interferon- $\gamma$  no soro é associado com a DECH aguda, pois há a ativação de macrófagos que liberam citocinas da resposta inflamatória. A liberação do Interferon- $\gamma$  resulta em danos no trato gastrointestinal, pele e supressão das características dos linfócitos T. Para diminuir os níveis de Interferon- $\gamma$  no soro, pode-se usar a adição de linfócitos T CD8+, porque esses não produzem o Interferon- $\gamma$ , ou ainda pode haver o bloqueio indireto de sua produção (KRENGER et al., 1997).

A Síndrome Mielodisplásica é sintoma heterogêneo adquirido por desordens de clones de células troncos da medula óssea. Elas são diagnosticadas quando a medula começa a falhar na eritropoiese ou quando uma ou mais linhas de células da medula torna-se incapaz de produzir células clones da sua linhagem. O risco para desenvolver a síndrome mielodisplásica depende de algumas variáveis, como a porcentagem de blastos na medula e o número do subgrupo da citogenética e citopenias. Os dados de eritropoetina, trombopoetina, antitímócitos, globulina, ciclosporina A, fator de necrose anti-tumoral, anti CD33 caliqueamicina, talidomida e todos os ácidos *trans* retinóicos apresentaram um bom resultado em associações entre eles (KRENGER et al., 1997)

As mudanças ocorridas na paciente observada, como decréscimo nos níveis do íon magnésio, ocorreram devido à utilização da droga imunossupressora ciclosporina. As demais variações referidas, a série branca, série vermelha e plaquetas, são originárias da doença de base em estudo, ou seja, da Síndrome da Mielodisplasia (TSUYOSHI et al., 2004).

As toxicidades associadas ao regime variam conforme os efeitos colaterais específicos e potencialmente cumulativos de cada agente terapêutico. Entre as toxicidades estão náuseas, vômitos, mucosite, diarreia, convulsões, alterações no estado mental, cefaleia, inchaço de glândulas faciais e salivares,

acidose, hipotensão, cistite hemorrágica, cardiotoxicidade e doença veno-oclusiva, que consiste em hepatomegalia, icterícia e ganho de peso com o início da administração de drogas (TSUYOSHI et al., 2004).

Na fase de transplante, a incompatibilidade ABO entre doador e receptor pode provocar complicações hemolíticas perigosas em até 30% dos transplantes de medula óssea, porém ela não é uma contraindicação no caso de um transplante bem compatível aos outros elementos. No caso de incompatibilidade ABO, o plasma do receptor contém isoaglutininas contra os eritrócitos do doador. Para reduzir a incidência da perigosa reação de enxerto contra o hospedeiro (DECH), vários métodos para diminuir o número de linfócitos T nas células do enxerto, considerados os principais responsáveis pelo desenvolvimento e pela gravidade da DECH, vêm sendo aplicados antes do transplante. Os métodos de erradicação dos linfócitos T incluem a exposição do enxerto a anticorpos monoclonais e a técnicas físico-químicas de separação celular. O resultado é a redução na incidência e na gravidade da doença do enxerto contra o hospedeiro. Dessa forma, todos os produtos devem ser irradiados para evitar a enxertia de linfócitos presentes no produto de transfusão. Os produtos de transfusão também são filtrados para reduzir a chance de reações febris causadas por aglutininas (MANUAL DE ONCOLOGIA CLINICA, 2006).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **RELATO DO CASO**

Paciente do sexo feminino, mulata, vinte e nove anos de idade, foi encaminhada ao serviço de hematologia do Hospital Universitário de Santa Maria no dia 10/04/2001, apresentando infecção baixa do trato urinário, fadiga discreta após exercícios físicos e episódio febril.

#### **Diagnóstico**

Foram realizados exames os seguintes exames laboratoriais para elucidação do diagnóstico:

#### **Hemograma**

Conforme pode ser observado, a alteração laboratorial mais significativa foi a plaquetopenia (inferior a 150.000 /mm<sup>3</sup>), juntamente com uma anemia discreta representada pelos valores 11,3 da hemoglobina, confirmando os dados descritos

por Krenger et al. (1997), que afirmam que a diminuição de linhagens celulares no sangue periférico, resultando em anemia e ou leucopenia e ou plaquetopenia, são índices que sugerem uma síndrome mielodisplásica.

### **Avaliação da hemostasia**

- Tempo de Protrombina: atividade 78%
- Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada: 39 seg (controle: 31 seg)
- Fibrinogênio: 303 mg%
- Produto de Degradação de Fibrina – D- Dímeros (PDF): negativo

Os resultados apresentaram-se normais comprovando que a doença não influenciara os sistemas de coagulação e fibrinólise.

### **Mielograma**

A observação da celularidade e a relação dos elementos presentes na medula óssea permitiram uma análise mais precisa do diagnóstico. Conforme Zago (2004), no período inicial da doença, a medula óssea pode apresentar anormalidades celulares em números, tamanho, forma e organização, podendo ou não apresentar células imaturas. Os resultados do mielograma foram descritos como mielodisplasia, devido à presença de uma diminuição no número de megacariócitos (justificando a plaquetopenia) e à presença de algumas células displásicas - esse diagnóstico foi confirmado posteriormente por meio da análise citogenética.

### **Análise citogenética**

A avaliação da estrutura dos cromossomos da paciente (cariótipo) forneceu os resultados confirmatórios para Mielodisplasia. O cariótipo, conforme afirma Lorand-Metze (2006), permite um diagnóstico inequívoco em uma grande proporção de casos de mielodisplasia. Cabe ressaltar que a descrição das alterações encontradas no cariótipo não se encontrava no instrumento de coleta dos dados (prontuário médico).

### **Proteinograma: proteínas totais**

A albumina pode ser considerada como a principal proteína sérica e, apesar da ocorrência de uma doença neoplásica, seus valores eram normais, indicando a ausência de desordens metabólicas.

### **Avaliação imunológica**

A avaliação imunológica foi realizada para Citomegalovírus e Toxoplasmose. O resultado para citomegalovirus foi reagente para imunoglobulinas IgG. A presença dessa classe de anticorpos situa a presença do citomegalovirus em estado latente no organismo da paciente. Da mesma forma, os resultados para Toxoplasmose apresentaram positividade para imunoglobulinas IgG, isto é, o parasita encontra-se retido dentro de pequenos cistos no organismo da paciente. Esses resultados serão muito importantes na evolução do quadro clínico da paciente, pois o quadro infeccioso pode ser reativado na ocorrência de deficiência do sistema imunológico.

Inicialmente, a paciente parecia tolerar diminuições nas contagens de células sanguíneas sem prejudicar suas atividades normais. Sendo assim, foi recomendado somente um controle periódico com o hematologista sem tratamento medicamentoso. Após onze meses de controle clínico e laboratorial, foi observado um agravamento dos sintomas.

Devido ao ritmo de progressão da mielodisplasia e à idade da paciente, a quimioterapia intensiva, seguida pelo transplante alogênico de células-tronco, foi o tratamento eleito em busca da cura da doença.

### **Procura do doador para o transplante**

No TMO, os doadores são, geralmente, procurados entre os irmãos dos receptores, pois a probabilidade de compatibilidade HLA é maior. Resultados idênticos foram encontrados entre a paciente e sua irmã, conforme pode ser observado nos seguintes resultados.

HLA – Classe I – método: microlinfotoxicidade.

Antígenos	A	B	BW
paciente	2,11	27,51	4
doador	2,11	27,51	4

Fonte: Laboratório de Imunofenotipagem Hospital Universitário de Santa Maria.

HLA – DRB1- Tipificação Molecular.

Antígenos		
paciente	09012	15011
doador	09012	15011

Fonte: Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná.

O doador da medula óssea expressava compatibilidade nos dois conjuntos do grupo HLA de classe I (loci A e B) e II (HLA-DR), preenchendo as condições predeterminadas na literatura e totalizando seis locus idênticos no doador e no recipiente para uma histocompatibilidade ideal de 6/6.

## Transplante de medula óssea

### a) Avaliação laboratorial pré-transplante

A paciente foi submetida às seguintes avaliações:

- Avaliação Cardíaca: ECG, ECO: resultados normais
- Avaliação Pulmonar: Rx, e Provas Ventilatórias: resultados normais
- Avaliação Endócrina: TSH, T3 e T4 livre, cortisol basal: dosagens normais
- Avaliação Digestiva: Endoscopia: normal
- Exame parasitológico de fezes: negativo
- Avaliação Transfusional: Teste de Coombs Direto e Indireto: negativos
- Tipo sanguíneo (ABO-Rh): Grupo A, Rh positivo
- Citomegalovírus (CMV): IgG: reagente, IgM: não reagente
- Anti-HIV: negativo
- Toxoplasmose: IgG: reagente; IgM: não reagente
- Chagas, Tuberculose: negativos
- VDRL: não reagente
- Funções hepática e renal: normais
- Clearance de creatinina, magnésio: normais
- Hemograma:

Leucócitos	Neutrófilos	Células displásicas	Monócitos	Linfócitos	Hemoglobina	Hematócrito	Plaquetas
2700/mm <sup>3</sup>	44%	10%	1%	45%	9,2g/dl	26,4%	54.000/mm <sup>3</sup>

As avaliações clínicas e laboratoriais descritas permitem que o paciente possa se condicionado para a realização do transplante. Destaca-se a leucopenia, a plaquetopenia e a presença de 10% de células displásicas caracterizando a patologia

O condicionamento foi realizado com uso de altas doses de agentes quimioterápicos (Ara-C associado a Fudarabina, Idarubicina), buscando a



destruição do Sistema Imune e, ao mesmo tempo, a erradicação da doença, curando o paciente.

### b) Fase do transplante e pós-transplante

A reconstituição hematopoética do paciente ocorreu por meio de infusão de células viáveis da medula óssea com uma alta capacidade proliferativa proveniente do doador compatível.

Duas ou três semanas após a infusão da medula, a paciente permaneceu em aplasia medular intensa (fase em que os leucócitos, glóbulos vermelhos e plaquetas permanecem baixos, pois ainda não ocorreu a enxertia). Esses dados podem ser confirmados pelos resultados, que apresentaram severa leucopenia e plaquetopenia no quinto e décimo dia após o transplante:

#### Contagens hematológicas no dia do transplante:

Leucócitos	Neutrófilos	Monócitos	Linfócitos	Hemoglobina	Hematócrito	Plaquetas
700/mm <sup>3</sup>	17%	78%	5%	10,8g/dl	30,7%	65.000/mm <sup>3</sup>

#### Hemograma no dia + 5 pós transplante:

Leucócitos	Neutrófilos	Monócitos	Linfócitos	Hemoglobina	Hematócrito	Plaquetas
<0,05/mm <sup>3</sup>	-	-	-	7,9g/dl	23,5%	7.000/mm <sup>3</sup>

Durante esse período foram realizados, diariamente, exames de Glicemia, Na, K, Creatinina e Magnésio, sendo que os dois últimos apresentaram discretas alterações.

O hemograma permitiu o acompanhamento da recuperação medular, como pode ser evidenciado no décimo, vigésimo e trigésimo dia pós-transplante. Nota-se a elevação gradativa do número total de leucócitos e da presença dos granulócitos, demonstrando a recuperação medular.

**Hemograma no dia + 10 pós-transplante:**

Leucócitos	Neutrófilos	Monócitos	Linfócitos	Hemoglobina	Hematócrito	Plaquetas
0.2 /mm <sup>3</sup>	-	-	100%	8,3g/dl	24,7%	9.000/mm <sup>3</sup>

**Hemograma no dia + 20 pós-transplante:**

Leucócitos	Neutrófilos	Monócitos	Linfócitos	Hemoglobina	Hematócrito	Plaquetas
1.800mm <sup>3</sup>	20% seg	11%	69%	10,3g/dl	31,5%	17.000/mm <sup>3</sup>

**Hemograma no dia + 30 pós-transplante:**

Leucócitos	Neutrófilos	Monócitos	Linfócitos	Hemoglobina	Hematócrito	Plaquetas
5.700/mm <sup>3</sup>	55% seg	3%	42%	11,4g/dl	32,7%	29.000/mm <sup>3</sup>

Nesse período, a paciente recebeu uma terapia de suporte, buscando prevenir complicações tais como:

- Profilaxia da DECH: Esteroides e Ciclosporina
- Antibióticoterapia
- Antifúngicos
- Antivirais

A terapêutica através de um transplante de medula óssea é complexa. Apesar dos cuidados profiláticos durante o período da leucopenia, a paciente apresentou infecções fúngicas e bacterianas. Outra complicação presente foi a mucosite, uma resposta inflamatória das mucosas orais e gastrointestinais.

Conforme Pasquini (2004), a recuperação imunológica ocorre de uma forma setorial e em diferentes fases. Os granulócitos, as plaquetas e os eritrócitos alcançam números normais dentro dos três primeiros meses após o transplante

- isso pode ser comprovado pelos resultados do hemograma no dia + 200 após o transplante.

Leucócitos	Neutrófilos	Monócitos	Linfócitos	Hemoglobina	Hematócrito	Plaquetas
5.100/mm <sup>3</sup>	52% seg	5%	43%	13,4g/dl	39,7%	238.000/mm

Após o transplante de medula óssea alogênico, fez-se necessário confirmar a enxertia ou a possibilidade de recidiva através da avaliação se as células são do doador ou do paciente (*variable number of tandem repeats* (VNTRs).

O resultado da amplificação de locos VNTRs/STRs-PCR para a paciente do estudo: 100% de células são procedentes do doador, confirmando o sucesso do transplante.

## DECH

A reação do enxerto contra o hospedeiro, no transplante alogênico em particular, manifesta-se devido ao reconhecimento de estruturas antigênicas do receptor como “não semelhantes” pelos linfócitos do doador (TSUYOSHI et al., 2004).

As primeiras manifestações clínicas são demonstradas em erupções maculopapulares cutâneas, icterícia, mucosites no sistema gastrintestinal, febre e outras anormalidades, como diarreias.

Em torno do dia +120, a paciente passou a apresentar dor epigástrica e vômito, náusea, dificuldade de deglutir, perda de apetite, rash cutâneo, edema e alterações da pressão arterial, caracterizando a DECH crônica. Embora a doadora apresentava-se 100% compatível com a receptora, a DECH foi uma complicação grave que teve de ser vencida pela paciente.

Os dados demonstrados neste trabalho comprovam os descritos por Krenger et al. (1997), os quais afirmam que o aparecimento da DECH após cem dias caracteriza o tipo crônico, sugerindo que tais sintomas se relacionam com a resposta imune Th2 das células T CD4<sup>+</sup> que escaparam da seleção negativa do timo, na qual foram reconhecidos os antígenos MHC pela APC do hospedeiro. Essas células T CD4<sup>+</sup> do doador fornecem ajuda às células B do hospedeiro na síntese de autoanticorpos agonistas de vários antígenos do tecido do hospedeiro.

## EXPLICAÇÃO MAIS OBJETIVA A DECH

### Avaliações laboratoriais na evidencia da DECH

- **Hemograma**

Leucócitos	Neutrófilos	Monócitos	Linfócitos	Hemoglobina	Hematócrito	Plaquetas
3.400/mm	45%	14%	41%	9.0g/dl	26.9%	36.000/mm <sup>3</sup>

- Creatinina: 4,20 mg/dL
- Magnésio: 1.9 mg/dL
- Gama GT: 118U/L
- CMV: reagente IgG

As alterações, como creatinina, provavelmente, relacionam-se ao regimes de drogas imunossupressoras e quimioterapia pré-transplante (regime de condicionamento), pois ocorreu injúria no tecido renal. Destaca-se, também, o fato das células T CD4+ do doador fornecerem ajuda às células B do hospedeiro na síntese de autoanticorpos agonistas de vários antígenos do tecido do hospedeiro.

As elevações do íon magnésio, possivelmente, ocorreram devido à administração da droga imunossupressora ciclosporina da mesma forma que as transaminases sofreram modificações, provavelmente, devido aos efeitos tóxicos dos fármacos usados na terapia do transplante de medula óssea sobre o fígado.

O tratamento dessa síndrome inclui drogas imunossupressoras. Para tanto foi administrada uma combinação de ciclosporina e prednisona com resposta terapêutica lenta, mas satisfatória. Os hemogramas a seguir evidenciam a evolução da resposta da paciente. Após 45 dias da ocorrência da DECH, os índices hematimétricos e dosagens bioquímicas eram normais.

### 15º dia após ocorrência da DECH

Leucócitos	Neutrófilos	Monócitos	Linfócitos	Hemoglobina	Hematócrito	Plaquetas
3.300mm <sup>3</sup>	55%seg	3%	42%	8,3g/dl	24,5%	56.000/mm

- Creatinina 1.3 mg/dL
- Magnésio 1.5 mg/dL
- Fosfatase alcalina 289U/L
- TGO 68U/L
- TGP 95U/L
- gama GT 193U/L

#### 45 dias após a ocorrência da DECH

Leucócitos	Neutrófilos	Monócitos	Linfócitos	Hemoglobina	Hematócrito	Plaquetas
4.100/mm <sup>3</sup>	43%seg	8%	49%	6,9g/dl	20,1%	145.000/mm

- TGO: 57U/L
- TGP:99U/L
- Gama GT: 187U/L
- Magnésio: 1,8 mg/dL
- Creatinina: 1,5 mg/dL
- Glicose: 161
- CMV: Positivo

Após recuperação da DECH, a paciente evoluiu clinicamente de modo satisfatório, recebendo alta hospitalar. Ressalta-se que, no dia da alta, os resultados laboratoriais indicaram total recuperação das células hematopoiéticas e, dessa forma, o sucesso do transplante de medula óssea.

#### Resultados na alta hospitalar da paciente

Leucócitos	Neutrófilos	Monócitos	Linfócitos	Hemoglobina	Hematócrito	Plaquetas
5.100/mm	54% seg	4%	42%	13,9g/dl	41,8%	182.000/mm

- Ácido úrico: 7.3 mg/dL
- Fosfatase alcalina: 149U/L
- TGO: 108U/L
- TGP: 233U/L
- Gama GT: 142U/L

Até o presente momento, a paciente apresenta remissão da mielodisplasia e faz avaliações periódicas, não apresentando sinais clínicos e ou laboratoriais compatíveis com recidiva medular.

## CONCLUSÃO

A DECH é uma patologia com alto risco para o paciente que foi submetido a um transplante de medula óssea alogênico, pois em cerca de 40% a 50% desses pacientes manifesta-se o quadro clínico característico dessa enfermidade.

A importância do transplante de medula óssea faz-se necessário quando nenhuma terapêutica anterior obteve resultado satisfatório, sendo essa a última opção. O tratamento deve ser minuciosamente avaliado, pois oferece riscos e benefícios, nos quais se deve contrabalancear sua utilização. Nos casos mais avançados de doenças relacionadas à medula, deve-se fazer o uso desse meio de provável cura, o qual deve ser realizado por hospitais com estrutura específica para determinado processo cirúrgico, como o HUSM, hospital localizado na cidade de Santa Maria-RS, conhecido como centro de referência no interior do estado para o tratamento e diagnóstico de diversas patologias.

Por meio deste estudo, pode-se verificar todos os passos de um transplante de medula óssea, desde o diagnóstico da doença até a busca por um doador compatível, podendo-se, dessa forma, observar a importância da avaliação clínica e laboratorial como conduta terapêutica na DECH.

## REFERÊNCIAS

FERRARA, J. L.; DEEG, H. J. Graft-versus-host disease. **New England Journal of Medicine**, v. 324, n. 8, p. 667-674, 1989.

GÓES, E. G. et al. Quality control of blood irradiation: determination T cells radiosensitivity to cobalt-60 gamma rays. **Transfusion**, v. 46, p. 34-40, 2006.

GOLGIM, J. R. **Manual de iniciação à pesquisa em saúde**. Porto Alegre: Dacasa, 1997.

JANEWAY, C. A. et al. **Imunobiologia: o sistema imune na saúde e na doença**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2002.

KRENGER, W. et al. Cytokine Cascades in Acute Graft-Versus-Host-Disease. **Clinical Transplantation**. v. 21, n. 9, p. 553-558, 1997.

LEITE, S. Equipamento garante sangue de melhor qualidade para paciente imunodeficientes. **Revista Medicina**, 2002.

PASQUINI, R. Fundamentos e Biologia do Transplante de Células Hematopoéticas. In: ZAGO, Marco Antônio; FALCÃO, Roberto Passetto; PASQUINI, Ricardo. **Hematologia Fundamentos e Prática**. 1. ed. São Paulo: Atheneu, 2004. p. 916-922.

POLLOK, E. R. et al. UICC MANUAL DE ONCOLOGIA CLÍNICA, 8. ed. São Paulo: Fundação Oncocentro de SP, 2006.

STITES P. D.; TERR, A. I.; PARSLOW, T. G. **Imunologia Médica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p. 64-69.

TSUYOSHI, I. et al. Recent Advances in the Treatment of Graft-Versus-Host-Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 15, n. 8, p. 243-252, 2004.

