

## ASPECTOS IMUNOLÓGICOS DOS TRANSPLANTES DE CÉLULAS TRONCO HEMATOPOÉTICAS

IMMUNOLOGICAL ASPECTS OF HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

Júlio C. Voltarelli<sup>1</sup> & Ana Beatriz P.L. Stracieri<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Prof. Associado do Departamento de Clínica Médica (Divisão de Imunologia Clínica) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP e Coordenador da Unidade de Transplante de Medula Óssea do Hospital das Clínicas da FMRPUSP, <sup>2</sup>Médica Assistente da Unidade de TMO-HCFMRPUSP.

**CORRESPONDÊNCIA:** Unidade de TMO - 5º andar, Hospital das Clínicas - Campus USP, 14048-900 Ribeirão Preto-SP, E-mail: jcvoltar@fmrp.usp.br

VOLTARELLI JC & STRACIERI ABPL. Aspectos imunológicos dos transplantes de células tronco-hematopoéticas. **Medicina, Ribeirão Preto**, 33: 443-462, out./dez. 2000.

**RESUMO:** A integridade funcional do sistema imunológico é vital para o sucesso das várias modalidades de transplantes de células-tronco hematopoéticas (TCTH). Nesta revisão, discutem-se a reconstituição imunológica pós-TCTH, o papel das citocinas e dos antígenos de histocompatibilidade nas complicações, e nos resultados dos transplantes e o emprego dos TCTH para tratamento de deficiências imunológicas e de doenças auto-imunes.

**UNITERMOS:** Transplante de Medula Óssea. Transplante de Células Hematopoéticas Primitivas. Imunologia de Transplantes. Citocinas. Inflamação. Antígenos HLA. Doenças Auto-Imunes.

A importância central do sistema imunológico nos transplantes de células-tronco hematopoéticas (TCTH), é bem ilustrada pelas observações de que: 1) tais transplantes só se tornaram clinicamente possíveis após a identificação do complexo principal de histocompatibilidade (o sistema HLA humano) e do desenvolvimento de medidas eficientes para prevenir a doença do enxerto-contra-hospedeiro (*graft-versus-host disease, GVHD*); 2) os primeiros transplantes alogênicos bem sucedidos foram realizados em 1968, para corrigir deficiências imunológicas; 3) progressos na aplicação e nos resultados dos TCTH dependem, em grande parte, de avanços na tecnologia imunológica, tanto laboratorial como terapêutica, como foi sumarizado por Thomas, em 2000<sup>(1)</sup> e será discutido nesta revisão. Essas observações mostram, também, que os TCTH necessitam de um funcionamento ade-

quado do sistema imune para seu sucesso e podem ser utilizados para tratar doenças desse sistema, como imunodeficiências, enfermidades auto-imunes e neoplasias imunocitárias.

Os aspectos históricos da evolução dos conhecimentos imunológicos aplicados aos TCTH foram resumidos no artigo introdutório de um extenso simpósio dedicado a tal tema pelo *Immunological Reviews* em 1997<sup>(2)</sup>. Neste capítulo, trataremos de quatro aspectos imunológicos que têm implicações clínicas diretas nos TCTH: 1) a reconstituição dos sistemas imune e hematopoético após o transplante; 2) a fisiopatologia de reações inflamatórias pós-transplante; 3) o papel da alorreatividade e dos antígenos de histocompatibilidade na evolução dos TCTH; 4) o emprego dos TCTH para tratar imunopatias, como as deficiências imunológicas e as doenças auto-imunes.

As manipulações do sistema imune – imunoterapia-para aumentar a eficiência dos transplantes na eliminação de células neoplásicas foram discutidas no Capítulo IX deste Simpósio.

## 1. IMUNORRECONSTITUIÇÃO, ENXERTIA E IMUNODEFICIÊNCIA

Os regimes de condicionamento empregados nos TCTH alogênicos convencionais, mieloablativos, incluem combinações de agentes quimioterápicos (aliados ou não à radioterapia corporal ou nodal totais) em altas doses, com três funções básicas: 1) destruir as células tumorais ou outras células anormais, permitindo a cura da doença básica; 2) criar espaço na medula óssea para permitir a enxertia das CTH transplantadas; 3) destruir o sistema imunológico do recipiente, para a mesma finalidade. Em algumas doenças, como na anemia aplástica e em outras doenças autoimunes e em algumas deficiências imunológicas, apenas a última função é necessária para o sucesso do transplante. Entretanto, a imunoablação é ampla, profunda e prolongada, o que, juntamente com a mieloablação, produz pancitopenia hematopoética e imunocitopenia e acarreta infecções oportunistas frequentes e graves, que comprometem seriamente o resultado dos transplantes.

Discutiremos, a seguir, a reconstituição hematopoética e imunológica, nas diversas categorias de TCTH atualmente praticadas. A reconstituição imunológica, nos transplantes utilizados como terapêutica das imunodeficiências, será discutida na Seção 4.

### 1.1. Transplantes alogênicos

Nos transplantes autólogos e singênicos para doenças neoplásicas, o condicionamento não tem finalidades imunoablativas, mas produz, além de mieloablação, considerável grau de imunodeficiência, pelo seu efeito antiproliferativo sobre os sistemas imune e hematopoético, mesmo na ausência de GVHD e de sua profilaxia imunossupressora, que potenciam a imunodepressão, como veremos abaixo. Já nos transplantes que empregam regimes de condicionamento de intensidade reduzida, **não mieloablativos ou subablativos (os chamados “minitransplantes”)**, o grau e a duração da pancitopenia são consideravelmente reduzidos, conservando-se ou se intensificando a magnitude da imunossupressão no condicionamento. De fato, em uma análise de 15 pacientes, submetidos a transplante alogênico com um regime não mieloablativo (ciclofos-

famida + fludarabina), foi demonstrada uma rápida enxertia mielóide (média de 11 dias), inicialmente, de células do receptor e, gradualmente, substituídas pelas do doador, mas a reconstituição imunológica com linfócitos T do doador foi mais rápida, completando-se, em 30 dias, em seis pacientes, e, em 200 dias, após infusão de linfócitos do doador (*donor lymphocyte infusion, DLI*), em sete pacientes. Essa reconstituição, caracterizando o quimerismo completo do doador no compartimento de células T, precedeu a expressão das respostas alorreativas no receptor, incluindo a facilitação da enxertia hematopoética do doador, GVHD e a regressão da doença neoplásica, mediada pelo efeito GVL (*graft-versus-leukemia*) (Childs et al, 1999)<sup>(3)</sup>.

#### 1.1.1. Transplantes de medula óssea aparentados HLA-idênticos

A reconstituição imunológica pós-transplante de medula óssea (TMO) alogênico tem sido estudada desde sua implantação, na década de 70, e se desenvolveu bastante com o advento da citometria de fluxo na década de 80 (revisado por Voltarelli & Stites, 1987<sup>(4)</sup> e Voltarelli, 2000<sup>(5)</sup>). Desde os primeiros estudos funcionais (revisados por Whitterspoon, Lum & Storb, em 1984)<sup>(6)</sup> e fluorocitométricos (Ault et al, 1985)<sup>(7)</sup>, observou-se que, inicialmente, após um TMO HLA-idêntico, predominam, no sangue periférico, células NK com atividade citotóxica preservada e células B CD5+, surgindo, depois, células B convencionais, células T CD8+ e, então, as CD4+. A relação entre o número de células T auxiliares e citotóxicas (CD4+/CD8+) e a maioria das atividades funcionais que dependem de células T e B, incluindo a produção de imunoglobulinas, normalizam-se em torno de um ano após o TMO, nos casos não complicados, mas se mantêm alteradas por vários anos nos pacientes com GVHD crônico. O GVHD agudo também mantém invertida a relação CD4/CD8 e compromete as reações de hipersensibilidade tardia, mediadas por linfócitos T, a resposta anticórpica primária e a recuperação de células dendríticas, que constituem as mais eficientes células apresentadoras de antígenos, até hoje descritas (Fearnley et al. 1999)<sup>(8)</sup>. A explicação para a interferência do GVHD, principalmente o crônico, na recuperação imunológica pós-transplante, repousa na ação da terapia imunossupressora e na imunomodulação, causada pela própria doença<sup>(9)</sup>, através de células T supressoras (CD8+), produtoras de prostaglandina-E2, e CD4+ de fenótipo Th2, deficiente por-

dução de ou resposta a citocinas, como a IL2, redução do número e seqüestração de células CD4+ nos tecidos lesados e diminuição de células dendríticas, como as células de Langerhans da pele e de outros tecidos.

No Brasil, o grupo do Instituto Nacional do Câncer, no Rio de Janeiro, estudou a imunorreconstituição de pacientes portadores de anemia aplástica ou de leucemias (LMC, LMA e LLA), submetidos a TMO alogênico HLA-idêntico. Nos primeiro grupo, mostraram que células NK CD8+ são as primeiras a surgirem no sangue periférico e que GVHD aguda e crônica, cirrose hepática, rejeição do transplante e infecções virais retardam a reconstituição imunológica (Souza et al. 1994)<sup>(10)</sup>. Já nas leucemias, mostraram que os pacientes com LMC reconstituem o sistema imune mais lentamente do que os com leucemias agudas, principalmente no compartimento das células T (Diamond et al. 1995)<sup>(11)</sup>.

### 1.1.2. Imunorreconstituição em outros tipos de transplantes alogênicos

Atualmente, além do transplante de medula óssea HLA-idêntico relacionado não-manipulado (T repleto) e completamente mieloablativo, vários outros tipos de transplantes alogênicos têm sido realizados, como os depletados de células T, os HLA-incompatíveis, os não-relacionados, os de CTH mobilizadas do sangue periférico, de cordão umbilical, intra-uterinos e os empregando regimes de condicionamento subléticos (vide Seção 1.1). A análise da imunorreconstituição, nos diferentes tipos de transplantes citados, tem até maior importância do que no TMO convencional, pois, frequentemente, ela está qualitativamente e temporalmente mais comprometida e repercute decisivamente na evolução do transplante.

O TMO alogênico HLA-idêntico aparentado, depletado de células T para prevenir GVHD, está associado a um retardo na reconstituição imunológica, no nível funcional, e ao aumento de infecções oportunistas, o que evidencia a importância das células T maduras do enxerto, pelo menos para a fase inicial da recuperação imunológica<sup>(9)</sup>. Do mesmo modo, no TMO, o uso de doadores não aparentados, HLA idênticos ou não, também se associa com uma alta frequência (12 a 28%) de infecções oportunistas fatais. Nesses transplantes, e nos aparentados HLA-incompatíveis, a imunodeficiência é agravada pelas disparidades imunogenéticas no microambiente tímico, que dificultam o desenvolvimento das células T, pela maior intensidade da imunossupressão pós-transplante e pela maior incidência de

GVHD crônica. Quando se combinam esses dois tipos de transplantes (depletado de células T e não aparentados), observa-se que a imunorreconstituição de pacientes adultos está muito mais comprometida do que a de crianças, e que ela pode ser significativamente acelerada pela infusão de baixa dose de linfócitos do doador (DLI) (Small et al. 1999)<sup>(12)</sup>.

A gravidade adicional da imunodeficiência em pacientes submetidos a TCTH HLA incompatível, aparentado ou não, é bem ilustrada pelo *Caso clínico N° 1* apresentado a seguir.

#### **Caso clínico ilustrativo N° 1:**

*VMM, 16 anos, sexo feminino, estudante. Diagnosticada anemia aplástica grave em 9/10/96, sem transfusões. Não havia nenhum irmão HLA-idêntico, mas a extensão da pesquisa na família revelou um primo compatível em 5/6 antígenos HLA, com uma incompatibilidade no "locus" DR. Realizado o condicionamento com ciclofosfamida 200 mg/kg, infusão de  $2,43 \times 10^8$  células nucleadas/kg de MO e profilaxia de GVHD com CSA e MTX. Evolução pós-primeiro transplante: D+2: diarreia e lesão na língua, D+9: mucosite grau II, D+33: falha de enxertamento e flebite jugular a D, D+37: Globulina anti-timocitária (ATG): 30 mg/ Kg/d x 3 dias, D+42: infusão de medula óssea  $3,5 \times 10^8$  cel/kg, G-CSF 5 ug/kg/d. Evolução pós-segundo transplante: D+10: icterícia e lesões na língua, D+17: biópsia de lesões na língua compatível com herpes simplex, iniciado aciclovir EV, D+20: velamento pulmonar intersticial de etiologia indefinida, iniciada Anfotericina B, D+36: GVHD agudo de pele e intestinal grau III, iniciado solumedrol 4mg/kg, reduzido no D+39 para 2 mg/kg, D+46: piora do GVHD intestinal, aumentado solumedrol novamente para 4 mg/Kg, D+51: biópsia de cólon compatível com GVHD, D+59: mantém GVHD de pele e intestino, herpes labial e na língua em regressão e insuficiência renal aguda (IRA), D+64: endoscopia digestiva mostra grande lesão vegetante no esôfago, biópsia compatível com herpes esofágico, solumedrol diminuído para 1mg/kg e CSA para 25% da dose, D+69: GVHD intestinal em remissão, esofagite herpética, IRA e meningoencefalite herpética, D+70 óbito: por choque séptico.*

**Comentários:** neste caso, a falha de enxertamento do primeiro transplante deve ter sido

*causada por uma combinação da disparidade HLA, da dose insuficiente de células infundidas, causada por problemas na coleta e pelo uso isolado de ciclofosfamida no condicionamento. Após a segunda infusão, com uma dose adequada de células e complementação do condicionamento com ATG, houve enxertamento, mas sobrevieram GVHD agudo e infecções virais graves que causaram o óbito. Devido a estas complicações adicionais do TMO incompatível ou não aparentado, mesmo em pacientes jovens com AA, prefere-se, atualmente, a imunossupressão isolada como terapêutica de primeira escolha. Quando o TMO é realizado em casos com disparidade HLA, como este, deve-se usar TBI (irradiação corporal total) no condicionamento, o que não era disponível em nosso centro naquela oportunidade, tendo sido substituída pelo ATG.*

Mobilização de CTH para o sangue periférico usando fatores de crescimento hematopoéticos (principalmente G- ou GM-CSF) tem sido realizada com sucesso e esse tipo de produto substituiu quase completamente o TMO autólogo (vide abaixo) e tem sido empregado de maneira crescente nos transplantes alogênicos. Por conter um número aumentado, em relação à medula óssea, de precursores hematopoéticos mais diferenciados e de células T, o sangue periférico mobilizado com fatores de crescimento (*M-PBSC*, *mobilized peripheral blood stem cells*) proporciona uma aceleração, tanto do enxertamento hematopoético, como da reconstituição imunológica (Ottinger et al. 1996)<sup>(13)</sup>. A seleção de CTH CD34+ do M-PBSC não parece comprometer a recuperação linfóide nem aumentar a incidência de infecções oportunistas nos transplantes alogênicos HLA-idênticos (Behringer et al. 1999)<sup>(14)</sup>, mas tem efeitos catastróficos nos transplantes HLA-incompatíveis (Bacigalupo et al, 1997)<sup>(15)</sup>.

## **1.2. Imunorreconstituição em transplantes autólogos**

A reconstituição imunológica fenotípica e funcional pós-transplante autólogo de CTH foi revisada por Guillaume et al. em 1998<sup>(16)</sup>. A produção de imunoglobulinas sugere uma recapitulação da seqüência ontogenética na recuperação funcional de células B, pois os níveis séricos de IgM se normalizam em 3-6 meses, seguidos pelos de IgG, após 12-24 meses, e, posteriormente, pelos de IgA. Entretanto, evidências mais recentes, obtidas do estudo de rearranjos dos genes das cadeias pesadas de imunoglobulinas, con-

tradizem a explicação de que a diferenciação de linfócitos B pós-transplante autólogo ou alogênico recapitula o desenvolvimento fetal (Raaphorst, 1999)<sup>(17)</sup>.

Nos primeiros meses pós-TCTH autólogo, a função de células T também está deprimida, quando avaliada por proliferação policlonal, produção de citocinas e de linfócitos citotóxicos contra vírus Epstein-Barr, ao contrário dos reativos contra CMV, que se mostraram preservados já nos três primeiros meses após os transplantes e devem ser responsáveis pela baixa incidência da infecção por CMV, em pacientes submetidos a autotransplantes. Entretanto, a alta incidência (22,6%) e mortalidade (12,9%) da infecção por CMV<sup>(18)</sup> e de outras infecções oportunistas<sup>(19)</sup> no TCTH de células CD34 selecionadas, aparentemente correlacionadas com o número de células T no enxerto, mostra que as células imunocompetentes, presentes no enxerto, mais do que as recém-diferenciadas, a partir das CTH, são essenciais para a imunidade anti-infecciosa nos primeiros 100 dias pós-transplante. Por outro lado, assim como nos transplantes alogênicos, as células NK se recuperam prontamente após os autotransplantes, tanto em quantidade como em qualidade, exibindo maturação extratímica e resposta citotóxica a IL-2, IL-7 e IL-12<sup>(16)</sup>.

Como destacado acima, a capacidade de mobilizar CTH da medula óssea para o sangue periférico, com fatores de crescimento hematopoéticos (G- ou GM-CSF), resultou em um processo de enxertia significativamente mais rápido nesses transplantes do que nos de medula óssea, o que, praticamente, levou ao abandono do TMO autólogo em favor do sangue periférico. A diferença, provavelmente, se deve à presença, nas células-tronco periféricas mobilizadas com fatores de crescimento, de um número maior de precursores celulares já comprometidos com a diferenciação das várias linhagens hematopoéticas. A recuperação imunológica, após esses transplantes, também é mais rápida do que após o TMO autólogo, em relação às contagens de monócitos, linfócitos T auxiliares, incluindo os CD45RA+ (virgens), aos TCR gama-delta+ e NK e à função proliferativa de células T e B (Talmadge et al. 1997)<sup>(20)</sup>. Nos TMO autólogos, a administração de G-CSF pós-transplante acelera, preferencialmente, a recuperação de células CD8 ativadas (HLA-DR+CD11b-), enquanto o GM-CSF favorece a regeneração de células CD4+, tanto virgens, como de memória (CD45RO+) e não há diferenças na reconstituição de células B e NK (San Miguel et al. 1996)<sup>(21)</sup>. Em pacientes infundidos com CTH CD34+ purificadas no FACS (por *cell sorting*), ocorreu um

retardo na recuperação de células T e B e uma restrição no repertório dos receptores de células T, avaliada pelas famílias de  $V\beta$ , em relação ao transplante de M-PBSC não selecionadas (Bomberger et al. 1998)<sup>(22)</sup>. Já em pacientes adultos, infundidos com células CD34+, purificadas em colunas de afinidade, e recebendo GM-CSF pós-transplante, a recuperação de células T foi semelhante à observada em transplantes não manipulados, enquanto a produção de células T pelo timo foi aumentada, o que se correlacionou com a produção de novas células T (virgens, de fenótipo CD45RO/CD27+) e com a diversidade do repertório de TCR (Douek et al. 2000)<sup>(23)</sup> (Figura 1). Outro estudo mostrou que, nos transplantes autólogos de PBSC selecionadas, ocorre uma recuperação rápida de células dendríticas, T, B e NK, mas a composição da população de células T é anormal, com predomínio de células CD8+ e redução de células T virgens, tanto de fenótipo CD4 como CD8 (Galy et al. 2000)<sup>(24)</sup>. Tais alterações persistiram vários anos após TMO autólogo depletado de células neoplásicas (Nordoy et al. 1999)<sup>(25)</sup>. A recuperação de células dendríticas não variou entre recipientes de TMO e M-PBSC, selecionadas ou não (Fearnley et al. 1999)<sup>(8)</sup>.

### 1.3. Papel do timo na imunorreconstituição

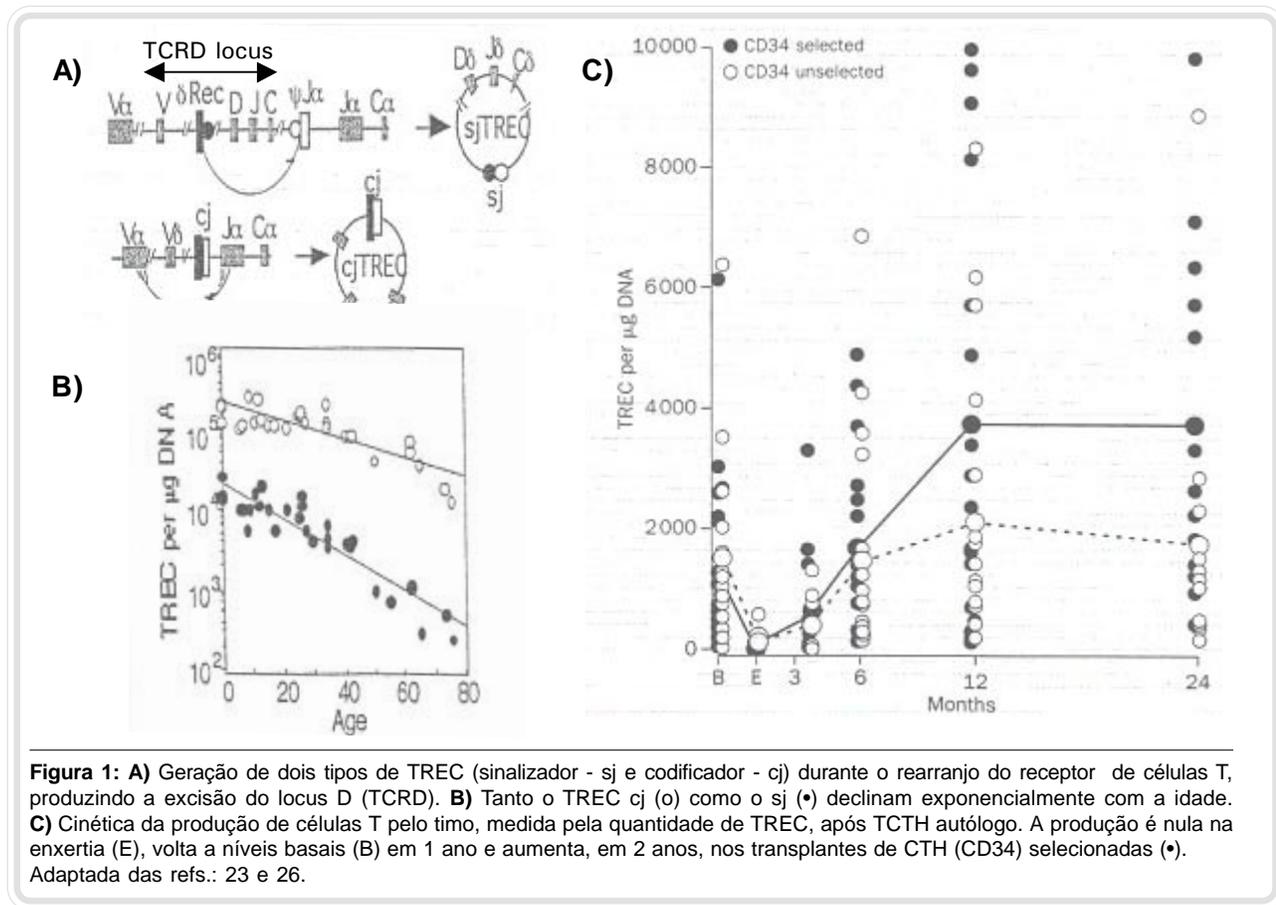
A influência do timo no processo de reconstituição imunológica pós-TCTH foi hipotetizada desde os primórdios dos transplantes, mas só recentemente surgiram metodologias adequadas para o estudo da diferenciação tímica de células T na idade adulta. Tradicionalmente, utilizava-se o fenótipo CD45+RA+ como marcador de células recém-produzidas pelo timo, mas, atualmente, reconhece-se que o CD27 é um melhor marcador para células virgens e que elas, embora sejam células de vida longa, nem todas são recém-produzidas pelo timo, podendo sofrer diferenciação extratímica. A metodologia mais sensível para detectar as células recém-produzidas pelo timo é a quantificação, por técnicas de biologia molecular, de fragmentos circulares de DNA, pertencentes ao TCR, que se localizam em epíssomos de linfócitos T (*T cell receptor excision circles, TREC*) (Haynes et al. 2000)<sup>(26)</sup> (Figura 1). Utilizando tal tecnologia, foi verificado que crianças que receberam TMO, depletado ou não de células T, para imunodeficiência combinada grave (*severe combined immunodeficiency, SCID*), apresentaram altos níveis de TREC um a dois anos após o transplante (vide seção 4), enquanto adultos que receberam transplante de cordão umbilical não-relacionado, ao contrário das crianças, apresentaram baixos

níveis de TREC e expansão de células T diferenciadas extratimicamente, provavelmente devido à profilaxia da GVHD. Por outro lado, pacientes adultos que receberam transplantes autólogos, com células CD34 selecionadas, mostraram maiores níveis de TREC dois anos após o transplante do que os que receberam transplantes não manipulados<sup>(23)</sup>. A última observação evidencia, ao contrário do que se acreditava, que o timo de pacientes adultos, na ausência de imunossupressão pós-transplante, contribui substancialmente para a reconstituição imunológica em seguida ao TCTH.

Utilizando métodos convencionais de marcação de células virgens (CD45RA), combinados com a análise simultânea da diversidade do TCR (*V-beta spectratype*), Roux et al. (2000)<sup>(27)</sup> mostraram que a recuperação dessas células e de seu repertório, em pacientes adultos, era dependente da idade, em seguida a TMO HLA-idêntico, depletado de células T. Empregando o mesmo marcador no seguimento de um paciente timentomizado, submetido a TMO alogênico, Heitger et al. (1997)<sup>(28)</sup> mostraram que a ausência do timo impediu a regeneração de células CD4+45RA+, mas não a das CD8, mostrando que o antígeno 45RA não identifica apenas as células virgens produzidas pelo timo.

### 1.4. Considerações práticas

Quais são as conseqüências práticas dos conhecimentos sobre imunorreconstituição pós-TCTH para o tratamento de pacientes transplantados? Elas são muitas e muito importantes, como a previsão dos vários tipos de infecção em diferentes fases das diversas modalidades de transplantes existentes, a determinação da época oportuna de suspender precauções de isolamento e de empreender medidas imunoterapêuticas, desde vacinações comuns até infusão de imunoglobulinas ou linfócitos especificamente reativos contra determinados patógenos (Trigg, 1999)<sup>(29)</sup>. Assim, baseando-se na relação observada entre baixas contagens linfocitárias no trigésimo dia pós-TMO alogênico não manipulado e a percentagem de recaídas leucêmicas (Powles et al. 1998)<sup>(30)</sup>, iniciaram-se protocolos de infusão profilática de linfócitos nos pacientes de maior risco. Do mesmo modo, protocolos de infusão de clones de linfócitos T (CD4 e CD8+), sensibilizados contra antígenos do CMV, estão sendo desenvolvidos, visando a proteger pacientes que tardam a desenvolver reações de imunidade celular contra o vírus (Riddell, 2000)<sup>(31)</sup>. Ademais, baixos níveis de imunoglobulinas e de função de linfócitos B, no primeiro ano pós-transplante, justificaram, nessa fase, o uso profilático de imunoglobulinas por via endovenosa, mas



resultados positivos não foram comprovados (Sullivan et al. 1996)<sup>(32)</sup>. Finalmente, como a transmissão de imunidade anti-infecciosa do doador para o receptor costuma ser transitória, recomenda-se reimmunizar pacientes no período pós-transplante (Ljungman et al. 1995)<sup>(33)</sup>. Monitorização dos títulos de anticorpos específicos pré e pós-vacinação pode ajudar a individualizar o esquema de vacinação, especialmente em pacientes com GVHD crônica e/ou em uso de drogas imunossupressoras (ver Capítulo X deste Simpósio).

**Avaliações fenotípicas e funcionais do sistema imune não são realizadas rotineiramente após TCTH, mesmo em centros avançados, tornando a imunorreconstituição, na opinião de muitos pesquisadores, o aspecto dos TCTH mais negligenciado atualmente, com profundo impacto na sua evolução.** Assim, baseando-se nos estudos realizados em pacientes com AIDS, propõe-se uma monitorização imunológica rotineira e periódica, pelo menos dos níveis de células CD4+ pós-transplante, usando-se esses parâmetros para guiar a suspensão da profilaxia antimicrobiana, das medidas de isolamento e de imunoprofilaxia (Trigg, 1999)<sup>(29)</sup>.

## 2. PAPEL DOS ANTÍGENOS DE HISTOCOMPATIBILIDADE NA EVOLUÇÃO DOS TCTH

Como foi mencionado na introdução deste capítulo, os TCTH só se tornaram uma alternativa clinicamente viável após a descoberta dos antígenos de histocompatibilidade principais (*major histocompatibility complex, MHC*) e o desenvolvimento, após a década de 60, de métodos de tipificação desses antígenos no Homem, reunidos no sistema HLA (*human leukocyte antigens*). Antes disso, as tentativas de transplantar medula óssea alogênica esbarravam em reações fatais de GVHD agudo ou de rejeição.

A gravidade dessas reações de alorreatividade, mediadas pelos antígenos HLA, praticamente restringiu, durante muitos anos, os TCTH a pares doador-receptor oriundos da mesma família, com identidade HLA e esta é, ainda, a situação em nosso país, que é favorecido pelo grande tamanho das famílias e, portanto, pela grande disponibilidade de doadores HLA-identicos (Tabela I). A ocorrência de significativa frequência (35-40%) de GVHD, aguda ou crônica, e, em certas circunstâncias, de rejeição do enxerto, em

TCTH HLA-idêntico, revelou a importância de um conjunto de antígenos não-HLA, denominados antígenos secundários de histocompatibilidade (*minor histocompatibility antigens, mHA*). Por outro lado, o conhecimento mais detalhado da estrutura do sistema HLA e, principalmente, o grande avanço nas técnicas de sua tipificação, por biologia molecular, permitiram, gradativamente, expandir a aplicação dos TCTH, usando, inicialmente, doadores de medula óssea da família expandida, além dos irmãos, evoluindo para os doadores não-relacionados de MO, provenientes de bancos internacionais e, finalmente, para os doadores de cordão umbilical, relacionados ou não. A análise das complicações imunológicas e resultados do TCTH realizado com diferentes graus de incompatibilidade antigênica permitiu dissecar o papel do sistema HLA na evolução dos transplantes, como veremos abaixo.

Nos transplantes entre membros relacionados da família estendida, não-irmãos, pode-se usar doadores, em relação ao sistema HLA, fenotipicamente idênticos (tipados no nível protéico por métodos sorológicos e celulares convencionais), genotipicamente idênticos (tipados a nível gênico por técnicas de biologia molecular) ou incompatíveis em um haplotipo (três antígenos dos locos HLA-A, B e DR) ou em um ou dois desses antígenos. Os resultados desses transplantes

mostraram, desde a década de 80, que a sobrevivência de pacientes transplantados com uma MO apresentando apenas uma incompatibilidade HLA era comparável aos dos transplantes fenotípica ou genotipicamente HLA idênticos (revisto por Henslee-Downey & Gluckman, 1999<sup>(34)</sup> e Mickelson et al. 2000<sup>(35)</sup>). Com duas ou três incompatibilidades, o aumento da incidência de GVHD, rejeição e infecções afeta significativamente a sobrevivência global, sendo a incompatibilidade no *locus* HLA-DR mais nociva do que a dos *loci* HLA-A ou B. Devido à dificuldade logística, a maioria dos centros de TMO pesquisa doadores relacionados apenas entre irmãos. Entretanto, a pesquisa na família estendida, quando realizada sistematicamente, guiada por uma estratégia imunogenética racional, pode identificar doadores aceitáveis (HLA idênticos ou incompatíveis em apenas um *locus*) em quase metade dos casos<sup>(34)</sup>. Em nosso centro, de 1992 a 2000, fizemos esse tipo de pesquisa em 17 famílias estendidas e identificamos três familiares HLA idênticos e dois com uma disparidade antigênica. Desses, uma paciente foi transplantada (Caso ilustrativo N° 1), com mau resultado (óbito por infecção e GVHD). Outros pacientes foram transplantados com doadores fenotipicamente idênticos (pai/mãe para filho), com melhores resultados.

**Tabela I - Pesquisa de doadores HLA idênticos entre irmãos de candidatos a TMO alogênico no Laboratório de Imunogenética do Hemocentro Regional/HCFMRPUSP.**

Ano	Nº de famílias pesquisadas	Nº médio de irmãos na família	Nº de famílias com pelo menos um doador idêntico	
			Observado	Esperado*
1991	28	2,9	19	16
1992	52	2,1	32	24
1993	36	3,4	26	23
1994	50	3,8	32	33
1995	50	3,8	30	33
1996	60	3,6	34	39
1997	70	3,9	49	47
1998	64	2,7	47	35
1999	57	5,0	37	43
2000	70	4,0	48	48
Total	537	3,5 (média)	354 (66%)	341 (63%)

\* Dado pela expressão  $N(1-0,75^n)$  onde **N** é o número de famílias avaliadas e **n** é o número de irmãos pesquisados.

A escassez de doadores relacionados HLA-idênticos, principalmente nos países desenvolvidos, levou à organização de bancos de doadores de medula óssea, voluntários, que, atualmente, armazenam dados de mais de cinco milhões de doadores. Milhares de transplantes já foram realizados, usando-se esses doadores, verificando-se, também, a grande influência que o sistema HLA exerce sobre o resultado de tal tipo de transplantes. A incidência de rejeição do enxerto aumentou significativamente com a presença de disparidades em classe I e com prova cruzada positiva entre soro do doador e linfócito do receptor. Já a incidência de GVHD aguda, grave (graus III e IV) aumentou com a presença de disparidades múltiplas em classe I ou únicas em classe II. Pacientes incompatíveis em mais de um *locus* (classe I ou classe II) têm menor sobrevivência do que pacientes com nenhuma ou apenas uma compatibilidade.

Entre receptores de transplantes de cordão umbilical de doadores relacionados, a compatibilidade HLA também foi um fator importante, influenciando a sobrevivência dos pacientes. Já em transplantes de cordão umbilical não relacionados, a influência da compatibilidade HLA sobre a ocorrência de GVHD agudo, rejeição e sobrevivência é controversa, sendo superada, em alguns estudos, pela dose de células infundidas<sup>(34)</sup>.

Nos transplantes HLA-idênticos, as reações imunológicas (GVHD, rejeição, efeito GVL e outras) são mediadas pelos antígenos secundários de histocompatibilidade, que incluem os do grupo HA, antígenos mitocondriais, antígenos associados ao cromossomo Y (H-Y), ao sistema ABO e muitos outros em identificação (Simpson et al. 1998)<sup>(36)</sup>. Os antígenos HA humanos foram descobertos pelo grupo de Goulmy, na Holanda, estão associados aos antígenos HLA de classe I, assumem cinco formas alélicas (HA-1 a -5), em que o HA-1 exibe imunodominância, isto é, na presença de múltiplas incompatibilidades, a maioria das respostas é dirigida contra ele. Assim, em pacientes que receberam TMO compatíveis na classe I do HLA, a ocorrência de GVHD agudo correlacionou-se fortemente com disparidade no *locus* HA-1, o qual poderia ser, então, utilizado para selecionar doadores em famílias com vários HLA-idênticos. Ao contrário, mHA têm sido utilizados como alvo de reações de enxerto-contraleucemia. A importância clínica de outros mHA, além dos HA, nos TCTH, é ilustrada pela observação antiga da incidência aumentada de GVHD quando se usam, como doadores, mulheres múltiparas (sensibilizadas para os antígenos H-Y do receptor) e pela observação da provável correlação entre GVHD

agudo e incompatibilidade secundária (*minor*) no sistema ABO (Bacigalupo et al. 1988)<sup>(37)</sup>.

Várias tentativas têm sido feitas, ao longo da evolução dos TCTH alogênicos, para minimizar as reações de alorreatividade e permitir o uso de doadores incompatíveis, principalmente os haploidênticos (irmãos ou pais/filhos). Entre essas tentativas, revisadas por Drobyski (2000)<sup>(38)</sup> e por Hensley-Downey & Gluckman (1999)<sup>(34)</sup>, destacam-se:

- 1) Depleção de células T do transplante, de uma maneira que não comprometa a enxertia nem o efeito enxerto-contraleucemia. O objetivo tem sido alcançado, pelo menos em parte, usando métodos de depleção parcial ou seletiva de linfócitos T *in vitro*, com anticorpos monoclonais de especificidade restrita, por exemplo, anti-CD6 ou anti-TCR  $\alpha\beta$  (T10B9), combinados ou não com imunossupressão peritransplante *in vivo* (com imunotoxina anti-CD5-ricina ou globulina anti-timocitária e metilprednisolona).
- 2) Tratamento *in vitro* do transplante com anticorpos monoclonais (anti-B7 ou CTLA4Ig) que bloqueiam a via B7-CD28 de coestimulação de linfócitos T do doador e os tornam tolerantes (anérgicos) ao enxerto.
- 3) Uso de megadoses de CTH (10-19 milhões/kg) mobilizadas da MO com G-CSF, combinadas com medula óssea depletada de células T com hemácias de carneiro. As doses altas de CTH parecem inativar as células T do doador com capacidade citotóxica (efeito *veto*) e, assim, evitar a rejeição do enxerto. O efeito benéfico do número aumentado de CTH, na redução da rejeição, foi também observado em pacientes submetidos a tratamento *in vivo* com o anticorpo monoclonal CAMPATH-1 (anti-CD52, de especificidade ampla).

### 3. PAPEL DAS CITOCINAS NAS COMPLICAÇÕES INFLAMATÓRIAS DO TCTH: FEBRE, GVHD E OUTRAS

As citocinas pró-inflamatórias compreendem um grande grupo de mediadores, cujos principais representantes são o TNF- $\alpha$ , o IFN- $\gamma$ , a IL-1, a IL-2, a IL-6 e a IL-8, responsáveis pelo desencadeamento da febre (pirógenos endógenos) e de muitas outras reações inflamatórias agudas e crônicas, incluindo o choque séptico e a falência múltipla de órgãos (revisado por Voltarelli, 1994)<sup>(39)</sup>. Vários trabalhos, clínicos e experimentais, têm mostrado a participação dessas citocinas no desencadeamento e na evolução de complicações dos TCTH, como as próprias síndromes in-

fecciosas, VOD (doença venoclusiva hepática), mucosite, pneumonite intersticial, reações transfusionais e medicamentosas, febre de origem indeterminada e, principalmente, GVHD (vide abaixo). Entretanto, a medida dos níveis plasmáticos das citocinas pró-inflamatórias ou de outras (IL-10, TGF- $\beta$ ) não tem se mostrado útil para prever a ocorrência de complicações em pacientes individuais, devido à limitação de sensibilidade e especificidade (Singer & Bianco, 1999)<sup>(40)</sup>. Mais recentemente, a quantificação de citocinas intracelulares, principalmente em monócitos, parece ter um melhor valor preditivo para a ocorrência de doenças inflamatórias pós-transplante.

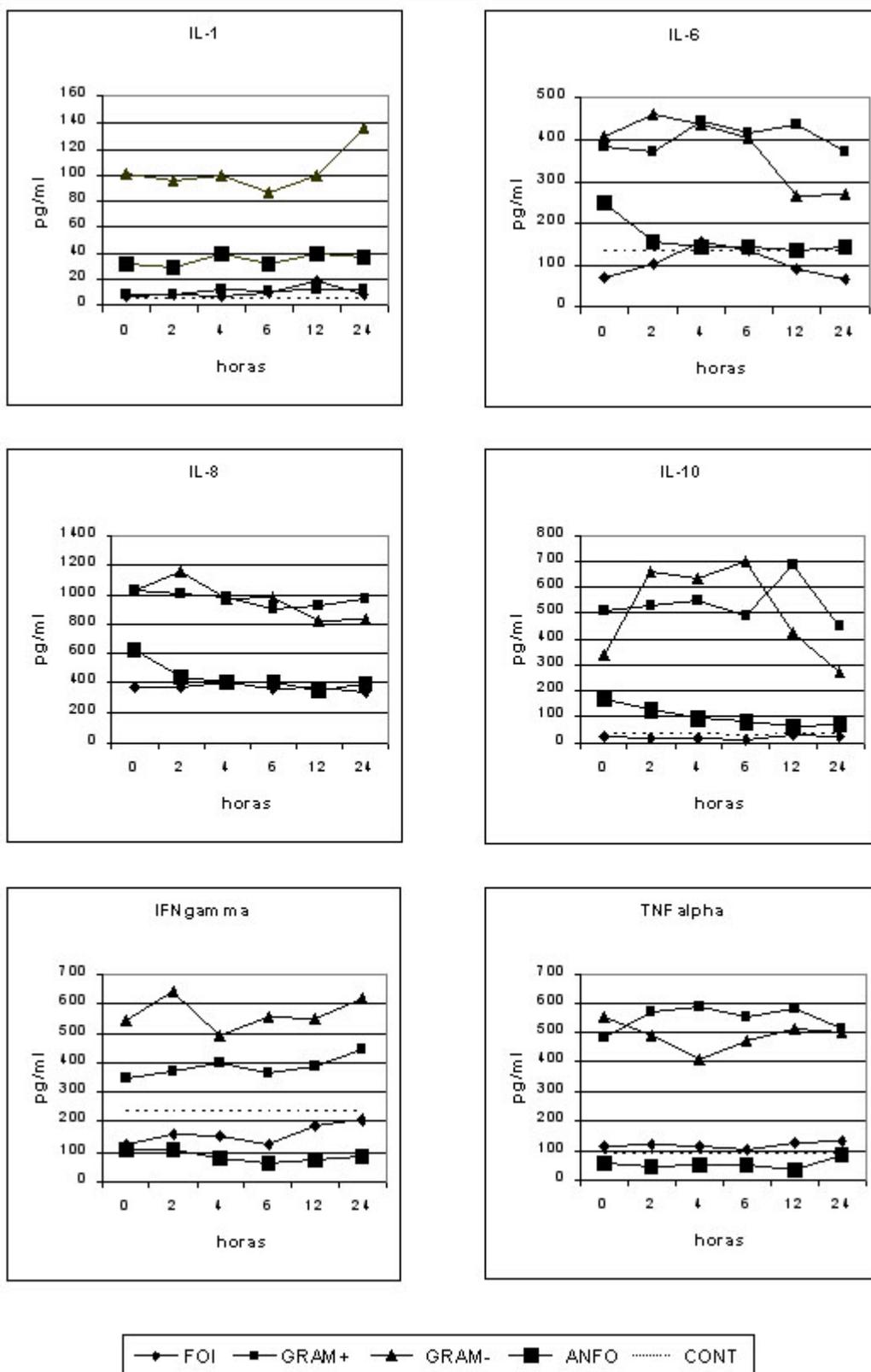
Em transplantes autólogos de medula óssea ou de sangue periférico, mobilizado com fatores de crescimento, tem sido observada, com frequência elevada, uma **síndrome de enxertia**, caracterizada por "rash" cutâneo, febre asséptica, infiltrados pulmonares, dispnéia e extravasamento capilar (Lee et al. 1995)<sup>(41)</sup>. Tal síndrome parece ser mediada por um conjunto de citocinas pró-inflamatórias, algumas delas liberadas por fatores de crescimento hematopoéticos (G- ou GM-CSF). Nos transplantes alogênicos, as reações de alorreatividade podem mediar uma síndrome semelhante, sem associação com fatores de crescimento exógenos.

Em nossa unidade, monitorizamos um conjunto de citocinas plasmáticas em 39 episódios febris, no período pós-transplante imediato, e verificamos que a maioria delas (IL-6, IL-8, IL-10, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ ) estavam aumentadas durante infecções por bactérias gram-positivas e gram-negativas, enquanto a IL-1 só estava aumentada nestas últimas e nas reações à anfotericina B. Por outro lado, nos episódios infecciosos de causa indeterminada, com hemoculturas negativas, nenhuma das citocinas estava elevada no plasma, correlacionando-se com o caráter benigno destes casos (Figura 2). Além disso, não foi observada correlação entre os níveis plasmáticos das citocinas e as contagens de neutrófilos circulantes, o tipo de transplante (autólogo ou alogênico), a terapêutica antitérmica empregada (paracetamol ou dipirona) e a mortalidade dos pacientes acometidos de infecções (Stracieri, 1998)<sup>(42)</sup>.

Baseando-se nas observações relatadas acima e na ocorrência de febre no período de aplasia, hiper-citocinemia no período de enxertia e evidências de lesão endotelial, num grupo de pacientes com complicações clínicas pós-TCTH (GVHD, microangiopatia trombótica, VOD, síndrome de angústia respiratória do adulto, pneumonite por CMV e falência de múltiplos órgãos), elas foram consideradas parte de uma reação inflamatória sistêmica, desencadeada por dois tipos de agressões (Takatsuka et al. 2000)<sup>(43)</sup>. Na pri-

meira, lesões teciduais, provocadas pelo regime de condicionamento, e mediadores liberados nas reações febris provocam aumento dos níveis de citocinas, sensibilizando o endotélio vascular à ação de um segundo tipo de agressão, desencadeada por drogas imunossupressoras, agentes infecciosos e reações alorreativas, resultando em um processo inflamatório multissistêmico. De acordo com tal modelo, para se evitar a morbimortalidade das complicações inflamatórias pós-TCTH, faz sentido: 1) empregar regimes de condicionamento menos agressivos, como os subablativos; 2) prevenir a ocorrência de reações febris durante o período aplástico; 3) ajustar a dose da imunossupressão após a enxertia; 4) evitar as lesões do endotélio vascular e a ação exacerbada das citocinas, como veremos a seguir.

As citocinas desempenham, também, um importante papel na patogênese da GVHD, tanto em sua forma aguda como na crônica. Na primeira, a sequência de eventos, considerada responsável pelo desencadeamento das lesões teciduais da GVHD aguda, compreende três fases (Ferrara, 2000)<sup>(44)</sup>: **1) O regime de condicionamento lesa e ativa tecidos do receptor**, principalmente aqueles mais expostos a endotoxina e outros produtos bacterianos, como a pele, fígado e intestino, levando a um aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-1) e fatores de crescimento (GM-CSF). Essas citocinas estimulam a expressão de moléculas de adesão e de antígenos de histocompatibilidade nos tecidos do hospedeiro, facilitando seu reconhecimento pelas células T do doador; **2) O reconhecimento de aloantígenos requer dois tipos de sinais**, o primeiro provido pela interação específica entre o receptor para células T (TCR)-peptídios-MHC e o segundo, coestimulatório, provido por um conjunto de ligantes, dos quais os mais bem caracterizados são os antígenos B7, nas células apresentadoras de antígenos, e os receptores CD28 e CTLA-4 na célula T. Quando adequadamente ativadas, as células T do doador produzem um conjunto de citocinas do tipo Th1, principalmente IL-2 e IFN- $\gamma$ , que iniciam a cascata de eventos inflamatórios da GVHD. Elas são contrabalançadas por citocinas do tipo Th2, principalmente IL-4 e IL-10, e por diversos tipos de células T supressoras (CD4-CD8-NK1.1+, Tr1, etc). O equilíbrio entre células T reativas, incluindo as Th1, e supressoras, incluindo as Th2, pode controlar a frequência e intensidade da GVHD; **3) Os mecanismos efetores da GVHD** aguda compreendem reações inflamatórias e citotóxicas, ambas dependentes da ação de citocinas. Nas primeiras, fagócitos mononucleares, sensibilizados por citocinas Th1, na fase anterior, sofrem uma outra estimulação, provavelmente por lipo-



**Figura 2:** Níveis de citocinas plasmáticas em vários tipos de episódios febris pós-TCTH: FOI: febre de origem indeterminada, Gram +: infecção por gram-positivos, gram-: infecção por gram negativos, Anfo: toxicidade à Anfotericina B. (ref. 42)

polissacarídeos bacterianos, que atravessam a mucosa intestinal, lesada pelo condicionamento, secretando citocinas pró-inflamatórias, notadamente IL-1 e TNF- $\alpha$  e outros mediadores, como o óxido nítrico (NO). Esses mediadores produzem dano tecidual diretamente ou ativando outras células ou ainda causando a liberação de outras citocinas. Assim, o TNF- $\alpha$  pode produzir necrose ou apoptose pela via do Fas, e, juntamente com a IL-1, IL-6 e IL-8, pode ser um importante mediador da desnutrição, febre (vide acima) e outras manifestações inflamatórias da GVHD, e o NO pode contribuir para a imunossupressão associada à doença. Essas ações das citocinas sinergizam com os efeitos citotóxicos diretos de linfócitos T e, possivelmente, NK contra tecidos-alvo de GVHD.

A **GVHD crônica**, por sua vez, é causada pelo reconhecimento tardio de aloantígenos secundários de histocompatibilidade ou por auto-antígenos (porção comum de antígenos HLA de classe II). De acordo com a última hipótese, ele se assemelharia à GVHD autóloga, observada em transplantes singênicos ou autólogos e, em ambos, há participação da disfunção tímica, dificultando o estabelecimento de tolerância doador-receptor, e de citocinas, mediando lesão tecidual. Diferentemente da GVHD aguda, há uma mistura de citocinas do tipo Th1 e Th2 (IL-4, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , mas não IL-2), que, entre outras ações patogênicas, estimulam a produção de colágeno por fibroblastos, produzindo lesões fibróticas, características da doença (Margolis & Volgesang, 2000)<sup>(45)</sup>.

O reconhecimento do papel das citocinas na patogênese da GVHD tem levado ao desenvolvimento de estratégias terapêuticas, dirigidas a essas moléculas, para prevenir ou tratar a doença. Elas incluem: 1) o fortalecimento da barreira intestinal (“cytokine shield”) antes do condicionamento, empregando, por exemplo, IL-11 ou fator de crescimento de queratinócitos, para diminuir a passagem de substâncias imunostimulantes do intestino para a circulação, ou 2) o uso de inibidores de citocinas pró-inflamatórias (anticorpos monoclonais anti-TNF- $\alpha$  ou receptores solúveis da IL1-IL1ra) para profilaxia ou tratamento da doença.

#### 4. TCTH PARA IMUNOPATIAS: IMUNODEFICIÊNCIAS E DOENÇAS AUTO-IMUNES

Se, por um lado, o sistema imune influencia decisivamente a evolução dos TCTH para doenças oncológicas e hematológicas, por outro, esses transplantes podem ser empregados com sucesso para o tratamento de várias doenças que acometem o sistema

imune, como as deficiências imunológicas, as enfermidades auto-imunes e linfoproliferativas. As duas primeiras serão discutidas nesta seção e as últimas foram discutidas nos Capítulos VIII e IX deste Simpósio.

##### 4.1. TCTH para deficiências imunológicas

Como mencionado na introdução deste capítulo, os primeiros transplantes alogênicos bem sucedidos foram realizados em 1968, em dois pacientes com imunodeficiências, portadores, respectivamente, de deficiência imunológica combinada grave (SCID) e de síndrome de Wiskott-Aldrich (SWA). Estas doenças permanecem sendo as principais indicações de TCTH para ID na atualidade. Desde aquela época, muitos avanços alcançados nos transplantes para ID, como a depleção de células T, os transplantes HLA-incompatíveis e os acoplados à terapia gênica, foram generalizados e aplicados aos pacientes transplantados para outras doenças.

A maioria dos TCTH realizados para IDs são aplicados a alguma forma de SCID, pois o transplante é a única modalidade terapêutica curativa para tal doença (revisto por Parkman, 2000)<sup>(46)</sup>. Apenas uma minoria de pacientes com SCID recebe TCTH de doador HLA-idêntico, tendo uma sobrevida de aproximadamente 80%, a qual se reduz para 60 a 70% nos receptores de transplantes haploidênticos, depletados de células T. Nestes últimos, a reconstituição imunológica de células T, exclusivamente a partir das CTH, demora três a quatro meses, em contraste com dias a três semanas nos transplantes não manipulados, refletindo a importante contribuição das células T maduras do enxerto. Por outro lado, o compartimento de células B não se normaliza em um grande número de pacientes com SCID após TCTH, requerendo reposição com imunoglobulina EV (vide Tabela II). Esse fato parece ser mais comum nos pacientes que não recebem condicionamento pré-transplante. Estudos recentes e detalhados da imunorreconstituição em TCTH para SCID revelaram que tais pacientes, algumas semanas após o transplante, têm capacidade de produzir células T pelo timo, medidas pelo fenótipo CD45RA e pelo ensaio TREC (vide Figura 1), as quais proliferam em resposta a mitógenos. Entretanto, um a dois anos após o transplante, as células recém-emigradas do timo começam a diminuir em um ritmo mais acelerado do que em indivíduos normais (Patel et al. 2000)<sup>(47)</sup>. Finalmente, as características clínicas que têm maior impacto na evolução dos TCTH para SCID, além da compatibilidade HLA, são a idade do paciente na época do transplante, a presença de infecções oportunistas e de GVHD materno-fetal.

A segunda ID mais frequentemente transplantada é a síndrome de Wiskott-Aldrich, caracterizada por imunodeficiência celular, deficiência de IgM e trombocitopenia. Ao contrário da SCID, há necessidade de condicionamento pré-transplante, para evitar rejeição, mesmo nos transplantes HLA-idênticos e o regime mais comumente empregado, na atualidade, é bussulfan mais ciclofosfamida. Dentre 170 transplantes, registrados no IBMTR, a sobrevida longa de recipientes de transplantes familiares HLA-idênticos foi de 86%, semelhante à dos transplantes não relacionados em pacientes menores de cinco anos (83%), caindo para 26% em pacientes com mais de cinco anos e para 51% em recipientes de transplantes relacionados HLA-incompatíveis, incluindo os haploidênticos depletados de células T. Assim, a SWA pode ser curada por TCTH alogênico, mas eles devem ser feitos precocemente para evitar o desenvolvimento de complicações da doença, principalmente as auto-imunes<sup>(46)</sup>.

Uma variedade de outras IDs tem sido tratada por TCHT, incluindo a síndrome de hiper-IgM (deficiência do ligante de CD40), doença granulomatosa crônica infantil, síndrome do linfócito desnudo (deficiência de expressão de moléculas HLA), síndrome de

Chediak-Higashi e a linfocitose hereditária (deficiência genética da perforina). Em algumas dessas doenças, como a síndrome de Chediak-Higashi, o TCTH não corrige as manifestações neurológicas da doença, enquanto, em outras, como na doença granulomatosa crônica infantil, apenas um subgrupo de pacientes de alto risco tem indicação de transplante. Nesses pacientes, um condicionamento subablativo com ciclofosfamida, fludarabina e ATG combinado com DLI mostrou resultados bastante promissores (revisto por Dinauer, 2000)<sup>(48)</sup>.

O TCTH também tem sido empregado como veículo de terapia gênica em algumas IDP, como a imunodeficiência combinada grave (formas ligada ao X e deficiência de adenosina deaminase) e a própria doença granulomatosa crônica infantil.

A Unidade de TMO da UFPR, em Curitiba, transplantou seis crianças portadoras de ID primárias (1 SWA e 5 SCID) entre maio de 98 e dezembro de 2000, sendo três com medula óssea (duas HLA-idênticas e uma haploidêntica) e três com cordão umbilical não aparentado (duas com uma incompatibilidade e uma com duas incompatibilidades HLA). Todos os pacientes sobreviveram, alguns com complicações crônicas (Tabela II).

**Tabela II - Experiência da Unidade de TMO da UFPR com TCTH para imunodeficiências primárias.**

Idade	Sexo	Diagnóstico	Tipo	HLA	Condic.	Depl. Cels T	Reconstituição				Complicações	Status atual
							PMN	Plq.	Cels T	B		
2a	M	SWA	TMO	Id	BuCy	não	D+13	sim	sim	sim	Glaucoma, CMV	OK
2a	M	SCID	TMO	Id	BuCy	não	D+22	lenta	±	sim	GVHD hepático e intestinal	OK, Ig EV e AZA
2m	M	SCID	TMO	Haplo	Não	Sim roseta E	--	--	sim	não	GVHD cutâneo e hepático c/ citopenia	OK, usa Ig EV
1a	M	SCID	SCUP	1 Ag≠	Não	Sim roseta E	--	--	±	não	D. linfoproliferativa p/ EBV, Tb, volvo	Desnutrição, em NPT e Ig EV
1a	M	SCID	SCUP	2 Ag≠	Bu	não	D+15	lenta	sim	não	Síndrome da pega, VOD, Insuficiência Renal	OK, Ig EV
10m	M	SCID	SCUP	1 Ag≠	BuCy ATG	não	D+19	lenta	sim	sim	Tb, GVHD cutâneo, VOD	OK

SWA: Síndrome de Wiskott Aldrich, BuCy: bussulfan/ciclofosfamida, SCID: deficiência imunológica combinada grave, SCUP: sangue de cordão umbilical e placentário, roseta E: roseta com eritrócitos de carneiro, Tb: tuberculose, NPT: nutrição parenteral total. AZA: azatioprina, Id: idêntico, Condi.: condicionamento, Depl.: depleção, Plq: plaquetas, ATG: globulina anti-timocitária, VOD: doença venoclusiva hepática.

## 4.2. TCTH para doenças auto-imunes

As doenças auto-imunes (DAI) podem ser localizadas, causando, geralmente, uma endocrinopatia (tireoidite de Hashimoto, tireotoxicose de Graves, diabetes insulino-dependente, insuficiência adrenal de Addison), ou multissistêmicas, originando doenças reumáticas que podem afetar órgãos vitais e causar significativa morbimortalidade (artrite reumatóide, lúpus eritematoso sistêmico, febre reumática, esclerose sistêmica, dermatopolimiosite e vasculites). Numa região intermediária desse espectro, há DAI, como a esclerose múltipla, a miastenia *gravis* e as citopenias auto-imunes, que acometem apenas um sistema orgânico, o qual, por sua distribuição universal, acarreta consequências semelhantes às das doenças multissistêmicas. Englobaremos as duas últimas categorias de enfermidades como DAI sistêmicas. Embora tenha havido grandes progressos no entendimento dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos nessas doenças, a etiologia da grande maioria delas permanece obscura, limitando o desenvolvimento de terapêuticas específicas. Uma exceção ilustrativa da situação é a auto-imunidade causada pela infecção estreptocócica do grupo B, em que, tanto a febre reumática, como a glomerulonefrite difusa aguda podem ser facilmente prevenidas pelo tratamento precoce ou profilaxia da infecção primária.

Os avanços inegáveis na terapêutica anti-inflamatória e imunossupressora para DAI sistêmicas, recentemente, não impediram que uma subpopulação de pacientes com formas agressivas dessas doenças tivessem um mau prognóstico, em termos de qualidade e duração de vida, semelhante ao de muitas doenças neoplásicas (Lowenthal & Graham, 2000)<sup>(49)</sup>. Nos últimos cinco anos, foram desenvolvidos vários protocolos de tratamento desses pacientes com imunoablação intensa, seguida de resgate com CTH autólogas ou alogênicas, baseando-se em modelos experimentais e em resultados clínicos de TCTH em casos de concomitância de neoplasia e auto-imunidade e em casos esporádicos de transplante em DAI isoladas (revisito por Marmont, 2000)<sup>(50)</sup>. Embora a maioria dos casos de anemia aplástica severa seja considerada de etiologia auto-imune, esta não pode ser comprovada em pacientes individuais e seu tratamento foi discutido separadamente no Capítulo I deste simpósio.

Os modelos animais de DAI distribuem-se em duas categorias: 1) uma geneticamente determinada, como na linhagem de camundongos NZB/W, que de-

envolvem LES espontaneamente, e outra, 2) induzida pela injeção de auto-antígenos, como da proteína mielínica básica, que provoca a encefalomielite alérgica experimental, ou de colágeno ou antígenos bacterianos, que provocam artrite experimental. Em ambas as categorias, a DAI pode ser prevenida ou curada pela infusão de CTH, mas, na primeira, as células alogênicas são mais eficientes, enquanto, na segunda, que parece se aproximar mais da situação humana, tanto os transplantes alogênicos como os autólogos são eficientes. Dois grupos de pacientes, um com artrite reumatóide que desenvolveu anemia aplástica após terapia com sais de ouro e outro com doença de Crohn e leucemia, receberam TMO alogênico, ao lado de outros casos isolados com outros diagnósticos. A maioria desses pacientes obteve remissão da DAI, mas alguns tiveram recidiva, mesmo com reconstituição linfematopoética completa, do doador. Casos isolados de remissão de DAI em seguida a TCH autólogo para neoplasias hematológicas também foram observados, mas uma série de cinco pacientes transplantados com CTH não manipuladas teve recidiva precoce da DAI (Euler et al. 1996)<sup>(51)</sup>. Baseando-se nas evidências apontadas acima e neste último relato, vários centros começaram a transplantar pacientes portadores de DAI graves e refratárias à terapia convencional com CTH autólogas, depletadas *in vivo* ou *in vitro* de linfócitos T e B, sendo os primeiros casos, em lúpus eritematoso sistêmico, relatados em 1997. O transplante descrito abaixo, realizado no Brasil, no início de 1996, com CTH não manipuladas, é um dos primeiros a ser feito em DAI isolada, mas, infelizmente, não foi relatado na literatura internacional.

### *Caso clínico ilustrativo N° 2*

*Paciente LKS, do sexo feminino, de 54 anos de idade, apresentava lesões cutâneas do tipo livedo reticular desde 1992, sendo diagnosticada anemia hemolítica por aglutinina a frio, em maio de 1994. Foi tratada com corticoesteróides (dexametasona e prednisona) e, devido aos efeitos colaterais, com clorambucil, até setembro de 95. Houve regressão das lesões cutâneas e estabilização da hemoglobina (entre 9 e 11 g/dl), mas, manteve-se auto-aglutinação à temperatura ambiente e teste de Coombs positivo. Em setembro de 95, foi admitida no Hospital Albert Einstein com pancitopenia (Hb 5,5 g/dl, GB 1500/ul e plaquetas 31000/ul). A biópsia de medula óssea revelou componente mielodisplásico. Foi suspenso o clorambucil e*

introduzido G-CSF. Houve recuperação das contagens de leucócitos e de plaquetas, mas a paciente tornou-se dependente de transfusão de hemácias, persistindo a hemaglutinação à temperatura ambiente. Em abril de 1996, recebeu transplante autólogo de células-tronco hematopoéticas periféricas, mobilizadas com G-CSF, após condicionamento com altas doses de ciclofosfamida (200 mg/kg), associado a plasmaferese. Como complicações precoces do transplante, apresentou colestase grave, sem características de VOD, e bacteremia por *E.coli*, mas teve enxertamento rápido e alta hospitalar no dia +23 pós-transplante. Desde maio de 1996, não recebe transfusões de hemácias e houve negatificação do teste de Coombs e da hemaglutinação a frio.

**Comentários:** este caso foi relatado no Congresso da Sociedade Brasileira de Hematologia, em 1996, por Ferreira et al.<sup>(52)</sup> e constitui, provavelmente, o primeiro paciente com doença auto-imune, excluída a AA, transplantado no Brasil com CTH autólogas e um dos primeiros da literatura mundial. É interessante notar que uma remissão prolongada da citopenia auto-imune foi obtida com um regime de condicionamento imunoablativo com ciclofosfamida, isoladamente, semelhante ao utilizado para transplante alogênico em anemia aplásica não transfundida, sem se recorrer a depleção de células T ou B do enxerto, "in vivo" ou "in vitro". Resultados similares têm sido obtidos esporadicamente na literatura, mas, atualmente, recomenda-se alguma forma de depleção de células auto-reativas do enxerto, seja por seleção positiva ou negativa "in vitro", seja por anticorpos anticélulas T "in vivo". A plasmaferese concomitante ao condicionamento pode ter contribuído para uma resposta terapêutica precoce, mas, provavelmente, não seria suficiente, "per si", para uma remissão duradoura. Recentemente, foi verificado que pacientes com citopenias auto-ímmunes possuem adequadas função estromal e reserva medular, medidas pelo fenótipo e função de vários compartimentos mielóides, condições importantes para o sucesso do TCTH autólogo nesses pacientes (Papadaki et al. 2000)<sup>(53)</sup>.

#### 4.2.1. Resultados iniciais

O registro europeu de TCTH em DAI possuía, até janeiro de 2001, 332 casos relatados por 71 centros, em 22 países, incluindo Austrália, Japão e China,

casos que foram submetidos a uma análise clínica global, baseada nos relatórios médicos de seguimento (Tyndall et al.<sup>(54)</sup> e Tabela III). A grande maioria dos pacientes recebeu transplante autólogo de CTH periféricas, mobilizadas com ciclofosfamida mais G-CSF e o condicionamento variou de acordo com a doença de base. Noventa e cinco pacientes portadores de esclerose múltipla foram transplantados, usando-se o BEAM (BCNU, etoposídeo, aracytin e melfalan) como regime de condicionamento, aproveitando a boa penetração do BCNU e do melfalan na barreira hematoencefálica. A maioria desses pacientes foi transplantada pelo grupo de Fassas, na Grécia, sem manipulação "in vitro" de enxerto. Houve sete mortes (cinco por complicações do transplante e duas por progressão da doença) e, entre 81 pacientes com seguimento superior a dois meses, a sobrevida livre de progressão, em três anos, foi de 72% (78% para a forma secundária progressiva, que constitui 80% dos pacientes). A resposta clínica foi comprovada pelos estudos de imagem por ressonância magnética (houve diminuição das lesões ativas de 38 para 13% dos pacientes na forma secundária progressiva e de 27 para 1% na forma primária progressiva). Sessenta e cinco pacientes portadores de esclerose sistêmica receberam, na sua maioria, CTH selecionadas *in vitro*, após condicionamento com ciclofosfamida, com ou sem ATG e/ou TBI. A mortalidade relacionada ao transplante foi de 17%, inicialmente, caindo para 7,5%, quando se adotaram critérios mais estritos de exclusão de pacientes com comprometimento cardíaco ou uso prévio de doses altas de ciclofosfamida. Esta "curva de aprendizagem", traduzindo a redução da mortalidade na população tratada mais recentemente, foi observada no grupo dos pacientes como um todo, pois a mortalidade dos pacientes transplantados antes de 1998 foi de 12%, caindo para 10% em 1999 e 4% em 2000, aproximando-se, assim, das taxas observadas em transplantes autólogos para doenças neoplásicas. Dentre 45 pacientes com seguimento superior a três meses, a avaliação clínica global mostrou que dois terços (30) dos pacientes melhoraram após o transplante, mas houve um grande número (11) de recaídas (Tabela III). Já em 29 pacientes analisados mais detalhadamente, através do score cutâneo de Rodney e da difusão de CO (Binks et al.)<sup>(55)</sup>, a doença cutânea melhorou em 70% (20/29), enquanto a pneumopatia estabilizou-se na metade dos pacientes, melhorou em 10% e progrediu em 40%. A maioria dos pacientes transplantados para artrite reumatóide (n= 43) obteve resposta

**Tabela III - Resultados de TCTH autólogo para DAI em estudos piloto (fases I e II).**

Doença	Nº Tt Av	Centro	Condicionamento e tipo de CTH pre- dominantes	F-Up	Resposta clínica				Mortes	
					↑	↔	↓	↑↓	TRM	Progr.
EM**	95 81	EULAR/ EBMT	BEAM e CTH s/ seleção	>2m	31*	26	20	4	5	2
ES	65 45	Idem	CY+ATG Seleção CD34	>3m	30*	1	3	11	8	4
AR	43 39	Idem	CY+ATG C/ ou s/ sel. CD34		13*	1	7	18	1	
ARJ	35 29	Idem	CY+TBI+ATG TMO + TCD		20*	1	1	7	5	
LES	23 20	Idem	CY+ATG Seleção CD34		14*	-	1	5	3	
LES	9 7	NWU	CY+ATG Seleção CD34	>12m	6	-	-	1	1	
ES	18 6	FHCRC	TBI+CY+ATG Seleção CD34	>1a	6 (pele)	-	-		3	1
EM	20 13	Idem	Idem	1-24m >3m	4	7	2	-	1	

\*Avaliação clínica global, declarada pelo médico no formulário de seguimento. \*\* Vide abreviações na Fig. IV.  
Tt: total Av: avaliáveis, F-up: followup, EULAR: Liga Européia contra o Reumatismo, EBMT: Grupo Europeu de TMO,  
NWU: Northwestern University, Chicago, TCD: depleção de células T, ↑: melhora, ↔: estabilização, ↓: piora, ↑↓: melhora e recaída,  
TRM: Mortalidade relacionada ao transplante, Progr.: Progressão da doença. Dados compilados das refs. 54-58.

clínica, semelhante à produzida pelo anti-TNF, com baixa toxicidade (apenas um óbito), mas, aproximadamente, a metade deles teve recidiva da sinovite. Esta, entretanto, foi facilmente tratada com drogas imunomoduladoras (metotrexate, ciclosporina e leflunomide), que não haviam sido efetivas antes do transplante. Um estudo australiano, com 33 pacientes, mostrou que a dose de 200 mg/kg de ciclofosfamida, no condicionamento, era superior a 100 mg/kg e que a seleção *in vitro* de CTH não ofereceu vantagens em relação aos transplantes não manipulados. Pacientes com as formas sistêmica ou poliarticular da artrite reumatóide juvenil (n= 35) foram transplantados na Holanda (n= 15) recebendo condicionamento com ciclofosfamida (200 mg/kg), TBI (400 rads) e ATG, ou em outros centros. Vinte pacientes obtiveram remissões duradouras, sete recidivaram e três morreram com a síndrome de ativação macrófágica, induzida por infecções. Dos 23 pacientes transplantados para LES, 14 melhoraram, cinco recaíram, um piorou e três foram a óbito.

O grupo da Northwestern University, de Chicago, relatou, recentemente, sua experiência com trans-

plante autólogo de CTH selecionadas “*in vitro*”, em 9 pacientes com LES refratário a pelo menos seis ciclos de ciclofosfamida (Traynor et al. 2000)<sup>(56)</sup>. A mobilização foi feita com ciclofosfamida 2 g/m<sup>2</sup> e G-CSF e o condicionamento incluiu ciclofosfamida (50 mg/kg x4), ATG (30 mg/kg/d x3) e metilprednisolona (1 g x3). Todos os pacientes, seguidos por um tempo médio de 25 meses, obtiveram remissão da doença, mas um paciente teve uma recaída tardia. O mesmo regime aplicado à artrite reumatóide manteve remissão em apenas 2/4 pacientes, levando o grupo a explorar regimes de condicionamento mais agressivos, incorporando irradiação corporal total. Regimes deste tipo (800 rads de TBI mais 120 mg/kg de ciclofosfamida e 90 mg/kg de ATG) têm sido utilizados pelo grupo coordenado pelo FHCRC, em Seattle, que relataram recentemente, no congresso da ASH, seus resultados em esclerose sistêmica (ES) (McSweeney et al. 2000)<sup>(57)</sup> e esclerose múltipla (EM) (Nash et al. 2000)<sup>(58)</sup>. Dezoito pacientes com ES, a maioria com pneumopatia progressiva, foram transplantados com CTH autólogas, selecionadas *in vitro*, dois morreram por pneumopatia

**Tabela IV - Exemplos de protocolos cooperativos de TCTH para DAI em fase final de planejamento ou em andamento.**

<i>Doença</i>	<i>Mobilização</i>	<i>Condicionamento</i>	<i>Transplante</i>	<i>Entidade</i>	<i>Observações</i>
<b>I. Protocolos internacionais</b>					
ES	CY 4 g/m <sup>2</sup>	CY 200 mg/kg + ATG 7,5 mg/kg	Autólogo CD34 selecionado	EULAR/ EBMT	Randomizado c/ pulsos de CY (0,75 g/m <sup>2</sup> x12)
ES	G-CSF 16 ug/kg/d	CY 120 mg/kg + TBI 8 Gy + ATG 90 mg/kg	Idem ou alogênico	Seattle/ NIH	Randomização c/ CY (.75 g/m <sup>2</sup> x6) planejada
LES	CY 2 g/m <sup>2</sup> + G-CSF 5 ug/kg	CY 200 mg/kg+ ATG 90 mg/kg.	Autólogo CD34 selecionado	Chicago/ NIH	Marcação gênica das CTH; randomização c/ CY planejada
AR	CY 4 g/m <sup>2</sup>	CY 200 mg/kg	Idem	EULAR/ EBMT	Randomização c/ imunossupressão(anti-TNF?) planejada
EM	CY 4 g/m <sup>2</sup> + G-CSF	BEAM + ATG	Autólogo não manipulado	Idem	Randomização com Mitoxantrone ou β- IFN planejada
EM/ ES	----	TBI 2 Gy + FLU	Mini-alo	Seattle	Randomização com autoTCTH planejada
<b>II. Protocolos-piloto brasileiros</b>					
LES	CY 2 g/m <sup>2</sup> + G-CSF 10 ug/kg/d	CY 200 mg/kg + ATG 90 mg/kg	Autólogo, não-manipulado	CTC/FAPESP	Baseado na experiência européia e americana (refs. 50,54,56)
ES	Idem	CY 120 mg/kg + ATG 90 mg/kg/d+ FLU 150 mg/kg	Idem	Idem	Condicionamento inédito p/ ES
EM	Idem	BEAM	Idem	Idem	Baseado no consenso europeu (ref. 60)
LES: lúpus eritematoso sistêmico, ES: esclerose sistêmica, EM: esclerose múltipla, AR: artrite reumatóide, CY: ciclofosfamida, ATG: globulina antitimocitária, G-CSF: fator estimulador de colônias granulocitárias, FLU: fludarabina, BEAM: BCNU, etoposídeo, aracytin e melfalan, EULAR: Liga Européia contra o Reumatismo, EBMT: Grupo Europeu de Transplante de Sangue e Medula Óssea, NIH: Instituto Nacional de Saúde (dos EUA), CTC/FAPESP: Centro de Terapia Celular/Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, Hemocentro - Ribeirão Preto.					

intersticial, antes de se adotar a proteção pulmonar na TBI, um morreu por doença linfoproliferativa (DLP) EBV+ associada ao uso de ATG de coelho e um morreu em insuficiência renal aguda, por progressão da doença. Entre os sobreviventes, houve melhora significativa da doença cutânea e da qualidade de vida e estabilização da doença pulmonar. Vinte pacientes com EM foram transplantados com o mesmo regime, um paciente teve exacerbação da doença, inclusive na MRI, após o uso de G-CSF na mobilização e outro teve DLP-EBV+ associada ao uso de ATG de coelho. Três pacientes tiveram progressão clínica da doença, sem lesões novas na MRI, quatro tiveram regressão, em sete

a doença estabilizou e, em nenhum houve necessidade de reintroduzir a terapia medicamentosa.

O caso relatado abaixo, que acompanhamos na Scripps Clinic, em San Diego, EUA, ilustra a potencialidade do TCTH autólogo no tratamento de DAI refratárias, mas, também, um dos seus principais problemas, que é a recidiva da doença básica.

**Caso clínico ilustrativo Nº 3**

*DWG, 45 anos, do sexo feminino, doméstica, procedente de San Diego, CA, USA. Há 16 anos foi diagnosticada Esclerose Múltipla, exteriorizada por adormecimento e formigamento das pernas e dos braços, que evoluiu com leves exacerbações*

durante 13 anos. Há dois anos, após uma histerectomia, teve uma recaída mais grave, com fraqueza nas pernas, dificuldade para deambular, disautonomia em membros (eritema e edema flutuantes), ataxia e lombalgia intensa. Foi tratada com interferon, sem sucesso, obtendo alguma melhora com pulsos de ciclofosfamida (0,5-1,0 g/m<sup>2</sup> x9), o que a fez procurar o transplante. Na avaliação pré-transplante, apresentava um escore de incapacidade (EDSS de Kurtzke) de 6,0, num máximo de 10, necessitando de auxílio de bengala para andar e lesões na ressonância magnética, típicas da doença. Foi transplantada na Scripps Clinic, em San Diego, em outubro de 1998, com 7,6 milhões de células CD34/kg, mobilizadas com ciclofosfamida (1,5 g/m<sup>2</sup> e G-CSF 10 µg/kg/d) e purificadas em coluna de afinidade com anticorpo anti-CD34. O esquema de condicionamento foi Melfalan 140 mg/m<sup>2</sup> e irradiação linfóide total (300 rads x4). O enxertamento mieloide foi observado no dia +9 pós-TMO e teve alta hospitalar no dia +11. Dois meses após o transplante, a lombalgia havia desaparecido completamente e a disautonomia havia migrado distalmente nos membros inferiores; a contagem de células CD4 circulantes era de 41/ul (VN 400-1400). Nove meses após o TCTH, a disautonomia estava restrita aos pés, conseguia deambular no plano sem auxílio e a contagem de CD4 era de 111/ul. Catorze meses após, houve um discreto enfraquecimento de músculos das pernas (EDSS= 6,5) e CD4= 206/ul e, 17 meses depois, a disautonomia tinha migrado distalmente (para os dedos dos pés), continuava melhorando a capacidade de deambulação e CD4= 236/ul. Com 2 anos de transplante, notou-se diminuição da mobilidade dos quadris e progressão da disautonomia e, 3 meses depois, uma reavaliação por MRI mostrou um nova lesão na cápsula interna à D, indicando-se o uso de Copaxone (Copolímero-1), medicação anti-EM que a paciente não tinha usado anteriormente. Como complicação de terapêutica anti-agregação plaquetária para a disautonomia, com ticlopidine, desenvolveu uma púrpura trombocitopênica trombótica 28 meses após o transplante.

**Comentários:** Esta paciente apresentava, como a maioria dos candidatos a TCTH com EM, a forma secundária progressiva da doença, e, como muitos pacientes, descobriu a alternativa do transplante pesquisando na Internet. Foi condicionada com um regime agressivamente imunoablativo, seguindo um protocolo peculiar da Scripps Clinic, e

obteve alívio de muitos de seus sintomas, melhora funcional e estabilização da doença. Entretanto, coincidindo com o aumento progressivo das células CD4, houve uma deterioração lenta do quadro clínico, culminando com o aparecimento de lesões novas no MRI. A recidiva da doença, como ocorreu neste caso, é o principal problema dos transplantes autólogos para doenças auto-imunes, levando os investigadores nesta área a proporem regimes imunoablativos cada vez mais intensos, muitos deles incorporando irradiação corporal total, associados ou não com infusão de células alogênicas. Neste mesmo protocolo, foram transplantados outros 4 pacientes, com melhora ou estabilização da doença, mas com menor tempo de seguimento).

#### 4.2.2. Perspectivas futuras no exterior e no Brasil

A experiência clínica, acumulada até agora em TCTH para DAI (Tabela III), mostrou apenas a potencialidade da terapia, mas não respondeu, ainda, nenhuma das questões importantes relacionadas a ela: 1) qual é o papel da infusão das CTH, já que a imunossupressão isolada com doses altas de ciclofosfamida parecer dispensar o transplante em algumas doenças (Brodsky et al. 1998)<sup>(59)</sup>?; 2) quais são os melhores esquemas de mobilização de CTH e de condicionamento para cada doença?; 3) o transplante autólogo vai ser suficiente para induzir remissão duradoura na maioria das DAI ou vai ser necessário recorrer a transplante alogênico, mieloablativo ou subablativo?; 4) no caso do transplante autólogo, a depleção *in vitro* e/ou *in vivo* de linfócitos autorreativos é necessária para o efeito terapêutico?; 5) a toxicidade do procedimento estará dentro de limites aceitáveis para garantir o encaminhamento de pacientes pelos especialistas responsáveis pelo tratamento convencional? Os estudos randomizados de fase III, que começam a ser desenvolvidos (vide Tabela IV), deverão responder tais questões e determinar o papel definitivo do TCTH na terapêutica das DAI.

Atualmente, a experiência acumulada com casos esporádicos e séries limitadas de pacientes, em estudos de fase I ou II, levaram ao desenvolvimento de protocolos prospectivos randomizados (fase III), comparando o TCTH com as melhores opções de terapêutica convencional em algumas DAI. Assim, no protocolo europeu ASTIS (*Autologous Stem Cell Transplantation International Scleroderma Trial*) estão sendo comparados pulsos de ciclofosfamida com TCTH autólogo, em esclerose sistêmica, e grupos co-

operativos europeus e americanos pretendem comparar TCTH autólogo, alogênico e terapêutica imunossupressora com mitoxantrone ou IFN- $\beta$  em esclerose sistêmica (Tabela IV). Estudos semelhantes estão sendo planejados para artrite reumatóide e LES. Planeja-se, também, uma randomização entre transplante autólogo e alogênico com condicionamento reduzido (“minitransplante”) em algumas doenças.

No Brasil, um Workshop Internacional, realizado em Ribeirão Preto, em outubro de 2000, com a presença de especialistas da Europa, dos EUA e dos principais grupos de TMO e reumatologia do país, decidiu iniciar um projeto piloto (de fase I/II) de TCTH em DAI, cooperativo, de âmbito nacional, coordenado pelo Centro de Terapia Celular/FAPESP do Hemocentro Regional de Ribeirão Preto. Deverá ter início, em 2001, inicialmente em LES, esclerose sistêmica e esclerose múltipla, refratárias à terapia convencional, empregando CTH autólogas, não manipuladas, com depleção

“in vivo” de células T com globulina antitimocitária (Tabela IV). Uma vez testado, o projeto deverá evoluir para o emprego em outras DAI, como a AR, e para o desenvolvimento de protocolos randomizados, de fase III.

## AGRADECIMENTOS

Aos drs. Eurípedes Ferreira, do Hospital Albert Einstein, em São Paulo, James Mason, da Scripps Clinic, em San Diego- EUA, e Carmem Bonfim, do Hospital das Clínicas de Curitiba-PR, pelos dados clínicos de seus pacientes; aos drs. Richard Burt, da Northwest University, Chicago-EUA, Ewa Carrier, da Universidade da Califórnia em San Diego- EUA e Alan Tyndall, do Hospital Cantonal da Basileia, Suíça, por discussões encorajadoras e pela cessão de material bibliográfico não publicado; à FAEPA-HCFMRP, FUNDHERP-Hemocentro-RP, FAPESP e CNPq pelo contínuo suporte financeiro.

VOLTARELLI JC & STRACIERI ABPL. Immunological aspects of hematopoietic stem cell transplantation. **Medicina, Ribeirão Preto**, 33: 443-462, oct./dec. 2000.

**ABSTRACT:** Functional integrity of the immune system is essential for the success of the several modalities of hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). In this review we discuss immunologic recovery after HSCT, the role of cytokines and histocompatibility antigens on the complications and results of transplantation and the use of HSCT for treatment of immunodeficiency and autoimmune diseases.

**UNITERMS** Bone Marrow Transplantation. Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Transplantation Immunology. Cytokines. Inflammation. HLA Antigens. Autoimmune Diseases.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - THOMAS ED. Landmarks in the development of hematopoietic stem cell transplantation. **World J Surg** 24: 815-818, 2000.
- 2 - DUPONT B. Immunology of hematopoietic stem cell transplantation. A brief review of its history. **Immunol Rev** 157: 5-12, 1997.
- 3 - CHILDS R; CLAVE E; CONTENTIN N; JAYASEKERAD; HENSEL N; LEITMAN S; READ EJ; CARTER C; BAHCECI E; YOUNG NS & BARRETT AJ. Engraftment kinetics after nonmyeloablative allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: full donor T-cell chimerism precedes alloimmune responses. **Blood** 94: 3243-41, 1999.
- 4 - VOLTARELLI JC & STITES DP. Immunological monitoring of bone marrow transplantation. **Diagn Immunol** 4: 171-193, 1986.
- 5 - VOLTARELLI JC. Applications of flow cytometry to hematopoietic stem cell transplantation. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 95: 403-414, 2000.
- 6 - WITHERSPOON RP; LUM LG & STORB R. Immunologic reconstitution after human marrow grafting. **Semin Hematol** 21: 2-10; 1984.
- 7 - AULT KA; ANTIN JH; GINSBURG D; ORKIN SH; RAPPEPORT JM; KEOHAN ML; MARTIN P & SMITH BR. Phenotype of recovering lymphoid cell populations after marrow transplantation. **J Exp Med** 161: 1483-1502, 1985.
- 8 - FEARNLEY DB; WHYTE LF; CARNOUTSOS SA; COOK AH & HART DN. Monitoring human blood dendritic cell numbers in normal individuals and in stem cell transplantation. **Blood** 93: 728-736, 1999.
- 9 - PARKMAN R & WEINBERG KI. Immunological reconstitution following hematopoietic stem cell transplantation. In: THOMAS ED; BLUME KG & FORMAN SJ, ed. **Hematopoietic stem cell transplantation**, 2ª edição, Blackwell Science, Oxford UK, p. 704-711, 1999.
- 10 - DE SOUZA MH; DIAMOND HR; SILVA ML; CAMPOS MM; BOUZAS LF; TABAK D, FLOWERS ME & RUMJANEK VM. Immunological recovery after bone marrow transplantation for severe

- aplastic anaemia: a Brazilian experience. **Eur J Haematol** **53**: 150-155, 1994.
- 11 - DIAMOND HR; SOUZA MH; BOUZAS LF; TABAK DG; CAMPOS MM; CAMARA FP & RUMJANEK VM. Deficit of T cell recovery after allogeneic bone marrow transplantation in chronic myeloid leukemia patients. **Anticancer Res** **15**: 1553-1560, 1995.
  - 12 - SMALL TN; PAPADOPOULOS EB; BOULAD F; BLACK P; CASTRO-MALASPINA H; CHILDS BH; COLLINS N; GILLIO A; GEORGE D; JAKUBOWSKI A; HELLER G; FAZZARI M; KERNAN N; MACKINNON S; SZABOLCS P; YOUNG JW & O'REILLY RJ. Comparison of immune reconstitution after unrelated and related T-cell depleted bone marrow transplantation: effect of patient age and donor leukocyte infusions. **Blood** **93**: 467-480, 1999.
  - 13 - OTTINGER HD; BEELEN DW; SCHEULEN B; SCHAEFER UW & GROSSE-WILDE H. Improved immune reconstitution after allotransplantation of peripheral blood stem cells instead of bone marrow. **Blood** **88**: 2775-2779, 1996.
  - 14 - BEHRINGER D; BERTZ H; SCHMOOR C; BERGER C; DWENGER A & FINKE J. Quantitative lymphocyte subset reconstitution after allogeneic hematopoietic transplantation from matched related donors with CD34+ selected PBPC grafts, unselected PBPC grafts or BM grafts. **Bone Marrow Transplant** **24**: 295-302, 1999.
  - 15 - BACIGALUPOA; MORDINI N; PITTOA; PIAGGIO G; PODESTA M; BENVENUTO F; VAN LINT MT; VALBONESI M; LERCARI G; CARLIER P; LAMPARELLI T; GUALANDI F; OCCHINI D; BREGANTE S; FIGARI O; SORACCO M, VASSALLO F & DE STEFANO G. Transplantation of HLA-mismatched CD34+ selected cells in patients with advanced malignancies: severe immunodeficiency and related complications. **Br J Haematol** **98**: 760-766, 1997.
  - 16 - GUILLAUME T; RUBINSTEIN DB & SYMANN M. Immune reconstitution and immunotherapy after autologous hematopoietic stem cell transplantation. **Blood** **92**: 1471-1490, 1998.
  - 17 - RAAPHORST FM. Reconstitution of the B cell repertoire after bone marrow transplantation does not recapitulate human fetal development. **Bone Marrow Transplant** **24**: 1267-1272, 1999.
  - 18 - HOLMBERG LA; BOECKH M; HOOPER H; LEISENRING W; ROWLEY S; HEIMFELD S; PRESS O; MALONEY DG; MCSWEENEY P; COREY L; MAZIARZ RT, APPELBAUM FR & BENSINGER W. Increased incidence of cytomegalovirus disease after autologous CD34-selected peripheral blood stem cell transplantation. **Blood** **94**: 4029-4035, 1999.
  - 19 - CRIPPA F. Infections after autologous CD34 selected peripheral blood stem cell transplantation. **Blood** **96**: 586a, 2000.
  - 20 - TALMADGE JE; REED E; INO K; KESSINGER A; KUSZYNSKI C; HEIMANN D; VARNEY M; JACKSON J; VOSE JM & BIERMAN PJ. Rapid immunologic reconstitution following transplantation with mobilized peripheral blood stem cells as compared to bone marrow. **Bone Marrow Transplant** **19**: 161-172, 1997.
  - 21 - SAN MIGUEL JF; HERNANDEZ MD; GONZALEZ M; LOPEZ-BERGES MC; CABALLERO MD; VAZQUEZ L; ORFAOA; NIETO MJ, CORRAL M & DEL CANIZO MC. A randomized study comparing the effect of GM-CSF and G-CSF on immune reconstitution after autologous bone marrow transplantation. **Br J Haematol** **94**: 140-147, 1996.
  - 22 - BOMBERGER C; SINGH-JAIRAM M; RODEY G; GUERRIERO A; YEAGER AM; FLEMING WH, HOLLAND HK & WALLER EK. Lymphoid reconstitution after autologous PBSC transplantation with FACS-sorted CD34+ hematopoietic progenitors. **Blood** **91**: 2588-2560, 1998.
  - 23 - DOUEK DC; VESCIO RA; BETTS MR; BRENCHLEY JM; HILL BJ; ZHANG L; BERENSON JR, COLLINS RH & KROUP RA. Assessment of thymic output in adults after hematopoietic stem cell transplantation and prediction of T-cell reconstitution. **Lancet** **355**: 1875-1881, 2000.
  - 24 - GALY A; RUDRARAJU S; BAYNES R & KLEIN J. Recovery of lymphocyte and dendritic cell subsets after autologous CD34+ cell transplantation. **Bone Marrow Transplant** **25**: 1249-1255, 2000.
  - 25 - NORDOY T; KOLSTAD A; ENDRESEN P; HOLTE H; KVALOY S; KVALHEIM G & HUSEBEKK A. Persistent changes in the immune system 4-10 years after ABMT. **Bone Marrow Transplant** **24**: 873-878, 1999.
  - 26 - HAYNES BF; MARKERT ML; SEMPOWSKI GD; PATEL DD & HALE LP. The role of the thymus in immune reconstitution in aging, bone marrow transplantation, and HIV-1 infection. **Annu Rev Immunol** **18**: 529-560, 2000.
  - 27 - ROUX E; DUMONT-GIRARD F; STAROBINSKI M; SIEGRIST CA; HELG C; CHAPUIS B & ROOSNEK E. Recovery of immune reactivity after T-cell-depleted bone marrow transplantation depends on thymic activity. **Blood** **96**: 2299-2303, 2000.
  - 28 - HEITGER A; NEU N; KERN H; PANZER-GRUMAYER ER; GREINIX H; NACHBAUR D; NIEDERWIESER D & FINK FM. Essential role of the thymus to reconstitute naive (CD+45RA+) T-helper cells after human allogeneic bone marrow transplantation. **Blood** **90**: 850-857, 1997.
  - 29 - TRIGG ME. Can we make general recommendations regarding immune recovery after hematopoietic reconstitution preceded by ablative therapy? **Pediatr Transplant** .Suppl 3: 45-51, 1999.
  - 30 - POWLES R; SINGHALS; TRELEAVEN J; KULKARNI S; HORTON C & MEHTA J. Identification of patients who may benefit from prophylactic immunotherapy after bone marrow transplantation for acute myeloid leukemia on the basis of lymphocyte recovery early after transplantation. **Blood** **91**: 3481-3486, 1998.
  - 31 - RIDDELL S. Cellular immunotherapy of CMV. In: ZAIA JA et al. **Status of cytomegalovirus prevention and treatment in 2000**. The American Society of Hematology Education Program Book, Washington, DC, p.339-355, 2000.
  - 32 - SULLIVAN KM; STOREK J; KOPECKY KJ; JOCOM J; LONGTON G; FLOWERS M; SIADAK M; NIMS J; WITHERSPOON RP; ANASETTI C; APPELBAUM FR; BOWDEN RA; BUCKNER CD; CRAWFORD SW; DEEG HJ; HANSEN JA; MCDONALD GB; SANDERS JE; & STORB R. A controlled trial of long-term administration of intravenous immunoglobulin to prevent late infection and chronic graft-versus-host disease after marrow transplantation: clinical outcome and effect on subsequent immune recovery. **Biol Blood Marrow Transplant** **2**: 44-53, 1996.
  - 33 - LUNGMAN P; CORDONNIER C; DE BOCK R; EINSELE H; ENGELHARD D; GRUNDY J; LINK H; LOCASCILLI A; PRENTICE G & REUSSER P. Immunizations after bone marrow transplantation: results of a European survey and recommendations from the infectious diseases working party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. **Bone Marrow Transplant** **15**: 455-460, 1995.
  - 34 - HENSLEE-DOWNEY PJ & GLUCKMAN E. Allogeneic Transplantation from donors other than HLA-identical siblings. **Hematol Oncol Clin Nort Am** **13**: 1017-1029, 1999.
  - 35 - MICKELSON EM; PETERSDORF E; ANASETTI C; MARTIN P; WOOLFREY A & HANSEN JA. HLA matching in hematopoietic cell transplantation. **Hum Immunol** **61**: 92-100, 2000.

- 36 - SIMPSON E; ROOPENIAN D & GOULMY E. Much ado about minor histocompatibility antigens. **Immunol Today** **19**: 108-112, 1998.
- 37 - BACIGALUPO A; VAN LINT MT; OCCHINI D; MARGIOCCO M; FERRARI G; PITTALUGA PA; FRASSONI F; PERALVO J; LERCARI G & CARUBIA F. ABO compatibility and acute graft-versus-host disease following allogeneic bone marrow transplantation. **Transplantation** **45**: 1091-94, 1988.
- 38 - DROBYSKI WR. Evolving strategies to address adverse transplant outcomes associated with T cell depletion. **J Hematother Stem Cell Res** **9**: 327-337, 2000.
- 39 - VOLTARELLI JC. Febre e inflamação. **Medicina, Ribeirão Preto**. **27**: 7-48, 1994.
- 40 - SINGER JW & BIANCO JA. Modification of regimen-related cellular toxicity. In : THOMAS ED; BLUME KG & FORMAN SJ. **Hematopoietic stem cell transplantation**, 2<sup>nd</sup> ed., Blackwell Science Inc, Oxford, p. 135-150, 1999.
- 41 - LEE CK; GINGRICH RD; HOHL RJ & AJRAM KA. Engraftment syndrome in autologous bone m & rrow and peripheral stem cell transplantation. **Bone Marrow Transplant** **16**: 175-182, 1995.
- 42 - STRACIERI ABPL. Avaliação cinética de citocinas plasmáticas em episódios febris após transplante de células-tronco hematopoéticas. Tese de Doutorado, **Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP**, Ribeirão Preto, p. 1- 100, 1999.
- 43 - TAKATSUKAH; TAKEMOTO Y; YAMADAS; WADA H; TAMURA S; FUJIMORI Y; OKAMOTO T; SUEHIRO A, KANAMARU A & KAKISHITA E. Complications after bone marrow transplantation are manifestations of systemic inflammatory response syndrome. **Bone Marrow Transplant** **26**: 416-426, 2000.
- 44 - FERRARA JLM. Pathogenesis of acute graft-versus-host disease: Cytokines and cellular effectors. **J Hematother Stem Cell Res** **9**: 299-306, 2000.
- 45 - MARGOLIS J & VOGELSANG G. Chronic graft-versus-host disease. **J Hematother Stem Cell Res** **9**: 339-346, 2000.
- 46 - PARKMAN R. Hematopoietic stem cell transplantation for primary immunodeficiency and metabolic diseases. In: SULLIVAN K. **Bone marrow transplantation for non-malignant disease**. The American Society of Hematology Education Program Book, Washington, DC, p. 319-323, 2000.
- 47 - PATEL DD; GOODING ME; PARROTT RE; CURTIS KM; HAYNES BF & BUCKLEY RH. Thymic function after hematopoietic stem cell transplantation for the treatment of severe combined immunodeficiency. **N Engl J Med** **342**: 1325-1332, 2000.
- 48 - DINAUER MC. Chronic granulomatous disease: Lessons from murine models and potential new therapies. In: DINAUER MC, **Inherited neutrophil disorders: Molecular basis and new therapies**, The American Society of Hematology Education Program Book, Washington, DC, p.303-318, 2000.
- 49 - LOWENTHAL RM & GRAHAM SR. Does hematopoietic stem cell transplantation have a role in treatment of severe rheumatoid arthritis? **J Clin Immunol** **20**: 17-23, 2000.
- 50 - MARMONT A. New horizons in the treatment of autoimmune diseases: immunoablation and stem cell transplantation. **Ann Rev Med** **51**:115-134, 2000.
- 51 - EULER HH; MARMONT AM & BACIGALUPO A. Early recurrence or persistence of autoimmune diseases after unmanipulated autologous stem cell transplantation. **Blood** **88**: 3621-3625, 1996.
- 52 - FERREIRA E; RIBEIRO A; BACAL NS et al. Transplante de células tronco periféricas autólogas no tratamento de doença auto-imune: remissão completa da anemia hemolítica por aglutinina a frio e concomitante vasculite. **Bol Soc Bras Hemat Hemot** **18** (supl): 191-O, 1996
- 53 - PAPADAKI HA; GIBSON FM; RIZZO S; GORDON-SMITH EC & MARSH JC. Assessment of bone marrow stem cell reserve and function and stromal cell function in patients with autoimmune cytopenias. **Blood** **96**: 3272-3275, 2000.
- 54 - TYNDALLA; PASSWEG J & GRATWOHL. Hematopoietic stem cell transplantation in the treatment of severe autoimmune diseases. **Ann Rheum Dis**, 2001. Em publicação.
- 55 - BINKS M; PASSWEG JR; FURST D et al. Stabilization or improvement of progressive skin disease in scleroderma following autologous hematopoietic stem cell transplantation. **Ann Rheum Dis**, em publicação.
- 56 - TRAYNOR AE; SCHROEDER J; ROSARM; CHENG D; STEFKA J; MUJAIS S; BAKER S & BURT RK. Treatment of severe systemic lupus erythematosus with high-dose therapy and haematopoietic stem cell transplantation: a phase I study. **Lancet** **356**: 701-707, 2000.
- 57 - McSWEENEY PA; FURST DE; NASH RA; HOLMBERG L; McDONAGH K; CRAFFORD L; DANSERY R; MAYERS M; STOREK J; VIGANEGO F; AGEE G; RYAN K & SULLIVAN KM. High dose immunosuppressive therapy (HDIT) and autologous stem cell transplant for severe systemic sclerosis (SSc). **Blood** **96**: 844a, 2000.
- 58 - NASH RA; KRAFT GH; BOWEN JD; McSWEENEY PA; PAULETIC S; AI-ONAI SHI J; CORBOY JR; HOLMBERG LA; OPENSHAW H; PRATHER K; RYAN K; STOREK J; ZUNT JR & SULLIVAN KM. . Treatment of severe multiple sclerosis (MS) with high-dose immunosuppressive therapy (HDIT) and autologous stem cell transplantation (SCT). **Blood** **96**: 842a, 2000.
- 59 - BRODSKY RA; PETRI M; SMITH BD; SEIFTER EJ; SPIVAK JL; STYLER M; DANG CV; BRODSKY I & JONES RJ. Immunoablative high dose cyclophosphamide without stem cell rescue for refractory, severe autoimmune disease. **Ann Intern Med** **129**: 1031-1035, 1998.
- 60 - COMI G; KAPPOS L; CLANET M ; EBERS G; FASSAS A; FAZEKAS F; FILIPPI M; HARTUNG HP; HERTENSTEIN B; KARUSSIS D; MARTINO G; TUNDALL A & van der MECHE FG. Guidelines for autologous and marrow stem cell transplantation in multiple sclerosis: a consensus report written on behalf of European Group for Blood and Marrow Transplantation and the European Charcot Foundation. **J Neurol** **247**: 376-382, 2000.

Recebido para publicação em 25/10/2000

Approvado para publicação em 20/12/2000