

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIA DA EDUCAÇÃO E SAÚDE
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

MARIANA BARBOSA AZEVEDO

**TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA NO TRATAMENTO DE ANEMIA APLÁSICA
ADQUIRIDA**

Trabalho de conclusão de curso
em formato de artigo elaborado
como requisito parcial para a
obtenção do título de bacharel em
Biomedicina, sob orientação do
professor

BRASÍLIA-DF

2019

Transplante de medula óssea no tratamento da anemia aplásica adquirida.

Mariana Barbosa Azevedo¹

Luís Eduardo Santos Barros²

RESUMO:

A anemia aplásica adquirida é uma condição cuja etiologia ainda é desconhecida. Sua clínica é um quadro de evolução progressiva de insuficiência medular, levando a uma baixa da contagem das células do sangue periférico, acarretando em diversas complicações. Por muitos anos foi-se utilizado o transplante de medula óssea como tratamento principal para a doença, visto que o mesmo restaura o ambiente da medula, proporcionando um crescimento normal das células. Entretanto o procedimento pode não ser apropriado para todos os pacientes devido a fatores como a idade do receptor, e a falta de um doador compatível. O presente artigo tem como finalidade descrever a doença e relatar o transplante de medula óssea no âmbito de tratamento para anemia aplásica.

Palavras-chave: anemia aplásica, aplasia de medula, insuficiência medular, transplante de medula óssea e medula óssea.

Bone marrow transplantation as a treatment for acquired aplastic anemia.

ABSTRACT

Acquired aplastic anemia is a condition whose etiology is still unknown. Its clinic is a picture of a progressive bone marrow failure, leading to a low peripheric blood count, and resulting in innumerous complications. For many years bone marrow transplantation has been used as the main treatment for the disease since it restores the marrow environment, providing normal cell growth. However, the procedure may not be appropriate for all patients due to factors such as the age of the recipient, and the lack of a compatible donor. The purpose of this article is to describe the disease and to report bone marrow transplantation in the treatment of aplastic anemia.

Key words: aplastic anemia, aplasia of marrow, medullar insufficiency, transplantation of bone marrow and bone marrow.

¹ Graduanda em Biomedicina do UniCEUB.

² Professor do Curso de Biomedicina do UniCEUB,

1. INTRODUÇÃO

Anemia aplásica (AA) é uma doença hematológica rara, descrita em 1888 em uma gestante, que foi a óbito por uma doença repentina cujos sintomas eram: anemia severa, hemorragia, hiperpirexia e medula óssea hipocelular (BRODSKY; JONES, 2005). O termo 'Anemia Aplásica' (AA) foi introduzido por Vasquez e Aubertin em 1904, sendo que o nome "aplásica" deriva do grego "a" e "plasso", que significam "sem forma" (DOLBERG; LEVY, 2014).

Atualmente o termo se refere a uma síndrome clínica definida por pancitopenia no sangue periférico e hipocelularidade da medula óssea (MO), sem a presença de infiltração anormal ou aumento da reticulina na mesma. A anemia aplásica se apresenta de duas maneiras distintas, podendo ser adquirida ou hereditária. A forma hereditária é representada pela: anemia de Fanconi - doença autossômica recessiva que está relacionada a mecanismos defeituosos de reparação do DNA; diceratose congênita – doença ligada à disfunção da telomerase; síndrome de Schwachman-Diamond – relacionada à função ribossomal (DEZERN; BRODSKY, 2011).

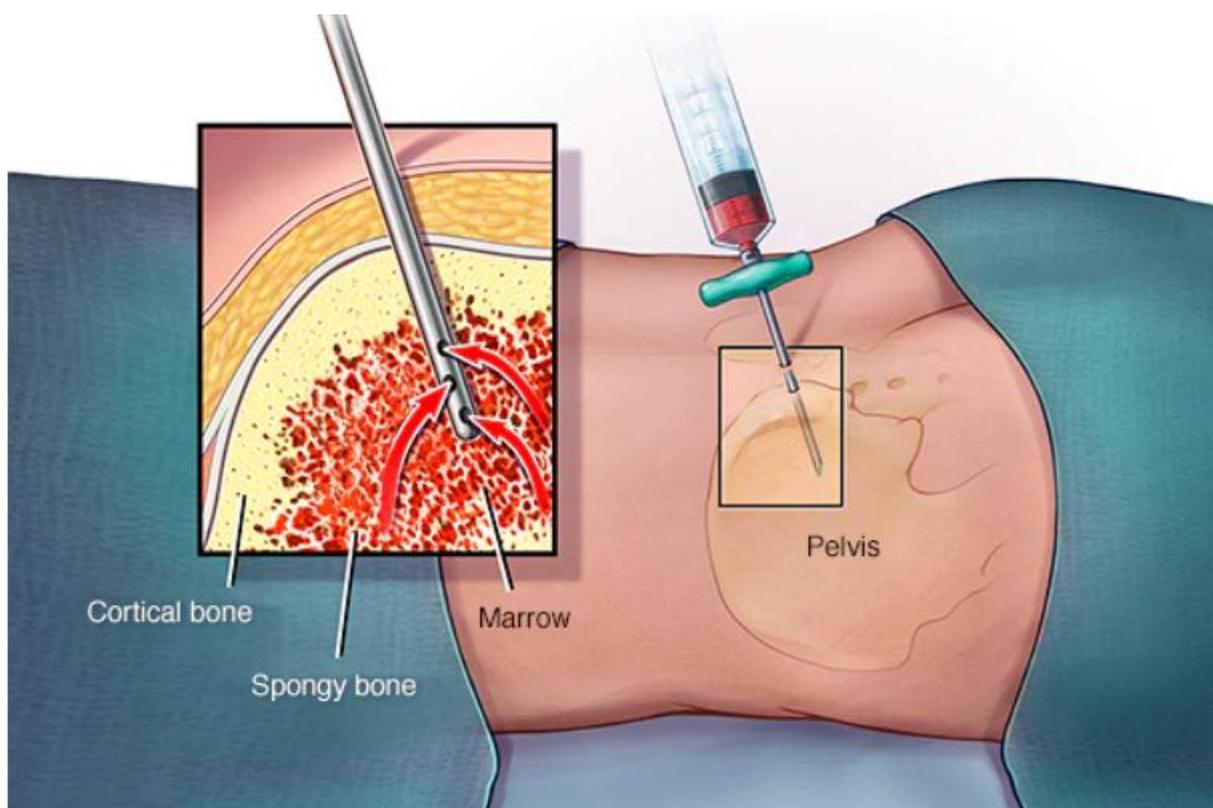
A forma adquirida da anemia aplásica adquirida (AAa) afeta pacientes de todas as idades, e geralmente é idiopática, ou seja, o gatilho para desencadeamento da doença é desconhecido (PESLAK; OLSON; BABUSHOK, 2017). Os sintomas clínicos da AAa estão diretamente relacionados com o grau de citopenia, que em casos graves pode levar a quadros de febre, hemorragias e infecções fatais. Quando a citopenia é menos severa os pacientes se encontram em uma condição clínica mais branda e em alguns casos assintomática (BACIGALUPO; PASSWEG, 2009).

De acordo com Savasan (2018), infecções e sangramentos são as causas mais comuns de morbimortalidade nas formas severas e muito severas de AAa. Os mesmos autores classificam a AAa em severa e muito severa de acordo com a quantidade de neutrófilos, plaquetas e reticulócitos totais no sangue periférico. Na AAa severa a quantidade de neutrófilos no sangue periférico é menor que $0.5 \times 10^9/L$, enquanto que na AAa muito severa esse número cai para $0.2 \times 10^9/L$. O número de plaquetas e reticulócitos se mantém o mesmo nas duas formas, sendo menor que, em ambos os casos $20 \times 10^9/L$ com diminuição global da celularidade medular.

Quando há suspeita de AA, se faz necessário a realização de uma avaliação abrangente, completa, a qual deverá ser realizada rapidamente com a finalidade de excluir outras condições mimetizadoras. A avaliação diagnóstica deve incluir: histórico completo do paciente, hemograma com contagem diferencial, análise do esfregaço sanguíneo, contagem

de reticulócitos, aspirado de medula óssea com core biópsia (figura 1), além de estudos citogenéticos e hibridização in situ. Ainda que a maioria dos casos sejam idiopáticos, como dito anteriormente, a procura pela etiologia continua sendo importante e deve focar na exposição a drogas ou toxinas, sinais ou sintomas de doenças reumatológicas autoimunes, histórico familiar sugestivo de doenças hereditárias relacionadas à insuficiência medular, infecções e deficiência de nutrientes (PESLAK; OLSON; BABUSHOK, 2017).

Figura 1: Ilustração biópsia de medula óssea



Legenda: A medula óssea é constituída por uma parte sólida e outra líquida. O aspirado de medula óssea consiste na inserção de uma agulha, aspirando uma amostra do conteúdo líquido rico em células. É utilizado para visualizar a morfologia das mesmas. A biópsia consiste na remoção de um fragmento intacto da medula, utilizando a agulha de biópsia óssea (possui um diâmetro maior), permitindo a perfuração/remoção do fragmento. A biópsia permite a visualização da celularidade. Geralmente as duas são realizadas ao mesmo tempo, e o local mais utilizado para coleta é a crista ilíaca. Fonte: Mayo Foundation for Medical Education and Research, 2018.

Pacientes que apresentam anemia aplásica quase sempre necessitam de tratamento, tanto o paliativo quanto o definitivo. Entretanto, pacientes portadores da versão mais branda da doença (ou anemia aplásica não severa), podem não necessitar de tratamento paliativo, pois parte desses indivíduos apresentam a contagem celular no sangue periférico estável por um período. O tratamento paliativo, então, consiste em transfusões sanguíneas de concentrados de hemácias e concentrados de plaquetas, assim como o tratamento e prevenção de infecções. A transfusão profilática de plaquetas é indicada quando a contagem

destas células é inferior $10 \times 10^9/L$, e a irradiação do produto é indicado somente quando o paciente é cotado para receber um transplante de MO (DOLBERG; LEVY, 2014).

Por outro lado, o tratamento definitivo pode ser subdividido em: transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH) ou tratamento imunossupressivo (TI). Tanto um quanto o outro são considerados tratamentos efetivos com resultados semelhantes em relação a sobrevida a longo prazo. Quando há a presença de um doador HLA compatível, o TCTH é preferível, principalmente em crianças e adultos jovens. Em pacientes acima de 30 a 40 anos de idade, ou em pacientes que não possuem um doador HLA compatível, o TI é o escolhido. A escolha de doadores alternativos deve ser considerada se o tratamento com imunossupressivo falhar, ou em caso de recidivas tardias ou evolução clonal. Estudos mostram que a escolha de um doador aparentado HLA compatível para a sobrevida do paciente é melhor que a escolha de um doador não relacionado HLA compatível, desse modo, crianças que não possuem um doador aparentado HLA compatível devem receber TI como terapia inicial (SCHEINBERG, 2011).

O objetivo desse trabalho é comentar sobre o transplante de medula óssea como tratamento para anemia aplásica - já que o mesmo é considerado padrão ouro em pacientes jovens e com doador compatível, caracterizando primeiramente a doença, comentando outros tratamentos utilizados para a mesma – visto que muitos pacientes não possuem um doador compatível e/ou com mais de 40 anos de idade, e por fim traçando as principais características do transplante de medula óssea em relação a anemia aplásica adquirida e suas possíveis complicações.

2. METODOLOGIA

O presente trabalho foi desenvolvido com fundamento em uma descrição narrativa de cunho descritivo, a respeito do assunto 'transplante de medula óssea no tratamento de anemia aplásica'. Na busca dos artigos foram utilizadas as bases bibliográficas do PUBMED e SCIELO, tendo em vista artigos publicados entre 2003 a 2019, nos idiomas português e inglês. As palavras chave utilizadas na busca foram: aplasic anemia, anemia aplásica, bone marrow transplant, transplante de medula óssea, bone marrow failure, bone marrow syndrome, insuficiência medula.

Foram utilizados 39 artigos nos dois idiomas previamente citados acima, sendo os critério de seleção: ano de publicação, atentando sempre ao uso de artigos o mais recente possíveis; idioma, cuja preferência foi o inglês, visto que há uma maior quantidade de artigos sobre o assunto; e artigos cujo foco era o tratamento da doença em sua forma adquirida (visto que existe a forma congênita, ligada às síndromes).

3. DESENVOLVIMENTO

3.1 Anemia aplásica adquirida

3.1.1: Fisiopatologia

De acordo com Scheinberg (2011), existem um conjunto de evidências clínicas e experimentais que convergem para uma fisiopatologia mediada pelo sistema imunológico, em que células efectoras e citocinas associadas destroem os elementos mais jovens da medula óssea. Seguindo o mesmo raciocínio, para Eapen e Horowitz (2010) na maioria dos casos a anemia aplásica adquirida é uma doença imuno-mediada, onde linfócitos T destroem células progenitoras hematopoiéticas, levando então a pancitopenia.

A primeira evidência para um mecanismo imunológico veio da terapia imunossupressora, mostrando claramente que o tratamento com a globulina antitimocítica (ATG) ou reduz o número de linfócitos ou bloqueia a função das células T; Há outra hipótese de que os linfócitos T possuem um papel central na patofisiologia da destruição medular, sendo demonstrado que transfusões de linfócitos diretos da MO em pacientes com anemia aplásica pode inibir a hematopoese em pacientes com medula normal. É visto também que a expressão da cadeia zeta do receptor de células T está diminuída na maioria dos pacientes e o achado de células T CD8+ oligoclonais ou monoclonais em pacientes com AA idiopática reforça a hipótese de um dos mecanismos serem o ataque contra o tecido hematopoiético por linfócitos e antígeno-específicos (DOLBERG; LEVY, 2014).

A interleucina-17 (IL-17) é uma citocina pró-inflamatória secretada por células T ativadas. É considerada uma citocina potencialmente importante para o sistema imunológico, e atua sobre células epiteliais, células endoteliais, fibroblastos, sinoviócitos e células mielóides, induzindo uma variedade de mediadores. A IL-17 também regula uma série de genes envolvidos na ativação, crescimento e proliferação celular. Foram detectados níveis elevados da expressão da IL-17 em células mononucleares tanto da medula óssea, quanto do sangue periférico em pacientes com anemia aplásica adquirida. Ao analisar a medula óssea e sangue periférico dos mesmos pacientes, foi possível detectar, também, o aumento da expressão da IL-17 (GU et al., 2008).

Outra citocina que aparenta ter um papel importante na fisiopatologia da anemia aplásica adquirida é a IFN-gama, bastante prevalente em pacientes acometidos com a doença. Após o tratamento imunossupressor, seus níveis baixam e ela desaparece (DOLBERG; LEVY, 2014). A IL-27 provou ter uma função regulatória extensa, agindo através das células envolvidas no sistema imune inato e adaptativo. A IL-27 também é capaz de ativar

a transcrição de T-bet, a diferenciação de Th1 e induzir células jovens T CD4+ a se diferenciarem em Th1. Seus níveis estão regulados positivamente em pacientes com anemia aplásica adquirida, mas se mostrou capaz de aumentar a diferenciação e proliferação de células Th1 (DU et al., 2012).

Foram analisadas a expressão de anticorpos em linfas de 23 pacientes positivos para anemia aplásica adquirida, através do Separador de Células Ativadas por Fluorescência (FACS), utilizando K562 - uma linhagem hematopoética, e hTS-5 - linhagem de células estromais da medula óssea. As células K562 mostraram uma maior positividade, sugerindo que os anticorpos expressos nas linfas de pacientes com AAa atacam - preferencialmente - linhagens hematopoiéticas do que células estromais (GOTO et al., 2012).

Dolberg e Levy (2014) discutem ainda a importância das células CD34+. De acordo com eles, essas células em pacientes com AAa entram mais em processo de apoptose em relação aos pacientes com uma medula óssea normal. Há também expressão aumentada do antígeno Fas em células CD34+ na MO dos mesmos pacientes acometidos pela anemia aplásica. Esse antígeno Fas - receptor responsável por mediar sinais para a morte programada de células - é aumentado pelo INF-gama e alfa-TNF, conseqüentemente há indução de uma medula óssea hipoplásica.

Recentemente, tanto a anemia aplásica adquirida quanto a congênita foram associadas à uma função deficiente do telômero. Cerca de um terço dos pacientes com anemia aplásica adquirida apresentam encurtamento dos telômeros, associada - muitas vezes - com mutações TERT ou TERC (respectivamente Telomerase Reverse Transcriptase e Telomerase RNA Component). Essas mutações causam baixa na função da telomerase, acelera o encurtamento dos telômeros e diminuem a capacidade proliferativa do progenitor hematopoiético (CALADO; YOUNG, 2008). O gene T-bet (ou TBX21) faz parte da família de fatores de transcrição T-box, e apresenta papel importante na regulação do desenvolvimento e função de células Th1. O aumento da expressão de IFN-gama e alfa-TNF demonstra que as células hematopoiéticas são destruídas por linfócitos T-auxiliares (SZABO et al., 2015).

3.1.2: Dados Epidemiológicos

Um estudo de caso-controle dirigido por Maluf et al (2009) - denominado de LATIN Study - procurou aferir a incidência de anemia aplásica na América Latina. Foram selecionados 173 pacientes com anemia aplásica e 692 controles sem a doença. O estudo foi conduzido em sete centros de estudo, representando áreas de seis regiões brasileiras - Manaus, Recife, Goiânia, Juiz de Fora e Uberaba, Ribeirão Preto e Paraná, além de dois centros adicionais: Buenos Aires (Argentina) e Monterrey (México), entre 2002 e 2005. A

incidência relatada pelo estudo foi de 1,6 casos por 1.000.000 por ano, existindo variações em relação aos centros de estudo - sendo o Paraná o local com a maior incidência de AA e Monterrey com a menor, sendo respectivamente, 1,95 e 0,63. Com relação ao sexo, o estudo mostrou uma maior incidência em homens (1,8) do que em mulheres (1,47), e em relação a idade, foram encontrados dois picos distintos: dos 10-29 (2,46), 20-29 (2,49) e acima dos 60 anos (1,84).

De acordo com um estudo realizado na Suécia, entre os anos 2000 e 2011. Foram avaliados 257 pacientes com casos confirmados de anemia aplásica, a idade média de todos os pacientes sendo de 60 anos, com uma predominância de indivíduos do sexo feminino (133 pacientes). A incidência geral relatada pelo estudo foi de 2,35 casos por um milhão de habitantes por ano. Foram observados, também, dois picos de incidência em relação a idade dos pacientes: entre os 15 e 20 anos (2,87) e acima dos 60 anos de idade (4,36), sendo essa distribuição bifásica predominantemente observada em pacientes do sexo masculino (VAHT et al., 2017). Em um estudo mais recente, feito no Paquistão, Akram et al (2018) avaliaram 214 pacientes diagnosticados com anemia aplásica, observando-se, como em estudos anteriores, uma maior quantidade de casos entre os 10 e 29 anos de idade, com predominância no sexo masculino.

The LATIN Study ainda avaliou o Odds Ratio (OS) em relação à associação de azitromicina (sendo a única droga a mostrar resultados significantes) e cloranfenicol com AA. Os resultados foram, respectivamente OR=11,0 e OR=8.7, demonstrando um resultado significativo. Outra associação realizada foi com o benzeno (devido à grande incidência de indivíduos expostos a substância, e que desenvolveram AA ao longo de meses e anos) com um OR=3.9 - de acordo com o estudo, se essa substância fosse removida do meio ambiente, os casos de AA cairiam para 5.4%. Não houve nenhum resultado relevante para associar dipirona - fármaco bastante comum no Brasil e América Latina - com anemia aplásica (MALUF et al., 2009).

3.1.3: Diagnóstico

Para o fechamento do diagnóstico de anemia aplásica é necessário que o paciente tenha - pelo menos dois - das seguintes características: hemoglobina menor que 10g/L, contagem de plaquetas menor que 50×10^9 /L e contagem de neutrófilos menor que $1,5 \times 10^9$ /L (MARSH et al., 2003). Os sinais e sintomas são resultantes da anemia, neutropenia e trombocitopenia, com quadro clínicos de epistaxe, equimoses, sangramento gengival, menorrágia e sintomas de anemia. Infecções, principalmente da boca e garganta, são comuns, e infecções generalizadas colocam a vida dos pacientes em risco, entretanto, como

em outras doenças hematológicas, linfonodos, baço e fígado não estão aumentados (HOFFBRAND; MOSS, 2017).

O hemograma mostra pancitopenia, sendo que em alguns casos a contagem de linfócitos pode estar preservada. Na maioria dos pacientes, os níveis de hemoglobina, contagem de neutrófilos e plaquetas estão baixos - quadro este, incomum no estágio inicial da doença (entretanto, não excluindo a possibilidade de um quadro de citopenia no estágio inicial - particularmente trombocitopenia). Anemia é acompanhada de reticulocitopenia, com quadros comuns de macrocitose. A análise do distendido sanguíneo é importante para excluir a presença de neutrófilos displásicos, plaquetas anormais, blastos, e outras células incomuns como células pilosas. O paciente poderá apresentar monocitopenia, porém a ausência destas células no sangue periférico poderá indicar um possível diagnóstico de Leucemia de Células Pilosas. Na anemia aplásica, anisopoiquilocitose é comum e neutrófilos podem apresentar granulação tóxica. É necessária a dosagem de hemoglobina fetal em crianças, para a exclusão de Síndrome Mielodisplásica (MDS) pediátrica, que pode ser um diagnóstico diferencial de pancitopenias em crianças (MARSH et al., 2003).

É importante que a avaliação do aspirado e biópsia de medula óssea seja realizada para que haja uma avaliação precisa da celularidade e se há presença de infiltrações ou fibroses (DAVIES; GUINAN, 2018). Os fragmentos da medula se mostram hipocelulares, com espaços preenchidos por tecido adiposo e resíduos de células hematopoéticas. A eritropoiese está reduzida ou ausente e a diseritropoiese é comum (não devendo ser usada sozinha como marcador para diagnóstico de MDS). Megacariócitos e granulócitos estão reduzidos ou ausentes; são encontrados escassos linfócitos, macrófagos, plasmócitos e mastócitos. Na maioria dos casos a biópsia de MO apresenta áreas hipocelulares, porém poderá apresentar-se também com áreas que apresentam tanto celularidade normal quanto hipocelulares. Pode-se observar também agregados de linfócitos durante a fase aguda da doença. A reticulina não está aumentada e não há presença de células anormais, o aumento de blastos também não é observado - sendo que sua presença pode indicar um quadro de MDS hipocelular (MARSH et al., 2003).

Há casos em que pacientes portadores de anemia aplásica adquirida apresentam alterações citogenéticas em células provenientes da medula óssea, cujas implicações clínicas ainda são incertas. As alterações mais frequentes são: trissomia do 8, monossomia do 7, deleção do 7q, deleção do 1q. Outras alterações - menos comuns - foram também encontradas, como cromossomo 17q, trissomia do 15, monossomia do 21. A constatação dessas alterações citogenéticas foram correlacionadas com uma baixa resposta ao tratamento imunossupressivo, e um alto risco para desenvolvimento de leucemias. Contudo,

devido a baixa frequência dessas alterações previamente citadas em pacientes com AA - durante o diagnóstico - as implicações se mantêm bastante incertas (KIM et al., 2009).

Outros exames complementares são necessários para descartar outros diagnósticos e para tentar aferir a existência de uma causa para a doença: hepatograma é necessário para detectar antecedentes de hepatite B, como também os testes sorológicos para anti-HAV IgG, anti-HBs, anti-HBc IgG ou total, e anti-HCV (o começo da anemia aplásica ocorre de 2 a 3 meses após episódios agudos de hepatite); Níveis de vitamina B12 e folato também devem ser aferidos, para que haja exclusão da anemia megacarioblástica - que, quando severa, pode apresentar pancitopenia; É necessário também, que todos os pacientes com anemia aplásica sejam testados para anticorpo anti-nuclear e anti-DNA, visto que pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) podem apresentar pancitopenia. Hemoglobinúria Paroxística Noturna (HPN) deve ser descartada através da citometria de fluxo; Linfócitos sanguíneos devem ser testados com diepoxibutano (DEB) ou mitomicina C (MMC) - pesquisa de quebras cromossômicas - para identificar ou descartar anemia de Fanconi; Para excluir Disceratose congênita é necessário identificar determinada mutação, além de medir o tamanho dos telômeros (MARSH et al., 2003).

A anemia aplásica poderá ser classificada como severa quando a celularidade da medula óssea for inferior a 25% (ou de 25-50% se houver menos de 30% de células hematopoiéticas residuais), contagem de neutrófilos no sangue periférico menor que $0,5 \times 10^9$ /L, contagem de plaquetas no sangue periférico menor que 20×10^9 /L e contagem de reticulócitos no sangue periférico menor que 20×10^9 /L; muito severa - contagem de neutrófilos no sangue periférico menor que $0,2 \times 10^9$ /L; e não severa: presença de medula óssea hipocelular, com citopenia no sangue periférico, além de não se encaixar nos critérios para severa e muito severa (DAVIES; GUINAN, 2018).

3.3. Tratamento da anemia aplásica adquirida

Após diagnosticar um paciente com AA, principalmente na forma severa, a primeira decisão do médico hematologista é decidir qual modalidade de tratamento a ser utilizada. Fatores como idade, presença de um doador compatível e comorbidades, são importantes para essa decisão. Em crianças e adultos jovens com um doador aparentado compatível (matched sibling donor - MDS), o transplante de medula óssea (TMO) é o tratamento de escolha, e em pacientes mais velhos, tratamento imunossupressivo é o recomendado (TI) (SCHEINBERG, 2012). O TI, utilizado em grande parte dos casos, é a associação da ciclosporina A (CsA) mais globulina antitumócica (ATG) do soro de cavalo - visto que muitos

pacientes não possuem um doador HLA compatível para o transplante de MO (SCHEINBERG, 2011).

3.2.1. Terapias de suporte

De acordo com Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas do Ministério da Saúde (2013), a transfusão profilática de plaquetas é indicada quando a contagem plaquetária estiver menor que $10.000/\text{mm}^3$ - ou, em casos de sangramento ativo ou febre - $20.000/\text{mm}^3$. Já a transfusão de concentrados de hemácia deve ser baseada nos sintomas provenientes de quadros de anemia, e ambos os componentes devem ser filtrados. Em pacientes com possibilidade de transplante de células tronco hematopoiéticas alogênico, as bolsas devem ser, preferencialmente, irradiadas.

Devido a alta mortalidade por infecção por fungos, especialmente espécies de *Aspergillus*, profilaxia com voriconazol ou posaconazol (antifúngicos), devem ser usados em pacientes com neutropenia severa (contagem absoluta de neutrófilos menor que $500/\text{mm}^3$). Profilaxia para pneumonia por *Pneumocystis jirovecii* deve ser feita durante o período de linfopenia (PESLAK, et al. 2017).

O fator de crescimento de colônias de granulócitos, ou, G-CSF (granulocyte colony-stimulating factors), faz parte de um grupo de citocinas que regulam a proliferação, diferenciação e ativação das células hematopoiéticas mielóides, tanto progenitoras, quanto maduras. Sua utilização é recomendada nas seguintes situações: anemia aplásica grave sob terapia imunossupressiva - crianças, adolescentes e adultos com contagem neutrofílica menor que $200/\text{mm}^3$, e neutropenia crônica grave (menor que $500/\text{mm}^3$, com duração de meses a anos) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

3.2.2. Terapia imunossupressora

Após o desenvolvimento do transplante de células hematopoiéticas na década de 70, imunossupressão intencional de pacientes com AA, utilizando globulina antitimocítica (ATG) - anticorpos policlonais gerados em animais pela inoculação de timócitos humanos, provaram ter uma sobrevida similar à proporcionada pelo transplante de células hematopoiéticas oriundas de um doador aparentado compatível. Ciclosporina foi, então, adicionada à ATG, aprimorando ainda mais a resposta e sobrevida dos pacientes. Na década de 80 e 90, estudos conduzidos nos Estados Unidos, Europa e Japão, utilizaram do ATG de soro de cavalo (hATG), mostrando uma resposta em dois terços dos pacientes. A ATG de soro de coelho (rATG) começou a ser utilizada nos Estados Unidos no final da década de 90. De acordo com

o autor, hATG, comparada a rATG, como primeira opção de tratamento rendeu uma taxa de resposta de 60 para 65% (SCHEINBERG, et al. 2011).

Para pacientes acima de 40 anos de idade, recém diagnosticados com AA severa ou muito severa, ou pacientes jovens sem um doador compatível, o tratamento com imunossupressão por ATG e CsA é o mais indicado, sendo hATG o mais recomendado (PESLAK, et al. 2017). Todavia, um estudo de cunho retrospectivo, conduzido no Japão, analisou 30 pacientes recém diagnosticados com AA, e que foram tratados com TI, constituído por rATG e CsA, durante o período de janeiro de 2009 até Dezembro de 2016. A idade média dos pacientes foi de 54 anos, sendo que 19 apresentavam a condição não severa (NSAA) da doença, e 11 severa (SAA) ou muito severa (MSAA). Um total de 21 pacientes foram tratados com rATG e CsA, sendo 9 SAA/MSAA e 12 NSAA. A resposta ao tratamento desses pacientes com rATG em seis meses foi de 50% - resultado similar a outros estudos realizados no Japão. De acordo com o mesmo, é possível que pacientes tratados com rATG demorem mais para obterem uma resposta hematológica, comparando-os com pacientes tratados com hATG. Por fim, a taxa de resposta com o rATG pode não ser tão inferior àquela com hATG (SASAKI, et al. 2019).

Em casos de anemia aplásica refratária - ou seja, que não responde ao tratamento inicial com hATG mais CsA - a opção de resgate é uma segunda série de imunossupressão, onde a melhor experiência é com rATG, dando remissões que variam entre 30 a 77%. Pacientes que sofrem recaídas podem usufruir de melhoras a partir de novas doses de imunossupressão (sendo que a recaída não está diretamente relacionada com sobrevida), nesses casos, utilizar ciclosporina oral por três meses pode ser uma opção efetiva, além da associação de rATG com CsA, que mostrou uma resposta de 55% em pacientes com recaídas (SCHEINBERG, 2011).

3.3. Transplante de medula óssea

3.3.1. História

O primeiro estudo foi feito em 1949 com Jacobson e cols., mostrando que proteger o baço de camundongos durante a irradiação (processo letal), permitia a sobrevida do animal. Em seguida, Lorenz e cols. relataram que camundongos irradiados podiam ser infundidos com células da medula óssea ou do baço, e serem protegidos - fenômeno explicado inicialmente por fatores humorais. Em 1960 estudos com cães forneceram informações importantes para o estudo do TMO, como a presença de um antígeno leucocitário canino (dog leukocyte antigens - DLA). Em 1969 foram feitas uma série de transplantes em pacientes usando irmãos HLA-compatíveis, por um grupo de TMO em Seattle. No final da década de 70, o TMO é

finalmente utilizado para pacientes leucêmicos em remissão ou no primeiro sinal de recaída (THOMAS, 2010). No Brasil, o primeiro transplante realizado foi em 1979, pelo Hospital das Clínicas da UFPR, não sendo um sucesso. Por fim, em 04/07/1981 foi realizado um segundo transplante em um paciente de 23 anos, com anemia aplásica. O transplante teve êxito, e o paciente considerado o primeiro transplantado com sucesso do Brasil e de toda América Latina (VOLTARELLI; FERREIRA; PASQUINI, 2010).

3.3.2. Histocompatibilidade

O complexo maior de histocompatibilidade (MHC) é uma família gênica que inclui vários genes extremamente polimórficos, participando na defesa de vertebrados contra patógenos diversos, e os antígenos codificados por seus genes são expressos em todas as células nucleadas do organismo do indivíduo. O MHC humano é localizado no braço curto do cromossomo 6 (6p), sendo denominado de HLA (junção de human-1 com leukocyte antigen) (INCA, 2009). Nessa região encontram-se antígenos de classe I - que possuem três locus importantes: HLA-A, -B e -C, e antígenos de classe II, com os seguintes locus: HLA-DR, -DQ e -DP. Cada locus possui múltiplos alelos, que constituem um haplótipo. Essa grande variedade de alelos no mesmo locus é responsável pela grande variabilidade de haplótipos na população humana (THOMAS, 2009).

O MHC é considerado o sistema mais polimórfico do organismo e da população. Consequentemente, ele e a rejeição rápida do enxerto pelo indivíduo transplantado, estão diretamente ligados. Existem três formas distintas de tipificação do HLA: método sorológico, tipificação celular e o método de tipificação por ácido desoxirribonucleico. No método sorológico é utilizado um ensaio de microcitotoxicidade dependente de complemento e painéis de antissoros alogênicos contendo anticorpos anti-HLA, sendo esses antissoros obtidos através de gestantes imunizadas durante a gravidez a antígenos HLA. Pelo método de tipificação celular, são feitos testes in vitro de células T, para determinar sua capacidade de reconhecer determinados antígenos HLA. A reação cultura mista de linfócitos (CML) é o ensaio mais utilizado, mas existem outros como a linfólise mediada por células e a crossmatch (ou prova cruzada). No método de tipificação por ácido desoxirribonucleico, os genes HLA são amplificados através da reação de cadeia de polimerase (PCR) (INCA, 2013).

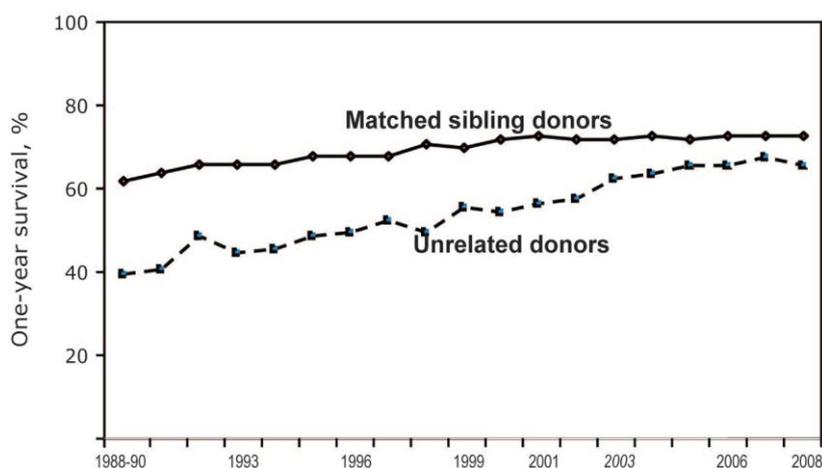
3.3.3. Compatibilidade do doador e condicionamento do paciente

A seleção de um doador compatível apropriado é um componente extremamente importante para o sucesso do transplante de medula óssea. Estudos indicam que doadores compatíveis com HLA-A, HLA-B, HLA-C e HLA-DRB1 - compreendendo uma compatibilidade HLA 8/8 - proporciona uma maior chance de sobrevivência. Uma única incompatibilidade,

tanto em um único alelo, quanto em nível de antígeno (compreendendo uma compatibilidade 7/7) está relacionada com altos níveis de mortalidade pós-transplante, além de altos riscos de doença do enxerto contra hospedeiro (DECH). Há ainda dados que sugerem que doadores incompatíveis HLA-B ou HLA-C são de alguma forma mais tolerados do que doadores HLA-A ou HLA-DRB1. Enxertos provenientes de doadores não-aparentados possuem altos índices de rejeição, toxicidade relacionada ao condicionamento e doença do enxerto contra hospedeiro, do que transplantes oriundos de doadores aparentados HLA-compatíveis (EAPEN; HOROWITZ, 2010).

Transplante de medula óssea proveniente de um doador aparentado HLA-compatível é considerado o tratamento padrão-ouro para pacientes jovens com anemia aplásica, sendo doadores não-aparentados a segunda opção para pacientes que não respondem ao tratamento imunossupressivo. Em contraposição, TMO oriundo de doadores não-aparentados HLA-incompatíveis e HLA-haploidênticos, são considerados - de certa forma - experimentais, mas considerados como alternativa em pacientes que precisam de uma terapia de resgate (MAROTTA; PAGLIUCA; RISITANO, 2014). Como visto na imagem 1, a sobrevivência de pacientes transplantados com enxertos provenientes de doadores não-aparentados vem crescendo constantemente na última década, assim sendo, a diferença entre um doador aparentado idêntico e não aparentado vêm declinando continuamente. Atualmente é considerado um doador compatível aquele com semelhança alélica HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQ e HLA-DP. Outros fatores também influenciam na qualidade do transplante, como a intensidade do condicionamento e o tipo de profilaxia para DECH (BACIGALUPO, 2012).

Figura 1: Resultados por ano, aparentado versus não-aparentado.



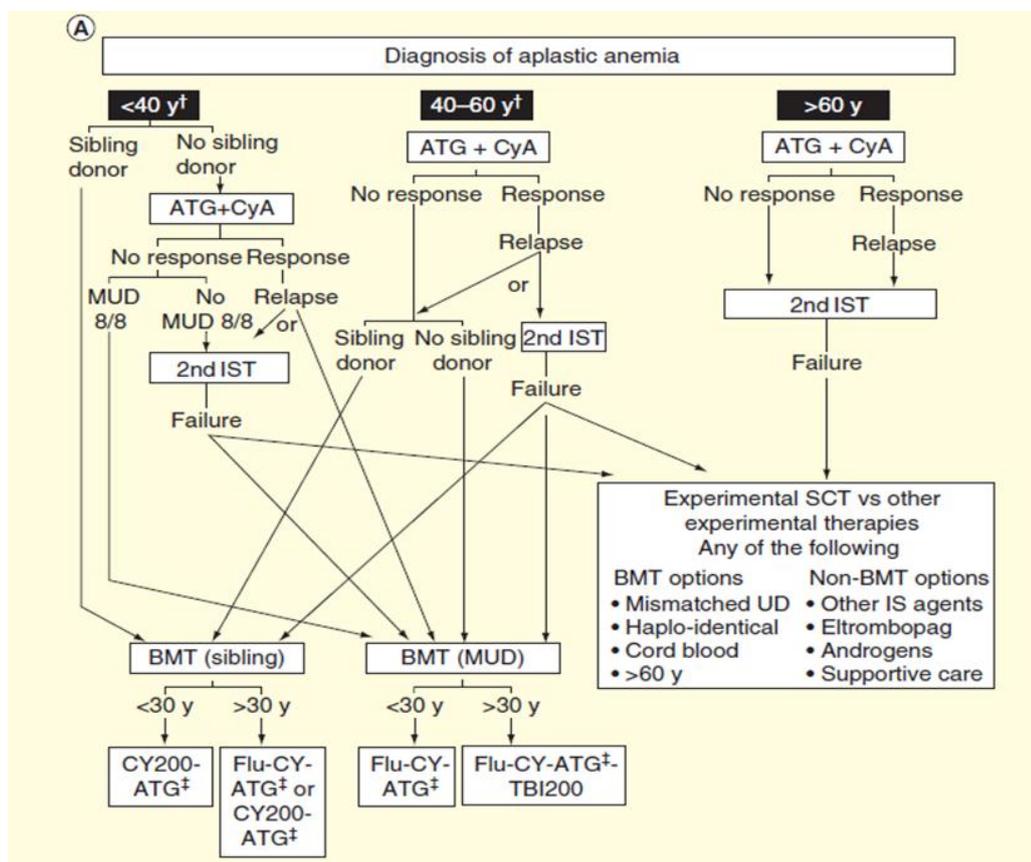
Legenda: É possível visualizar que os resultados de transplantes provenientes de doadores não-aparentados estão se aproximando dos resultados obtidos através de transplantes com doadores aparentados. As taxas de sobrevivência são em um ano de, aproximadamente, 74% (aparentados) e 65% (não aparentados) para esses transplantes em 2008. Fonte: BACIGALUPO, 2012

TMO proveniente de doador aparentado HLA-compatível pode resultar em taxas de sobrevivência a longo prazo acima de 80% em pacientes jovens, sendo a idade o fator principal na influência de resultados positivos. Nesses casos o regime de condicionamento procura estabelecer um ambiente imunossuprimido o suficiente para que o enxerto seja estável, e prevenir DECH pós-transplante. A imunoblação geralmente é constituída de altas doses de ciclofosfamida (CY), entretanto a associação de CY com ATG é o condicionamento mais utilizado para AA. Atualmente é certo que usando a associação de CY + ATG, níveis de rejeição. Os efeitos de um transplante resultante de um doador não-aparentado HLA compatível aperfeiçoaram-se significativamente nas últimas duas décadas, principalmente devido às melhoras na seleção do doador, procurando sempre uma compatibilidade HLA-A, -B, -C e -DR 8/8. Outros fatores contribuem para o sucesso do transplante, como o condicionamento do paciente, nesses casos sendo a associação de fludarabina (FLU) + CY + ATG. Mesmo o padrão sendo doadores aparentados ou não-aparentados HLA compatíveis, nem todos os pacientes possuem essa opção. É optado então por um transplante de um doador HLA haploidêntico, contudo, resultados obtidos demonstram que esse tipo de transplante não é tão eficiente, mostrando uma sobrevida absoluta de 37% em pacientes transplantados entre 1976-2011 (MAROTTA; PAGLIUCA; RISITANO, 2014). Entre julho de 2011 e agosto de 2016 13 pacientes com anemia aplásica refratária foram infundidos com enxertos provenientes da MO de um doador HLA haploidêntico, o condicionamento consistiu de ciclofosfamida pós transplante. Todos os 13 pacientes sustentaram o transplante e somente dois tiveram DECH aguda e crônica, mas que respondeu ao tratamento (GEORGES; DONEY; STORB, 2018).

Marotta, Pagliuca e Risitano (2014) desenvolveram um algoritmo (imagem 2) para ajudar na decisão de qual tratamento a ser utilizado: pacientes até 40 anos de idade com um doador aparentado HLA-compatível devem realizar o transplante imediatamente, pacientes acima dos 40 anos devem ser tratados primeiramente com imunossupressão, sendo o transplante de medula óssea uma segunda opção quando não há resposta ao tratamento ou relapsos. É importante também levar em conta - além da idade do paciente - doenças concomitantes e comorbidades, principalmente em pacientes acima dos 40-50 anos, é necessário salientar que até mesmo em estudos antigos, TMO parece não oferecer nenhum benefício acima da TI em pacientes >40 anos de idade. Quando há a falta de um doador compatível, a procura de um não-aparentado deve ser feita imediatamente - sendo iniciado conjuntamente o TI. Em casos de falta de resposta ao tratamento imunossupressivo + presença de um doador aparentado (de preferência até 8/8), o transplante pode ser considerado. Quando um doador ideal não é identificado, incompatibilidades em um alelo ou até um antígeno, podem ser consideradas como segunda opção (junto com doadores não-

aparentados não-compatíveis e haploidênticos), após uma segunda tentativa de resposta a um TI.

Figura 2: O papel do transplante de medula óssea no algoritmo de tratamento da anemia aplásica.



Legenda: Algoritmo para tratamento de pacientes sofrendo de anemia aplásica. Fonte: MAROTTA; PAGLIUCA; RISITANO, 2014.

3.4. Possíveis complicações do transplante de medula óssea

3.4.1. Doença do enxerto contra hospedeiro

A doença do enxerto contra hospedeiro é, sem dúvida, uma das complicações mais persistentes em relação ao transplante de medula óssea. Maioria dos receptores de enxertos halogênicos desenvolvem algum grau da doença após o transplante, sendo uma parte desses pacientes portadores de transplantes HLA compatíveis (situação relacionada às diferenças entre os antígenos de histocompatibilidade menor). É uma doença mediada por fatores imunológicos – principalmente por células T alorreativas, sendo estabelecida como uma doença sistêmica, com progressão rápida e se manifestando de forma aguda – ocorrendo nas primeiras semanas pós transplante, e crônica – antigamente considerada após 100 dias do

transplante, mas hoje se sabe que é possível sua manifestação até três meses depois, e podendo ocorrer simultaneamente com a forma aguda (INCA, 2013). Três fatores são essenciais para a sua ocorrência: 1. O sistema imunológico do paciente precisa ser incapaz de responder eficazmente contra o enxerto; 2. O paciente precisa ter antígenos HLA que o doador não possui; 3. O enxerto deve possuir uma quantidade suficiente de células imunologicamente competentes (PALMER et al, 2009).

A forma aguda da doença (DECHa) é considerada, ainda, a maior causa de mortalidade/morbidade em pacientes pós TMO. A discrepância entre os HLA é o principal gatilho para o desenvolvimento da DECHa, mas existem outros fatores relevantes como idade do paciente/doador, diferenças de sexo entre doador e receptor, antígenos de histocompatibilidade menor, entre outros, sendo as principais manifestações clínicas: dermatite, enterite e hepatite. A incidência da DECH crônica (DECHc) tem se mantido elevada (com variância entre 30-80%), e sendo associada, principalmente, com o uso prolongado de imunossuppressores, menor sobrevida global e diminuição da qualidade de vida. Ainda não são conhecidos os mecanismos fisiopatogênicos da mesma, mas sabe-se que sua evolução costuma ser mais lenta, e acometendo o paciente principalmente após o término da profilaxia e tratamento para DECHa. (INCA, 2013). A característica mais marcante da DECHc é o acometimento de vários órgãos, sendo os sítios mais comuns: pele (75%), boca (entre 51-63%), fígado (entre 29-51%), olhos (entre 22-33%), outros sítios também acometidos são o trato intestinal, esôfago, pulmões, articulações e trato genital feminino (BOUZAS; SILVA, 2009).

3.4.2. Citomegalovírus

O citomegalovírus (CMV) é um herpes-vírus, pertencente a família *b-herpesviridae* e possui um hospedeiro restrito com um ciclo reprodutivo dinâmico. Seu ciclo de vida é constituído de duas fases, sendo a primeira constituída por um período latente, onde ele permanece dentro de células-alvo. A segunda fase ou fase lítica, o CMV replica-se ativamente, gerando partículas infecciosas. Sua manifestação clínica é composta por quadros de febre sem uma etiologia definida, enterite e pneumonia intersticial. Em alguns casos é possível o aparecimento de retinite, encefalite, aplasia ou hepatite, pancreatite e cistite hemorrágica (INCA, 2013). Mais de 90% da população brasileira adulta apresenta anticorpos contra CMV, indicando uma infecção passada. Pacientes imunossuprimidos tendem a ter reativações do vírus, levando a uma infecção latente. Essas reativações acontecem – com maior frequência – entre +30 e +120 dias pós-transplante de medula óssea (MACHADO et al, 2009).

3.4.3. Síndrome metabólica pós-transplante

Condições clínicas como obesidade visceral, hipertensão arterial, intolerância à glicose e dislipidemia fazem parte de uma condição clínica denominada de síndrome metabólica (SM), sendo a sua prevalência bastante aumentada em pacientes transplantados. As principais causas da SM são o hipogonadismo, deficiência de GH, efeitos induzidos pela radiação e agentes alquilantes durante o condicionamento do paciente, hipotireoidismo, disfunção do tecido adiposo e inatividade física. O diagnóstico é feito através do índice de massa corporal (IMC), os níveis lipídicos, deposição abdominal de gordura, glicemia, níveis pressóricos, e microalbuminúria. É necessário salientar que grande parte dos pacientes que possuem a condição, evoluem para quadros de resistência insulínica, intolerância a glicose e diabetes mellitus tipo 2 (PATON; CASTRO, 2009). Sua prevalência tende a aumentar com o tempo em pacientes transplantados, independente da idade. Jovens submetidos ao procedimento na infância podem estar sujeitos a desenvolverem problemas cardiovasculares precoces. Uma das fisiopatologias da doença é o defeito em qualquer etapa do transporte da glicose – desde a sua secreção, ligação à receptores específicos, entrada na célula, fosforilação, e utilização, levando então a um quadro de hiperglicemia seguida de hiperinsulinemia compensatória (INCA, 2013).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Anemia aplásica adquirida é uma doença complexa, sem um mecanismo pré-definido, cuja forma severa pode ser letal, e a pesar dos grandes avanços da medicina e estudos focados na imunossupressão, o transplante de medula óssea ainda é o principal tratamento de escolha, sendo bastante capaz de prolongar a qualidade e sobrevida do paciente – se realizado dentro dos padrões de profilaxia, condicionamento, compatibilidades, etc.

Atualmente, o principal desafio da medicina é proporcionar aos pacientes que não possuem doadores HLA compatíveis, a possibilidade de realizar o procedimento com doadores HLA incompatíveis, sem complicações e óbitos. É necessário, também, que mais estudos sejam feitos procurando esclarecer o mecanismo da doença e sua etiologia, visto que ajudaria no tratamento da mesma.

5. REFERÊNCIAS

ALTER, B. Diagnosis, genetics and management of inherited bone marrow failure syndromes. **American Society of Hematology**. Washington, v. 2007, n. 1, p. 29-39, jan. 2017.

AKRAM, Z. Epidemiological, clinical and genetic characterization of aplastic anemia patients in Pakistan. **Annals of Hematology**. Berlin, v. 98, n. 2, p. 301-312, fev. 2019.

BACIGALUPO, A. Matched and mismatched unrelated donor transplantation: is the outcome the same as for matched sibling donor transplantation. **American Society of Hematology**. Washington, v. 2012, n. 1, p. 223-229, dez. 2012.

BACIGALUPO, A.; PASSWEG, J. Diagnosis and treatment of acquired aplastic anemia. **Hematology/Oncology Clinics of North America**. Amsterdam, v. 25, n. 2, p. 159-170, abr. 2009.

BOUZAS, L. F. S.; SIMÕES, M. M|. Doença do enxerto contra hospedeiro crônica. *In*: SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA. **Transplantes de células-tronco hematopoiéticas**. 1ª. ed. São Paulo: Atheneu, 2009. cap. 34, p. 937-964.

BRASIL. Portaria nº 1300, de 21 de dezembro de 2013. **Anemia Aplástica Adquirida: Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas**. Brasília, DISTRITO FEDERAL.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas**. Brasília: SCTIE, 2018.

BRODSKY, R.; JONES, R. Aplastic anaemia. **The Lancet**. Amsterdam, v. 365, n. 9471, p. 1617-1656, mai. 2005.

CALADO, R.; YOUNG, N. Telomere maintenance and human bone marrow failure. **Blood**. New York, v. 111, n. 2, p. 4446-4455, mai. 2008.

CARVALHO, S. et al. Diceratose congênita relato de caso e revisão da literatura. **Anais Brasileiros Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 5, p. 579-586, out. 2003.

CORRÊA, A. et al. Deceratoze congênita: relato de caso e revisão da literatura. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**. Rio de Janeiro, v. 13, n. 2, p. 124-128, jun. 2015.

DAVIES, K.; GUINAN, C. An update on the management of severe idiopathic aplastic anaemia in children. **British Journal of Haematology**. Oxford, v. 136, n. 4, p. 549-564, jan. 2007.

DEZERN, A.; BRODSKY, R. Clinical management of aplastic anemia. **Expert Review of Hematology**. London, v. 04, n. 2, p. 221-230, jan. 2014.

DOLBERG, O.; LEVY, Y. Idiopathic aplastic anemia: Diagnosis and classification. **Autoimmunity Reviews**. Amsterdam, v. 13, n. 4-5, p. 569-573, mai. 2014.

DU, H. et al. Expression of IL-27, Th1 and Th17 in patients with aplastic anemia. **Journal of Clinical Immunology**. New York, v. 22, n. 2, p. 426-45, fev. 2013.

EAPEN, M.; HOROWITZ, M. Alternative donor transplantation for aplastic anemia. **American Society of Hematology**. Washington, v. 2010, n. 1, p. 43-46, dez. 2010.

FANCONI ANEMIA RESEARCH FUND, INC. **Fanconi Anemia Guidelines for Diagnosis**. Oregon: [s. n.], 2014. E-book.

GEORGES, G.; DONEY, K.; STORB, R. Severe aplastic anemia: allogeneic bone marrow transplantation as first-line treatment. **Blood Advances**, Washington, v. 2, n. 15, p. 2010-2028, ago. 2018.

GONÇALVES, C. **Estudo molecular do gene fanca em pacientes com quadro clínico de anemia de fanconi**. 2014. Tese (Doutorado em Clínica Médica) - Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Campinas, Campinas, 2014.

GOTO, M. et al. Identification of autoantibodies expressed in acquired aplastic anaemia. **British Journal of Haematology**. Oxford, v. 160, n. 3, p. 359-62, nov. 2012.

GU, Y. et al. Interleukin (IL)-17 promotes macrophages to produce IL-8, IL-6 and tumour necrosis factor- α in aplastic anaemia. **British Journal of Haematology**. Oxford, v. 142, n. 1, p. 109-114, mai. 2008.

HOFFBRAND, A.; MOSS, P. **Fundamentos em hematologia de Hoffbrand**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

KIM, Y. et al. The characteristics and clinical outcome of adult patients with aplastic anemia and abnormal cytogenetics at diagnosis. **Gene, Chromosomes & Cancer**. New York, v. 49, n. 9, p. 844-850, jun. 2010.

MACHADO, C. et al. Infecções em transplantes de células-tronco hematopoiéticas. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA. **Transplantes de células-tronco hematopoiéticas**. 1ª. ed. São Paulo: Atheneu, 2009. cap. 27, p. 589-630.

MAROTTA, S.; PAGLIUCA, S.; RISITANO, A. Hematopoietic stem cell transplantation for aplastic anemia and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: current evidence and recommendations. **Expert Review of Hematology**. London, v. 7, n. 6, p. 775-786, out. 2014.

MALUF, E. et al. Incidence and risk factors of aplastic anemia in Latin America countries: the LATIN case-control study. **Haematologica**. Pavia, v. 94, n. 9, p. 1220-1226, mar. 2009.

MARSH, C. et al. Guidelines for the diagnosis and management of aplastic anaemia. **British Journal of Haematology**. Oxford, v. 147, n. 1, p. 43-70, set. 2009.

MAYO CLINIC STAFF. **Bone marrow biopsy and aspiration**. [S. l.], 28 nov. 2018. Disponível em: <https://www.mayoclinic.org/tests-procedures/bone-marrow-biopsy/about/pac-20393117>. Acesso em: 21 jun. 2019.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Tópicos em transplante de células-tronco hematopoiéticas**. Rio de Janeiro, 2013.

PALMER, Jeanne et al. Doença do enxerto contra hospedeiro aguda. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA. **Transplantes de células-tronco hematopoiéticas**. 1ª. ed. São Paulo: Atheneu, 2009. cap. 30, p. 677-692.

PATON, E. J. A.; CASTRO, A. S. Complicações endocrinológicas e metabólicas do transplante de células-tronco hematopoiéticas. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA. **Transplantes de células-tronco hematopoiéticas**. 1ª. ed. São Paulo: Atheneu, 2009. cap. 31.6, p. 751-762.

PESLAK, S.; OLSON, T.; BABUSHOK, D. Diagnosis and treatment of aplastic anemia. **Current Treatment Options in Oncology**. Berlin, v. 18, n. 70, nov. 2017. Sem paginação. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1007%2Fs11864-017-0511-z>>. Acesso em: 18 de fevereiro 2019.

SASAKI, N. et al. Immunosuppressive therapy with rabbit antithymocyte globulin therapy for acquired aplastic anemia: a multi-institucional retrospective study in Japanese adult patients. **International Journal of Hematology**. Amsterdam, v. 109, n. 3, p. 278-285, mar. 2019.

SAVASAN, S. Acquired aplastic anemia. **Pediatric Clinics of North America**. Amsterdam, v. 65, n. 3, p. 597-606, jun. 2018.

SCHEINBERG, P. Aplastic anemia: therapeutic updates in immunosuppression and transplantation. **American Society of Hematology**. Washington, v. 2012, n. 1, p. 292-300, dez. 2012.

SCHEINBERG, P. et al. Horse versus antithymocyte globulin in acquired aplastic anemia. **The New England Journal of Medicine**. Boston, v. 365, n. 5, p. 430-438, agos. 2011.

SCHEINBERG, P. Tratamento atual da anemia aplástica adquirida grave. **Einstein**. São Paulo, v. 9, n. 2, p. 229-235, abr. 2011.

SZABO, S. et al. Pillars article: a novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell*. 2000. 1000: 655-669. **The Journal of Immunology**. Baltimore, v. 194, n. 7, p. 2961-75, abr. 2015.

THOMAS, E. D. Transplante de medula óssea no mundo: uma revisão histórica. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA. **Transplantes de células-tronco hematopoiéticas**. 1^a. ed. São Paulo: Atheneu, 2009. cap. 1.1, p. 3-14.

VAHT, K. et al. Incidence and outcome of acquired aplastic anemia: real-world data from patients diagnosed in Sweden from 2000-2011. **Haematologica**. Pavia, v. 102, n. 10, p. 1683-1690, jul. 2017.