

CENTRO UNIVERSITÁRIO SAGRADO CORAÇÃO

HÉLEN DE OLIVEIRA

DOENÇA DO ENXERTO VERSUS HOSPEDEIRO: CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS,  
FISIOPATOLÓGICAS E MEDIDAS TERAPÊUTICAS

BAURU

2020

HÉLEN DE OLIVEIRA

DOENÇA DO ENXERTO VERSUS HOSPEDEIRO: CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS,  
FISIOPATOLÓGICAS E MEDIDAS TERAPÊUTICAS

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado como parte dos requisitos  
para obtenção do título de bacharel em  
Biomedicina - Centro Universitário  
Sagrado Coração.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Ana Paula Favaro  
Trombone Garlet.

BAURU

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com  
ISBD

O48d

Oliveira, Hélien de

Doença do Enxerto versus Hospedeiro: características clínicas, fisiopatológicas e medidas terapêuticas / Hélien de Oliveira. -- 2020.

40f. : il.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Ana Paula Favaro Trombone Garlet

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Centro Universitário Sagrado Coração - UNISAGRADO - Bauru - SP

1. Transplante de células-tronco hematopoiéticas. 2. Doença do enxerto versus hospedeiro. 3. Sistema HLA. I. Garlet, Ana Paula Favaro Trombone. II. Título.

HÉLEN DE OLIVEIRA

DOENÇA DO ENXERTO VERSUS HOSPEDEIRO: CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS,  
FISIOPATOLÓGICAS E MEDIDAS TERAPÊUTICAS

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado como parte dos requisitos  
para obtenção do título de bacharel em  
Biomedicina - Centro Universitário  
Sagrado Coração.

Aprovado em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_.

Banca examinadora:

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Ana Paula Favaro Trombone Garlet (Orientadora)  
Centro Universitário Sagrado Coração

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Andréa Mendes Figueiredo  
Centro Universitário Sagrado Coração

Dedico este trabalho aos meus pais, com muito carinho e admiração.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos meus pais, por todo o apoio e incentivo durante a minha graduação, possibilitando que eu tivesse toda a estrutura necessária para finalizá-la, e a toda a minha família, por estimular o estudo e o conhecimento, e me ensinar que vivemos em constante aprendizado.

Também agradeço à minha orientadora, pela oportunidade e disponibilidade em me ajudar sempre que necessário, transmitindo sua experiência e confiança para que eu pudesse realizar esse trabalho.

À todos os professores que fizeram parte da minha caminhada, sempre competentes e inspiradores, pois sem eles eu não teria chegado até aqui.

E à faculdade, pelo comprometimento em oferecer um ensino repleto de bons profissionais e infraestrutura de qualidade, visando uma formação profissional exemplar para seus alunos.

“Você nunca sabe que resultados virão da sua ação, mas se não fizer nada, não existirão resultados”. (MAHATMA GANDHI)

## RESUMO

O transplante de células-tronco hematopoiéticas atualmente é um dos tratamentos mais indicados para doenças hematológicas malignas e não malignas, pois a transferência de células-tronco hematopoiéticas de um doador saudável promove a restauração da produção normal de células sanguíneas e imunológicas do receptor, em virtude da capacidade dessas células de se autorrenovar e se diferenciar em células especializadas tanto do tecido sanguíneo quanto do sistema imune. Contudo, uma das complicações clínicas mais comuns do pós-transplante é o desenvolvimento da Doença do Enxerto *versus* Hospedeiro, uma doença inflamatória sistêmica que ocorre quando as células transplantadas do doador reconhecem aloantígenos do receptor como não-próprios, ocasionando a formação de uma reação imunológica contra eles, um resultado principalmente de diferenças de compatibilidade no sistema HLA entre doador e receptor. Sendo assim, essa revisão bibliográfica teve como objetivo apresentar a Doença do Enxerto *versus* Hospedeiro em transplantes de células-tronco hematopoiéticas, ao abordar suas características clínicas, fisiopatológicas e profiláticas por meio de consultas em livros de imunologia e artigos presentes nas bases de dados PubMed, Scielo e Google Acadêmico, onde foram selecionados dezoito artigos relevantes ao tema. Assim, foi possível constatar que, o transplante de células-tronco hematopoiéticas visa ser um tratamento capaz de promover a cura e a melhora na qualidade de vida dos pacientes submetidos ao transplante, o que torna imprescindível a utilização de métodos profiláticos para evitar a ocorrência da Doença do Enxerto *versus* Hospedeiro, considerando sua complexidade e extensão de acometimento no organismo.

Palavras-Chave: Transplante de Células-tronco Hematopoiéticas. Doença do Enxerto *versus* Hospedeiro. Sistema HLA.

## **ABSTRACT**

Hematopoietic stem cell transplantation is currently one of the most suitable treatments for malignant and non-malignant hematological diseases, since the transfer of hematopoietic stem cells from a healthy donor promotes the restoration of the normal production of blood and immune cells of the recipient, due to the ability of these cells to self-renew and differentiate into specialized cells in both blood tissue and the immune system. However, one of the most common clinical complications of post-transplantation is the development of Graft versus Host Disease, a systemic inflammatory disease that occurs when transplanted cells from the donor recognize the recipient's alloantigens as non-proper, causing the formation of an immune reaction against them, a result mainly of differences in compatibility in the HLA system between donor and recipient. Thus, this literature review aimed to present Graft versus Host Disease in hematopoietic stem cell transplants, by addressing its clinical, pathophysiological and prophylactic characteristics through consultations in immunology books and articles in the PubMed databases, Scielo and Google Academic, where eighteen articles relevant to the topic were selected. Thus, it was possible to verify that hematopoietic stem cell transplantation aims to be a treatment capable of promoting healing and improving the quality of life of patients undergoing transplantation, which makes it essential to use prophylactic methods to prevent the occurrence of Graft versus host disease, considering its complexity and extent of involvement in the organism.

Keywords: Hematopoietic stem cell transplantation. Graft versus host disease. HLA system.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fisiopatologia da GvHD crônica em TCTHs.....	26
---	----

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais doenças tratadas atualmente com CTHs .....	19
Tabela 2 – Tipos de células T e citocinas envolvidas na GvHD .....	21
Tabela 3 – Classificação geral da gravidade de GvHD .....	31

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT	Alanina aminotransferase
APCs	Células apresentadoras de antígenos
AST	Aspartato aminotransferase
ATG	Globulina antitimócitos
CECs	Células endoteliais circulantes
CMV	Citomegalovírus
CTHs	Células-tronco hematopoiéticas
CTMs	Células estromais mesenquimais
DAMPs	Padrões moleculares associados ao dano
ECP	Fotoférese extracorpórea
EvT	Efeito enxerto <i>versus</i> tumor
GvHD	<i>Graft versus host disease</i> : Doença do Enxerto <i>versus</i> Hospedeiro
GvHD-TA	Doença do Enxerto <i>versus</i> Hospedeiro Associada à Transfusão
HLA	Antígeno Leucocitário Humano
IFN- $\gamma$	Interferon-gama
IL-1	Interleucina 1
IL-2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
KIRs	Receptores imunoglobulina assassina
LPS	Lipopolissacarídeos
MAC	<i>Complexo Mycobacterium avium</i>
mHag	Antígenos de histocompatibilidade secundários
MHC	Complexo de Histocompatibilidade Maior
MMF	Micofenolato de mofetila
MTX	Metotrexato
NFAT	Fator nuclear de células T ativadas
NIH	<i>National Institutes of Health</i> : Instituto Nacional da Saúde
NK	<i>Natural killer</i> : assassina natural
PAMPs	Padrões moleculares associados à patógenos

PBSC	<i>Peripheral blood stem cell</i> : células-tronco do sangue periférico
PTCy	Ciclofosfamida
Reg3 $\alpha$	Proteína-1 associada a pancreatite humana
RRPs	Receptores de reconhecimento padrão
RTE	Emigrante tímico recente
ST2	Proteína receptora da IL-1
TCD4	Linfócitos T auxiliares
TCD8	Linfócitos T citotóxicos
TCRs	Receptores das células T
Tcm	Linfócitos TCD4 de memória central
TCTHs	Transplante de células-tronco hematopoiéticas
TFP	Teste de função pulmonar
TGF- $\beta$ 1	Fator de crescimento transformador- $\beta$ 1
Th1	Linfócitos TCD4 do tipo 1
Th2	Linfócitos TCD4 do tipo 2
Th3	Linfócitos TCD4 do tipo 3
Th17	Linfócitos TCD4 do tipo 17
TLRs	Receptores do tipo Toll
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tecidual
Tregs	Linfócitos T reguladores

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	14
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	14
<b>4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	15
4.1 Transplantes de Células-tronco hematopoiéticas .....	17
4.2 Doença do Enxerto versus Hospedeiro (GvHD) .....	21
4.3 Fisiopatologia da GvHD aguda .....	23
4.4 Fisiopatologia da GvHD crônica .....	25
4.5 Influência do HLA na GvHD .....	27
4.6 Manifestações clínicas .....	29
4.7 Diagnóstico .....	30
4.8 Tratamento .....	33
4.9 Profilaxia .....	36
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	37
<b>6 REFERÊNCIAS</b> .....	38

## 1 INTRODUÇÃO

A existência de inúmeras doenças hematológicas malignas e não malignas, tornou cada vez mais necessário a utilização de terapias complexas e eficientes como os transplantes de células-tronco hematopoiéticas (TCTHs), para combater tais doenças e aumentar a sobrevida dos pacientes. Mas para isso, as células-tronco chamadas de enxertos, precisam ser retiradas de um doador que seja compatível com o receptor. (ABBAS et al., 2019; DULLEY et al., 2009; GARCIA et al., 2015)

Isso porque o efeito terapêutico do TCTHs se baseia nas características das células-tronco hematopoiéticas (CTHs), que são de origem embrionária e estão presentes tanto na fase fetal quanto na adulta como células indiferenciadas e não especializadas, que se dividem e autorrenovam indefinidamente, mas que podem se especializar quando submetidas à estímulos gerados de acordo com condições fisiológicas específicas. Assim, ao serem transplantadas em um indivíduo com leucemia, por exemplo, promovem o que é chamado de efeito enxerto versus tumor (EvT), em que os linfócitos T maduros e as células natural killer (NK) presentes no inóculo de células-tronco reconhecem aloantígenos das células tumorais e as destroem. (ABBAS et al., 2019; DULLEY et al., 2009; GARCIA et al., 2015; SWEENEY; VYAS, 2019)

Contudo, antes da realização do transplante é importante considerar o risco de complicações clínicas que podem surgir pós-transplante, como o desenvolvimento da Doença do Enxerto *versus* Hospedeiro (GvHD: *graft-versus-host disease*), que é capaz de interferir no efeito terapêutico do transplante e provocar manifestações clínicas que afetam a qualidade de vida do paciente. E isso ocorre porque a GvHD é um distúrbio multissistêmico resultante de uma reação inflamatória, que ocorre quando as células do doador reconhecem aloantígenos do receptor como não-próprios, promovendo uma reação contra eles, que pode ser caracterizada em aguda ou crônica de acordo com os mecanismos de ativação do sistema imune e das células que participam desse processo. (ABBAS et al., 2019; ALVEZ et al., 2010; GARCIA et al., 2015; SOUZA, 2019; WOLFF; LAWITSCHKA, 2019)

Sabendo disso, a principal causa dessa complicação clínica é a incompatibilidade entre doador e receptor no sistema Antígeno Leucocitário Humano

(HLA), também conhecido como Complexo de Histocompatibilidade Maior (MHC), uma região cromossômica extremamente polimórfica com o intuito de ampliar o reconhecimento de antígenos estranhos que cada organismo possui, tendo como principais funções a participação no processo de discriminação de elementos próprios de não próprios em níveis moleculares e celulares, assim como a apresentação de antígenos aos linfócitos TCD4 (MHC classe II) e TCD8 (MHC classe I), o que o torna um componente de controle e modulação da resposta imune. (ABBAS et al., 2019; ANDREANI et al., 2019; QUINLEY, 2011; SWEENEY; VYAS, 2019)

Por isso, quando há uma incompatibilidade nos alelos HLA tanto de classe I quanto de classe II entre um doador e um receptor, há maiores chances de que sejam elaboradas respostas das células do doador contra as do receptor, promovendo a GvHD, o que torna recomendável que a maioria dos transplantes seja feito com doadores haploidênticos, ou seja, que possuem no mínimo 50% dos alelos HLA iguais aos do receptor. Mas ainda assim, a incidência da doença em pacientes que realizaram o TCTHs ainda é alta, ocorrendo em 35% a 80% dos casos. (QUINLEY, 2011; SWEENEY; VYAS, 2019)

Isso se deve ao fato de que outras variáveis também podem ser responsáveis pelo desenvolvimento da doença, como idade do paciente (quanto mais velho maior é o risco), diferenças de gênero (doadora feminina e receptor masculino), aloimunização prévia do doador, soropositividade do receptor para citomegalovírus (CMV), fonte de células-tronco, fatores genéticos não-HLA, como polimorfismos nos genes codificantes de citocinas, e a própria profilaxia de GvHD, que ao causar imunossupressão do receptor acaba deixando-o vulnerável às respostas imunes das células do doador. (AZEVEDO, 2010; HOLLER et al., 2019; QUINLEY, 2011)

Dessa forma, a GvHD e seus mecanismos são de extrema importância clínica, dada a sua interferência negativa no transplante de células-tronco hematopoiéticas, ao atuar na diminuição das probabilidades de sucesso terapêutico, aumento da mortalidade pós-transplante, e desestabilização do sistema imunológico e da função de inúmeros órgãos, ao afetar principalmente pele, fígado e trato gastrointestinal. E apesar de existirem inúmeras técnicas profiláticas para essa complicação clínica, a compatibilidade entre os sistemas HLA do doador e do receptor ainda é a principal maneira de evitar uma maior intensidade e gravidade da doença.

## **2 OBJETIVOS GERAIS**

Esta revisão bibliográfica teve como objetivo apresentar a Doença do Enxerto versus Hospedeiro em transplantes de células-tronco hematopoiéticas, visando abordar suas características clínicas, fisiopatológicas e profiláticas, e relacioná-las com o sistema HLA.

## **3 METODOLOGIA**

A revisão de literatura foi realizada através de consultas em livros de imunologia e artigos presentes nas bases de dados PubMed, Scielo e Google Acadêmico, utilizando-se as seguintes palavras-chave para o levantamento bibliográfico: transplantes de células-tronco, imunologia de transplantes, Doença do Enxerto versus Hospedeiro, e sistema HLA. Foram selecionados dezoito artigos, que foram escolhidos por apresentarem relevância ao tema e terem sido publicados nos últimos dez anos, sendo dos idiomas inglês e português.

## **4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Os transplantes são medidas terapêuticas realizadas a partir da remoção de células, tecidos ou órgãos saudáveis (chamados de enxertos) de um indivíduo denominado doador para um receptor ou hospedeiro, com o intuito de substituir tecidos não funcionais, combater doenças hematológicas, ou aumentar a sobrevivência dos indivíduos que realizam os transplantes. (ABBAS et al., 2019; GARCIA et al., 2015)

Sendo assim, um enxerto pode ser classificado em quatro tipos: autólogo, quando o enxerto é transplantado no próprio doador; singênico, quando o transplante é feito entre dois indivíduos geneticamente idênticos; alogênico, quando transplantado entre dois indivíduos geneticamente diferentes, porém da mesma espécie; ou xenogênico, quando o enxerto é transplantado entre indivíduos de espécies diferentes. (ABBAS et al., 2019)

No caso dos enxertos alogênicos ou aloenxertos, que são os mais utilizados, o principal problema relacionado aos transplantes é a possibilidade desse enxerto acabar sendo atacado pelo sistema imunológico do receptor ou, o próprio enxerto reconhecer as células e tecidos do hospedeiro como não-próprias, em uma reação que é chamada de alorreatividade. Nela, linfócitos e anticorpos alorreativos

reconhecem as moléculas consideradas estranhas, chamadas de aloantígenos, e reagem à elas através da formação de uma resposta imune adaptativa caracterizada por especificidade e memória e que, conseqüentemente, pode levar à falha do transplante. (ABBAS et al., 2019; MURPHY, 2014)

Mas além das respostas imunes adaptativas, a participação da imunidade inata também pode influenciar no sucesso do transplante, pois durante a remoção e transferência do tecido ocorre a interrupção do suprimento sanguíneo ao mesmo, o que causa um dano isquêmico que resulta na liberação de padrões moleculares associados ao dano (DAMPs) pelo enxerto. Assim, ao ser transplantado, pode estimular respostas inatas tanto pelas células do próprio tecido, que participam dessa defesa, quanto pelas do receptor, levando à uma lesão ou ao aumento da possibilidade de rejeição do enxerto. (ABBAS et al., 2019)

Por esse motivo, antes da realização de qualquer tipo de transplante, busca-se evitar a principal causa da formação dessas respostas imunes: incompatibilidade entre os peptídeos HLA do doador e do receptor, baseando-se no fato de que são esses peptídeos que determinam se o tecido enxertado será compatível ou não com o sistema imune do receptor. E caso não seja, é formada uma resposta imune contra as moléculas HLA estranhas, capaz de promover complicações clínicas severas como a GvHD, um distúrbio multissistêmico que pode surgir após TCTHs. (ABBAS et al., 2019; GARCIA et al., 2015; MURPHY, 2014)

Nesse caso, o principal mecanismo fisiopatológico envolvido na doença é a presença de células T maduras no inóculo de CTHs transplantadas, que promovem uma grave doença inflamatória à medida que as células do doador reconhecem os aloantígenos do receptor como estranhos, sendo estes, em geral antígenos de histocompatibilidade secundários. Mas além das diferenças no sistema HLA entre doador e receptor, a GvHD ainda pode ser agravada pela presença de células imunocompetentes no enxerto e pelo imunocomprometimento do receptor, que é incapaz de rejeitar as células alogênicas do enxerto. (MURPHY, 2014; QUINLEY, 2011)

Sendo assim, para evitar o risco de desenvolvimento de GvHD, os doadores são classificados de acordo com as características genéticas do receptor em HLA idênticos, haploidênticos ou distintos, sendo preferível a realização do transplante quando doador e receptor são irmãos HLA combinantes ou, ao menos, quando há combinação com o HLA de um doador não aparentado, pois quanto maior a diferença entre os antígenos HLA, maior a gravidade da doença, que pode ser

classificada em aguda ou crônica de acordo com seus padrões histológicos. (ABBAS et al., 2019; GARCIA et al., 2015; HOLLER et al., 2019; MURPHY, 2014)

A GvHD aguda ocorre em 35% a 80% dos pacientes que fizeram o TCTHs, e destes, 14% desenvolvem GvHD aguda grave (graus III e IV), independentemente da compatibilidade HLA dos doadores. Por isso, é considerada a primeira causa de morte de 10% a 20% desses pacientes. Enquanto que a GvHD crônica possui maior incidência em pacientes com idade mais avançada, sendo de aproximadamente 60%, e menor em crianças, ocorrendo entre 20% e 40% dos casos, o que significa que, em geral, a GvHD crônica afeta 30% a 40% dos pacientes transplantados. (MANKARIOUS et al., 2020; QUINLEY, 2011)

Os altos índices de desenvolvimento da doença ocorrem porque apesar do transplante ser realizado principalmente entre irmãos HLA genotipicamente idênticos, diferenças nos antígenos de histocompatibilidade secundários (mHag) também podem promover a GvHD aguda, considerando também que, o aumento de TCTHs com doadores incompatíveis e a idade dos pacientes são outros fatores de risco para a doença. (QUINLEY, 2011)

#### **4.1 Transplantes de células-tronco hematopoiéticas (TCTHs)**

As células-tronco são células de origem embrionária presentes tanto na fase fetal quanto na adulta, e possuem três características que as distinguem dos outros tipos de células: são indiferenciadas e não especializadas; se dividem e se autorrenovam indefinidamente; e são capazes de se diferenciar em células especializadas quando submetidas a condições fisiológicas específicas. Dessa forma, células-tronco hematopoiéticas (CTHs) são células que possuem a capacidade de se autorrenovar e se diferenciar em células especializadas tanto do tecido sanguíneo quanto do sistema imune. (DULLEY et al., 2009)

E por conta destas características, o TCTHs, também chamado de transplante de medula óssea, tornou-se um dos tratamentos mais indicados para doenças hematológicas malignas e não malignas, pois a transferência de CTHs de um doador saudável promove a restauração da produção normal de células sanguíneas e imunológicas do receptor. Mas, para isso, é necessário que o sangue dos doadores passe por um tratamento com fatores estimuladores de colônia, para mobilizar as

células-tronco da medula e assim, facilitar a coleta das mesmas. (ABBAS et al., 2019; DULLEY et al., 2009; MANKARIOUS et al., 2020; SWEENEY; VYAS, 2019)

Feito isso, a ação terapêutica do TCTHs irá se basear no efeito enxerto *versus* tumor (EvT), caracterizado pela alorreatividade das células T contra células neoplásicas do hospedeiro. Isso acontece porque os preparados de CTHs alogênicos também contêm células do sistema imunológico do doador, como as células B e NK além das células T, que promovem o efeito mais potente e clinicamente relevante ao reconhecerem os antígenos tumor-específicos expressos nas células neoplásicas do hospedeiro. E essa interação entre os receptores das células T (TCRs) e o HLA presente na superfície das células neoplásicas, culmina na destruição das mesmas. (MURPHY, 2014; SWEENEY; VYAS, 2019)

No caso das células NK, sua resposta EvT é regulada pelos receptores KIRs (receptores imunoglobulina assassina), que estão presentes na superfície dessas células e são responsáveis pela regulação de sua função, ao promoverem sua inibição ou ativação. Assim, a célula é ativada quando os receptores reconhecem moléculas HLA de classe I (HLA-A, B, C e G principalmente) nas células-alvo, permitindo que sua função citotóxica seja desempenhada. (BAUMEISTER et al., 2020)

Além disso, a fonte de células-tronco também influencia no efeito EvT, assim como no risco de desenvolvimento de GvHD, sendo utilizadas as que são provenientes do sangue periférico, da medula óssea ou do cordão umbilical. O uso de células-tronco do sangue periférico (PBSC: *peripheral blood stem cell*) nos transplantes é o mais comum, considerando que o inóculo de CTHs possui uma maior quantidade de células T, o que fornece um efeito EvT mais potente e, conseqüentemente, um tratamento adequado para malignidades hematológicas. Além de que há maior facilidade na coleta, por dispensar a administração de anestésicos locais ao doador, algo necessário na coleta de medula óssea. Contudo, justamente por possuir um maior número de células T, o uso de PBSC aumenta os riscos de desenvolvimento de GvHD, tanto aguda quanto crônica. (DULLEY et al., 2009; SWEENEY; VYAS, 2019)

Quanto à coleta de medula óssea, é indicada para o tratamento de condições não malignas, pois possui menor quantidade de células T alorreativas e, por isso, também está relacionada com uma menor incidência de GvHD. Enquanto que o uso

do sangue do cordão umbilical acaba sendo limitado apenas para receptores jovens (geralmente crianças), porque embora seja rico em CTHs, elas são obtidas em pequenos volumes, e isso dificulta o efeito desejado. E por conta disso, a reconstituição hematológica e imunológica acaba sendo mais lenta nesses indivíduos, o que os deixa susceptíveis à infecções logo após o transplante. (DULLEY et al., 2009; SWEENEY; VYAS, 2019)

Assim, considerando o efeito terapêutico do TCTHs e as possíveis complicações clínicas pós-transplante, é necessário fazer uma espécie de triagem dos pacientes, para assim decidir quais indivíduos poderão se beneficiar do alo-TCTHs. Então, é realizada uma avaliação de risco específica do paciente, que considera fatores genéticos, citogenéticos e moleculares da doença em questão, e a possível resposta do paciente à terapia de indução e, com base nessas avaliações, se o paciente tiver maior risco de recidiva, e se a sobrevida livre da doença tiver uma chance de melhora de pelo menos 10%, o alo-TCTHs é recomendado. (SWEENEY; VYAS, 2019)

Nesse contexto, na tabela 1 estão presentes as principais doenças em que há a recomendação da realização do TCTHs como tratamento, sendo importante ressaltar que, em casos de recidiva da doença mesmo após o transplante, há a possibilidade de ser feita uma infusão de linfócitos do doador no paciente, na tentativa de produzir uma nova resposta EvT. Contudo, ainda há o risco de acabar induzindo uma GvHD. (SWEENEY; VYAS, 2019)

Tabela 1 – Principais doenças tratadas atualmente com CTHs.

<b>NEOPLASIAS</b>	<b>OUTRAS DOENÇAS</b>
<b>Leucemia mieloide aguda</b>	Amiloidose
<b>Leucemia linfoblástica aguda</b>	Anemia aplástica grave
<b>Leucemia mieloide crônica</b>	Hemoglobinúria paroxística noturna
<b>Síndromes mielodisplásicas</b>	Anemia de Fanconi
<b>Doenças mieloproliferativas</b>	Anemia de Blackfan-Diamond
<b>Linfoma não Hodgkin</b>	Talassemia maior
<b>Linfoma Hodgkin</b>	Anemia falciforme
<b>Leucemia linfocítica crônica</b>	Imunodeficiência combinada grave
<b>Mieloma múltiplo</b>	Erros inatos do metabolismo
<b>Leucemia mieloide crônica juvenil</b>	Lúpus eritematoso sistêmico
<b>Neuroblastoma</b>	Citopenias auto-imunes
<b>Carcinoma renal</b>	Vasculites sistêmicas
<b>Câncer de ovário</b>	Esclerose múltipla
<b>Tumores de células germinativas</b>	Doença de Crohn

Fonte: modificado a partir de DULLEY et al. (2009)

Outra aplicação para o TCTHs que vêm sendo bastante estudada, é sua utilização no transplante de órgãos sólidos para indução de tolerância dos receptores aos antígenos do doador, por ser capaz de produzir um estado de quimerismo (coexistência de células do doador e do receptor) que resulta na destruição ou inativação dos linfócitos alorreativos relevantes. (ROITT et al., 2013)

E para aumentar a taxa de sucesso do transplante, ainda é necessário que o receptor passe por um procedimento denominado regime de condicionamento pré-transplante, em que o sistema imune do hospedeiro sofre uma ablação praticamente total, ao ocorrer a redução das células imunológicas da medula por meio de um tratamento que combina altas doses de quimioterapia, imunoterapia e irradiação corporal. (ABBAS et al., 2019; REIS; VISENTAINER, 2004; SOUZA, 2019; SWEENEY; VYAS, 2019)

O procedimento tem duração de 14 a 21 dias, e também é capaz de promover a destruição das CTHs defeituosas do receptor, permitindo assim, a liberação de nichos para as células-tronco transferidas, preparando o organismo para receber

uma nova medula no período de pancitopenia. Com isso, ocorre o repovoamento da medula do receptor através das células-tronco inoculadas, que irão se diferenciar em todas as linhagens hematopoiéticas. (ABBAS et al., 2019; REIS; VISENTAINER, 2004; SOUZA, 2019; SWEENEY; VYAS, 2019)

Contudo, a velocidade da renovação e do crescimento dos leucócitos no sangue, chamado de enxertia medular ou “pega” da medula, ocorre gradativamente, e é o que vai determinar a intensidade da resposta EvT, que começa a ser atingida quando há aproximadamente 1000 células/mm<sup>3</sup>. E caso esse número não seja atingido, significa que houve “falha da pega”, que pode estar relacionada com a taxa de declínio dos leucócitos no sangue periférico decorrente do regime de condicionamento utilizado. (REIS; VISENTAINER, 2004; SOUZA, 2019)

Por isso, apesar do condicionamento intensivo do receptor diminuir as chances de desenvolvimento de GvHD, ao mesmo tempo em que favorece o enxerto hematopoiético ao reduzir as células T do receptor, tem como desvantagem a interferência na reconstituição imunológica pós-transplante, que se torna lenta e acaba permitindo o estabelecimento de infecções oportunistas, por conta da perda de memória imunológica contra agentes infecciosos imediatamente após o regime de condicionamento ou gradativamente após o transplante. Dessa forma, é necessária a realização de um programa de reimunização após o TCTHs, para que ocorra o restabelecimento dessa memória. (REIS; VISENTAINER, 2004; SWEENEY; VYAS, 2019)

#### **4.2 Doença do Enxerto versus Hospedeiro (GvHD)**

Como um dos principais problemas relacionados ao TCTHs, a GvHD, uma doença inflamatória sistêmica, pode se manifestar no pós-transplante na forma aguda ou crônica, que se diferenciam entre si através de seus mecanismos de ativação do sistema imune e das células que participam desse processo, como é demonstrado na tabela 2. Isso porque, enquanto a aguda resulta apenas na ativação de linfócitos T alorreativos, a crônica promove também a ativação de linfócitos B e consequente produção de anticorpos, além das células T auto e alorreativas. (ALVEZ et al., 2010; SOUZA, 2019; WOLFF; LAWITSCHKA, 2019)

Tabela 2- Tipos de células T e citocinas envolvidas na GvHD.

<b>GvHD</b>	<b>Células T</b>	<b>Citocinas produzidas</b>
<b>Aguda</b>	Th1	IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$
<b>Crônica</b>	Th2 e Th3	IL-4, IL-6, IL-10, TGF- $\beta$ 1

Fonte: modificado a partir de VIZONI et al. (2008)

Mas além da participação dessas células, a fisiopatologia da doença também está intrinsecamente relacionada com a produção de citocinas, proteínas secretadas por células responsáveis pela comunicação celular, e que influenciam toda a mobilização das células de defesa. Isso acontece porque são capazes de se ligarem aos receptores das membranas celulares e transferirem informações ao citoplasma por meio de outros componentes celulares, tornando possível assim, regular a magnitude das respostas imunes e influenciar no crescimento e diferenciação dos linfócitos. (ALVEZ et al., 2010; SOUZA, 2019)

E considerando que esses receptores estão presentes em diversos tipos celulares, o efeito das citocinas é extremamente amplo, dependendo apenas do microambiente tecidual e do tipo de célula que elas estão influenciando. Por isso, suas funções anti-inflamatórias e imunomoduladoras passaram a ser amplamente avaliadas na fisiopatologia da GvHD, pois em diversos casos foi observado um aumento de citocinas como fator de necrose tecidual (TNF- $\alpha$ ), interleucinas 1 e 6 (IL-1 e IL-6) e interferon-gama (IFN- $\gamma$ ) no soro de pacientes com GvHD, levando à uma associação dessas moléculas ao desenvolvimento da patologia. (ALVEZ et al., 2010; SOUZA, 2019)

Por isso, a doença aumenta o risco do paciente ser acometido por uma segunda neoplasia, que se torna ainda mais intensa caso seja acometido pela GvHD aguda e crônica simultaneamente. E quando isso acontece, recebe o nome de síndrome de overlap, comumente associada à um alto grau de mortalidade, com formação de cicatrizes e fibroses resultantes da apresentação indireta de aloantígenos pelas células apresentadoras de antígenos (APCs), que geralmente fazem parte do complexo MHC. (ALVEZ et al., 2010; SOUZA, 2019; WOLFF; LAWITSCHKA, 2019)

Mas além da incompatibilidade nos antígenos MHC, a GvHD também pode se originar das diferenças nos antígenos de histocompatibilidade secundários (mHag), peptídeos associados ao HLA que são encontrados em regiões polimórficas de proteínas presentes nas células-alvo do receptor e que, apesar de possuírem um grau limitado de polimorfismos, também podem ser reconhecidos pelas células T do doador e desencadear uma resposta imune mediada por linfócitos T e B. Assim, fazem parte deste complexo: antígenos mitocondriais; associados ao sistema ABO; do grupo HA; e os associados ao cromossomo Y (H-Y), um antígeno masculino específico que comumente está relacionado com o aumento da susceptibilidade de GvHD em casos de transplantes HLA idênticos entre indivíduos de sexos diferentes. (ALVEZ et al., 2010)

Sendo assim, diferenças genéticas relacionadas ao HLA são os principais fatores de risco para o desenvolvimento da doença, assim como os polimorfismos nos genes codificantes de citocinas, mas também há a influência da idade do paciente (quanto mais velho maior é o risco), das diferenças de gênero (doadora feminina e receptor masculino), aloimunização prévia do doador, soropositividade do receptor para citomegalovírus (CMV), e da própria profilaxia da GvHD, que causa imunossupressão no receptor. (HOLLER et al., 2019)

Outro fator de risco para a incidência de GvHD aguda principalmente, é a fonte de células-tronco, pois o uso de PBSC aumenta a probabilidade do paciente vir a desenvolver GvHD aguda, algo que não ocorre quando se utiliza sangue da medula ou do cordão umbilical, pois a criopreservação antes da infusão no receptor acaba dificultando o desenvolvimento da doença. Enquanto que para o acometimento da GvHD crônica, o paciente precisa desenvolver previamente a forma aguda da doença, o que significa que se o indivíduo possuir algum fator predisponente para GvHD aguda, conseqüentemente também estará susceptível à desenvolver GvHD crônica. (AZEVEDO, 2010; MICHONNEAU; SOCIÉ, 2019)

Outro aspecto importante é a variabilidade da reconstituição imunológica, que por estar relacionada à idade do paciente e ser dependente da função tímica e dos hormônios, acaba sendo imprevisível quanto aos efeitos e complicações que a realização do transplante pode causar no receptor. (WOLFF; LAWITSCHKA, 2019)

### 4.3 Fisiopatologia da GvHD aguda

A GvHD aguda ocorre no receptor algumas semanas pós-transplante de células alogênicas, e é caracterizada por uma reação inflamatória mediada por linfócitos T maduros do doador, transferidos juntamente com as CTHs. Assim, esses linfócitos acabam reconhecendo o tecido hospedeiro como não-próprio logo após o transplante, causando um efeito aloimune que tem como alvos as células epiteliais da pele, do fígado e do intestino. Mas, além dos linfócitos T, exames histológicos também indicam a participação das células NK nas lesões teciduais, que caso sejam muito extensas, a pele ou o revestimento do intestino acabam se desprendendo e levando o indivíduo à morte. (ABBAS et al., 2019; GODOY et al., 2019; HOLLER et al., 2019; MANKARIOUS et al., 2020)

Isso ocorre porque são enxertadas células imunocompetentes em um hospedeiro que possui antígenos incompatíveis, e que por ter sido previamente exposto ao regime de condicionamento, é incapaz de responder às células do enxerto. Isso permite a ativação e a proliferação dos linfócitos doadores, que atacam o tecido do hospedeiro e, por conta do dano tecidual, promovem a produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-1, IL-2 e IL-6, TNF- $\alpha$  e quimiocinas, aumentando também moléculas de adesão, co-estimulatórias, e antígenos HLA presentes no tecido. (GODOY et al., 2019)

Contudo, a ação dos linfócitos T no desenvolvimento da doença só ocorre após a ativação das APCs por padrões moleculares associados à patógenos (PAMPs) e DAMPs, que são liberados após um dano tecidual inicial no regime de condicionamento. Assim, ocorre o reconhecimento desses padrões pelos receptores de reconhecimento padrão (RRPs), como os receptores do tipo Toll (TLRs), que em alta expressão, principalmente o TLR5, estimulam a produção de citocinas. E como consequência, há a proliferação de monócitos e células T efetoras. (MANKARIOUS et al., 2020)

Isso vai dar início à cascata de reações da GvHD aguda, com TNF- $\alpha$ , IL-1 e IL-6 estimulando o aumento da expressão e do reconhecimento dos antígenos HLA e mHag, maturação das células dendríticas e ativação dos linfócitos T auxiliares (TCD4) do doador. Além disso, as citocinas também irão induzir a apoptose endotelial do trato gastrointestinal e, com isso, liberar lipopolissacarídeos (LPS), endotoxinas presentes em bactérias da microbiota intestinal que serão responsáveis

por aumentar o dano à mucosa e a produção de TNF- $\alpha$  e IL-6. (ALVEZ et al., 2010; VIZONI et al., 2008)

Os linfócitos TCD4 do tipo 1 (Th1) começam então a se proliferar, secretando IL-2 e IFN- $\gamma$  para induzir a expansão clonal de células NK e de linfócitos TCD4 e citotóxicos (TCD8). Assim, quando esses linfócitos reconhecem os antígenos HLA de classe I como estranhos, potencializam a ativação de TCD8, assim como o reconhecimento antigênico de HLA classe II estimula a ativação de TCD4. Mas, diferentemente do TCD8, os linfócitos TCD4 necessitam de um sinal co-estimulatório para serem ativados totalmente, dado pelo antígeno B7 presente nas APCs. Isso vai ativar os receptores CD28 e CTLA-4 dos TCD4 e iniciar então, a cascata inflamatória da GvHD aguda. (ALVEZ et al., 2010; VIZONI et al., 2008)

O IFN- $\gamma$  secretado, juntamente com o LPS liberado anteriormente, causam a ativação de fagócitos e células mononucleares na mucosa intestinal, assim como queratinócitos e fibroblastos na pele. Estes, serão responsáveis pelas manifestações tegumentares da GvHD aguda, além da produção de outras citocinas e mediadores pró-inflamatórios, como o óxido nítrico, que causam imunossupressão e dano tecidual direta ou indiretamente. (ALVEZ et al., 2010; VIZONI et al., 2008)

E embora as cascatas de reações causem inúmeras alterações fisiológicas, ainda podem ser equilibradas por citocinas supressoras produzidas pelo Th2, como IL-4 e, IL-10. Por isso, a intensidade da doença depende do equilíbrio entre as células T reativas (como Th1) e as supressoras (como Th2), além da ação das células T reguladoras (Tregs), que são capazes de regular negativamente a alorreatividade das células T tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Mas, ainda assim, a principal maneira de impedir o desenvolvimento de GvHD aguda é a eliminação das células T maduras presentes no enxerto. (GODOY et al., 2019; VIZONI et al., 2008)

#### **4.4 Fisiopatologia da GvHD crônica**

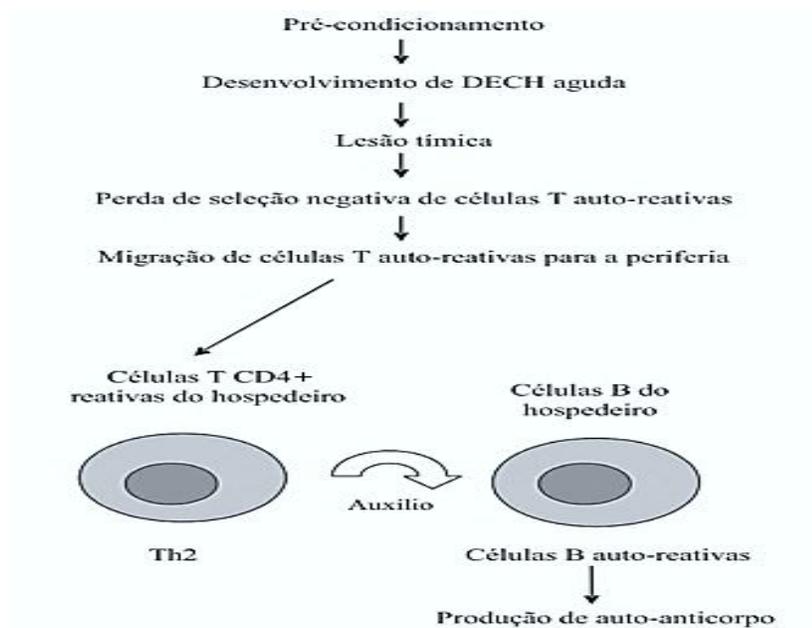
A GvHD crônica se caracteriza como uma síndrome multiorgânica semelhante às doenças autoimunes e do colágeno, que ocorre geralmente entre três meses e dois anos após o TCTHs mesmo sem evidências de que o paciente tenha sido acometido por GvHD aguda anteriormente. É causada pela ação das células T e B, que promovem fibrose e atrofia tecidual sem causar morte celular aguda, embora possa ocorrer comprometimento funcional nos órgãos afetados. Mas os pacientes

difícilmente percebem essas alterações, por isso é necessário a realização de um exame regular em todos os órgãos que podem ser afetados pela doença, para confirmar a GvHD crônica e classificá-la conforme a sua extensão, que pode ser chamada de limitada quando se localiza em um único órgão, ou de extensa, se afetar múltiplos órgãos. (ABBAS et al., 2019; SOUZA, 2019; WOLFF; LAWITSCHKA, 2019)

Isso acontece porque a fisiopatologia da doença é diferente da observada na GvHD aguda, pois envolve processos de autoimunidade. O dano epitelial é decorrente principalmente da presença de linfócitos TCD8 no infiltrado inflamatório, com participação de macrófagos, mastócitos, células NK e citocinas, que acabam comprometendo os mecanismos de tolerância imunológica ao afetar tanto a imunidade inata quanto a adaptativa. E isso acaba interferindo também na regulação dos linfócitos B e na função das células Tregs, por levar à formação de auto e aloanticorpos. (FARIA et al., 2008; GODOY et al., 2019; SOUZA, 2019; WOLFF; LAWITSCHKA, 2019)

Sendo assim, as cascatas de reações se iniciam quando os antígenos HLA do receptor são apresentados às células APCs do doador, desencadeando mecanismos inflamatórios crônicos que induzem a formação de fibrose por meio da ativação e degranulação crônica dos mastócitos. E para isso, é necessário que os linfócitos T do doador reconheçam as diferenças antigênicas de histocompatibilidade, assim como os linfócitos T auto reativos do receptor. Então, quando ativados, esses linfócitos promovem a lise da célula alvo e a produção das citocinas IL-4 e IFN- $\gamma$ , que serão responsáveis pela disfunção imunológica que ocorre na doença, ao ativarem as células B auto reativas capazes de produzir autoanticorpos que danificam o órgão alvo, como é demonstrado na figura 1. (FARIA et al., 2008; GODOY et al., 2019; SOUZA, 2019; VIZONI et al., 2008; WOLFF; LAWITSCHKA, 2019)

Figura 1 – Fisiopatologia da GvHD crônica em TCTHs.



Fonte: VIZONI et al. (2008)

A diferenciação dos linfócitos em Th1, Th2 e Th3 também influencia no desenvolvimento das lesões fibróticas características da GvHD crônica, pois ao secretarem IL-4, INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e fator de crescimento transformador- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), estimulam a produção de colágeno pelos fibroblastos, que acaba sendo depositado na pele por influência de mediadores solúveis presentes no tecido alvo. Além disso, a produção de TGF- $\beta$ 1 pelas células Th3, juntamente com IL-1 e TNF- $\alpha$ , prolonga a imunossupressão decorrente da GvHD crônica e estimula o aumento da síntese de matriz extracelular, provocando mudanças esclerodérmicas na pele (lesões crônicas do tecido dérmico). (ALVEZ et al., 2010; VIZONI et al., 2008)

#### 4.5 Influência do HLA na GvHD

A região cromossômica chamada de Complexo de Histocompatibilidade Maior (MHC) possui como um de seus variantes o sistema Antígeno Leucocitário Humano (HLA), que está localizado no braço curto do cromossomo 6 e consiste em uma das regiões mais polimórficas do genoma humano, com o intuito de ampliar o reconhecimento de antígenos estranhos a cada organismo. E por ser proveniente da herança genética de ambos os pais, uma mesma população pode possuir peptídeos

diferentes até no mesmo antígeno proteico. (ABBAS et al., 2019; QUINLEY, 2011; SWEENEY; VYAS, 2019)

Isso acontece porque os genes HLA responsáveis por codificar os antígenos de histocompatibilidade do sistema encontram-se agrupados e classificados em regiões I, II e III, e são expressos codominantemente na superfície celular, ou seja, a presença de um não suprime a expressão do outro. Sendo assim, a região I codifica as moléculas clássicas HLA-A, HLA-B e HLA-C, e as não clássicas, HLA-E, HLA-F, HLA-G; a II codifica as moléculas HLA-DR (produto dos alelos DRA, DRB1, DRB3, DRB4 e DRB5), HLA-DP (produto do DPA1 e DPB1) e HLA-DQ (produto do DQA1 e DQB1); e a III codifica entre outras moléculas, fatores do complemento e TNF. (HARMENING, 2015; QUINLEY, 2011)

Mas todos esses genes são herdados em conjunto, o que é chamado de haplótipo, e estão presentes em um único cromossomo, o que significa que cada filho herda dois haplótipos, um da mãe e um do pai. Então, de acordo com a Lei de Mendel, dois irmãos possuem 25% de chance de serem genotipicamente idênticos (compartilham dois haplótipos iguais), 50% de serem haploidênticos (compartilham um haplótipo), e 50% de serem HLA não idênticos (não compartilham nenhum haplótipo igual). E no caso de serem haploidênticos, a principal configuração alélica encontrada é: iguais para os alelos HLA A, B, C, DR e DQ, e diferentes para o alelo DP. (HARMENING, 2015; QUINLEY, 2011)

Essas configurações são importantes porque as moléculas HLA são responsáveis pelo processo de discriminação de elementos próprios de não próprios em níveis moleculares e celulares, ao apresentarem antígenos proteicos às células T e determinarem, assim, quais antígenos serão reconhecidos e considerados estranhos. Dessa forma, a expressão dessas moléculas aumenta conforme o nível de produção de citocinas se acentua durante as respostas imunes inatas e adaptativas, o que torna a herança dos alelos HLA um dos principais fatores de aceitação ou rejeição de enxertos em transplantes. (ABBAS et al., 2019; HARMENING, 2015)

Isso porque as moléculas de HLA classe I fazem a apresentação de antígenos às células TCD8 e são expressas em todas as células nucleadas do organismo, enquanto as moléculas de classe II apresentam peptídeos às células TCD4 e são expressas em células APCs, tornando-as assim, componentes de controle e modulação da resposta imune ao atuarem na defesa contra infecções, na

gravidez, na resistência à doenças, na autoimunidade e nas reações à transplantes. Por isso, o TCTHs precisa ser realizado com um doador que possui alelos HLA correspondentes ao receptor, porque isso reduz as chances de elaboração de respostas imunes tanto das células do paciente quanto das que estão presentes no enxerto, evitando rejeição do enxerto e GvHD, respectivamente. (ANDREANI et al., 2019; SWEENEY; VYAS, 2019)

Então, a maioria dos transplantes são feitos com doadores haploidênticos, ou seja, que possuem no mínimo 50% dos alelos HLA iguais aos do receptor, porém, mais de 65% dos receptores não possuem familiares compatíveis, o que torna necessário o uso de doadores não aparentados. Mas, estes só podem ser incompatíveis em apenas um ou dois alelos HLA (no HLA-A, B, C, DRB1 ou DPB1), pois uma maior incompatibilidade pode aumentar os riscos de GvHD e, conseqüentemente, diminuir o efeito terapêutico do transplante. (QUINLEY, 2011; SWEENEY; VYAS, 2019)

Mas isso vai depender também do tipo de diferença alélica, pois já foi constatado que a incompatibilidade nos alelos HLA-A, B e C é significativamente mais relevante do que a incompatibilidade nos alelos HLA-DP e DQ, por aumentarem o risco de mortalidade pós-transplante. Outra característica a ser considerada são as combinações dos aminoácidos na posição 116 do cromossomo e a compatibilidade dos ligantes KIRs presentes nas células NK, pois se houver diferenças entre receptor e doador, os ligantes do receptor acabam sendo destruídos pelas células NK do doador, que expressam antígenos HLA-A, B, C e G. (ANDREANI et al., 2019)

Contudo, a evolução das profilaxias, como a depleção de células T antes da realização do transplante, tornou a compatibilidade HLA quase que irrelevante. Mas como esses antígenos também possuem efeitos na reconstituição imune, diversos estudos começaram a buscar individualizar incompatibilidades HLA permissivas, ou seja, tornar tolerável uma incompatibilidade específica de alelos, como por exemplo, permiti-la nos alelos HLA C \* 03: 03, em que o doador possui o alelo incompatível HLA C \* 03: 04. Assim, essa estratégia melhora os resultados clínicos do TCTHs, ao reduzir os riscos de GvHD e aumentar as taxas de sobrevivência pós-transplante. (ANDREANI et al., 2019)

## 4.6 Manifestações clínicas

As manifestações clínicas da GvHD aguda ocorrem principalmente na pele, no trato gastrointestinal, no fígado e nos pulmões. Enquanto que a GvHD crônica pode afetar também os olhos, as articulações, os cabelos e a boca, o que acaba causando um maior impacto na qualidade de vida do paciente. (FUNKE et al., 2016; SWEENEY; VYAS, 2019)

Sabendo disso, no caso das manifestações cutâneas escleróticas ou não escleróticas, as lesões possuem morfologias diferentes de acordo com as camadas afetadas, e há a formação de eritemas, pruridos e erupções cutâneas maculopapulares principalmente em áreas do pescoço, orelhas, ombros, palmas das mãos e plantas dos pés. Além de que, nos casos mais graves, podem ocorrer lesões bolhosas, necrose epidérmica e destruição das glândulas sudoríparas presentes no epitélio, o que dificulta a sudorese e, conseqüentemente, aumenta o risco de hipertermia, já que o suor é um importante meio de controle da temperatura do organismo. (FUNKE et al., 2016; SWEENEY; VYAS, 2019; WOLFF; LAWITSCHKA, 2019)

Já no trato gastrointestinal, é comum quadros de náuseas, vômitos, diarreia crônica, dor abdominal, disfagia, síndrome da má absorção e, em alguns casos, até mesmo hemorragia, afetando o intestino e o pâncreas. Enquanto que no fígado, um dos órgãos mais afetados pela doença, ocorre a obstrução das vias biliares, impedindo a movimentação da bile até o intestino, o que é chamado de colestase, podendo evoluir para o desenvolvimento de uma cirrose biliar primária além do aumento dos níveis de bilirrubina total e fosfatase alcalina, que resultam em icterícia. (FUNKE et al., 2016; SOUZA, 2019; WOLFF; LAWITSCHKA, 2019)

As manifestações pulmonares e oculares causam respectivamente, obstrução progressiva e irreversível dos pulmões, que pode causar pneumonia, e inflamação da córnea, chamada de queratite seca. Enquanto que nas manifestações orais, estão incluídos eritemas, úlceras e destruição das glândulas salivares, que a longo prazo permitem a ocorrência de gengivites, periodontites, e o aumento de cáries dentárias. (WOLFF; LAWITSCHKA, 2019)

Além disso, cabelos e articulações também podem ser afetados. Nos cabelos, a alteração mais recorrente é o envelhecimento prematuro dos fios, que ocorre normalmente em crianças, por conta de modificações no couro cabeludo seborreico. Enquanto que o acometimento da fásia, uma membrana do tecido conjuntivo que

envolve os músculos, prejudica a mobilidade das articulações, tornando-a restrita. (WOLFF; LAWITSCHKA, 2019)

Dessa forma, devido ao acometimento de diversos órgãos, infecções virais secundárias também podem agravar a GvHD ou até mesmo ativá-la, caso o indivíduo ainda não esteja apresentado nenhuma manifestação. Por isso, é indicado a realização de uma biópsia no fígado para confirmar a presença ou ausência da GvHD mesmo sem qualquer manifestação clínica. (SOUZA, 2019; WOLFF; LAWITSCHKA, 2019)

#### **4.7 Diagnóstico**

O diagnóstico de GvHD é baseado nas manifestações clínicas da doença, sendo realizado primeiramente diagnósticos diferenciais para a exclusão de patologias que podem ser confundidas com as manifestações da GvHD aguda, como gastroenterites virais ou bacterianas, diarreias inflamatórias ou infecciosas, hepatites virais e eritema multiforme. E, após isso, exames histológicos, biópsia e testes laboratoriais para a confirmação de GvHD e seu estadiamento, pois o diagnóstico feito apenas pelos sintomas clínicos é considerado inadequado e insuficiente. (AZEVEDO, 2010; MANKARIOUS et al., 2020)

Portanto, na avaliação laboratorial, são analisados elementos que geralmente sofrem alterações quando a doença se desenvolve, por isso são feitas provas de coagulação e eletrólitos, exames bioquímicos (análise principalmente de potássio, magnésio, bicarbonato e sódio), testes de função pulmonar (TFP), para descartar causas tóxicas ou infecciosas; e de função hepática, que distingue GvHD de outras causas de icterícia e anomalias funcionais através de ultrassonografia hepática e da análise de proteínas totais, albumina, bilirrubina, fosfatase alcalina, ALT (alanina aminotransferase) e AST (aspartato aminotransferase). (AZEVEDO, 2010; MANKARIOUS et al., 2020; WOLFF; LAWITSCHKA, 2019)

Porém, no caso da GvHD crônica, por conta de suas inúmeras manifestações clínicas o Instituto Nacional da Saúde (NIH: *National Institutes of Health*) recomenda que o diagnóstico também seja feito considerando a quantidade de órgãos afetados, estabelecendo assim, um sistema de pontuação para a classificação geral da gravidade da doença, que pode ser leve, moderada ou grave de acordo com a

avaliação feita em cada órgão, como representado na tabela 3. (FUNKE et al., 2016; WOLFF; LAWITSCHKA, 2019)

Tabela 3 - Classificação geral da gravidade de GvHD.

<b>Gravidade Geral</b>	<b>Leve</b>	<b>Moderada</b>	<b>Grave</b>
<b>Nº de órgãos envolvidos</b>	1-2	≥ 3	≥ 3
<b>Gravidade dos órgãos</b>	Leve	Leve a moderada	Grave
<b>Acometimento dos pulmões</b>	Não ocorre	Leve	Moderado ou grave

Fonte: modificado a partir de WOLFF; LAWITSCHKA (2019)

Sendo assim, cada órgão-alvo é pontuado de 0 a 3, em que 0 representa nenhum envolvimento, e 3 representa comprometimento grave, para que então, seja feito o cálculo da severidade geral da doença através do número de órgãos envolvidos e da gravidade desse envolvimento, porque isso influencia no tratamento. (FUNKE et al., 2016; WOLFF; LAWITSCHKA, 2019)

Mas, atualmente, novos tipos de diagnóstico vêm sendo testados principalmente com o intuito de melhorar o prognóstico da doença, como é o caso do uso de biomarcadores, componentes biológicos do próprio organismo que sinalizam alguma alteração no mesmo, e que são específicos para cada patologia. Assim, no caso da GvHD, além de serem utilizados para o diagnóstico, os biomarcadores também podem ser úteis para avaliar a resposta ao tratamento a partir de seu início. (MANKARIOUS et al., 2020)

Esse é o caso do ST2 solúvel (proteína receptora da IL-1), um dos biomarcadores séricos considerados mais promissores para este fim, já que está relacionado ao dano tecidual e à função imune que ocorre na GvHD aguda. Isso o torna capaz de indicar a gravidade e o prognóstico da doença, pois foi observado um aumento do nível sérico de ST2 em pacientes 14 dias depois de serem transplantados, o que pode estar relacionado com um maior risco de desenvolvimento de GvHD aguda, inclusive da sua forma resistente ao tratamento. (MANKARIOUS et al., 2020)

Outro biomarcador promissor é o Reg3 $\alpha$  (proteína-1 associada a pancreatite humana), que tem se mostrado útil no diagnóstico e prognóstico de GvHD aguda gastrointestinal, pois seu nível sérico aumenta quando há riscos de GvHD aguda grave, indicando assim, um mau prognóstico após o tratamento. Já no caso da GvHD crônica, uma alternativa diagnóstica é a utilização das proteínas CXCL9 e CXCL10 como indicadores, por serem encontradas em níveis elevados no plasma de indivíduos com a doença, quando comparados a indivíduos saudáveis e transplantados que não desenvolveram GvHD crônica. (MANKARIOUS et al., 2020)

Contudo, o aumento sérico desses biomarcadores também pode estar relacionado com outras patologias, como microangiopatia trombótica, o que aumenta as chances de resultados falso-positivos. Por isso, também vêm sendo analisada a opção de utilizar mediadores celulares como as células endoteliais circulantes (CECs) para o diagnóstico, pois quando ocorrem as lesões no endotélio vascular que são características da doença, a quantidade de CECs aumenta, e retorna ao normal após a resposta ao tratamento. (MANKARIOUS et al., 2020)

Outro método avaliado é o monitoramento de subconjuntos de linfócitos por citometria de fluxo, pois ocorre o aumento de células TCD4 de memória central (Tcm) durante a GvHD aguda, assim como o aumento de células B de memória, Tregs e emigrante tímico recente (RTE). (MANKARIOUS et al., 2020)

#### **4.8 Tratamento**

O objetivo do tratamento é evitar lesões teciduais e prevenir a interrupção das funções do organismo através do uso de fármacos imunossupressores, que inibem diferentes vias de sinalização da formação e proliferação dos linfócitos T e, no caso de GvHD, podem ser usados como tratamento de primeira ou segunda linha, dependendo dos órgãos envolvidos, da gravidade dos sintomas e da terapia de profilaxia da doença aplicada antes do transplante. (FUNKE et al., 2016; MURPHY, 2014)

O tratamento de primeira linha tanto para GvHD aguda quanto para GvHD crônica é feito com corticosteroides como a prednisolona, administrada isoladamente ou em combinação com inibidores de calcineurina. Isso porque os corticosteroides têm como alvo as funções pró-inflamatórias de monócitos e macrófagos, atuando como anti-inflamatórios e imunossupressores ao reduzirem a reação inflamatória responsável por causar danos aos aloenxertos. Além de diminuir também a

quantidade de células TCD4, por conta de sua ligação com receptores intracelulares e genes reguladores, que resulta no bloqueio da síntese e secreção de citocinas como TNF, IFN- $\gamma$  e interleucinas, assim como de mediadores inflamatórios, que são responsáveis pelo recrutamento de leucócitos e pela formação das células efetoras. (ABBAS et al., 2019; ROITT et al., 2013; WOLFF; LAWITSCHKA, 2019)

Enquanto que os inibidores de calcineurina, ciclosporina e tacrolimo, atuam inibindo a transcrição de genes em células T, principalmente os que codificam citocinas como a IL-2. A ciclosporina se liga à proteína celular ciclofilina e forma o complexo ciclosporina-ciclofilina, que ao se ligar à calcineurina, acaba inibindo sua atividade enzimática, necessária para a ativação do fator de transcrição NFAT (fator nuclear de células T ativadas). Então, se o NFAT não é ativado, não ocorre a transcrição de IL-2 e de outras citocinas, o que resulta em um bloqueio da proliferação e diferenciação das células T dependentes de IL-2, incluindo as células Tregs, importantes para a regulação funcional do sistema imune, mas que acabam sendo reduzidas nesse processo. (ABBAS et al., 2019; ROITT et al., 2013)

Já na ação do tacrolimo, a inibição da calcineurina é feita através da ligação do fármaco com a proteína ligante FK506, que ao formar o complexo tacrolimo-FK506 se liga à enzima e causa o bloqueio de sua atividade. Além disso, a ciclosporina e o tacrolimo também afetam diretamente as células dendríticas, inibindo algumas de suas funções, como o processamento de antígenos, a síntese de TNF e IL-12, a expressão dos receptores de quimiocinas, e a migração celular. (ABBAS et al., 2019; ROITT et al., 2013)

Dessa forma, a combinação de corticosteroides e inibidores de calcineurina pode intensificar a imunossupressão causada pela GvHD, por conta da supressão tanto de respostas fisiológicas quanto patológicas, o que aumenta os riscos de infecções, complicações comuns nesse tipo de terapia por causarem a reativação viral de vírus como o citomegalovírus, adenovírus e Epstein-Barr. Ou ainda, possibilitar o estabelecimento de infecções fúngicas oportunistas, como candidíase e aspergilose, (ABBAS et al., 2019; ROITT et al., 2013)

E, embora em 20% a 50% dos casos ocorra a remissão completa da doença, o tratamento com altas doses desses fármacos pode causar resistência ou dependência aos corticosteroides, gerando um prognóstico ruim a longo prazo, com sobrevida global de apenas 5 a 30% dos indivíduos. Então, se os sintomas continuarem progredindo, ou se não houver melhora depois de 12 semanas de

tratamento, a doença é considerada refratária ao corticoide, o que torna necessário a utilização de terapias de segunda linha. (FUNKE et al., 2016; GODOY et al., 2019; MICHONNEAU; SOCIÉ, 2019; MURPHY, 2014; WOLFF; LAWITSCHKA, 2019)

Estas, envolvem diferentes drogas imunossupressoras, como inibidores da calcineurina (ciclosporina e tacrolimo), rapamicina (ou sirolimo), micofenolato de mofetila (MMF), fotoférese extracorpórea (ECP), globulina antitimócitos (ATG), anticorpos anti-receptor IL-2 (basiliximab), e agentes anti-TNF $\alpha$  (infiximab). Mas, apesar de serem muito úteis no tratamento, não são totalmente eficazes, principalmente quando o paciente não recebeu os corticosteroides como tratamento de primeira linha. (GODOY et al., 2019)

O fármaco rapamicina, também conhecido como sirolimo, promove a inibição da proliferação de células T dependentes de fatores de crescimento, pois se liga à proteína FKBP e forma o complexo rapamicina-FKBP, responsável por inibir a enzima mTOR (alvo da rapamicina em mamíferos), necessária para a tradução de proteínas que promovem a sobrevivência e a proliferação celular das células T efetoras sem prejudicar a função das Tregs, já que seu crescimento utiliza outras vias de sinalização. E, nesse contexto, outros fármacos que também atuam bloqueando funções enzimáticas são os antimetabólitos, como o metotrexato (MTX) e o MMF, que ao ser metabolizado em ácido micofenólico bloqueia a enzima inosina monofosfato desidrogenase, responsável pela síntese de nucleotídeos de guanina, utilizados na síntese de DNA. E isso acaba atingindo as células T em processo de proliferação nos tecidos, por conta da ausência de material genético. (ABBAS et al., 2019)

Já a ECP, outra terapia muito utilizada principalmente em casos de GvHD aguda refratária ou dependente de corticosteroides, promove diversos efeitos no sistema imunológico sem aumentar o risco de infecções ou de recaídas, por ser um tratamento imunomodulador (indução de imunotolerância ao auto e aloantígeno). Nela, ocorre a irradiação dos linfócitos circulantes no sangue periférico após sua coleta por aférese, ao serem tratados por um agente fotossensibilizador (geralmente 8-metoxipsoraleno) e expostos à luz ultravioleta, que vai induzir a apoptose das células. Assim, ao serem reinfundidos no paciente, esses linfócitos são fagocitados pelas APCs, induzindo uma resposta tolerogênica anti-inflamatória que vai resultar na diminuição da produção de citocinas pró-inflamatórias e consequente resposta de Th1 e Th17. (MANKARIOUS et al., 2020)

Outro tratamento de segunda linha é a utilização de diversos anticorpos monoclonais específicos para inibir uma parte da resposta imune, sendo direcionados à proteínas expressas ou secretadas pelas células imunológicas, neutralizando seu excesso local ou os mecanismos reguladores celulares naturais. É o caso do anticorpo ATG, que elimina as células T circulantes ao ativar o sistema complemento para opsonizá-las, e ainda, do anticorpo rituximabe, que causa a depleção de células B responsáveis pela produção de autoanticorpos que participam da fisiopatologia da GvHD crônica. (ABBAS et al., 2019; MURPHY, 2014)

Dessa forma, sabendo dos mecanismos de ação de cada terapia, é possível escolher a mais indicada para o paciente, de acordo as características da doença que ele apresenta. Assim, em casos de GvHD aguda de grau I, que afeta apenas a pele, é recomendado o uso de inibidores de calcineurina, agentes tópicos compostos por corticosteroides, e anti-histamínicos para controle do prurido, uma das manifestações mais comuns nesse grau. Já nos casos de GvHD aguda de grau II a IV, que ocorre em 40% dos receptores, a terapia padrão é o uso da prednisolona, mas como a chance de resposta ao tratamento diminui conforme a gravidade da doença aumenta, o fármaco é usado em uma terapia sistêmica, em que é feito o uso combinado de diversos fármacos além da prednisolona, como ciclosporina, MMF, ECP e rapamicina. (FUNKE et al., 2016; HOLLER et al., 2019)

E o mesmo ocorre com a GvHD crônica, que quando for leve e assintomática é tratada com corticosteroides tópicos, e quando possuir três ou mais órgãos afetados com pontuação a partir de 2, exige tratamento sistêmico. Assim, nesse contexto, novas modalidades terapêuticas para GvHD refratária vêm sendo estudadas, como a terapia com células estromais mesenquimais (CTMs), que pode ter um efeito modulador ao liberar moléculas que favorecem um ambiente anti-inflamatório ao suprimir a proliferação de linfócitos ativados, reduzir a produção de IFN- $\gamma$  e aumentar marcadores de ativação. Contudo, sua eficácia no tratamento de GvHD ainda não foi comprovada. (GODOY et al., 2019)

Mas, é importante ressaltar também que, durante e após o tratamento imunossupressor é recomendada a realização de uma avaliação da qualidade de vida sempre que possível, para análise da resposta ao tratamento e acompanhamento nutricional, físico, psicológico, odontológico, social e ocupacional, com o intuito de identificar possíveis recidivas e proporcionar uma vida saudável ao paciente. E, além disso, a revacinação com vacinas inativadas é imprescindível, já

que o tratamento também acaba atingindo as células de memória responsáveis pela imunidade à doenças infecciosas. (FUNKE et al., 2016; WOLFF; LAWITSCHKA, 2019)

#### 4.9 Profilaxia

A profilaxia é feita com o intuito de prolongar a imunossupressão das células T do doador, por meio da administração de agentes imunossupressores capazes de inibir vias de sinalização ou receptores de citocinas antes e depois do transplante. Sendo assim, a profilaxia usual para GvHD se inicia com a combinação de ciclosporina com MMF, e continua com o fármaco MAC (*Complexo Mycobacterium avium*) e inibidores de calcineurina combinados com MTX. (HOLLER et al., 2019; MICHONNEAU; SOCIÉ, 2019)

Contudo, a combinação de tacrolimo/ciclosporina com MTX é considerada o padrão ouro americano por seis meses após a realização de transplantes alogênicos, já que estudos demonstraram maior eficácia na aplicação dos dois fármacos quando comparada com a administração de apenas MTX, pois houve diminuição da incidência de GvHD aguda de graus II a IV em 32% dos receptores. Além da combinação de MMF ou de tacrolimo com a rapamicina, que vem sendo constantemente utilizada porque, quando comparada com tacrolimo e MTX, possui a mesma eficácia, porém menor toxicidade. (AZEVEDO, 2010; HOLLER et al., 2019; MICHONNEAU; SOCIÉ, 2019)

Mas além da utilização dos agentes imunossupressores, o procedimento também pode ser feito através de outras técnicas, como depleção de subpopulações de células T, soroterapia, eliminação de células T alorreativas, e administração de ciclofosfamida (PTCy) em altas doses, que consegue atenuar as células T alorreativas do doador e do hospedeiro, evitando assim, a GvHD. (BAUMEISTER et al., 2020; HOLLER et al., 2019)

E por conta do aumento da susceptibilidade à infecções devido à essa imunossupressão, também é necessário a realização de medidas profiláticas contra agentes infecciosos, com administração de antibióticos, antivirais e antifúngicos, além de orientações básicas sobre situações que o paciente precisa evitar, como exposição excessiva ao sol, e manutenção do tônus muscular quando estiver fazendo uso de corticosteroides, já que isso pode desencadear ou aumentar as reações da GvHD. (AZEVEDO, 2010)

Nesse contexto, vale ressaltar que a GvHD também pode ocorrer após uma transfusão sanguínea, e nesse caso, recebe o nome de Doença do Enxerto versus Hospedeiro Associada à Transfusão (GvHD-TA) e é considerada uma reação transfusional tardia. E apesar de possuir os mesmos mecanismos imunes da GvHD em transplantes de órgãos sólidos e de CTHs, a GvHD-TA possui uma alta taxa de mortalidade, e evolui para o óbito do paciente entre uma e três semanas depois do aparecimento dos primeiros sintomas. (HARMENING, 2015)

Isso ocorre porque os linfócitos responsáveis pelo desenvolvimento da doença estão presentes no componente sanguíneo transfundido, atacando o receptor e causando assim, uma aplasia medular profunda. Sendo assim, o diagnóstico definitivo da doença é feito através da identificação de linfócitos do doador na circulação sanguínea ou nos tecidos do receptor. (HARMENING, 2015)

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Dessa forma, considerando as características apresentadas, entende-se que o transplante de células-tronco hematopoiéticas visa ser uma alternativa importante e eficiente de tratamento para inúmeras doenças hematológicas, promovendo a cura e a melhora da qualidade de vida do paciente submetido ao transplante, ao combater as células neoplásicas ou defeituosas e auxiliar na renovação da medula óssea do receptor das células-tronco. Por isso, é imprescindível evitar a ocorrência da Doença do Enxerto versus Hospedeiro, que pode agravar o pós-transplante e até mesmo levar o indivíduo à morte, dada a sua complexidade e extensão de acometimento no organismo.

E para isso, são realizados inúmeros procedimentos profiláticos, sendo a compatibilidade HLA o principal fator a ser identificado e assegurado antes da realização do transplante, considerando o importante papel que o sistema desempenha nas respostas imunológicas.

## REFERÊNCIAS

ABBAS, et al. **Imunologia Celular e Molecular**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019.

ALVEZ et al. **Doença do Enxerto contra Hospedeiro (DECH): a maior complicação para o transplante e células-tronco hematopoéticas (TCTH)**. Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa, 2010. Disponível em: [http://nippromove.hospedagemdesites.ws/anais\\_simposio/arquivos\\_up/documentos/artigos/7b8276508841ef3763da07847d90c472.pdf](http://nippromove.hospedagemdesites.ws/anais_simposio/arquivos_up/documentos/artigos/7b8276508841ef3763da07847d90c472.pdf). Acesso em: 20 abr. 2020.

ANDREANI et al. **Human leucocyte antigen diversity: A biological gift to escape infections, no longer a barrier for haploidentical Hemopoietic Stem Cell Transplantation**. International Journal of Immunogenetics, 27 out. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/iji.12459>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/iji.12459>. Acesso em: 20 abr. 2020.

AZEVEDO, W. Doença enxerto versus hospedeiro aguda A- GVHD. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, SP, v. 32, Epub, Mai. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842010005000060>. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-84842010000700006&lang=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842010000700006&lang=pt). Acesso em: 20 abr. 2020.

BAUMEISTER et al. **Key Aspects of the Immunobiology of Haploidentical Hematopoietic Cell Transplantation**. Frontiers in Immunology, 14 fev. 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00191>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.00191/full>. Acesso em: 20 abr. 2020.

DULLEY et al. Células-tronco hematopoéticas: utilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, SP, v. 31, Epub. 22 mai. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842009005000032>. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-84842009000700009](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842009000700009). Acesso em: 20 abr. 2009.

FARIA et al. Ação dos linfócitos T regulatórios em transplantes. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, SP, v. 30, n. 04, Jul/Ago. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842008000400015>. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-84842008000400015](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842008000400015). Acesso em: 20 abr. 2020.

FUNKE et al. Acute and chronic Graft-versus-host disease after hematopoietic stem cell transplantation. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, SP, v. 62, Out. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/1806-9282.62.suppl1.44>. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0104-42302016001200044&lang=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302016001200044&lang=pt). Acesso em: 20 abr. 2020.

GARCIA et al. (org.). **Doação e Transplante de Órgãos e Tecidos**. Out. 2015. E-book. Disponível em: <https://www.transplante.org/wp-content/uploads/2017/07/LivroDoacaOrgaosTecidos2-1.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2020.

GODOY et al. **Clinical Translation of Mesenchymal Stromal Cell Therapy for Graft Versus Host Disease**. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 21 nov. 2019. DOI: 10.3389/fcell.2019.00255. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6881464/>. Acesso em: 20 abr. 2020.

HARMENING, M. D. **Técnicas Modernas em Banco de Sangue e Transfusão**. 6. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2015.

HOLLER et al. **Acute Graft-Versus-Host Disease**. Manual da EBMT: Transplante de células-tronco hematopoiéticas e terapias celulares [Internet]. 7ª edição, 2019. DOI: 10.1007 / 978-3-030-02278-5\_43. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553993/>. Acesso em: 20 abr. 2020.

MANKARIOUS et al. **Extracorporeal Photopheresis (ECP) and the Potential of Novel Biomarkers in Optimizing Management of Acute and Chronic Graft vs. Host Disease (GvHD)**. *Frontiers in Immunology*, 31 jan. 2020. DOI: 10.3389 / fimmu.2020.00081. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7005102/>. Acesso em: 20 abr. 2020.

MICHONNEAU D; SOCIÉ G. **GVHD Prophylaxis (Immunosuppression)**. Manual da EBMT: Transplante de células-tronco hematopoiéticas e terapias celulares [Internet]. 7ª edição, 2019. DOI: 10.1007 / 978-3-030-02278-5\_25. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554020/>. Acesso em: 20 abr. 2020.

MURPHY, K. **Imunobiologia de Janeway**. 8 ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

QUINLEY, D. E. **Immunohematology: principles & practice**. 3 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2011.

REIS A. L. M; VISENTAINER L. E. J. Reconstituição imunológica após o transplante de medula óssea alogênico. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, SP, v. 26, n. 03, Ago. 2004. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842004000300012>. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-84842004000300012](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842004000300012). Acesso em: 20 abr. 2020.

ROITT et al. **Fundamentos de Imunologia**. 12 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

SOUZA, A. F. P. **Doença do Enxerto versus Hospedeiro: Fisiopatologia e Implicações Clínicas**. 2019. Dissertação (Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação em Biomedicina) – Faculdade de Ciências da Educação e Saúde, Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2019.

SWEENEY, C; VYAS, P. **The Graft-Versus-Leukemia Effect in AML**. *Frontiers in Oncology*, 19 nov. 2019. DOI: 10.3389/fonc.2019.01217. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6877747/>. Acesso em: 20 abr. 2020.

VIZONI et al. Papel das citocinas na imunopatogênese da doença do enxerto contra o hospedeiro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, SP, v. 30, n. 02, Mar/Abr. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842008000200013>. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-84842008000200013&lang=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842008000200013&lang=pt). Acesso em: 20 abr. 2020.

WOLFF D; LAWITSCHKA, A. **Chronic Graft-Versus-Host Disease**. Manual da EBMT: Transplante de células-tronco hematopoiéticas e terapias celulares [Internet]. 7ª edição, 2019. DOI: 10.1007 / 978-3-030-02278-5\_44. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554028/>. Acesso em: 20 abr. 2020.