

## Anemia Aplástica Adquirida: Análise Retrospectiva de 13 Casos (1983-2000)

CONSTANÇA GOUVÊA PINTO, ANABELA FERRÃO, ANABELA MORAIS

Unidade de Hematologia Pediátrica  
Clínica Universitária de Pediatria  
Hospital de Santa Maria

### Resumo

A anemia aplástica é uma doença rara, grave com etiologia habitualmente desconhecida. Numerosas séries têm sido publicadas mas dados referentes à idade pediátrica são escassos. Descrevemos a experiência da Unidade de Hematologia Pediátrica do Hospital de Santa Maria com 13 casos acompanhados entre 1983 a Agosto de 2000. A idade média de apresentação foi de 8,1 anos, sendo o sintoma de apresentação mais frequente a discrasia hemorrágica. O tempo que decorreu entre o início dos sintomas e o diagnóstico foi de cerca de um mês. Dez casos tinham critérios de doença grave e destes três de muito grave. Dos doentes que realizaram terapêutica imunossupressora três obtiveram resposta completa e outros três resposta parcial. Dois doentes morreram sem resposta à terapêutica. Quatro doentes foram transplantados com dadores familiares idênticos e um com células progenitoras do sangue periférico da mãe após evolução para síndrome mielodisplásico e progressão para leucemia mielóide aguda. A terapêutica imunossupressora combinada constituiu um tratamento alternativo ao transplante de medula óssea na ausência de dados familiar idêntico. A evolução deste grupo foi boa para aqueles que responderam a qualquer das terapêuticas.

**Palavras-Chave:** Anemia Aplástica; resposta hematológica; terapêutica imunossupressora, transplante medula óssea.

### Summary

#### Acquired Aplastic Anaemia: Retrospective Analysis of 13 Cases (1983-2000)

Aplastic anaemia is a rare, severe disease of mainly unknown origin. Numerous series have been published although reports in the paediatric age group are scanty. We describe the experience of 13

cases followed up by the Haematology Unit at Santa Maria Hospital, between 1983 and August 2000. The median age at presentation was 8,1 years and most children presented with bleeding manifestations. The period of time between presenting signs or symptoms and diagnosis was one month. Severe aplastic anaemia occurred in ten cases, three of them met the criteria defined as very severe. Of the cases that underwent immunosuppressive therapy, three obtained a complete response and another three a partial response. Two cases considered as nonresponders died. Four patients were transplant recipients of matched related donors and one patient who developed a myelodysplastic syndrome with progression to acute myeloid leukaemia received a peripheral blood progenitor stem cell transplantation. Combined immunosuppressive therapy is an alternative treatment for aplastic anaemia patients who do not have a matched sibling donor. Long-term outcome was good for patients who responded to either form of therapy.

**Key-Words:** Aplastic anaemia; haematology response; immunosuppressive therapy; bone marrow transplantation.

### Introdução

A Anemia Aplástica (AA) é uma doença rara e grave, caracterizada por uma redução ou ausência de produção das células sanguíneas na medula óssea (eritrócitos, granulócitos e plaquetas) que resulta numa pancitopenia no sangue periférico. A redução das células maduras no sangue periférico pode ser devido a redução no número ou na actividade funcional dos progenitores medulares <sup>(1)</sup>.

A AA é classificada segundo a classificação de *Nathan* em adquirida e hereditária (genética mas não expressa ao nascer). Outros autores consideram ainda a forma congénita (expressa ao nascer). A incidência anual é de 1-2/1.000.000, sendo mais comum no Oriente <sup>(1, 2, 3)</sup>. A variação geográfica é aparentemente devida a factores ambientais e não genéticos. A distribuição etária tem um pico na 1.ª infância, devido à inclusão da causa hereditária, outro pico aos 20-25 anos e outro após os 60 anos.

Correspondência: Constança Gouvêa Pinto  
Unidade de Hematologia Pediátrica  
Clínica Universitária de Pediatria  
Hospital de Santa Maria  
Av. Prof. Egas Moniz  
1699 Lisboa

Aceite para publicação em 20/10/2000.  
Entregue para publicação em 12/09/2000.

O início da AA é habitualmente insidioso e o diagnóstico diferencial pode ser difícil nas fases iniciais da doença quando esta afecta apenas uma série. Em cerca de um quarto dos doentes pode aparecer como citopénia isolada e ocorrer pancitopénia no decurso de meses. O aspirado da medula óssea mostra hipoplasia dos precursores hematopoiéticos e desitopoiese relacionada com o stress medular. O diagnóstico é feito por biópsia óssea que mostra uma medula hipocelular com infiltração por tecido adiposo <sup>(1, 4)</sup>.

O objectivo deste trabalho foi rever a experiência da nossa Unidade numa doença rara mas na qual a gravidade dos casos individuais, as complicações associadas e a actual sobrevida com as terapêuticas alternativas revestem-na de considerável interesse.

ram cerca de 1 mês antes do diagnóstico. As características clínicas do grupo estudado estão descritas no **Quadro I**.

O diagnóstico foi confirmado por aspirado da medula óssea, biópsia óssea e estudo do cariótipo medular. Para classificação da gravidade da doença foram utilizados os critérios de gravidade de *Camitta* (**Quadro II**).

**Tratamento e resposta:** Os regimes terapêuticos foram definidos por uma série sequencial de protocolos que foram usados durante o período da análise. Com excepção do tratamento a curto prazo com androgéneos e corticóides em baixas doses, o transplante de medula óssea (TMO) e a terapêutica imunossupressora combinada foram as estratégias terapêuticas. Todos os doentes receberam tratamento de suporte adequado independentemen-

#### QUADRO I

Características clínico-laboratoriais dos doentes com AAA

N.º	Hb (g/dl)	Ret < 1%	Neut/mm <sup>3</sup>	Plaq 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	MO < 25%	Infecção	Hemorragias
1	9,0	+	<100	<10	+	+	1,2,3
2	10,7	+	<100	<10	+	+	1,2
3	10,5	+	1.300	12	+	+	1
4	5,9	+	<500	17	+		
5	6,0	+	<500	<10	+		1
6	5,1	+	1.100	<10	+	+	1,2,3
7	5,4	+	<500	<10	+		1
8	8,4	+	<500	<10	+		1
9	7,1	+	700	33	+		1
10	9,0	+	750	20	+		1
11	7,2	+	600	12	+		1
12	7,6	+	<200	<10	+		1,2
13	6,3	+	<500	<10	+	+	1,2,3

Abreviaturas: Hb - Hemoglobina; Ret - reticulócitos; Neut - Neutrófilos; Plaq - Plaquetas; MO - Medula óssea

A hemorragia foi classificada em 1 = ligeira (equimoses e petéquias)

2 = moderada (epistaxis e gengivorragias)

3 = grave (hematúria, hematemeses, melenas...)

#### Material e Métodos

**Doentes:** Todas as crianças com diagnóstico de Anemia Aplástica Adquirida (AAA) realizado de 1983 a 2000 foram incluídas na análise retrospectiva. Um total de 13 crianças, foram diagnosticadas com AAA com uma idade média no diagnóstico de 8,1 anos (intervalo 2-15 anos). Em todos os casos não foi detectada causa, excepto numa criança que apresentava marcadores serológicos para hepatite C. A distribuição anual foi de 1 caso/ano com excepção dos anos de 1990, 1997, 1999 e 2000 com 2 casos/ano. As manifestações clínicas aparece-

#### QUADRO II

Critérios de gravidade da AA (*Camitta e col, 1982*)

AA grave		
granulócitos	< 500/ $\mu$ l	
plaquetas	< 20.000/ $\mu$ l	2 dos critérios
reticulócitos	< 1% corrigido p/ a HT	
+		
B. Óssea	< 25% da celularidade N	
AA moderada		
Pancitopénia de origem medular que não reúne os critérios anteriores		

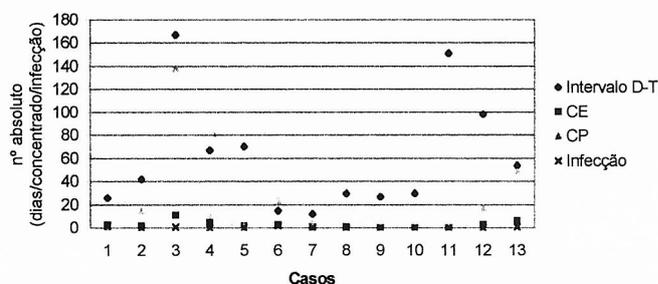
te do tratamento específico escolhido. Foram utilizados os critérios de resposta hematológica de *Bacigalupo*: 1) Resposta Completa (RC) – independência de transfusões, Hb  $\geq$  11 gr/dl, Neut  $\geq$  1.500/mm<sup>3</sup>; Pla $\geq$  100.000/mm<sup>3</sup>; 2) Resposta Parcial (RP): independência de transfusões, Hb  $\geq$  8 gr/dl, Neut  $\geq$  500/mm<sup>3</sup>, Pla $\geq$  20.000/mm<sup>3</sup>; 3) Sem Resposta (SR): dependência de transfusões.

## Resultados

Das 13 crianças, nove eram do sexo feminino e quatro do sexo masculino, das quais nove caucasianos e quatro de raça negra. O sintoma de apresentação mais comum foi a discrasia hemorrágica (12 casos). A discrasia foi ligeira em sete casos, moderada em três e grave em três casos com hemorragia visceral. Os sintomas e sinais estiveram presentes um mês antes do diagnóstico na maioria das crianças. A contagem plaquetária foi  $<$  20.000/mm<sup>3</sup> excepto num caso com 33.000/mm<sup>3</sup>, oito tinham neutrófilos  $<$  500/mm<sup>3</sup>, dos quais três apresentavam critérios de neutropenia grave. Todas apresentavam reticulocitopenia  $<$  1% e celularidade da medula óssea  $<$  25%. Todos os casos preenchiam os critérios de AA grave (três dos quais critérios de muito grave com neutrófilos  $<$  200/mm<sup>3</sup>) com excepção de uma criança com AA moderada que obteve uma resposta espontânea em 9 meses após o diagnóstico. Correlacionando os sinais de discrasia hemorrágica com a infecção observada, verificamos que a maioria das crianças com hemorragia ligeira não apresentou infec-

ção e que foi nas com hemorragia grave que se encontrou o maior número de infecções.

Analisando o tempo de espera até ao início de terapêutica específica e a quantificação dos concentrados de plaquetas (CP), eritrócitos (CE) e o número de infecções, verificamos que no caso três com um tempo de espera até ao início do tratamento de 167 dias, houve o recurso a um número elevado de CP e CE. Observamos ainda que o espaço de tempo desde o diagnóstico até o início de terapêutica na maior parte das crianças foi inferior a 30 dias. Os casos 5, 11, 12 e 13 foram transplantados (**Gráfico 1**).



**GRÁFICO 1:** Correlação do intervalo de tempo entre o diagnóstico e início de tratamento com suporte transfusional e infecção.

## QUADRO III

Esquemas terapêuticos, resposta hematológica (n=13)

Ano de D	Intervalo do D ao início do T (dias)	Suporte transfusional U		Regime Terapêutico	Resposta hematológica (anos)			
		CE	CP		RC	RP	SR	RE
1983	26	3	–	A,B	16			
1984	42	2	15	B,D			† D120	
1989	167	11	138	A,B,D			† D130	
1990	67	4	11	A,B,C	9			
1990	70	2	2	TMO	9			
1995	15	3	24	A,B,C	5			
1996	12	1	4	A,B,C,E		1 *		
1997	30	1	–	A,B,C,E		3		
1997	27	–	–	–				9 meses
1999	30	–	–	A,B,C		1		
1999	151	–	2	TMO	4 meses			
2000	98	3	17	TMO	4 meses			
2000	54	6	49	TMO	4 meses			

Abreviaturas: D - Diagnóstico; T - Tratamento; U - Unidades; CE - concentrado eritrócitos; CP - concentrado plaquetário; RC - resposta completa; RP - resposta parcial; SR - sem resposta; RE - resposta espontânea; † - morte

**Esquema terapêutico:** A - metilprednisolona; B - ATG de cavalo; globulina antimicócito; C - CSA: ciclosporina A; D - oximetolona; E - G-CSF: factor de crescimento colónias granulocitárias; TMO - transplante medula óssea

\* Após transplante células progenitoras sangue periférico da mãe

A resposta clínica à terapêutica imunossupressora e ao TMO está descrita no **Quadro III**. Seis doentes (46%) obtiveram resposta completa, três resposta parcial (23%). Adicionalmente dois doentes não responderam (15%), com sobrevida de 120 e 130 dias. A causa de morte foi hemorragia intracraniana e septicemia. Um dos doentes submetido a TMO tem um seguimento de 4 meses com boa evolução; dois têm 2 meses pós transplante com boa resposta hematológica; o outro com resposta completa tem uma sobrevida de 9 anos. Alguns dos doentes com resposta completa realizaram ciclos de imunossupressão com intervalos de 6 meses.

Uma das crianças foi submetida a 3 ciclos de imunossupressão combinada e 2 anos e 4 meses depois desenvolve um síndrome mielodisplásico; 5 meses depois uma leucemia mieloide aguda M4; 7 meses mais tarde é submetida a transplante de células progenitoras do sangue periférico da mãe estando em recuperação hematológica há 11 meses. Este caso ilustra o espectro de evolução da AA e das complicações da terapêutica imunossupressora.

### Discussão

Os critérios de gravidade de *Camitta* vieram fazer uma distinção importante com implicações no diagnóstico e escolhas terapêuticas<sup>(5)</sup>. A proporção de AA grave que encontramos é elevada, sendo estes achados coincidentes com os resultados de uma das maiores séries baseada em estudos multicêntrico prospectivo e abrangendo 292 casos, dos quais 38 iniciaram a doença antes dos 15 anos<sup>(3)</sup>.

Um indicador de mau prognóstico é a contagem de neutrófilos absoluta  $< 200/\text{mm}^3$ <sup>(6)</sup>. No nosso estudo três crianças apresentavam critérios de AA muito grave, uma das quais com evolução fatal. Em estudos anteriores um valor elevado de contagem de neutrófilos absoluta foi correlacionado com uma maior resposta à terapêutica imunossupressora e uma maior taxa de sobrevida<sup>(7,8)</sup>. Outro factor prognóstico associado com melhoria da sobrevida após o TMO é o menor número de transfusões referido pelo *European Bone Marrow Transplant Registry*<sup>(6)</sup>. Factores não significativamente correlacionados com a sobrevida incluem duração da doença, ano de terapêutica, sexo, exposição prévia a corticóides e androgéneos<sup>(8)</sup>.

O tratamento de suporte adequado é no entanto essencial, independentemente do tratamento específico escolhido e nos últimos anos aumentou substancialmente a sobrevida. O suporte transfusional alterou a principal causa de morte que passou da hemorragia para a infecção. O protocolo actual da Unidade para o suporte transfusional preconiza tipagem HLA prévia e transfusão com sangue desleucocitado e irradiado para valores de Hb  $< 6$  gr/dl,

sendo que cada vez mais não é o valor de hemoglobina por si mas a sintomatologia a ditar a necessidade de transfundir. O recurso a CP faz-se com valores  $< 5.000$   $\text{mm}^3$ , ou  $10.000$   $\text{mm}^3$  e febre, ou se houver discrasia hemorrágica, preferencialmente de dador único não familiar.

Tem sido prática a utilização de CP profilaticamente para evitar a hemorragia, mas trabalhos recentes demonstram não parecer diminuir a mortalidade o uso de CP em relação à utilização quando existe apenas discrasia hemorrágica. Os doentes neutropénicos febris foram tratados de forma precoce com antibióticos de largo espectro.

De acordo com estudo publicado pelo *EBMT Severe Aplastic Anaemia Working Group* nos doentes com AA não grave mas dependentes de transfusões recomenda-se o tratamento com globulina antitimócito (ATG) e ciclosporina A (CSA) para obter uma resposta mais precoce, maior probabilidade de resposta, e diminuição da progressão da doença<sup>(9)</sup>. No nosso único caso obtivemos uma resposta espontânea em 9 meses, com boa evolução posterior.

O TMO de dador HLA idêntico é o tratamento de eleição e sabe-se que o sucesso é tanto melhor quanto mais precoce<sup>(1,3,8)</sup>. No TMO o que se pretende é transplantar *stem cells* (células pluripotenciais marcadas  $\text{CD}_{34}$ ), o que se pode fazer através do clássico TMO ou através de células do cordão ou de células progenitoras do sangue periférico. O ideal é o dador irmão HLA idêntico mas 75% dos casos não têm irmão compatível sendo outra opção os dadores alternativos. A taxa de sobrevida do TMO de irmão HLA idêntico segundo o *EBMT* é de 60% a 70% e outros trabalhos apontam para cerca de 92%<sup>(10,11)</sup>. As taxas de sobrevida com dadores familiares alternativos são inferiores e dependem dos esquemas de condicionamento utilizados. Os dados na literatura sobre dadores não familiares são escassos, mas existe elevada mortalidade precoce por rejeição de enxerto. Em Pediatria, apesar do TMO ser a 1.<sup>a</sup> linha de tratamento este tem riscos. A mortalidade e morbidade está relacionada com a infecção; a rejeição do enxerto (actualmente a diminuir por utilização mais criteriosa de transfusões de sangue); com a doença enxerto *versus* hospedeiro em que a utilização de ciclosporina A e os esquemas de condicionamento têm diminuído a gravidade.

Baseados nos mecanismos imunes implicados na causa da AA têm sido utilizados vários regimes de imunossupressão como a globulina antitimócito ou antilinfócito; a ciclosporina (inibidor da função das células T, impedindo a produção de IL2 e IFN $\gamma$ ); a imunossupressão intensiva tripla (ATG + ciclosporina + corticóides) claramente mais eficaz em estudos recentes, baseada na eficácia clínica de cada agente individual potenciando os modos de acção<sup>(9,12)</sup>. O *EBMT* refere uma taxa de sobrevida

de 92% aos 36 meses sendo referido que na ausência de dador HLA idêntico o tratamento com imunossupressão tripla é uma alternativa melhor que os dados alternativos<sup>(12)</sup>. Nos nossos doentes, a partir de 1990, foi utilizado este tratamento, alguns com ciclos com 6 meses de intervalo tendo obtido resposta hematológica completa em três e parcial em três doentes, confirmando os dados da literatura em que um dos problemas é a resposta parcial com o risco de infecção, pelo que iniciaram factor de crescimento de colónias de granulócitos (G-CSF). A adição de factor de crescimento de colónias de granulócitos ou granulócitos-macrófagos aos regimes de imunossupressão parece melhorar a taxa de sobrevivência devido à protecção contra a infecção. Estudos *in vitro* evidenciam que o G-CSF poderá compensar uma disfunção das células CD<sub>34</sub> na sua resposta à IL3<sup>(13)</sup>.

O aparecimento de complicações tardias, como a recaída, tumores sólidos e doença hematológica clonal é outro problema da imunossupressão. A incidência de complicações tardias varia de centro para centro. Num trabalho recente do EBMT com 860 doentes que realizaram terapêutica imunossupressora e probabilidade de desenvolver doença hematológica maligna foi de 18,8%<sup>(14)</sup>. Na nossa série temos um caso paradigmático em que 2 anos após a recuperação hematológica surge um síndrome mielodisplásico e subsequentemente leucemia mielóide aguda. Tem sido postulado que a AA será uma pré-leucemia pela evidência que nos transplantados submetidos a TMO com regimes de condicionamento com ciclofosfamida não desenvolvem esta complicação possivelmente por irradicação do clone anormal<sup>(8, 10)</sup>.

A nossa análise deve ser interpretada à luz dos diferentes resultados entre os vários centros. Os regimes terapêuticos que aplicamos foram heterogêneos e a terapêutica imunossupressora incluiu combinações de globulina antitimócito, de corticóides, de ciclosporina A e de factores de crescimento, numa tentativa de obter a resposta completa.

A taxa de sobrevivência da AA, encontrada na literatura para idade pediátrica varia de 79% após um ano e 68% em 5 anos e 34% no estudo epidemiológico multicêntrico francês<sup>(3, 15)</sup>. A AA é uma doença rara, com uma elevada mortalidade, em que novas abordagens terapêuticas tanto para o TMO como para a imunossupressão estão a ser redefinidas.

## Bibliografia

1. Doyle JJ, Freedman MH. Acquired aplastic anemia. In: Lilleyman JS, Hann IM, Blanchette VS, eds. *Pediatric Hematology*. 2<sup>nd</sup> edition. London: Churchill Livingstone, 1999: 5-63.
2. Alter BP, Young NS. Bone marrow failure syndrome. In: Nathan DG, Oski SH, eds. *Nathan and Oski's - Hematology of infancy and childhood*. 5th edition. Philadelphia: WB Saunders Company, 1999: 237-335.
3. May JY, Baumelou E, Guiguet M, French Cooperative Group Epidemiological Study Aplastic Anemia. Epidemiology of aplastic anemia in France: a retrospective multicentric study. *Blood* 1990; 75(8): 1646-53.
4. Lanzkowsky P. Bone marrow failure. In: Philip Lanzkowsky, eds. *Manual of Pediatric Hematology and Oncology*. 2<sup>nd</sup> edition. New York: Churchill Livingstone, 1999: 77-96.
5. Camitta BM, Thomas ED, Nathan DG. Severe aplastic anemia: a prospective study of the effect of early marrow transplantation on acute mortality. *Blood* 1976; 98: 63-70.
6. Bacigalupo A, Hows J, Gluckman E. Bone marrow transplantation versus immunosuppression for the treatment of severe aplastic anaemia: a report of the EBMT SAA Working Group. *Br J Haematol* 1988; 70: 177-82.
7. Marsh JC, Hows J, Bryett KA, Al-Hashimi I, Fairhead SR, Gordon-Smith EC. Survival after antilymphocyte globulin therapy for aplastic anemia depends on disease severity. *Blood* 1987; 70: 1046-52.
8. Doney K, Leisenring W, Storb R, Apperbacem R. Primary treatment of acquired aplastic anemia: outcomes with bone marrow transplantation and immunosuppressive therapy. *Am Intern Med* 1997; 126: 107-15.
9. Marsh J, Schrezenmeir H, Marin P, Ilham O, Ljungman P, McCann S et al. Prospective randomized multicenter study comparing cyclosporin alone versus the combination of antithymocyte globulin and cyclosporin for treatment of patients with non severe aplastic anemia: a report from the European Blood and Marrow transplant (EBMT) Severe Aplastic Anaemia Working Party. *Blood* 1999; 93(7): 2191-5.
10. Dug HJ, Leisenring W, Storb R, Nins J, Flower ME, Witherspoon R et al. Long-term outcome after marrow transplantation for severe aplastic anemia. *Blood* 1998; 91(10): 3637-45.
11. Storb R, Etzioni R, Anasetti C, Appelbaum FR, Buckner CD, Bensinger W et al. Cyclophosphamide combined with antihymocyte globulin in preparation for allogenic marrow transplant in patients with aplastic anemia. *Blood* 1994; 84(3): 941-9.
12. Bacigalupo A, Broccia G, Corda G, Arcese W, Carotenuto M, Gallamini A et al. Antilymphocyte globulin, cyclosporin and granulocyte colony-stimulating factor in patients with acquired severe aplastic anemia (SAA): a pilot study of the EBMT SAA Working Party. *Blood* 1995; 85(5): 1348-53.
13. Scoper J, Daly S, Atkinson R, Ball S, Gordon EG, Gilson FP. Aplastic anemia: evidence for dysfunctional bone marrow progenitor cells and the corrective effect of granulocyte colony-stimulating factor in vitro. *Blood* 1996; 87(8): 3179-85.
14. Socil G, Heuy-Amar M, Bacigalupo A, Hows J, Tichetti A, Ljungman P et al. Malignant tumors occurring after treatment of aplastic anemia: European Bone Marrow Transplantation Severe Aplastic Anaemia Working Group. *N Engl J Med* 1993; 329: 1152-7.
15. Clausen N, Kreuger A, Salmi T, Storm-Mathisen I, Johanneson G. Severe aplastic anaemia in the Nordic countries: a population based study of incidence, presentation, course and outcome. *Arch Dis Child* 1996; 74: 319-22.