

Revisão / Review

Papel das citocinas na imunopatogênese da Doença do Enxerto contra o Hospedeiro

Role of cytokines in the immunopathogenesis of Graft-versus-Host Disease

Silvana L. Vizoni¹Sofia R. Lieber²Cármino A. de Souza³Ana Maria Sell⁴Jeane E. L. Visentainer⁴

O transplante de células progenitoras hematopoéticas é o tratamento de escolha para muitas doenças hematológicas e imunodeficiências primárias. A doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) é ainda uma grave complicação após o transplante alogênico e a principal causa de mortalidade e morbidade. O estudo da patogênese da DECH auxilia no desenvolvimento de medidas preventivas da doença, assim como na escolha de terapias imunossupressoras adequadas de tratamento. Este estudo discute os principais componentes imunológicos envolvidos na patogênese da DECH aguda e crônica, com ênfase à participação das citocinas e seu controle. Rev. bras. hematol. hemoter. 2008;30(2):142-152.

Palavras-chave: Transplante de células progenitoras hematopoéticas; Doença do enxerto contra o hospedeiro; citocinas.

Introdução

A doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) é uma das principais complicações após o transplante alogênico de células progenitoras hematopoéticas. Esta doença comumente ocorre quando células imunocompetentes do doador atacam tecidos do receptor geneticamente diferente, sendo considerada causa da alta morbidade e mortalidade ainda observada nos indivíduos transplantados.

A imunopatogênese da DECH foi revisada neste estudo com o objetivo de elucidar a participação de componentes imunológicos na forma aguda e crônica da doença, principalmente as citocinas. Atualmente tem sido descrito que muitas citocinas estão envolvidas no desenvolvimento da DECH aguda, após o transplante alogênico de células progenitoras hematopoéticas, como uma cascata durante a ativação sequencial de monócitos e células T. Citocinas inflamatórias liberadas durante o regime de condicionamento, por exemplo, TNF- α (*Tumour Necrosis Factor- α*), interleucina-1

(IL-1) e interleucina-6 (IL-6) possuem um papel primário em ativar células T. Estas citocinas podem promover a ativação de células T derivadas do doador, as quais secretam várias outras citocinas, predominantemente IL-2 e IFN- γ (Interferon- γ), que induzem respostas de linfócitos T citolíticos, células NK (*natural killer*) e fagócitos mononucleares a produzirem IL-1 e TNF- α . Existe forte evidência de que estas citocinas e a citotoxicidade mediada por células levem à lesão tecidual durante a DECH aguda.^{1,2}

Os mecanismos imunológicos envolvidos na patogênese da DECH crônica vêm sendo elucidados mais recentemente. Eles são distintos daqueles da DECH aguda e mais complexos por envolverem processos de auto-imunidade. Células T auto-reativas parecem ter participação determinante nesta doença, gerando citocinas, como IFN- γ e IL-4, as quais estão ligadas à produção de auto-anticorpos. Além disso, outras citocinas como IL-1, TNF- α e TGF- β 1 (*Transforming Growth Factor- β 1*) também têm sido descritas como mediadoras de processos imunológicos que

¹Especialista em Imunogenética, Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR.

²Biomédica no Laboratório HLA, Hemocentro, Unicamp, Campinas-SP.

³Professor Titular de Hematologia da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp, Campinas-SP.

⁴Professora de Imunologia (PhD), Departamento de Análises Clínicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR.

Correspondência: Jeane Eliete Laguilha Visentainer

Departamento de Análises Clínicas – Universidade Estadual de Maringá

Av. Colombo, 5790

87020-900 – Maringá-PR – Brasil

Tel: (44) 3261-4864 – Fax: (44) 3261-4931

E-mail: jelvisentainer@uem.br; jelvisentainer@gmail.com

resultam em lesões de caráter crônico, como esclerose do tecido dérmico.

A medida dos níveis de citocinas no pós-transplante, além de desvendar a participação destas na DECH permite conhecer a imunopatogênese da doença e possibilita prever episódios de DECH. Vários estudos de acompanhamento da produção de citocinas no pós-transplante de células progenitoras têm demonstrado um aumento de citocinas inflamatórias ou de seus receptores no soro de pacientes com DECH. Contudo, citocinas antiinflamatórias ou imunossupressoras têm sido também associadas a episódios de DECH aguda e crônica.³⁻¹⁶

Além disso, é de nosso conhecimento que determinados polimorfismos de genes de citocinas têm sido correlacionados com a produção de citocinas, ou seja, com a capacidade de certo indivíduo produzir um nível maior ou menor de determinadas citocinas.¹⁷⁻²¹ Desta forma, seria possível determinar o perfil genético de produção de citocinas do receptor ou doador de células progenitoras antes mesmo da realização do transplante, o que possibilitaria uma intervenção mais rápida do clínico. Atualmente, determinados polimorfismos correlacionados com a produção de citocinas vêm sendo associados com a ocorrência de DECH aguda e crônica e/ou sua gravidade.²²⁻²⁹

Transplante de células progenitoras hematopoéticas

A história do transplante de medula óssea começou em 1949 com os estudos de Jacobson *et al.*,³⁰ utilizando modelos animais. Os primeiros estudos clínicos apropriados usando medula óssea para restaurar a linfo-hematopoiese em humanos começaram em 1957, nos Estados Unidos, com os trabalhos de Thomas *et al.*³¹ Durante as três últimas décadas, o transplante de células progenitoras hematopoéticas após altas doses de quimio-radioterapia ablativa de medula tem emergido como um tratamento de escolha para várias doenças hematológicas, neoplásicas e congênitas. Entre as doenças hematológicas, podemos citar as leucemias aguda e crônica, a anemia aplástica grave, os linfomas de Hodgkin e não-Hodgkin, a síndrome mielodisplástica, o mieloma múltiplo e outras. Mais recentemente, a lista de doenças tratadas por este tipo de terapia tem sido expandida para incluir muitas síndromes metabólicas congênitas, anemias congênitas e adquiridas e doenças não hematológicas.

O transplante de células progenitoras hematopoéticas consiste na transferência destas células pluripotentes do doador para o receptor, as quais têm a capacidade de renovação contínua e de gerar progenitoras para as células maduras que constituem o sangue e o sistema imune. A fonte de células progenitoras pode ser a medula óssea, sangue periférico ou sangue de cordão umbilical, por isso o transplante de medula óssea passou a ser conhecido como transplante de células progenitoras hematopoéticas.

Os primeiros transplantes entre irmãos HLA (*Human Leukocyte Antigen*) compatíveis foram realizados em 1968, para o tratamento de imunodeficiência congênita e, em 1969, para o tratamento de leucemia.^{32,33} Atualmente, mais de 10 mil transplantes por ano são realizados em todo o mundo. Contudo, o acesso a esta forma de terapia tem sido limitado à disponibilidade de doadores HLA compatíveis. Além da compatibilidade entre doador e receptor, o sucesso do transplante também depende do controle da DECH.

Doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH)

Esta síndrome, geralmente, ocorre como um resultado do reconhecimento de antígenos HLA dos tecidos do receptor pelas células T implantadas do doador. A limitação do número de diferenças nos alelos do CPH (Complexo Principal de Histocompatibilidade) entre doador e receptor minimiza a ocorrência de DECH. De fato, em sua maior parte, os transplantes de medula óssea humana são realizados entre irmãos ou indivíduos da população completamente idênticos nos principais *loci* HLA. Em transplantes de células progenitoras hematopoéticas, o sistema imune do receptor deve sofrer uma ablação praticamente total, para não haver rejeição das células transplantadas. As células efectoras podem ser linfócitos T citotóxicos e células NK, e os alvos, as moléculas (em geral as clássicas) codificadas pelos genes ligados ao CPH. Contudo, as células do enxerto podem elaborar uma resposta de rejeição contra o receptor, causando a DECH, que se constitui na principal limitação ao uso do transplante de medula óssea.

A DECH pode ser dividida em duas formas baseadas no tempo de ocorrência e nas manifestações clínicas. A forma aguda ocorre nos primeiros dois a três meses após o transplante, enquanto a forma crônica manifesta-se mais tarde, três a seis meses após o transplante. A DECH aguda pode ser classificada de acordo com as manifestações clínicas em graus I, II, III e IV.³⁴ As formas clinicamente relevantes, graus II a IV, ocorrem em aproximadamente 20% a 50% dos pacientes que recebem células progenitoras de um irmão HLA-idêntico e em 50% a 80% daqueles que recebem estas células de um irmão com uma ou mais incompatibilidades HLA de doador não-aparentado. Dermatite, hepatite e enterite são manifestações clínicas que caracterizam a DECH aguda.

Um estudo de Eid *et al.*³⁵ mostrou que, até 2003, 43,6% dos pacientes transplantados na Unicamp, onde um dos grandes centros transplantadores de nosso país funciona, haviam encontrado um doador compatível na família. Desta forma, doadores HLA compatíveis não-aparentados podem ser uma fonte alternativa de medula óssea para aqueles pacientes que não encontram um doador na família, o que aumenta as chances de incompatibilidades.

O sucesso do transplante em humanos ainda é impedido pela DECH crônica, pela falha da “pega” do enxerto e pela rejeição, mesmo quando é realizado entre irmãos geno-

tipicamente idênticos.^{36,37} A falha da “pega” do enxerto e a rejeição são importantes complicações, principalmente para pacientes com anemia aplástica,³⁸ devido às múltiplas transfusões que estes indivíduos recebem antes do transplante. Eles podem se tornar altamente sensibilizados a antígenos presentes nas células do doador. A DECH crônica pode ocorrer como uma extensão da DECH aguda (progressiva), após um intervalo livre da doença (quiescente) ou sem precedentes (de novo). Ela pode ser classificada em limitada ou extensa, dependendo dos órgãos atingidos.³⁹

As moléculas HLA e outros antígenos (de transplantação) ainda não totalmente conhecidos, como os antígenos de histocompatibilidade secundários (mHag, do inglês, *minor histocompatibility antigens*) também estão envolvidos na patogênese da DECH.⁴⁰⁻⁴⁵ Antígenos de histocompatibilidade secundários são peptídeos associados ao HLA, originais de regiões polimórficas de proteínas presentes nas células-alvo do receptor. Nos transplantes HLA-idênticos, as reações imunológicas vistas na DECH e GVL (*graft-versus-leukemia*) são mediadas por estes antígenos secundários que incluem os do grupo HA, antígenos mitocondriais, antígenos associados ao cromossomo Y (H-Y), ao sistema ABO e muitos outros em identificação.^{46,47}

As moléculas HLA do receptor podem funcionar como antígenos nominais ao apresentar os mHag aos linfócitos T do doador. Apesar destes peptídeos do receptor possuírem, normalmente, um grau limitado de polimorfismo, também são capazes de serem reconhecidos pelas células T do doador e de elaborarem uma resposta imune. Disparidades nestes mHag, entre doadores e receptores, parecem constituir um risco potencial para a DECH e rejeição, implicando um tratamento prolongado com drogas imunossupressoras. Estes antígenos podem evocar forte resposta citotóxica (Tc) restrita ao CPH e resposta proliferativa de linfócitos T auxiliares, bem como a produção de anticorpos por células B.

O antígeno específico masculino H-Y, codificado pelo cromossomo Y, está envolvido na maior susceptibilidade à DECH em transplantes HLA-idênticos entre indivíduos de sexos diferentes. Um estudo recente demonstrou a contribuição da diferença de sexos entre doador e receptor na recaída da doença ou DECH.⁴⁸ Nesse estudo, receptores do sexo masculino com doadores do sexo feminino mostraram baixo risco de recaída e alto risco de DECH, sugerindo que os mHag codificados por genes no cromossomo Y podem ser responsáveis pelo desenvolvimento de DECH, mas também podem contribuir para o efeito GVL.

Estudos recentes indicam que um fator potencial que influencia no resultado do transplante é a presença de células NK alo-reativas derivadas do doador.⁴⁹ Células NK são reguladas por diferenças quantitativas em sinais ativadores e inibitórios. Mediadores de sinais inibitórios incluem o receptor de célula NK (KIR – *killer ig-like receptor*), muitos dos quais são reconhecidos por diferentes moléculas HLA

de classe I. A interação com células-alvo, na ausência de HLA ligante, pode resultar numa baixa ativação dos KIR inibitórios de células NK. Os KIR inibitórios reconhecem epítomos de HLA-Cw e -B em células alvo, regulando a atividade de células NK. A ausência de ligante de classe I em receptores KIR inibitórios de doadores pode ser um fator prognóstico para o resultado de transplante em HLA-idênticos entre irmãos.

A associação da etnia com a incidência da DECH e outras manifestações clínicas é controversa. É provável que a diversidade genética de genes relacionados ao transplante esteja correlacionada com a diversidade de genes da população humana. Populações que persistiram geograficamente isoladas por significativo período de tempo são, provavelmente, as que têm menos diversidade genética que aquelas populações que sofreram recentes e múltiplas migrações. A comparação da DECH em diferentes populações étnicas, realizada por Oh *et al.*,⁵⁰ mostrou que há menos DECH aguda e menos morte precoce relacionada ao transplante em populações japonesas e escandinavas que em americanos brancos e africanos e em irlandeses. Os dados sugerem algumas hipóteses. Primeiro, a diversidade de antígenos secundários. Segundo, que o padrão HLA e o polimorfismo gênico de citocinas podem explicar essas diferenças. Terceiro, que fatores não genéticos podem ser considerados, como a dieta e diferenças de meio ambiente, diferentes diagnósticos de DECH e diferenças no sucesso da conduta da DECH. Uma característica do aspecto da dieta na população japonesa é o alto consumo de peixe. Como consequência, os japoneses têm alto nível de ácido eicosapentanoico, um ácido graxo com propriedades imunorregulatórias que pode reduzir a gravidade da DECH. Todavia, estes achados proporcionam uma base para estudos prospectivos para melhor entendimento das diferenças nos resultados em, geralmente, populações bem definidas.

Mecanismos imunológicos envolvidos na patogênese da DECH

A patogênese da DECH aguda pode ser descrita em três fases, nas quais fagócitos mononucleares e outras células acessórias seriam as responsáveis pela iniciação de uma reação do enxerto contra o hospedeiro e pela subsequente lesão dos tecidos do hospedeiro após complexa interação com citocinas.^{1,2} Estas fases estão esquematizadas na Figura 1.

Na fase 1, o regime de condicionamento do paciente para receber o enxerto leva a uma lesão dos seus tecidos, incluindo a mucosa intestinal, fígado e outros tecidos, e induz a secreção de citocinas inflamatórias como TNF- α , IL-6 e IL-1. As consequências da ação destas citocinas são o aumento na expressão de antígenos CPH, moléculas de adesão e moléculas coestimulatórias nos tecidos do hospedeiro, estimulando o reconhecimento dos antígenos de

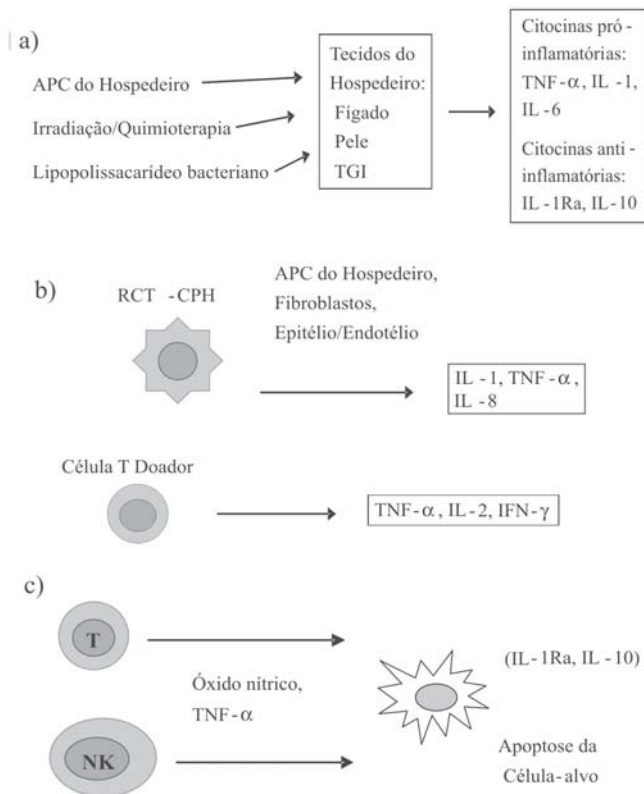


Figura 1. Patogênese da doença do enxerto contra o hospedeiro aguda em transplantes de células progenitoras hematopoéticas. APC, células apresentadoras de antígeno; TGI, trato gastrointestinal; RCT-CPH, receptor de célula T – complexo principal de histocompatibilidade

histocompatibilidade principais e secundários do receptor por células T maduras do doador após o transplante alógeno. As citocinas liberadas também induzem apoptose endotelial, que leva ao dano de células endoteliais no trato gastrointestinal. Endotoxinas, como os lipopolissacarídeos (LPS), componentes celulares de bactérias Gram-negativas, podem levar ao dano da mucosa com adicional produção de TNF e IL-6.

Na fase 2, a ativação de células do doador é caracterizada pela proliferação de células T auxiliares do tipo 1 e secreção de IL-2 e IFN- γ . Estas citocinas induzem a expansão numérica das próprias células T, além da ativação e expansão numérica de linfócitos T citotóxicos e de células NK. Diferenças no CPH classe I estimulam células T CD8⁺, e diferenças no CPH classe II estimulam células T CD4⁺. Durante e imediatamente após o transplante alógeno, receptores são expostos a citocinas inflamatórias, como TNF- α e IL-1, produtos patogênicos derivados, como LPS e células necróticas, que são prejudicadas pelo condicionamento do receptor. Todos estes podem iniciar a maturação de células dendríticas. A interação do receptor de célula T com o peptídeo da molécula CPH inicia um sinal de estimulação para a célula T. Entretanto, um sinal coestimulatório é também necessário

para a completa estimulação da célula T, provido por um conjunto de ligantes, dos quais os mais bem caracterizados são os antígenos B7, nas células apresentadoras de antígenos e os receptores CD28 e CTLA-4 na célula T. Um crescente número de sinais coestimulatórios tem sido identificado. Quando adequadamente ativadas, as células T do doador produzem um conjunto de citocinas do tipo Th1, principalmente IL-2 e IFN- γ , que iniciam a cascata de eventos inflamatórios da DECH. Elas são contrabalançadas por citocinas do tipo Th2, principalmente IL-4 e IL-10, e por diversos tipos de células T supressoras (CD4-CD8-NK1.1⁺, Tr1, etc). O equilíbrio entre células T reativas, incluindo as Th1, e supressoras, incluindo as Th2, pode controlar a frequência e intensidade da DECH. A ativação envolve múltiplos caminhos, como a ativação da transcrição de genes de citocinas, como IL-2, IFN- γ e seus receptores.

Durante a fase 3, as funções efetoras de fagócitos mononucleares são induzidas pela ação direta de IFN- γ e via um sinal secundário, provido de LPS, liberados da mucosa intestinal durante a fase 1. Os LPS podem subsequente ativar linfócitos e macrófagos associados à mucosa intestinal. Na pele, os LPS podem ainda estimular queratinócitos, fibroblastos e macrófagos a produzirem citocinas pró-inflamatórias, notadamente IL-1 e TNF- α e outros mediadores, como o óxido nítrico (ON). Esses mediadores produzem dano tecidual diretamente ou ativando outras células ou ainda causando a liberação de outras citocinas. Linfócitos T citotóxicos (CTLs) CD4⁺ usam preferencialmente a via Fas/FasL durante a DECH aguda, enquanto CTLs CD8⁺ primeiramente usam a via perforina/granzima. Assim, o TNF- α pode produzir necrose ou apoptose pela via do Fas, e, juntamente com a IL-1, IL-6 e IL-8, pode ser um importante mediador da desnutrição, febre e outras manifestações inflamatórias da DECH, e o ON pode contribuir para a imunossupressão associada à doença. Todos estes mecanismos podem resultar na amplificação da lesão tecidual, promovendo uma resposta inflamatória, que, junto com as CTLs e NK, levam à destruição de tecidos alvos no hospedeiro do transplante.

A patogênese da DECH crônica é diferente da aguda. A Figura 2 mostra um resumo da sua patofisiologia, a qual ainda não é totalmente conhecida.⁵¹ Características como a atrofia tímica, a depleção de linfócitos e a formação de auto-anticorpos têm sido descritas nesta doença. Evidências sugerem que esta síndrome seja mediada por linfócitos T do doador, que reconhecem diferenças alógenas presentes nos antígenos secundários do receptor e/ou por linfócitos T, que são primariamente auto-reativos e reconhecem antígenos compartilhados pelas células do doador e receptor.⁵² Estes linfócitos T ativados são capazes de levar à lise da célula alvo e à produção de citocinas. Interleucina-4 e IFN- γ são produzidos por estas células e podem ser a causa da disfunção imunológica associada com esta síndrome, incluindo a produção de auto-anticorpos. De acordo com a hipótese de aloreatividade, ela se assemelharia à DECH autóloga, observa-

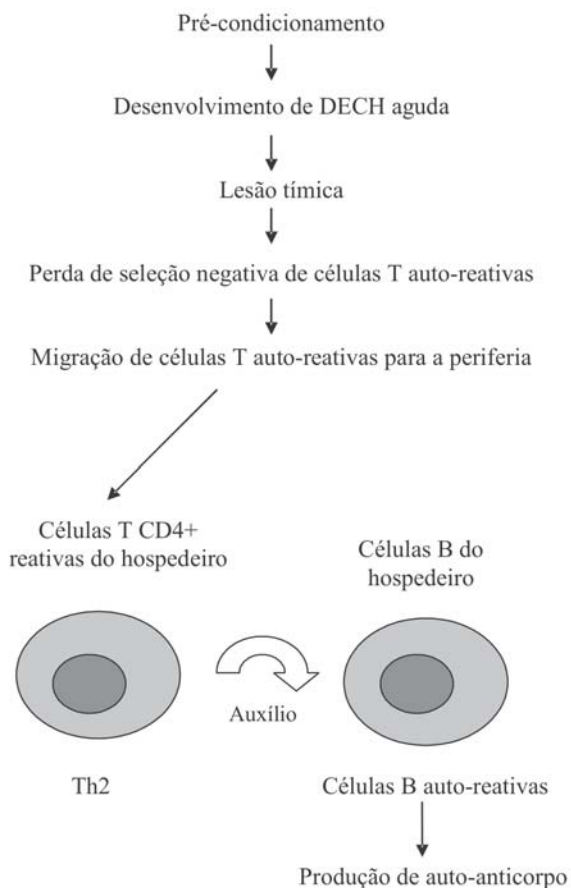


Figura 2. Patofisiologia da doença do enxerto contra o hospedeiro crônica em transplantes de células progenitoras hematopoéticas (adaptada de Ywasaki, 2004)⁵¹

da em transplantes singênicos ou autólogos e, em ambos, há participação da disfunção tímica, dificultando o estabelecimento de tolerância doador-receptor, e de citocinas, mediando lesão tecidual. A expansão e funções efetoras de células T auto-reativas podem promover a ativação de células B auto-reativas e produção de auto-anticorpos com dano do órgão alvo. Diferentemente da DECH aguda, há uma mistura de citocinas do tipo Th1 e Th2 (IL-4, IFN- γ e TNF- α) que, entre outras ações patogênicas, estimulam a produção de colágeno por fibroblastos, produzindo lesões fibróticas, características da doença.⁵³ O aumento na deposição de colágeno na pele já havia, anteriormente, sido associado ao estímulo da sua produção por uma variedade de citocinas, como IL-1, TNF- α , IL-4 e TGF- β 1.⁵² Mudanças esclerodérmicas na pele e imunossupressão prolongada têm sido vistas durante a DECH crônica, e a citocina TGF- β 1, produzida por células Th3, pode ser um importante mediador destes eventos, pois é capaz de estimular a síntese de matriz extracelular, além de possuir um papel regulatório no sistema imune.⁵⁴

Um resumo das subpopulações de células T e citocinas envolvidas na DECH pode ser encontrado na Tabela 1.

Tabela 1. Padrão de células T e citocinas envolvidas na doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH)

DECH	Células T	Citocinas produzidas
Aguda	Th1	IL-2, IFN- γ , TNF- α
Crônica	Th2	IL-4, IL-6, IL-10
	Th3	TGF- β 1

Modelos experimentais com animais ajudam a esclarecer a patogênese da DECH crônica

A patofisiologia da DECH crônica ainda é pouco entendida talvez pela falta de modelos animais satisfatórios. Estudos com animais podem auxiliar na compreensão dos mecanismos envolvidos na DECH crônica. Recentemente, Zhang *et al.* desenvolveram um modelo de DECH crônica em camundongos, o qual permitiu demonstrar que o timo do hospedeiro não é necessário para a indução da DECH crônica, e que células T e B auto-reativas quiescentes podem ser ativadas e expandidas para causar DECH crônica com manifestações auto-imunes em receptores alogênicos.⁵⁵

Alguns autores demonstraram o papel de citocinas como IL-12 e IL-18 na DECH crônica por meio de modelos animais. Enquanto a IL-12 pode causar um aumento em células T citotóxicas CD8⁺ levando à conversão da DECH crônica para a forma aguda,⁵⁶ a IL-18 previne a DECH crônica por diminuir o número de células CD4⁺ (Th2) e a ativação de células B reativas ao hospedeiro, reduzindo a resposta imune a aloantígenos específicos.⁵⁷

Papel das citocinas na doença do enxerto contra o hospedeiro

As citocinas são proteínas ou glicoproteínas secretadas que têm importante papel na comunicação celular e são elementos chave no controle da resposta imune, pois regulam a magnitude e natureza destas respostas, influenciando no crescimento e diferenciação de linfócitos. Elas exercem seus efeitos pela interação com receptores de membrana celular, caracterizados como glicoproteínas transmembrânicas. Estes têm a capacidade de se ligarem às citocinas e de transferir a informação destas ao citoplasma da célula via componentes intracelulares. Como os receptores de citocinas têm distribuição ampla em diversos tipos celulares, uma citocina pode atuar em todos os tipos de células que possuem receptores para a mesma, sendo, portanto, chamadas de mediadores pleiotrópicos.

O efeito de uma dada citocina será governado pelo microambiente tecidual e pelo tipo de célula portadora do respectivo receptor. Parâmetros como concentração da citocina e de seus receptores solúveis, presença de outras citocinas, funcionamento de vias intracelulares de sinalização, ação de fatores de transcrição nuclear, indução da ex-

pressão de genes e síntese e secreção de proteínas podem influenciar o efeito final.⁵⁸ Na realidade, a atividade de uma citocina reflete o contexto de uma célula em relação a diversos fatores, o que pode resultar em efeitos sinérgicos ou antagonistas.

Vários trabalhos têm demonstrado um aumento no nível de citocinas com funções inflamatórias e imunomoduladoras (TNF- α , IL-1, IL-6, IFN- γ) no soro de pacientes com DECH ou rejeição.³⁻¹⁶ Citocinas com funções imunorreguladoras (IL-4, IL-10 e TGF- β 1) também têm sido associadas a estas complicações.^{9,11,15,59-64} Contudo, um balanço entre estas citocinas parece ser crítico para o desenvolvimento de DECH.^{59,65}

De forma interessante, vários estudos têm enfatizado a alta produção do receptor solúvel de IL-2 em situações de DECH após o transplante.⁶⁶⁻⁷⁵ Segundo nossa experiência, os níveis deste receptor no período de “pega” do enxerto parecem prover um parâmetro melhor para a detecção precoce de DECH aguda, porque eles aumentam num período de tempo limitado e precedente à ocorrência de DECH aguda.^{15,74} Atualmente, nosso grupo está estudando um número maior de pacientes para confirmar o valor preditivo desta determinação.

Parece possível que todas estas citocinas devam combinar-se para causar progressão da DECH de diferentes maneiras em cada indivíduo, e um balanço entre estas citocinas Th1, Th2 e Th3 pode ser importante no controle da doença.

O fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF), o qual é utilizado após o transplante de medula para encurtar a fase neutropênica, também vem sendo relacionado com a ocorrência de DECH após o transplante. Remberger *et al.*⁷⁶ mostraram uma associação do G-CSF com um risco maior de DECH aguda, enquanto outros observaram um aumento significativo no risco de DECH aguda e crônica e de mortalidade relacionada ao transplante nos pacientes tratados com G-CSF.⁷⁷ No entanto, um estudo recente mostrou que o uso de medula como fonte de células após estímulo com G-CSF gerou um maior número de células CD34⁺ e uma incidência menor de DECH crônica.⁷⁸ O uso de células progenitoras periféricas (CPPs) de doadores que recebem o G-CSF também foi relacionado com uma maior incidência de DECH aguda⁷⁹ e crônica.⁸⁰ Devine *et al.*⁸¹ sugeriram que o uso do fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) poderia reduzir o risco de graus mais graves de DECH aguda.

Recentemente tem sido reconhecido que a produção de algumas citocinas está sob controle genético. Polimorfismos localizados dentro de regiões codificadoras, introns ou regiões promotoras de genes de citocinas podem afetar a transcrição gênica, causando variações interindividuais na produção de citocinas.¹⁷⁻²¹ Em termos gerais, um indivíduo pode ser capaz de produzir níveis altos, intermediários e baixos de citocinas, de acordo com a herança de alelos. Polimorfismos de genes de citocinas têm sido associados ao desenvolvimento de DECH após o transplante de células proge-

Tabela 2. Polimorfismos de genes de citocinas associados com doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) aguda e crônica

DECH	Genótipo	Referências
Aguda	Crônica	
<i>IL-6-174G/C</i>		Cavet <i>et al.</i> (2001) ²³
	<i>IL-6-174GG</i>	Cavet <i>et al.</i> (2001) ²³
	<i>IL-6-174GG</i>	Socié <i>et al.</i> (2001) ²⁶
	<i>IL-6-174CC</i>	Visentainer <i>et al.</i> (2005) ²⁸
<i>TNFA-308GG/GA</i>		Takahashi <i>et al.</i> (2000) ⁸⁷
	<i>TNFD4</i>	Nordlander <i>et al.</i> (2002) ⁸⁶
	<i>TNFA-238GA</i>	Viel <i>et al.</i> ⁹⁰
<i>IFNG+874AA</i>		Cavet <i>et al.</i> (2001) ²³
<i>IFNG intron 2/2</i>		Mlynarczewska <i>et al.</i> (2004) ⁹¹
<i>IL-2-330GT</i>		Macmillan <i>et al.</i> (2003) ⁹⁴
<i>IL-10-1082, -819, -592)GCC/GCC</i>		Dickinson <i>et al.</i> (2001) ²⁷
	<i>IL-10-1082, -819, -592ATA/ATA</i>	Kim <i>et al.</i> (2005) ⁹⁵
<i>TGFB1+869, +915TG/GG</i>		Leffell <i>et al.</i> (2001) ²⁴
<i>TGFB1+869T</i>		Hattori <i>et al.</i> (2002) ²⁵

nitores hematopoéticas.²²⁻²⁹ Um resumo dos principais estudos de polimorfismos de genes de citocinas encontra-se na Tabela 2.

Num estudo pioneiro, de uma população brasileira, nosso grupo estudou a influência dos polimorfismos de *TNFA* (-308), *TGFB1* (+869, +915), *IL10* (-082, -819, -592), *IL6* (-174) e *IFNG* (+874) no curso do transplante alogênico de células progenitoras hematopoéticas. O genótipo *IL6-174CC*, correspondente à baixa produção desta citocina, foi associado com uma maior incidência de DECH crônica, enquanto nenhum destes polimorfismos pôde ser associado com a ocorrência de DECH aguda.²⁸ Cavet *et al.*²³ demonstraram que receptores com genótipo referente à produção intermediária de IL-6 apresentavam uma forte tendência ao desenvolvimento de DECH aguda, enquanto receptores e doadores com genótipo de alta produção tinham uma maior incidência de DECH crônica. Neste mesmo ano, Socié *et al.*²⁶ relataram que o genótipo, correspondente à alta produção de IL-6, foi associado com a incidência aumentada de DECH crônica, mas não de DECH aguda.

Todavia, é importante ressaltar que, em transplantes renais, o genótipo *IL-6-174CC* de doadores foi identificado como um fator de risco para a ocorrência de rejeição,⁸² e foi associado ao risco aumentado de perda do enxerto.⁸³

A interleucina-6 é uma citocina pleiotrópica com um papel central na defesa imunológica. Embora, inicialmente, ela tenha sido descrita como uma citocina pró-inflamatória, recentemente tem sido reconhecido que ela possui propriedades antiinflamatórias e imunossupressoras adicionais.⁸⁴ O papel de IL-6 na diferenciação de linfócitos-T auxiliares tem sido discutido e poderia esclarecer a sua participação nos mecanismos imunológicos envolvidos na patogênese da DECH crônica.⁸⁵

Resultados conflitantes têm sido observados também em relação ao polimorfismo de genes do *TNF*. Embora algumas associações diretas entre alelos *TNF* e a DECH aguda tenham sido descritas para ambos os polimorfismos de microssatélites^{22,86} e de nucleotídeos únicos na posição -308,⁸⁷ nenhuma associação pôde ser estabelecida por vários autores^{23,24,27,88} e por nosso grupo para *TNF*-308.²⁸ O uso da ciclosporina para prevenir rejeição nestes pacientes pode ser uma das razões da falta de associação do genótipo de alto produtor de TNF- α com a ocorrência de DECH aguda, possivelmente pela interrupção da transcrição de genes *TNF* em linfócitos T e macrófagos.⁸⁹ Contudo, em recente trabalho, nosso grupo mostrou uma associação da incidência aumentada de DECH crônica e sua gravidade com o genótipo *TNF*-238GA.⁹⁰

No caso do gene *IFNG*, alguns autores documentaram associações entre microssatélites de *IFNG* e DECH aguda.^{23,91} Considerando, que existe uma correlação entre alelos de *IFNG*+874 e polimorfismos microssatélites dentro do primeiro intron do gene,^{21,91} algumas associações entre SNPs de *IFNG* e o risco de DECH aguda seriam esperadas. Contudo, nenhum estudo realizado pôde confirmar esta associação. Um estudo recente apenas mostrou uma diminuição da sobrevida em pacientes que tinham seqüências repetidas de CA, as quais estão correlacionadas com a alta transcrição de *IFN*- γ .⁹²

A substituição de timina por guanina na posição -330 do gene da *IL*-2 já foi relatada estar associada com precoce e intensa produção de IL-2, sendo o genótipo resultante chamado de alto-produtor.⁹³ A presença de ao menos um alelo G nesta posição foi associada com um risco dobrado dos indivíduos desenvolverem a DECH aguda de grau II-IV.⁹⁴ Em recente estudo, nosso grupo não pôde mostrar associação entre este polimorfismo e DECH aguda ou crônica.⁹⁰

Embora IL-10 seja uma citocina participante dos mecanismos de imunopatogenicidade da DECH e polimorfismos nas regiões reguladoras do gene produtor da mesma tenham influência na sua produção, resultados de estudos de associação destes polimorfismos com a ocorrência desta doença ainda são conflitantes. Alguns autores mostraram um risco aumentado de DECH aguda²⁷ em receptores com genótipo relativo à alta produção de *IL*-10. Nós e outros autores não pudemos demonstrar nenhuma correlação entre os genótipos de *IL*-10-1082,-819,-592 e DECH aguda ou crônica.^{23,25,26,28,86} Recentemente, um estudo relatou o alelo *IL*-10⁻⁵⁹² A como um

marcador específico de um curso favorável pós-transplante de medula,⁹² enquanto *Kim et al.*⁹⁵ mostraram que a ocorrência da DECH crônica foi dependente do haplótipo da *IL*-10, ou seja, homozigotos ATA/ATA apresentaram um risco sete vezes maior de desenvolver DECH crônica, comparado com o homozigoto ACC/ACC.

A TGF- β 1 é uma citocina multifuncional que controla a proliferação e a diferenciação de várias células. Ela está envolvida na formação de matriz extracelular e colágeno e pode estar envolvida na fibrose de tecidos transplantados. Polimorfismos gênicos de *TGFBI* localizados nas posições +869 e +915 nos códons 10 e 25, respectivamente, têm efeitos variados na produção de TGF- β 1.¹⁹ Alguns autores têm mostrado uma influência do genótipo de TGFBI, que predispõe à alta expressão de TGF- β 1 com a forma mais grave de DECH aguda.²⁴ Outros mostraram uma associação entre o polimorfismo do códon 10 de *TGFBI* e o desenvolvimento de DECH aguda.²⁵ Nosso grupo não observou associação desta citocina com a ocorrência de DECH.²⁸

A variação individual da resposta imune a transplantes é, pelo menos em parte, devido à variação genética na regulação da expressão dos genes de citocinas. Contudo, as interpretações destas correlações devem ser cuidadosas, pois cada indivíduo pode ser caracterizado como alto ou baixo produtor de uma determinada citocina, independentemente de outra. E, dependendo de certas combinações de genes de citocinas, as respostas a transplantes podem variar entre os indivíduos. É provável que um único polimorfismo não afete significativamente o curso do transplante sozinho, mas particulares combinações podem ser mais importantes. E a alta produção de uma citocina pró-inflamatória pode ser contrabalançada pela alta produção de uma citocina antiinflamatória.

Outros fatores intrínsecos e extrínsecos do indivíduo também podem influenciar nesta resposta, como a idade e o sexo do receptor e doador, tipo de enxerto, profilaxia da DECH, condicionamento pré-transplante, fase da doença ao transplante, etnia e dieta, entre outros. Além disso, é preciso levar em consideração o tipo de tecido onde estas reações acontecem, pois um determinado tecido pode ser mais sensível à resposta humoral e outro à celular, as quais estão sob influência de diferentes citocinas. Embora a síntese de citocinas possa estar sob controle genético, uma desregulação na produção de citocinas pode gerar conseqüências patológicas graves, como é o caso dos transplantes de medula óssea. Então, embora a habilidade genética de produção de uma citocina possa influenciar no curso do transplante, outros fatores capazes de alterar esta produção podem ser mais importantes em determinar a ocorrência de DECH e/ou rejeição.

Assim, o seguimento da produção de citocinas, no período pós-transplante de medula óssea, aliado à definição do perfil genético de produção de citocinas, poderia permitir um melhor entendimento dos processos imunopatológicos envolvidos na DECH. Estes ensaios laboratoriais poderiam fornecer ao clínico um indicativo em relação ao risco destas

complicações e auxiliar na adequação de uma terapia imunossupressora individualizada.

É possível prever episódios de DECH pelo padrão de citocinas produzidas no pós-transplante, apesar dos processos infecciosos que geralmente ocorrem?

Ainda há muitas controvérsias neste assunto, pois enquanto alguns estudos têm mostrado que a produção de determinadas citocinas aumenta em decorrência de episódios de DECH e não é alterada por processos infecciosos, outros mostram que algumas destas citocinas aumentam em decorrência de infecções.

Alguns autores conseguiram mostrar associações de citocinas com DECH e infecções. Os níveis de IL-6 foram maiores em pacientes com infecção, de sIL-2R em pacientes com DECH crônica e de IL-10 e IL-1ra naqueles com DECH crônica e infecção.⁹⁶ Outros mostraram que algumas citocinas aumentaram de forma inespecífica, como IL-1ra, após o condicionamento, reconstituição hematopoiética, DECH e infecção.⁹⁷

Recentemente, Hirayama *et al.*⁹⁸ observaram um aumento de IFN- γ no pós-transplante de medula em pacientes com DECH aguda II-IV, os quais não foram correlacionados com infecção. Contudo, nosso grupo já havia relatado que os níveis médios de IFN- γ aumentaram em pacientes com infecção viral e/ou doença viral, mas não se correlacionaram com DECH, e que outras citocinas, como sIL-2R, TNF- α , IL-10 e TGF- β 1, não aumentaram em processos infecciosos, somente em episódios de DECH aguda.¹⁵ Posteriormente, Reddy *et al.*⁹⁹ mostraram que a alta produção de TNF- α no pós-transplante estava associada com o risco de desenvolver infecção por citomegalovírus.

Tratamentos alternativos da DECH aguda e crônica relacionados aos mecanismos imunológicos envolvendo citocinas

Além dos medicamentos tradicionais que fazem parte de protocolos já bem estabelecidos de profilaxia e tratamento da DECH, poderíamos citar alternativas que vêm sendo apresentadas na literatura envolvendo citocinas ou seus receptores. Enquanto algumas delas apresentam resultados promissores, outras são controversas e algumas vezes geram resultados não desejáveis.

As citocinas têm se mostrado fatores importantes no início e propagação da DECH. IL-2 e TNF- α são exemplos de citocinas que, além de levarem à ativação celular, causam lesões em tecidos locais. Alguns antagonistas destas citocinas ou de seus receptores têm surgido como alternativas de tratamento. Drogas como daclizumab e basiliximab, cujo alvo é o receptor de IL-2, têm sido usadas para o tratamento da DECH aguda refratária e, mais recentemente, DECH crôni-

ca.¹⁰⁰⁻¹⁰³ Da mesma forma, aquelas cujo alvo é o TNF- α , como infliximab e etanercept, também vêm sendo aplicadas no tratamento da DECH.¹⁰³⁻¹⁰⁵

Parece que o desenvolvimento de uma terapia combinada para o tratamento de ambas, DECH aguda e crônica, possa resultar em melhores resultados que a monoterapia.

Considerações finais

Está claro que a doença do enxerto contra o hospedeiro é um processo complexo mediado imunologicamente e seu controle não depende de um único agente. A patofisiologia da DECH pode, então, ser considerada uma resposta desregulada de um sistema imune normal (aquele do doador) aos tecidos do hospedeiro. O conhecimento da imunopatogênese é fundamental para a aplicação de novas estratégias de controle da doença, como o desenvolvimento de novos fármacos e o emprego adequado de uma terapia imunossupressora. Vários fatores envolvidos na DECH têm sido utilizados para uso clínico com real progresso no controle desta doença, dentre eles, alguns componentes imunológicos, como as citocinas. A participação de citocinas na cascata que se desencadeia durante um processo de DECH aguda vem sendo estabelecida por vários pesquisadores, enquanto os fenômenos relacionados à DECH crônica ainda estão sendo desvendados. Recentemente, vários estudos têm revelado a importância do estudo do polimorfismo gênico das citocinas na ocorrência da DECH aguda e crônica, o que poderia auxiliar o clínico na predição desta doença, permitindo uma intervenção mais precoce. Além disso, baseadas na importância das citocinas na patogênese da DECH, várias terapias usando antagonistas de citocinas e/ou de seus receptores vêm sendo instituídas como protocolos alternativos em casos refratários da doença.

Abstract

Stem cell transplantation is the first line treatment of many hematological diseases and primary immunodeficiencies. Graft-versus-host disease (GVHD) is still a severe complication after allogeneic transplantation and the main cause of mortality and morbidity. The study of the pathogenesis of GVHD may help to develop ways to prevent the disease, as well as to choose adequate immunosuppressant therapies. This study discusses the main immunological components involved in the pathogenesis of acute and chronic GVHD, with emphasis on the participation of cytokines and their control. Rev. bras. hematol. hemoter. 2008; 30(2):142-152.

Key words: Hematopoietic stem cell transplantation; graft-versus-host disease; cytokines.

Referências Bibliográficas

1. Jaksch M, Mattsson J. The pathophysiology of acute graft-versus-host disease. *Scand J Immunol.* 2005;61(5):398-409.
2. Ferrara JL, Yanik G. Acute graft versus host disease: pathophysiology, risk factors, and prevention strategies. *Clin Adv Hematol Oncol.* 2005;3(5):415-9,428.
3. Niederwieser D, Herold M, Woloszczuk W *et al.* Endogenous IFN-gamma during human bone marrow transplantation. Analysis of serum levels of interferon and interferon-dependent secondary messengers. *Transplantation.* 1990;50(4):620-5.
4. Symington FW, Symington BE, Liu PY *et al.* The relationship of serum IL-6 levels to acute graft-versus-host disease and hepatorenal disease after human bone marrow transplantation. *Transplantation.* 1992;54(3):457-62.
5. Imamura M, Hashino S, Kobayashi H *et al.* Serum cytokine levels in bone marrow transplantation: synergistic interaction of interleukin-6, interferon-gamma, and tumor necrosis factor-alpha in graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant.* 1994;13(6):745-51.
6. Remberger M, Ringden O, Markling L. TNF alpha levels are increased during bone marrow transplantation conditioning in patients who develop acute GVHD. *Bone Marrow Transplant.* 1995;15(1):99-104.
7. Lange A, Karabon L, Klimczak A *et al.* Serum interferon-gamma and C-reactive protein levels as predictors of acute graft-vs-host disease in allogeneic hematopoietic precursor cell (marrow or peripheral blood progenitor cells) recipients. *Transplant Proc.* 1996; 28(6):3522-5.
8. Toren A, Novick D, Or R *et al.* Soluble interleukin-6 receptors in haematology patients undergoing bone marrow transplantation. *Transplantation.* 1996;62(1):138-42.
9. Remberger M, Ringden O. Serum levels of cytokines after bone marrow transplantation: increased IL-8 levels during severe veno-occlusive disease of the liver. *Eur J Haematol.* 1997;59(4):254-62.
10. Abdallah AN, Boiron JM, Attia Y *et al.* Plasma cytokines in graft vs host disease and complications following bone marrow transplantation. *Hematol Cell Ther.* 1997;39(1):27-32.
11. Liem LM, Van Houwelingen HC, Goulmy E. Serum cytokine levels after HLA-identical bone marrow transplantation. *Transplantation.* 1998;66(7):863-71.
12. Kayaba H, Hirokawa M, Watanabe A *et al.* Serum markers of graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;106:S40-4.
13. Huang XJ, Wan J, Lu DP. Serum TNF alpha levels in patients with graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *Leukemia.* 2001;15(7):1089-91.
14. Nagler A, Or R, Nisman B, *et al.* Elevated inflammatory cytokine levels in bone marrow graft rejection. *Transplantation.* 1995;60(9): 943-8.
15. Visentainer JEL, Lieber SR, Persoli LBL *et al.* Serum cytokine levels and acute graft-versus-host disease after HLA-identical hematopoietic stem cell transplantation. *Exp Hematol.* 2003;31(11):1044-50.
16. Fujii N, Hiraki A, Aoe K *et al.* Serum cytokine concentrations and acute graft-versus-host disease after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: concurrent measurement of ten cytokines and their respective ratios using cytometric bead array. *Int J Mol Med.* 2006;17(5):881-5.
17. Wilson AG, Symons JA, McDowell TL *et al.* Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94(7):3195-9.
18. Turner DM, Williams DM, Sankaran D *et al.* An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet.* 1997;24(11):1-8.
19. Awad MR, El-Gamel A, Hasleton P *et al.* Genotypic variation in the transforming growth factor-beta1 gene: association with transforming growth factor-beta1 production, fibrotic lung disease, and graft fibrosis after lung transplantation. *Transplantation.* 1998; 66(8):1014-20.
20. Fishman D, Faulds G, Jeffry R *et al.* The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest.* 1998;102(7):1369-76.
21. Pravica V, Asderakis A, Perrey C *et al.* In vitro production of IFN-gamma correlates with CA repeat polymorphism in the human IFN-gamma gene. *Eur J Immunogenet.* 1999;26(1):1-3.
22. Cavet J, Middleton PG, Segall M *et al.* Recipient tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 gene polymorphisms associate with early mortality and acute graft-versus-host disease severity in HLA-matched sibling bone marrow transplants. *Blood.* 1999; 94(11):3941-6.
23. Cavet J, Dickinson AM, Norden J *et al.* Interferon-gamma and interleukin-6 gene polymorphisms associate with graft-versus-host disease in HLA-matched sibling bone marrow transplantation. *Blood.* 2001;98(5):1594-600.
24. Leffell MS, Vogelsang GB, Lucas DP *et al.* Association between TGF-beta expression and severe GVHD in allogeneic bone marrow transplantation. *Transplant Proc.* 2001;33(1-2):485-6.
25. Hattori H, Matsuzaki A, Suminoe A *et al.* Polymorphisms of transforming growth factor-beta1 and transforming growth factor-beta1 type II receptor genes are associated with acute graft-versus-host disease in children with HLA-matched sibling bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2002;30(10):665-71.
26. Socié G, Loiseau P, Tamouza R *et al.* Both genetic and clinical factors predict the development of graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation.* 2001;72(4):699-706.
27. Dickinson AM, Cavet J, Cullup H *et al.* GVHD risk assessment in hematopoietic stem cell transplantation: role of cytokine gene polymorphisms and an in vitro human skin explant model. *Hum Immunol.* 2001;62(11):1266-76.
28. Visentainer JEL, Lieber SR, Persoli LBL *et al.* Relationship between cytokine gene polymorphisms and graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation in a Brazilian population. *Cytokine.* 2005;32(3-4):171-7.
29. Bertinetto FE, Dall'Omo AM, Mazzola GA *et al.* Role of non-HLA genetic polymorphisms in graft-versus-host disease after hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Immunogenet.* 2006;33 (5):375-84.
30. Jacobson LO, Marks EK, Gaston EO. Effect of protection of the spleen during total body irradiation on the blood in rabbit. *Rev. Hematol.* 1953;8(4):515-32.
31. Thomas ED, Lochte HL Jr., Lu WC, Ferrebee JW. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N Engl J Med.* 1957;257(11):491-6.
32. Gatti RA, Meuwissen HJ, Allen HD *et al.* Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency. *Lancet.* 1968;2(7583):1366-9.
33. Thomas ED, Storb R, Clift RA *et al.* Bone marrow transplantation. *N Engl J Med.* 1975;292(17):895-902.
34. Glucksberg H, Storb R, Fefer A. Clinical manifestation of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A matched sibling donors. *Transplantation.* 1974;18(4):295-304.
35. Eid KA, Miranda EC, Vigorito AC *et al.* The availability of full match sibling donors and feasibility of allogeneic bone marrow transplantation in Brazil. *Braz J Med Biol Res.* 2003;36(3): 315-21.
36. Storb R, Deeg HJ, Whitehead J *et al.* Methotrexate and cyclosporine compared with cyclosporine alone for prophylaxis of acute graft versus host disease after marrow transplantation for leukemia. *N Engl J Med.* 1986;314(12):729-35.

37. Gale RP, Bortin MM, Van Bekkum DW *et al*. Risk factors for acute graft-versus-host disease. *Br J Haematol*. 1987;67(4):397-406.
38. Champlin RE, Horowitz MM, van Bekkum DW *et al*. Graft failure following bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: risk factors and treatment results. *Blood*. 1989;73(2):606-13.
39. Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL. Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. *Am J Med*. 1980;69(2):204-17.
40. Al-Daccak R, Loiseau P, Soulie A *et al*. HLA-DP genotyping in HLA-A,B, and DR identical intrafamilial bone marrow transplantation. *Leukemia*. 1990;4(3):222-6.
41. Goulmy E, Schipper R, Pool R *et al*. Mismatches of minor histocompatibility antigens between HLA-identical donor and recipients and the development of graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *N Engl J Med*. 1996;334(5):281-5.
42. Tseng LH, Lin MT, Hansen JA *et al*. Correlation between disparity for the minor histocompatibility antigen HA-1 and the development of acute graft-versus-host disease after allogeneic marrow transplantation. *Blood*. 1999;94(8):2911-4.
43. Shiobara S, Sato H, Furukawa T *et al*. Role of polymorphic adhesion molecules in the development of graft-versus-leukemia effect after HLA-matched allogeneic stem cell transplantation. *Rinsho Ketsueki*. 2004;45(7):518-23.
44. Kotzampasaki EM, Spyropoulou-Vlachou MS, Kalofoutis C *et al*. Minor histocompatibility antigen HA-1 e HPA-5 polymorphisms in HLA-identical related bone marrow transplantation. *Transplant Proc*. 2004;36(6):1735-8.
45. Dickinson AM, Charron D. Non-HLA immunogenetics in hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Immunol* 2005; 17(5):517-25.
46. Simpson E, Roopenian D, Goulmy E. Much ado about minor histocompatibility antigens. *Immunol Today*. 1998;19:1008-12.
47. Eiz-Vesper B, Seltsam A, Blasczyk R. ABO glycosyltransferases as potential source of minor histocompatibility antigens in allogeneic peripheral blood progenitor cell transplantation. *Transfusion*. 2005;45(6):960-8.
48. Randolph SS, Gooley TA, Warren EH *et al*. Female donors contribute to a selective graft-versus-leukemia effect in male recipients of HLA-matched, related hematopoietic stem cell transplants. *Blood*. 2004;103(1):347-52.
49. Hsu KC, Keever-Taylor CA, Wilton A *et al*. Improved outcome in HLA-identical sibling hematopoietic stem-cell transplantation for acute myelogenous leukaemia predicted by KIR and HAL genotypes. *Blood*. 2005;105(12):4878-84.
50. Oh H, Loberiza FR Jr, Zhang MJ *et al*. Comparison of graft-versus-host-disease and survival after HLA-identical sibling bone marrow transplantation in ethnic populations. *Blood*. 2005;105(4):1408-16.
51. Iwasaki T. Recent advances in the treatment of graft-versus-host disease. *Clin Med Res* 2004;2(4):243-52.
52. Ferrara JL, Deeg HJ. Graft-versus-host disease. *N Engl J Med*. 1991;324(10):667-74.
53. Margolis J, Vogelsang G. Chronic graft-versus-host disease. *J Hematother Stem Cell Res* 2000;9(3):339-46.
54. Letterio JJ, Roberts AB. Regulation of immune responses by TGF-beta. *Annu Rev Immunol*. 1998;16:137-61.
55. Zhang C, Todorov I, Zhang Z, *et al*. Donor CD4+ T and B cells in transplants induce chronic graft-versus-host disease with autoimmune manifestations. *Blood*. 2006;107(7):2993-3001.
56. Via CS, Rus V, Gately MK, Finkelman FDet *et al*. IL-12 stimulates the development of acute graft-versus-host disease in mice that normally would develop chronic, autoimmune graft-versus-host disease. *J Immunol*. 1994;153(9):4040-7.
57. Okamoto I, Kohno K, Tanimoto T *et al*. IL-18 prevents the development of chronic graft-versus-host disease in mice. *J Immunol*. 2000;164(11):6067-74.
58. Meager T. The molecular biology of cytokines. National Institute for Biological Standards: Wiley J. & Sons, Eds. Potters Bar, England. 1998;1-415.
59. Tanaka J, Imamura M, Kasai M *et al*. The important balance between cytokines derived from type 1 and type 2 helper T cells in the control of graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant*. 1997;19(6):571-6.
60. Hempel L, Körholz D, Nussbaum P *et al*. High interleukin-10 serum levels are associated with fatal outcome in patients after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 1997; 20(5):365-8.
61. Baker KS, Roncarolo MG, Peters C *et al*. High spontaneous IL-10 production in unrelated bone marrow transplant recipients is associated with fewer transplant-related complications and early deaths. *Bone Marrow Transplant*. 1999;23(11):1123-9.
62. Takatsuka H, Takemoto Y, Okamoto T *et al*. Predicting the severity of graft-versus-host disease from interleukin-10 levels after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 1999;24(9):1005-7.
63. Liem LM, Fibbe WE, van Houwelingen HC, Goulmy E *et al*. Serum transforming growth factor-beta 1 levels in bone marrow transplant recipients correlate with blood cell counts and chronic graft-versus-host disease. *Transplantation*. 1999;67(1):59-65.
64. Sakata N, Yasui M, Okamura T *et al*. Kinetics of plasma cytokines after hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors: the ratio of plasma IL-10/sTNFR level as a potential prognostic marker in severe acute graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant*. 2001;27(11):1153-61.
65. Nikolic B, Lee S, Bronson RT *et al*. Th1 and Th2 mediate acute graft-versus-host disease, each with distinct end-organ targets. *J Clin Invest*. 2000;105(9):1289-98.
66. Kobayashi S, Imamura M, Hashino S *et al*. Clinical relevance of serum soluble interleukin-2 receptor levels in acute and chronic graft-versus-host disease. *Leuk Lymphoma*. 1997;28(1-2):159-69.
67. Grimm J, Zeller W, Zander AR. Soluble interleukin-2 receptor serum levels after allogeneic bone marrow transplantation as a marker for GVHD. *Bone Marrow Transplant*. 1998;21(1):29-32.
68. Foley R, Couban S, Walker I *et al*. Monitoring soluble interleukin-2 receptor levels in related and unrelated donor allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1998;21(8):769-73.
69. Kobayashi S, Imamura M, Hashino S *et al*. Possible role of granulocyte colony-stimulating factor in increased serum soluble interleukin-2 receptor-alpha levels after allogeneic bone marrow transplantation. *Leuk Lymphoma*. 1999;33(5-6):559-66.
70. Chang DM, Wang CJ, Kuo SY, Li JH *et al*. Cell surface markers and circulating cytokines in graft versus host disease. *Immunol Invest*. 1999;28(1):77-86.
71. Mathias C, Mick R, Grupp S *et al*. Soluble interleukin-2 receptor concentration as a biochemical indicator for acute graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation. *J Hematother Stem Cell Res*. 2000;9(3):393-400.
72. Kami M, Matsumura T, Tanaka Y *et al*. Serum levels of soluble interleukin-2 receptor after bone marrow transplantation: a true marker of acute graft-versus-host disease. *Leuk Lymphoma* 2000;38(5-6):533-40.
73. Nakamura H, Komatsu K, Ayaki M *et al*. Serum levels of soluble IL-2 receptor, IL-12, IL-18, and IFN-gamma in patients with acute graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation. *J Allergy Clin Immunol*. 2000 Jul;106(1 Pt 2):S45-50.
74. Visentainer JEL, Lieber SR, Persoli LBL *et al*. Serum soluble interleukin-2 receptor levels as predictive parameter of acute graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 2002;29(2):S198.

75. Shaiegan M, Iravani M, Babaee GR, Ghavamzadeh A *et al.* Effect of IL-18 and sIL2R on aGVHD occurrence after hematopoietic stem cell transplantation in some Iranian patients. *Transpl Immunol.* 2006;15(3):223-7.
76. Remberger M, Naseh N, Aschan J *et al.* G-CSF given after haematopoietic stem cell transplantation using HLA-identical sibling donors is associated to a higher incidence of acute GVHD II-IV. *Bone Marrow Transplant.* 2003;32(2):217-23.
77. Ringdén O, Labopin M, Gorin NC *et al.* Treatment with granulocyte colony-stimulating factor after allogeneic bone marrow transplantation for acute leukemia increases the risk of graft-versus-host disease and death: a study from the Acute Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *J Clin Oncol.* 2004;22(3):416-23.
78. Ostronoff M, Ostronoff F, Souto Maior P *et al.* Pilot study of allogeneic G-CSF-stimulated bone marrow transplantation: harvest, engraftment, and graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2006;12(7):729-33.
79. Dhedin N, Chamakhi I, Perreault C *et al.* Evidence that donor intrinsic response to G-CSF is the best predictor of acute graft-vs-host disease following allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Exp Hematol.* 2006;34(1):107-14.
80. Levine JE, Wiley J, Kletzel M *et al.* Cytokine-mobilized allogeneic peripheral blood stem cell transplants in children result in rapid engraftment and a high incidence of chronic GVHD. *Bone Marrow Transplant.* 2000;25(1):13-8.
81. Devine SM, Brown RA, Mathews V *et al.* Reduced risk of acute GVHD following mobilization of HLA-identical sibling donors with GM-CSF alone. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 36 (6): 531-8.
82. Marshal SE, McLaren AJ, McKinney EF *et al.* Donor cytokine genotype influences the development of acute rejection after renal transplantation. *Transplantation.* 2001;71(3):469-76.
83. Müller-Steinhardt M, Härtel C, Müller B *et al.* The interleukin-6-174 promoter polymorphism is associated with long-term kidney allograft survival. *Kidney Int.* 2002;62(5):1824-7.
84. Tilg H, Dinarello CA, Mier JW. IL-6 and APPs: anti-inflammatory and immunosuppressive mediators. *Immunol Today.* 1997;18(9):428-32.
85. Diehl S, Rincon M. The two faces of IL-6 on Th1/Th2 differentiation. *Mol Immunol.* 2002;39(9):531-6.
86. Nordlander A, Uzunel M, Mattsson J, Ramberger M. The TNF α 4 allele is correlated to moderate-to-severe acute graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 2002;119(4):1133-6.
87. Takahashi H, Furukawa T, Hashimoto S *et al.* Contribution of TNF- α and IL-10 gene polymorphisms to graft-versus-host disease following allo-hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2000;26(12):1317-23.
88. Bogunia-Kubik K, Polak M, Lange A. TNF polymorphisms are associated with toxic but not with aGVHD complications in the recipients of allogeneic sibling haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2003;32(6):617-22.
89. McCaffrey PG, Goldfeld AE, Rao A. The role of NFATp in cyclosporine A-sensitive tumor necrosis factor- α gene transcription. *J Biol Chem.* 1994;269(48):30445-50.
90. Viel DO, Tsuneto LT, Sossai CR *et al.* IL2 and TNFA gene polymorphisms and the risk of graft-versus-host disease after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Scand J Immunol* 2007;66(6):703-10.
91. Mlynarczewska A, Wysoczanska B, Karabon L *et al.* Lack of IFN- γ 2/2 homozygous genotype independently of recipient age and intensity of conditioning regimen influences the risk of aGVHD manifestation after HLA-matched sibling haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2004;34(4):339-44.
92. Wu JM, Bensen-Kennedy D, Miura Y *et al.* The effects of interleukin 10 and interferon gamma cytokine gene polymorphisms on survival after autologous bone marrow transplantation for patients with breast cancer. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2005;11(6):455-64.
93. Hoffmann SC, Stanley EM, Darrin Cox E *et al.* Association of cytokine polymorphic inheritance and in vitro cytokine production in anti-CD3/CD28-stimulated peripheral blood lymphocytes. *Transplantation.* 2001;72(8):1444-50.
94. MacMillan ML, Radloff GA, Kiffmeyer WR *et al.* High-producer interleukin-2 genotype increases risk for acute graft-versus-host disease after unrelated donor bone marrow transplantation. *Transplantation.* 2003;76(12):1758-62.
95. Kim DH, Lee NY, Sohn SK *et al.* IL-10 promoter gene polymorphism associated with the occurrence of chronic GVHD and its clinical course during systemic immunosuppressive treatment for chronic GVHD after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Transplantation.* 2005;79(11):1615-22.
96. Liem LM, van Houwelingen HC, Goulmy E. Serum cytokine levels after HLA-identical bone marrow transplantation. *Transplantation.* 1998;66(7):863-71.
97. Schwaighofer H, Oberhuber G, Hebart H *et al.* Endogenous interleukin 1 receptor antagonist during human bone marrow transplantation: increased levels during graft-versus-host disease, during infectious complications, and after immunoglobulin therapy. *Transplantation.* 1997;63(1):52-6.
98. Hirayama M, Azuma E, Kumamoto T *et al.* Discrimination of acute graft-versus-host disease from infections by enumeration of peripheral blood interferon-gamma spot-forming cells. *Transplantation.* 2006;81(4):632-5.
99. Reddy V, Meier-Kriesche HU, Greene S *et al.* Increased levels of tumor necrosis factor alpha are associated with an increased risk of cytomegalovirus infection after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2005;11(9):698-705.
100. Srinivasan R, Chakrabarti S, Walsh T *et al.* Improved survival in steroid-refractory acute graft versus host disease after non-myeloablative allogeneic transplantation using a daclizumab-based strategy with comprehensive infection prophylaxis. *Br J Haematol.* 2004; 124(6):777-86.
101. Bordigoni P, Dimicoli S, Clement L *et al.* Daclizumab, an efficient treatment for steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *Br J Haematol.* 2006;135(3):382-5.
102. Willenbacher W, Basara N, Blau IW *et al.* Treatment of steroid refractory acute and chronic graft-versus-host disease with daclizumab. *Br J Haematol.* 2001;112(3):820-3.
103. Wolff D, Roessler V, Steiner B *et al.* Treatment of steroid-resistant acute graft-versus-host disease with daclizumab and etanercept. *Bone Marrow Transplant.* 2005;35(10):1003-10.
104. Rodriguez V, Anderson PM, Trotz BA *et al.* Use of infliximab-daclizumab combination for the treatment of acute and chronic graft-versus-host disease of the liver and gut. *Pediatr Blood Cancer.* 2007;49(2):212-5.
105. Busca A, Locatelli F, Marmont F *et al.* Recombinant human soluble tumor necrosis factor receptor fusion protein as treatment for steroid refractory graft-versus-host disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Hematol.* 2007; 82(1):45-52.

Avaliação: Editor e dois revisores externos.
Conflito de interesse: não declarado.

Recebido: 01/06/2006
Aceito após modificações: 10/04/2007