

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
Departamento de Clínica Médica
Centro de Ciências das Imagens e Física Médica

Lara Zupelli Lauar

**Controle tardio da inflamação em Esclerose Múltipla em
pacientes tratados com transplante autólogo de células
tronco hematopoiéticas**

**Dissertação apresentada à Faculdade
de Medicina de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Mestre pelo
programa de Mestrado Profissional
em Ciências das Imagens e Física
Médica.**

**Área de Concentração:
Diagnóstico por Imagem -
Neurorradiologia**

**Ribeirão Preto
2017**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Lauar, Lara Zupelli.

Controle tardio da inflamação em esclerose múltipla em pacientes tratados com transplante autólogo de células tronco hematopoiéticas / Lara Zupelli Lauar; Orientador: Antonio Carlos dos Santos - Ribeirão Preto, 2017.

34 página, 4 ilustrações, 2 tabelas e 2 gráficos.

Dissertação de mestrado profissional (Programa Ciências das Imagens e Física Médica - Área de Concentração: Diagnóstico por Imagem) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

1) Ressonância magnética 2) Esclerose Múltipla 3) Inflamação 4) Transplante autólogo de Células Tronco hematopoiéticas.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Lauar, Lara Zupelli

Controle tardio da inflamação em Esclerose Múltipla em pacientes tratados com transplante autólogo de células tronco hematopoiéticas.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre-pelo programa de Mestrado Profissional em Ciências das Imagens e Física Médica.
Área de Concentração:
Diagnóstico por Imagem - Neurorradiologia.

Aprovada em: ____/____/____

Banca examinadora:

Prof.

Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof.

Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedico este trabalho a todos os mestres que se dispuseram a aperfeiçoar os meus conhecimentos de forma direta e indireta.

Agradecimentos

Agradeço a minha família pelo apoio incondicional nestes anos que me dedico a minha formação, ao meu orientador, Dr Antonio Carlos, que nunca mede esforços para o bom andamento do Serviço de Radiologia do HCRP, a Dra Gabriela Moreira que acompanhou de perto a minha trajetória neste último ano, me apoiando e amparando quando necessário e a Dra Cecília Miyake pelos quatro anos que tive o prazer de conviver quase que diariamente e aprender não só sobre neurorradiologia.

SUMÁRIO

1. RESUMO.....	6
2. ABSTRACT.....	7
3. LISTA DE FIGURAS E TABELAS	8
4. INTRODUÇÃO	11
5. OBJETIVO.....	16
6. MÉTODO	16
7. RESULTADOS.....	20
8. DISCUSSÃO.....	28
9. CONCLUSÃO.....	29
10. BIBLIOGRAFIA.....	29

1. RESUMO

A esclerose múltipla (EM) é uma doença desmielinizante inflamatória crônica recorrente, restrita ao sistema nervoso central (SNC), cuja característica histológica é a ocorrência de desmielinização relacionada com infiltrado inflamatório perivenular com relativa preservação axonal. A forma clássica da doença se caracteriza pela recorrência de ataques (surto), seguidos de remissão dos sintomas (RRMS), com a presença de múltiplas lesões focais dispersas pelo SNC (dissociação espacial) com processo inflamatório exuberante na fase aguda, coexistindo com lesões crônicas (dissociação temporal) sem atividade inflamatória evidenciável pela quebra de barreira hematoencefálica e realce na fase contrastada na imagem de ressonância magnética (MRI). Alguns pacientes tem uma evolução benigna, permanecendo livre de sequelas significativas por mais de 20 anos da doença. Outros pacientes têm uma forma agressiva da doença, ficando restritos à cadeira de rodas em 8 a 10 anos de evolução. Um desafio é modificar o curso desta forma agressiva, o que pode ser feito com o uso de imunomoduladores, quimioterápicos e, eventualmente, transplante autólogo de células tronco hematopoiéticas (aHSCT). O objetivo da utilização do aHSCT é a restauração da atividade imunológica livre dos ataques à mielina (“autoimune reset”). Uma das maneiras de se monitorar a eficácia do tratamento é a identificação da ocorrência de novas lesões e de lesões com reforço visíveis em exames de RM seriados.

Objetivo: Testar a hipótese de que o tratamento de pacientes com EM, utilizando aHSCT, foi eficaz em evitar a recorrência de inflamação e o aparecimento de novas lesões visíveis na SB ao exame de MRI, a longo prazo.

Resultados: Na nossa Instituição, cerca de 66 pacientes portadores de EM foram tratados com aHSCT no período de 2004 a 2011, sendo seguidos desde então pelas disciplinas de hematologia, neurologia/neuroimunologia e pela seção de RM do CCIFM-HCRP.

Método: Foram revisados os exames de RM de encéfalo adquiridos de maneira prospectiva e protocolada, de 76 pacientes submetidos ao aHSCT, com seguimento por MRI há mais de cinco anos. As imagens de RM foram arquivadas nos servidores do CCIFM, foram recuperadas, anonimizadas e revistas por pelo menos dois radiologistas experientes, de maneira independente e por confrontação. Foi considerada falha terapêutica a identificação de lesões novas e/ou lesões com reativação inflamatória.

Resultados: Dez pacientes foram excluídos. Doze pacientes (18,18%) apresentaram novas lesões ou recorrência do processo inflamatório, com reforço.

Conclusão: Na nossa amostra o aHSCT foi capaz de controlar a recorrência de lesões e da atividade inflamatória perceptível na RM em mais de 87% dos casos, caracterizando uma importante opção terapêutica de segunda linha nos casos de maior agressividade da doença

Palavras-chave: esclerose múltipla, transplante autólogo de células tronco hematopoiéticas, transplante autólogo de medula óssea, imagem de ressonância magnética.

ABSTRACT

Multiple sclerosis (MS) is a recurrent chronic inflammatory demyelinating disease, restricted to the central nervous system (CNS), whose histological feature is the occurrence of perivenular inflammatory infiltrate, leading to demyelination with relative axonal preservation. The classic form of the disease is characterized by the recurrence of attacks (outbreaks), followed by remission of symptoms (RRMS), with the presence of multiple focal lesions dispersed by the CNS (spatial dissociation) with exuberant inflammatory process in the acute phase, coexisting with chronic lesions (Temporal dissociation) without inflammatory activity evidenced by the breakdown of blood-brain barrier and contrast-enhanced magnetic resonance imaging (MRI). Some patients have a benign course, remaining free of significant sequelae for more than 20 years of the disease. Other patients have an aggressive form of the disease, being restricted to the wheelchair in 8 to 10 years of evolution. One challenge is to modify the course in this aggressive way, which can be done with the use of immunomodulators, chemotherapeutics and, eventually, autologous hematopoietic stem cell transplantation (aHSCT). The goal of using aHSCT is to restore immune activity free of myelin attacks ("autoimmune reset"). One of the ways to monitor treatment efficacy is to identify the occurrence of new lesions and visible reinforcing lesions on serial MRI scans.

Objective: To test the hypothesis that the treatment of patients with MS using aHSCT was effective in avoiding the recurrence of inflammation and the appearance of new visible lesions in SB at the long-term examination of MRI.

Results: At our institution, approximately 66 patients with MS were treated with aHSCT from 2004 to 2011, followed by the hematology, neurology / neuroimmunology and MRI sections of the CCIFM-HCRP.

Methods: Brain and MRI scans acquired in a prospective and protocolized way from 76 patients who underwent aHSCT were followed up with MRI for more than five years. The MR images were archived on the CCIFM servers, retrieved, anonymised and reviewed by at least two experienced radiologists, independently and by confrontation. The identification of new lesions and / or lesions with inflammatory reactivation was considered therapeutic failure.

Results: Ten patients were excluded. Twelve patients (18.18%) presented new lesions or recurrence of the inflammatory process, with reinforcement.

Conclusion: In our sample, aHSCT was able to control the recurrence of lesions and the inflammatory activity detected in MRI in more than 87% of the cases, characterizing an important second line therapeutic option in the cases of greater aggressiveness of the disease.

Keywords: multiple sclerosis, autologous hematopoietic stem cell transplant (aHSCT), bone marrow transplante (BMT), magnetic ressonance imaging.

Lista de Figuras e Tabelas

2 Tabelas com resultados da análise do trabalho mostrando pacientes com boa evolução, falha terapêutica e pacientes com critérios de exclusão; páginas 22 e 23.

2 gráficos mostrando os resultados obtidos na análise dos pacientes com esclerose múltipla em tratamento com aHSCT; páginas 24 e 25.
--

4 figuras mostrando pacientes com esclerose múltipla em tratamento com aHSCT que apresentaram lesões realçantes ou novas lesões encefálicas nos controles seriados por RM; páginas 25, 26, 27 e 28.

Lista de Abreviaturas :

aHSCT	transplante autólogo de células tronco hematopoiéticas
IMR	Imagem por Ressonância Magnética
EM	Esclerose Múltipla
RR	Fase Recorrente Remitente
SP	Fase Secundariamente Progressiva
PP	Fase Primariamente Progressiva
SB	Substância Branca
SC	Substância Cinzenta
LCR	Líquido cerebroorraquidiano
FPC	Fração Tecidual do Cérebro
RF	Radiofrequência
aHSCT	Transplante autólogo de células tronco hematopoiéticas
FP	Falso-positivo
FN	Falso-negativo
NAWM	Normal-Appearing White Matter

3. INTRODUÇÃO

A EM é uma doença desmielinizante, inflamatória, crônica, adquirida, geneticamente determinada, com modulação ambiental. O entendimento atual atribui bases imunomediadas ao dano multifocal da substância branca do SNC, caracterizada por dissociação espacial (múltiplas lesões) e dissociação temporal, com lesões de início não síncrono⁽¹⁾. Na sua forma clássica, a doença cursa com desmielinização multifocal no encéfalo e medula espinal⁽²⁾. Na sua fase inicial caracterizada por surto, remissão e recorrência (EMRR = esclerose múltipla recorrente e remitente) na qual o ataque focal da mielina cursa com exuberante processo inflamatório, que causa quebra da barreira hematoencefálica, que, a depender de sua intensidade, pode ser evidenciada por na RM pelo realce após injeção intravenosa de contraste paramagnético. Quando esta lesão ocorre em local funcionalmente eloquente, um déficit clínico correspondente pode ser percebido. Se este déficit perdura por mais de 24 horas, seguindo-se de uma remissão dos sintomas, com recuperação completa ou incompleta do déficit neurológico. Ao longo do tempo vão sendo acumulados déficits residuais, responsáveis pela deterioração clínica do paciente. Em 85% dos casos esta fase aguda, recorrente remitente, com alta carga de atividade inflamatória, se faz seguir de uma fase secundariamente progressiva (EMSP), com surtos escassos ou ausentes, sem atividade inflamatória mensurável por métodos de imagem, porém, com deterioração progressiva da função neurológica, fase esta dita degenerativa.

A intensidade do ataque inflamatório, sua localização, número de lesões visíveis na RM e número de lesões com reforço após contraste, duração do quadro agudo, bem como a efetividade do reparo da mielina lesada são extremamente variáveis de caso a caso. Em decorrência desta alta variabilidade, alguns pacientes

têm uma evolução benigna, permanecendo livre de sequelas significativas por mais de 20 anos, enquanto outros apresentam uma forma agressiva da doença, ficando restritos à cadeira de rodas em 8 a 10 anos de evolução e confinados ao leito, sem capacidade motora, sem controle esfintérico, com alta morbidade e dependente de cuidados. Um desafio é modificar o curso desta forma agressiva, com um pior prognóstico, sem resposta satisfatória com o tratamento convencional. Para os casos com curso agressivo, não responsivos ao tratamento com imunomoduladores de primeira linha, têm sido indicado o tratamento dito de segunda linha, que inclui a opção do transplante autólogo com células tronco hematopoiéticas (aHSCT).

Estudos demonstram que a imunoablação seguida de transplante autólogo de células tronco hematopoéticas é capaz de suprimir a atividade inflamatória em pacientes com doenças imunomediadas, sendo possível induzir remissões clínicas prolongadas nestes pacientes. O tratamento da esclerose múltipla com aHSCT é foi introduzido na década de 90, com o racional de promover uma acentuada imunossupressão, seguida de uma reconstituição do sistema imune destes pacientes, evitando a ocorrência de novos auto ataques inflamatórios à mielina.

A monitorização da resposta ao tratamento

A ressonância magnética é o método ideal para o diagnóstico e seguimento das lesões da substância branca do encéfalo e medula espinal. As sequências ponderadas em T2 têm enorme sensibilidade para detectar aumento da concentração focal de água no tecido, que aparece como foco de hipersinal em relação à mielina normal. Embora muito sensíveis estas sequências são pouco específicas, representando de maneira muito similar a desmielinização, necrose, gliose, lesão axonal e edema. São

especialmente eficientes na identificação de placas de EM macroscopicamente visíveis, embora tenha pouco poder de discriminar placas agudas, subagudas e crônicas. Não identifica também as lesões microscópicas, passíveis de identificação histológica, porém, se mostrando como substância branca aparentemente normal, sem placas macroscópicas, o que gerou o termo de substância branca aparentemente normal (NAWM, do Inglês normal-appearing white matter). Porém, as lesões macroscopicamente visíveis são identificadas de maneira muito eficiente por estas sequências, o que faz com que sejam usadas para o cálculo do volume total de lesões T2. Apesar da correlação entre o volume de lesões e o grau de deterioração clínica seja apenas moderado, a detecção de novas lesões visíveis em sequências T2 tem sido um importante indicador da progressão da doença, sendo frequente a utilização de estudos sequenciais onde, em paralelo com o volume de lesões, se identifique o lesões progressas e, eventualmente, novas lesões.

As imagens ponderadas em T1 têm menor sensibilidade para identificar lesões, mas possui, em contrapartida, uma maior especificidade para detectar e estimar a destrutividade das lesões. Além disto, quando utilizada a administração endovenosa de meio de contraste paramagnético (gadolínio) as lesões com inflamação e quebra de barreira hematoencefálica, apresentam um encurtamento do sinal T1 pelo extravasamento do contraste, e realce da lesão. A lesão de EM vista na imagem T2 pode ser vista ou não na imagem T1. Quando a destrutividade é pequena, restrita a desmielinização, sem necrose, gliose ou edema importante, a lesão permanece isointensa ao parênquima adjacente, não sendo identificada na imagem ponderada em T1. Por outro lado, quando a placa tem muito edema, ou tem uma destrutividade baixa, restrita a palidez da mielina ou desmielinização leve, apresenta um sinal próximo da substância cinzenta (SC), com discreta hipointensidade em relação com a

SB. Quando ocorre uma destruição tecidual mais intensa, com necrose e gliose, a lesão aparece nas imagens em T1 com forte hipossinal, próxima do LCR, sendo chamada de “black hole”. Diversos estudos têm mostrado uma boa correlação entre os “black holes” e a deterioração clínica[22]. Com a administração do contraste endovenoso é possível identificar focos de quebra de barreira hematoencefálica, indicativos de processo inflamatório, o que é considerado um dos eventos mais precoces do processo de lesão na EM. Assim, a contagem de lesões com realce pelo contraste é um indicador muito eficiente de processo inflamatório focal. Em adição, o cálculo de volume de lesão visível em sequência T1 tem potencial para melhor caracterizar a destruição tecidual.

O Transplante de Medula Óssea

O transplante de medula óssea, precedido de intensa imunossupressão é indicado para doenças neoplásicas que cursam com falência do sistema hematopoético, por infiltração de células leucêmicas na medula óssea, ou por comprometimento do sistema imunológico. Basicamente o transplante visa, permite através de quimioterápicos e a radioterapia corporal total, proporcionar a recuperação dos sistemas hematológico e imunológico [34].

A técnica atualmente utilizada neste processo consiste na retirada de células com agulhas especiais, através de múltiplas punções na medula óssea dos ossos da bacia. Outra técnica é a retirada destas células por meio de uma máquina de aférese. Neste método, o sangue sai de uma veia, passa pela máquina que separa as células, e em seguida é devolvido em uma veia no outro braço. No caso do autotransplante estas células serão criopreservadas para utilização futura. As células retiradas, quando

injetadas na veia, circulam na corrente sanguínea e se implantam na medula óssea previamente destruída com quimioterapia em altas doses. A partir deste momento inicia-se o processo de recuperação hematológica do paciente, que caracteriza o transplante [34].

O racional para a utilização do AHSCT no tratamento da EM são as evidências desta ser uma doença imunológica. Entre estas evidências podemos citar o achado persistente de células inflamatórias tanto no líquido cefalorraquiano, como nas placas, bem como a identificação de imunoglobulinas monoclonais relacionadas com a doença e um grande número de linfócitos T ativados. Além disto, diversos autores têm publicado associações entre EM e certas classes de HLA. Modelos experimentais têm demonstrado que os linfócitos T desempenham um papel importante na inicialização da resposta imune que determina a destruição da mielina, ao final do processo que passa pela abertura da barreira hematoencefálica. Além disto, diversas terapêuticas imunomoduladoras, antiinflamatória e imunossupressora tem sido usada com sucesso parcial no controle da doença. Baseado nestas evidências, o AHSCT tem sido aventado como uma terapêutica mais enérgica, que poderia ser utilizada nos casos não responsivos ao tratamento convencional ou nos casos com evolução muito agressiva.

O critério de seleção dos pacientes para AHSCT em nossa Instituição inclui pacientes na fase secundária progressiva da EM, ou seja, pacientes com escala expandida do estado de incapacidade (EDSS) entre 3,0 e 6,5 e, há um ano, entre 3,0 e 6,0; doença em progressão nos últimos seis meses; ampliação de 1 ponto na escala no último ano; idade entre 18 e 60 anos e não resposta ao tratamento medicamentoso [35].

Os resultados de um dos mais recentes estudos desenvolvidos em nossa instituição apontam que dos 37 pacientes tratados com transplante acompanhados para a pesquisa a EM de ambos os pacientes com seguimento de três ou mais anos está estabilizada. Quatro pacientes (10,8%) foram a óbito. A EM de 26 pacientes (70,9%) permanece estável, a de quatro (10,8%) melhorou e a de 3 (8%) se agravou. Houve óbito único com imunossupressão através de altas doses de ciclofosfamida [35].

Assim é que nos propomos neste trabalho quantificar a taxa de sucesso na abolição da resposta inflamatória em pacientes com esclerose múltipla, usando aHSCT através da verificação do grau de recorrência da inflamação após o procedimento.

4. OBJETIVO

Testar a hipótese de que o tratamento de pacientes com esclerose múltipla utilizando AHST foi eficaz em evitar a recorrência de inflamação e o aparecimento de novas lesões visíveis na SB ao exame de MRI, a longo prazo.

5. MÉTODO

Trata-se de um estudo prospectivo com aquisição de imagens padronizadas com protocolo bem estabelecido, adquiridos durante o período de 2004 a 2016, com dois equipamentos de RM. Um dos aparelhos tinha campo magnético de 1,5 Tesla, modelo Magnetom Vision, Siemens, Erlangen, Alemanha. As imagens deste projeto foram adquiridas no período de 2004 a 2008. O outro aparelho é de 3 Tesla, modelo Achieva, Philips, Best, Holanda. O protocolo de aquisição foi diferente para os dois aparelhos, tanto devido à capacidade técnica do equipamento, como devido ao tipo de protocolo preconizado na literatura para os diferentes períodos.

No aparelho Siemens, de 1,5 Tesla, o protocolo utilizado foi:

1. Sequências turbo-spin Echo PD-T2 para avaliação do volume de lesões

a. sequência duplo Echo (PD + T2) turbo-spin-echo, com TR de 2700ms e TE de 17 e 102ms, no plano axial, com 20 cortes de 3mm e espaçamento de 3mm, matriz de 190x256, FOV de 240mm e duas aquisições.

b. A sequência acima é repetida, com deslocamento de 3mm, gerando mais 20 cortes axiais de 3mm. A seguir, as duas sequências são intercaladas, gerando um total de 40 cortes axiais com 3 mm de espessura, cobrindo todo o encéfalo.

2. Sequências avaliação do número de lesões com atividade inflamatória

a. após a administração de 15 ml de gadolínio intravenoso em veia periférica serão adquiridas um par de sequências ponderadas em T1, de acordo com o abaixo discriminado

b. sequência Spin-Echo ponderada em T1, com TR=600ms, TE=14ms, no plano axial, com 20 cortes de 3mm e espaçamento de 3mm, matriz de 190x256, FOV de 240mm e duas aquisições. Esta sequência é repetida, com deslocamento de 3mm,

gerando mais 20 cortes axiais de 3mm. A seguir, as duas sequências são intercaladas, gerando um total de 40 cortes axiais com 3 mm de espessura, cobrindo todo o encéfalo, perfeitamente superposta com as sequências ponderada em T2 e densidade de prótons descritas no item 1.

3. sequências FLAIR para identificação de lesões da SB

Sequência IR (inversão recuperação) ponderada em T2, com TR = 9999 ms, TE = 119 ms, no plano axial, com 20 cortes de 5 mm e espaçamento de 5 mm, sem gap, matriz de 190x256, FOV de 240mm e duas aquisições. Esta sequência é perfeitamente superposta com as sequências TSE ponderada em T2.

No aparelho Philips, de 3 Tesla, o protocolo utilizado foi:

1. Sequência volumétrica 3DT1, MP RAGE (magnetization-prepared rapid gradient-echo) pré contraste

a) Sequência volumétrica de alta resolução e alto contraste, gradiente-echo turbo-spin-echo, com TR de 7 ms e TE de 3,2 ms, no plano sagital, com 180 cortes de 1 mm sem espaçamento, com voxel isotrópico de 1x1x1 mm, matriz de 256x256, FOV de 240mm.

b) A sequência acima é repetida, 5 minutos após administração do contraste, na dose de 1mM/kg.

2. Sequência volumétrica FLAIR 3D

a. após a administração do gadolínio intravenoso em veia periférica foi realizada sequência FLAIR (.

3. sequências FLAIR (Fluid-attenuated inversion recovery) para identificação de lesões da SB

Sequência IR (inversão recuperação) ponderada em T2, com TR = 5000 ms, TE = 331 ms, no plano sagital, 180 cortes de 1 mm sem espaçamento.

4. sequências DIR (Double Inversion Recovery - GM only) volumétrica para identificação de lesões da SB

Sequência IR (inversão recuperação) ponderada em T2, com TR = 5000 ms, TE = 331 ms, no plano sagital, 180 cortes de 1 mm sem espaçamento.

5. Sequências turbo-spin Echo T2 para avaliação do volume de lesões

Sequência duplo Echo (PD + T2) turbo-spin-echo, com TR de 2200 ms e TE de 120 ms, no plano axial, com 40 cortes de 3 mm e espaçamento de 3mm, matriz de 190x256, FOV de 240mm e duas aquisições.

Os exames dos pacientes com esclerose múltipla pós AHSCT, submetidos a exames por ressonância magnética foram analisados sistematicamente, a fim de se constatar a eventual recorrência de lesões com processo inflamatório evidenciado pela presença de reforço na fase contrastada, bem como o aparecimento de novas lesões na substância branca cerebral.

1. Foram incluídos 76 pacientes submetidos ao AHSCT na unidade de AHSCT do HCRP-FMRP-USP, no período entre 2004 e 2011, com seguimento posterior com RM de encéfalo, periodicamente.
2. Acessamos o banco de dados do CCIFM do HCRP-FMRP-USP, sendo identificados os exames de RM, bem como a conclusão de seus laudos.
3. O diagnóstico foi confirmado pela avaliação do prontuário eletrônico dos pacientes, computando-se a data do AHSCT, o esquema terapêutico da indução, a ocorrência de complicações, a eventual utilização de

imunomoduladores ou quimioterápicos na sua evolução, a ocorrência de ataques clinicamente definidos, a progressão do déficit neurológico e o EDSS.

4. As imagens dos pacientes selecionados foram selecionadas e gravadas no servidor Atlas-MNC. Foram gravadas em um arquivo PPTX as imagens T2, T1 pré e pós-contraste. Sendo registrado o aparecimento eventual de novas lesões e a detecção de realce pelo contraste.
5. Coletamos de maneira sistematizada as informações e as disponibilizará em planilha, para análise.
6. Um grupo suficiente foi revisado uma segunda vez por cada examinador para teste de confiabilidade inter e intra avaliador, e cálculo de coeficiente Kappa.
7. Os critérios de exclusão para esse grupo de pacientes selecionados foram pacientes que fecharam outros diagnósticos que não EM e pacientes que perderam seguimento ao longo dos anos subsequentes por algum motivo.

6. RESULTADOS

Foram analisados 76 pacientes submetidos aHSCT no período de 2004 a 2011, sendo 10 pacientes excluídos da pesquisa, pois tiveram diagnóstico de outras enfermidades que não a esclerose múltipla ou outros perderam seguimento por imagem o que impossibilitou a avaliação dos mesmos a longo prazo.

Dos 66 pacientes incluídos no estudo 12 (18,18%) apresentaram novas lesões na análise das imagens T2/FLAIR ou apresentaram lesões com atividade inflamatória, sendo estas vistas como lesões que apresentaram realce após a injeção do meio de contraste paramagnético.

Na análise sistematizada dos pacientes com alterações identificadas nos exames de imagem controle pós AHST, 1 paciente apresentou novas lesões na fossa posterior e aumento volumétrico de algumas lesões previamente existentes; 1 paciente apresentou sinais de neurite óptica e mielite em atividade inflamatória; 1 paciente apresentou uma nova lesão na fossa posterior, sem realce pelo gadolínio; e os demais 9 pacientes demonstraram a presença de novas lesões realçantes, compatíveis com placas em atividade inflamatória.

É preconizado que o tratamento com aHSCT seja feito em pacientes que apresentam uma forma mais agressiva da doença e que estejam na fase aguda, geralmente pacientes com esclerose múltipla do subtipo remitente-recorrente, porém os pacientes que foram selecionados para o tratamento no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto nem sempre apresentavam este perfil, sendo que alguns deles estavam em estágios mais avançados da doença, na fase secundariamente progressiva, ou

apresentavam uma forma da doença não tão agressiva, com número baixo de lesões encefálicas, sem destrutividade significativa.

Paciente	Sexo	Data de nascimento	Data do TMO	Resultado
1 S. H.	F	31/10/61	18/02/04	Sem novas lesões ou lesões realçantes
2 R. D.	F	12/09/66	21/04/04	Paciente perdeu segmento
3 M. F. M.	F	13/04/62	28/05/04	Paciente perdeu segmento
4 W. R. S.	M	03/10/73	22/07/04	Paciente com nova lesão
5 O. L.	M	26/08/52	21/09/04	Sem novas lesões ou lesões realçantes
6 L. S. T.	F	15/02/74	03/11/04	Paciente perdeu segmento
7 S. H. C.	F	29/10/61	11/05/05	Sem novas lesões ou lesões realçantes
8 M. A. F.	F	29/03/57	10/06/05	Sem novas lesões ou lesões realçantes
9 K. S. N.	F	05/03/69	21/06/05	Sem novas lesões ou lesões realçantes
10 R. P.	M	11/03/51	21/06/05	Sem novas lesões ou lesões realçantes
11 L. F.	F	06/02/73	23/08/05	Sem novas lesões ou lesões realçantes
12 C. M.	F	13/04/69	24/08/05	Sem novas lesões ou lesões realçantes
13 L. B.	F	01/06/63	20/10/05	Sem novas lesões ou lesões realçantes
14 C. C.	M	25/10/56	04/11/05	Sem novas lesões ou lesões realçantes
15 L. G.	F	03/07/68	01/02/06	Sem novas lesões ou lesões realçantes
16 J. G.	F	26/04/75	23/03/06	Sem novas lesões ou lesões realçantes
17 J. H.	M	06/11/73	11/04/06	Sem novas lesões ou lesões realçantes
18 M. J.	M	24/06/66	18/04/06	Sem novas lesões ou lesões realçantes
19 F. L.	F	20/11/64	08/05/06	Sem novas lesões ou lesões realçantes
20 L. A.	M	15/11/57	22/05/06	Sem novas lesões ou lesões realçantes
21 S. C.	F	22/11/63	11/06/06	Paciente com neuromielite óptica e mielite em atividade pós TMO
22 C. V.	F	12/08/74	04/07/06	Sem novas lesões ou lesões realçantes
23 A. A.	M	01/02/51	08/08/06	Sem novas lesões ou lesões realçantes
24 O. K.	M	23/05/57	04/09/06	Paciente apresentando novas lesões realçantes pós TMO
25 R. R.	F	02/04/68	26/09/06	Sem novas lesões ou lesões realçantes
26 S. G.	F	18/06/66	09/10/06	Sem novas lesões ou lesões realçantes
27 A. L.	F	13/08/65	13/11/06	Sem novas lesões ou lesões realçantes
28 P. C.	F	27/06/76	11/12/06	Paciente com diagnóstico de NMO
29 M. A.	M	30/03/59	28/02/07	Paciente com diagnóstico de NMO
30 A. M. C.	F	19/02/81	09/03/07	Paciente com diagnóstico de NMO
31 C. A. L.	M	19/01/64	19/03/07	Sem novas lesões ou lesões realçantes
32 J. A.	M	10/09/62	09/04/07	Sem novas lesões ou lesões realçantes
33 S. B.	F	11/10/66	11/04/07	Sem novas lesões ou lesões realçantes
34 U. F.	M	06/10/63	27/08/07	Sem novas lesões ou lesões realçantes
35 J. G.	F	13/05/85	31/10/07	Sem novas lesões ou lesões realçantes
36 M. L.	F	28/04/81	13/11/07	Paciente apresentando lesão realçante pós TMO
37 M. V.	F	29/10/74	04/12/07	Sem novas lesões ou lesões realçantes
38 C. S.	F	11/11/60	08/01/08	Sem novas lesões ou lesões realçantes
39 K. A.	F	15/03/88	10/03/08	Sem novas lesões ou lesões realçantes
40 A. M.	F	05/05/69	19/03/08	Sem novas lesões ou lesões realçantes
41 M. O.	F	28/09/87	09/04/08	Sem novas lesões ou lesões realçantes
42 R. C.	F	19/01/65	06/05/08	Sem novas lesões ou lesões realçantes
43 M. E.	F	16/10/65	13/05/08	Paciente apresentando lesão realçante pós TMO
44 M. S.	F	03/11/84	02/07/08	Sem novas lesões ou lesões realçantes
45 I. M.	F	16/05/65	01/10/08	Sem novas lesões ou lesões realçantes
46 M. L.	F	29/07/55	18/11/08	Sem novas lesões ou lesões realçantes
47 D. G.	M	15/11/87	01/12/08	Paciente perdeu segmento

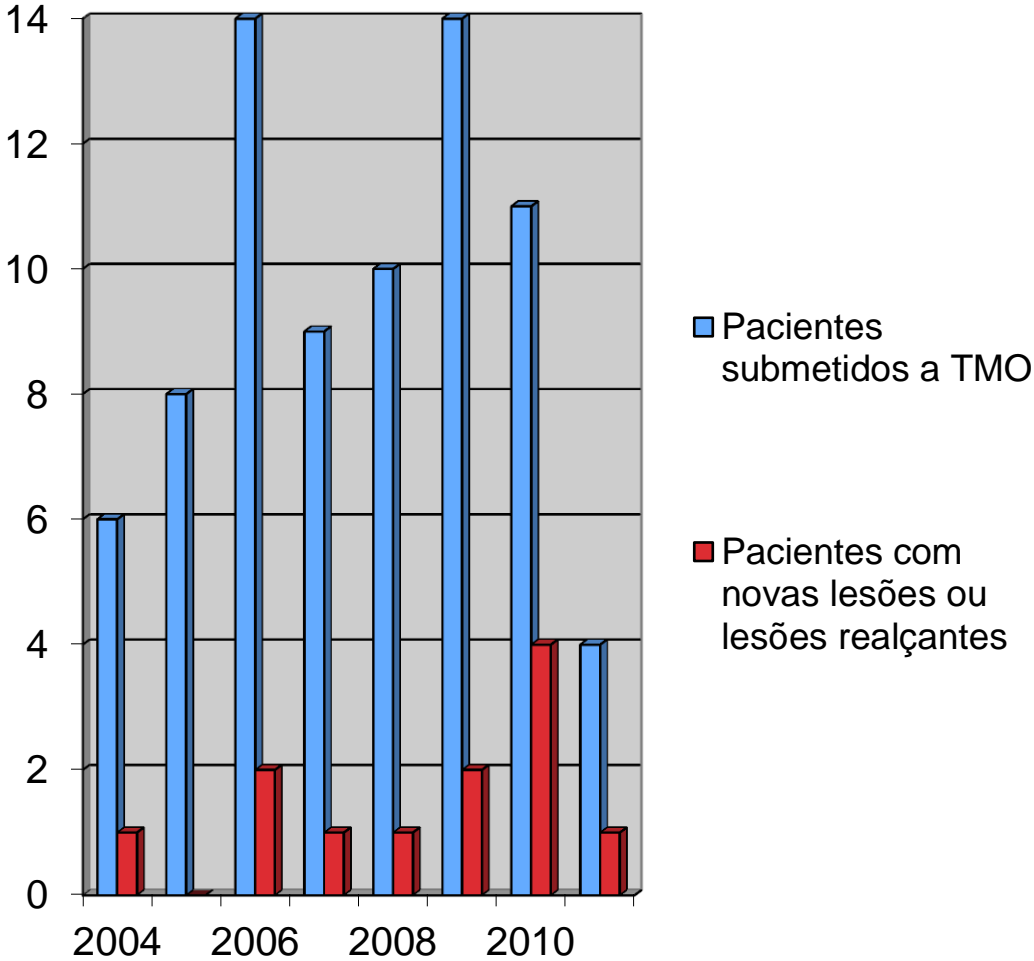
48 R. C.	M	19/10/61	13/01/09	Paciente com diagnóstico de Erdhein Chester	
49 S. S.	F	07/10/73	13/01/09	Sem novas lesões ou lesões realçantes	
50 H. M.	M	30/03/82	13/01/09	Sem novas lesões ou lesões realçantes	
51 M. F.	F	25/07/55	09/03/09	Sem novas lesões ou lesões realçantes	
52 S. L.	M	19/11/80	02/04/09	Sem novas lesões ou lesões realçantes	
53 S. F.	M	28/09/78	12/05/09	Sem novas lesões ou lesões realçantes	
54 J. J.	F	24/04/60	14/05/09	Sem novas lesões ou lesões realçantes	
55 R. F.	F	25/01/70	03/06/09	Sem novas lesões ou lesões realçantes	
56 J. P. P.	M	17/07/82	24/06/09	Sem novas lesões ou lesões realçantes	
57 F. S.	F	17/05/84	29/06/09	Paciente com nova lesão	
58 L. S.	F	25/04/72	08/09/09	Sem novas lesões ou lesões realçantes	
59 M. C.	F	14/12/49	28/09/09	Sem novas lesões ou lesões realçantes	
60 M. L.	M	11/09/66	28/09/09	Sem novas lesões ou lesões realçantes	
61 D. N.	M	17/01/91	11/12/09	Paciente apresentando novas lesões realçantes pós TMO	
62 T. M.	F	08/01/80	12/01/10	Sem novas lesões ou lesões realçantes	
63 F. A.	F	08/08/61	02/02/10	Paciente apresentando lesão com realce pós TMO	
64 M. I. B.	F	13/12/59	18/02/10	Sem novas lesões ou lesões realçantes	
65 S. S. P.	F	15/05/65	08/03/10	Paciente perdeu segmento	
66 L. F. S.	F	17/07/80	19/04/10	Sem novas lesões ou lesões realçantes	
67 F. L.	M	08/08/71	12/05/10	Sem novas lesões ou lesões realçantes	
68 C. C.	F	24/12/83	21/09/10	Sem novas lesões ou lesões realçantes	
69 M. T.	M	20/05/82	13/10/10	Paciente apresentando novas lesões realçantes pós TMO	
70 M. L.	M	10/10/90	12/11/10	Sem novas lesões ou lesões realçantes	
71 L. L.	F	01/09/79	13/11/10	Paciente apresentando novas lesões realçantes pós TMO	
72 H. S. L.	M	08/11/76	19/11/10	Paciente apresentando lesão realçante pós TMO	
73 M. Z.	M	12/09/56	17/02/11	Sem novas lesões ou lesões realçantes	
74 F. L. H.	M	30/11/73	16/03/11	Paciente apresentando lesão realçante pós TMO	
75 L. R. C.	F	17/03/63	23/03/11	Paciente perdeu segmento	
76 J. R. S.	M	22/09/72	11/04/11	Sem novas lesões ou lesões realçantes	

Legenda:

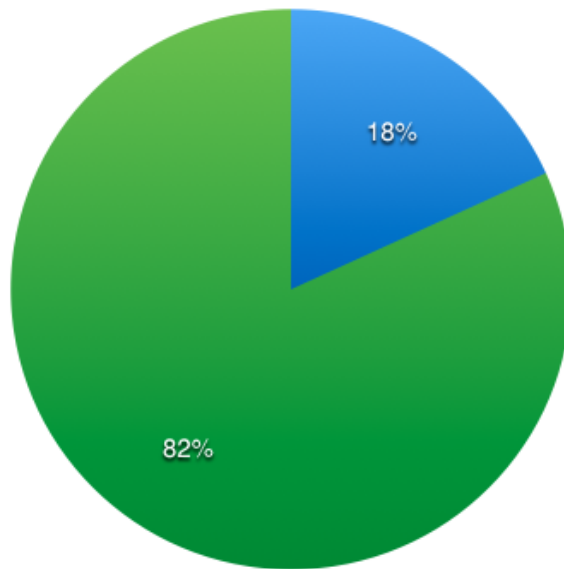
Vermelho: Pacientes que apresentaram novas lesões ou lesões realçantes.

Laranja: Pacientes que apresentaram critérios de exclusão do estudo.

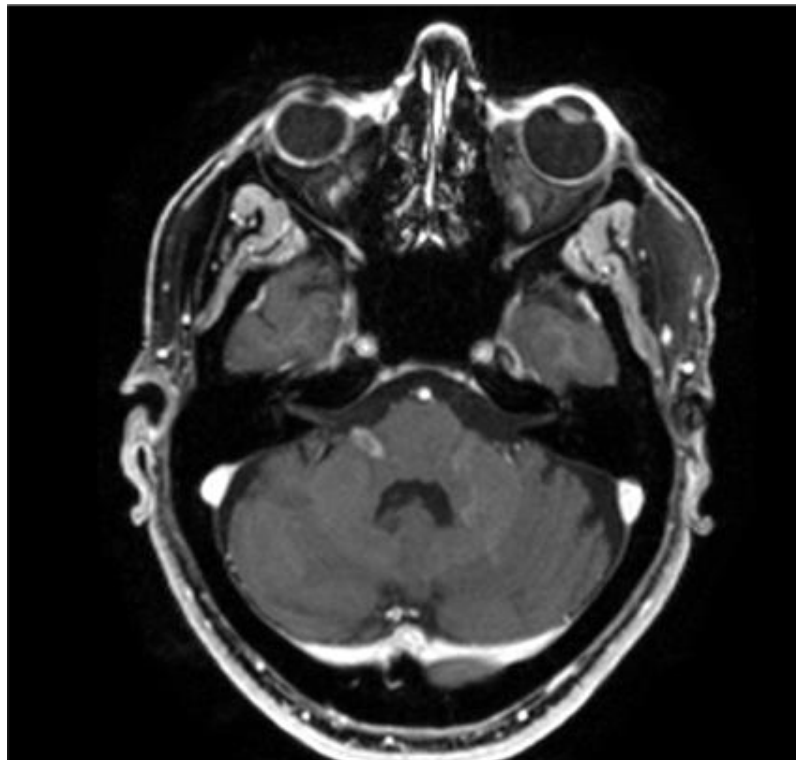
Preto: Pacientes que evoluíram bem após o tratamento, sem novas lesões ou lesões com realce pós gadolínio.



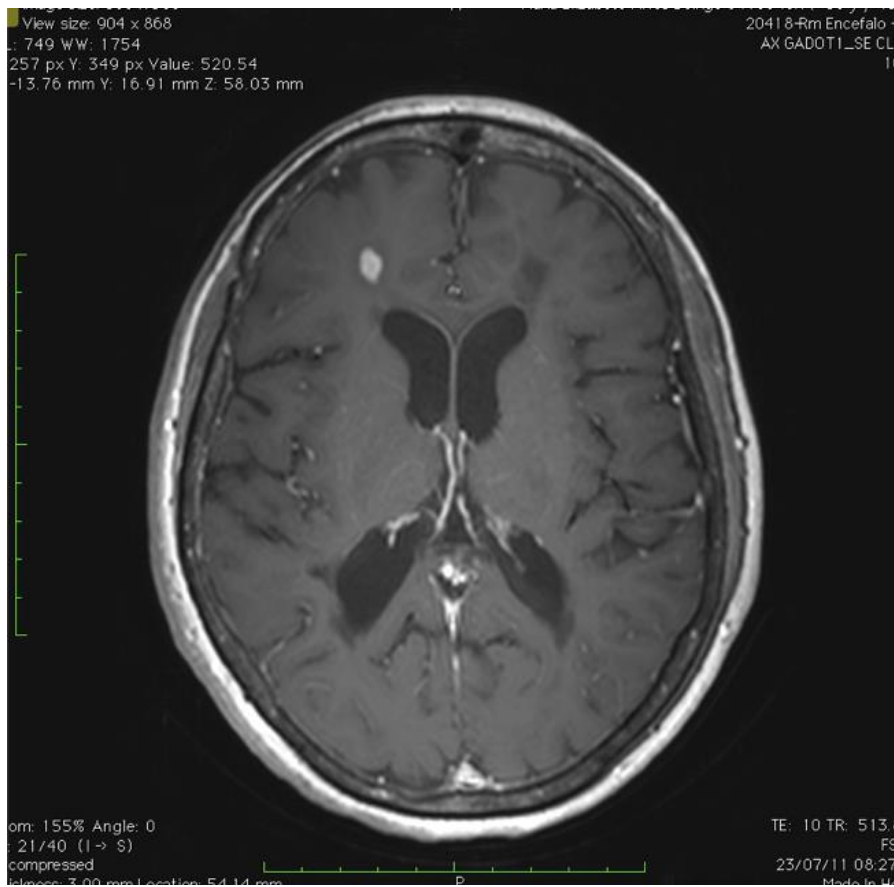
Pacientes com EM submetidos a TMO



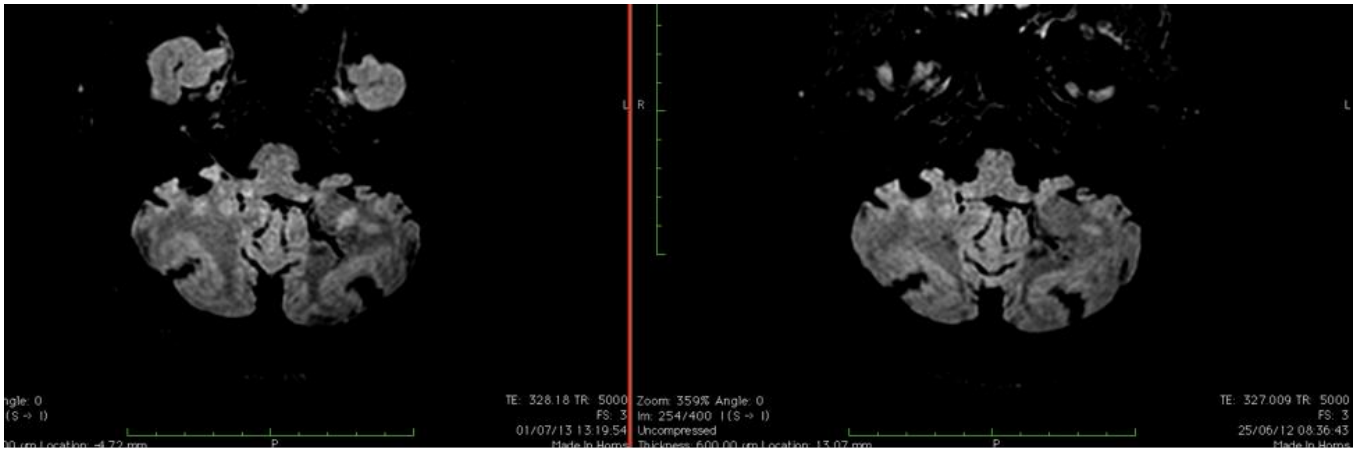
- Pacientes com novas lesões ou lesões realçantes
- Pacientes sem novas lesões ou lesões realçantes



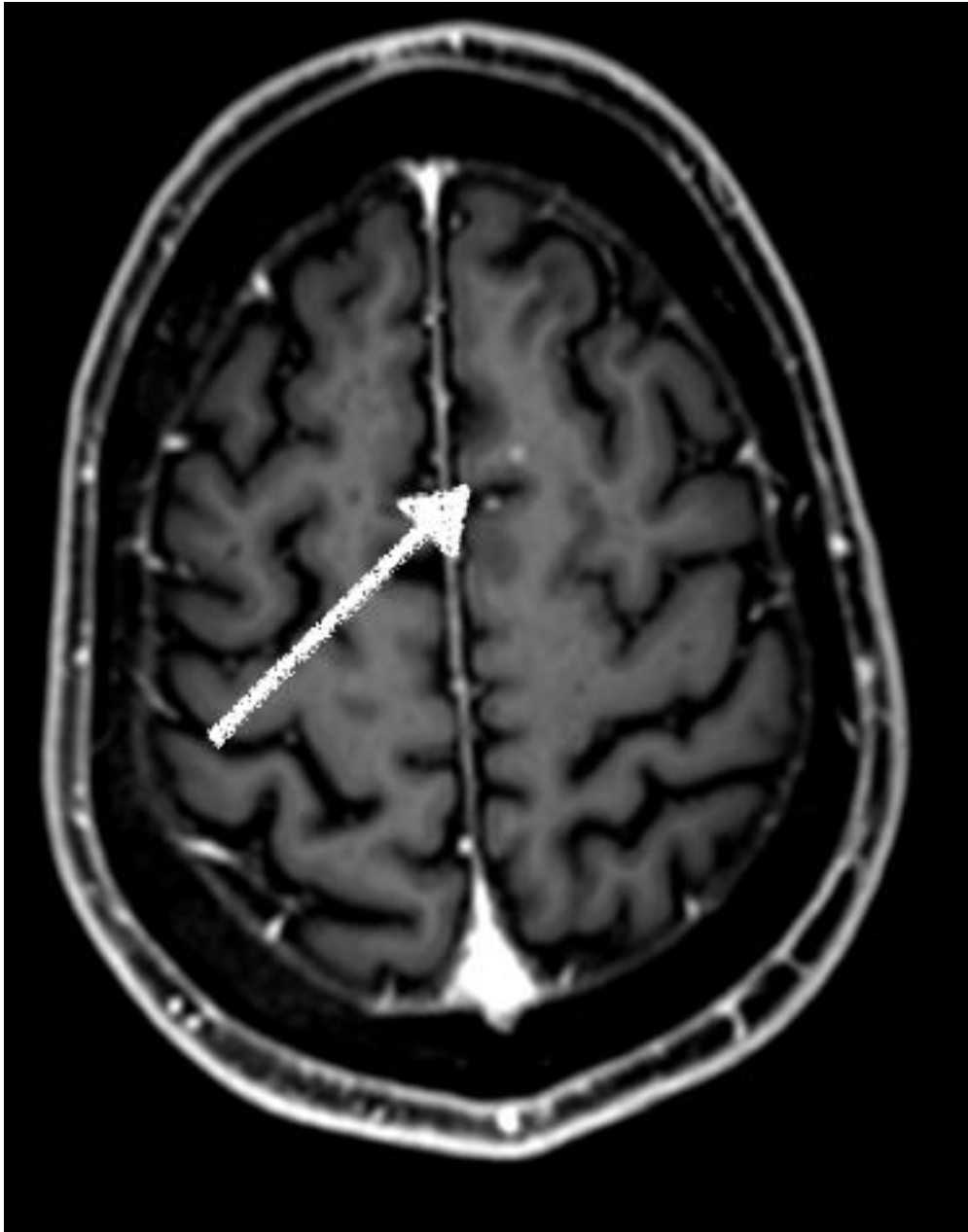
Nova lesão realçante localizada no trajeto do nervo trigêmeo a direita em paciente em seguimento por imagem após tratamento com AHSCT.



Lesão realçante na região frontal direita em paciente com esclerose múltipla tratado com aHSCT.



Presença de uma nova lesão na fossa posterior de paciente com esclerose múltipla tratado com AHST.



**Lesão realçante frontal a esquerda em paciente com esclerose múltipla tratado
Tratado com aHSCT.**

7. DISCUSSÃO:

A razão do uso do aHSCT para o tratamento da EM reside no entendimento de que o passo fundamental para se iniciar o processo de lesão da mielina do SNC na EM, ser a infiltração de linfócitos, sugerindo um padrão de doença autoimune. Assim sendo, o transplante aparece como uma alternativa terapêutica objetivando uma imunoblacção e reconstituição da imunidade do paciente de uma forma livre do prévio “defeito” que originou a doença. Com este racional, o primeiro estudo com HSCT foi realizado em 1997 [52], com base em evidências obtidas em estudos prévios realizados com animais e relatos de casos de pacientes tratados para neoplasias concomitantes com EM. A seguir, diversos estudos se seguiram, descrevendo bons resultados no controle de ocorrência de novos surtos e de ocorrências de novas lesões vistas em sequências T2 de RM, bem como uma dramática redução de lesões com realce após a injeção de contraste paramagnético intravenoso [53]. Algumas revisões, agrupando pacientes de diferentes centros foram publicadas na primeira década deste século, como o trabalho de Fassas et al [53], que agrupou os resultados de 20 centros europeus e um americano. Nesta revisão, foi relatado uma alta taxa de estabilização e mesmo de melhora do EDSS. Outra revisão, que incluiu 143 pacientes tratados [54], encontrou uma taxa de estabilização ou melhora do quadro clínico em torno de 63% destes. Porém, 37% dos pacientes apresentaram progressão da doença. O motivo do deste insucesso em conter a progressão tem sido atribuído a diferentes fatores, com destaque para um viés de seleção, pois, nos diferentes estudos, foram incluídos pacientes que já estavam em fase progressiva, independente de atividade inflamatória detectável, quando foram submetidos ao procedimento, sejam na forma SP ou PP. Assim, fica claro que a indicação do aHSCT deve privilegiar os pacientes com atividade inflamatória importante no momento do procedimento, uma vez que este é o alvo desta proposta de tratamento.

O conceito de “ausência de evidência de atividade da doença” (NEDA, do Inglês “no evidence of disease activity”) é um indicador que vem sendo usado para comparar diferentes tipos de tratamento da EM. Em um editorial recente, assinado por Burman J. e Fox R.J., *Neurology* 2017 [56], os autores comparam a taxa de NEDA do aHSCT, de 67% em 5 anos, com a de 15% para os interferons e glatiramer, ou de 32% a 39%

para o natalizumab ou alemtuzumab. Assim, parece bem estabelecido que o transplante é uma opção terapêutica não curativa, mas com uma eficácia bem razoável, inclusive maior que outras opções disponíveis. Porém, é importante lembrar que é uma opção muito mais agressiva do que as demais, mesmo considerando ser hoje bem mais segura que as primeiras tentativas, conforme discutido na recente meta-análise de Sormani et al., 2017 [57]. Nesta meta-análise, a taxa de mortalidade média de todos os 764 casos compilados, ficou em 2,1%, sendo significativamente maior nos estudos antigos. A taxa de progressão ficou em 17,1% em 2 anos e 23,3% em 5 anos, com NEDA em dois anos de 83%. A taxa de NEDA em 5 anos foi de 67%. Uma das conclusões principais desta revisão é que a eficácia do aHSCT está ligada diretamente com o tipo de paciente tratado, sendo que os estudos mais antigos incluíram muitos pacientes na fase progressiva da doença, nos quais o prognóstico deste tipo de tratamento é pior. Por fim, os autores lembram que está em curso um estudo prospectivo em fase 3, testando a efetividade e segurança do aHSCT em comparação com natalizumab e alemtuzumab [58].

É uma afirmação comum em todos os relatos de estudos utilizando esta terapêutica, a obtenção de um pronunciado declínio e prolongada supressão da ocorrência de novas lesões com atividade inflamatória após o aHSCT. Talvez, erroneamente, esta afirmação possa ser entendida como uma ausência de detecção de novas lesões ou lesões com realce após a injeção de contraste em estudos de RM. Mas isto não é exatamente o que ocorre. Nos mais diferentes estudos, predomina largamente um relato de redução dramática da inflamação, com novas lesões sendo identificadas de maneira esporádica. Inclusive, há o predomínio de ocorrência destas nos primeiros meses pós-transplante [59-66]. Na revisão de Saccardi et al [54], de 2006, 8% dos pacientes apresentaram recorrência de lesões com reforço na RM. A nossa revisão de estudos com um número de pacientes em torno de 5 a 25, publicados até 2005 [59-66], encontramos apenas três trabalhos onde não foi detectada nenhuma nova lesão visível em T2 ou lesão com realce após o transplante.

Portanto, nossos resultados são comparáveis com a literatura, com a virtude de fazer uma revisão de um período longo de seguimento dos pacientes pós transplante, buscando entender o comportamento da resposta inflamatória pós transplante.

8. CONCLUSÃO

Na nossa amostra o aHSCT foi capaz de controlar a recorrência de lesões e da atividade inflamatória perceptível na RM em mais de 87% dos casos, caracterizando uma opção terapêutica de segunda linha, importante nos casos de maior agressividade da doença.

9. BIBLIOGRAFIA

1. Brain atrophy after bone marrow transplantation for treatment of multiple sclerosis Hyunwoo Lee, Sridar Narayanan, Robert A Brown, Jacqueline T Chen, Harold L Atkins, Mark S Freedman and Douglas L Arnold , Canadian, 28 april 2016.
2. Freedman MS, Atkins HL and Bowman M. Longterm outcome of the Canadian multiple sclerosis BMT study: Efficacy and safety of treating aggressive multiple sclerosis with immunoablation and autologous stem cell transplantation. In: 29th congress of the European committee for treatment and research in multiple sclerosis, Copenhagen, 2–5 October 2013
3. Atkins H and Freedman M. Immune ablation followed by autologous hematopoietic stem cell transplantation for the treatment of poor prognosis multiple sclerosis. In: Gordon D and Scolding NJ (eds) Neural cell transplantation. Totowa, NJ:Humana Press, 2009, pp. 231–246.
4. Inglese M, Mancardi GL, et al. Brain tissue loss occurs after suppression of enhancement in patients with multiple sclerosis treated with autologous haematopoietic stem cell transplantation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004 Apr;75(4):643-4.
5. Mancardi G1, Saccardi R. Autologous haematopoietic stem-cell transplantation in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2008 Jul;7(7):626-36.
6. Mancardi GL, Sormani MP, Di Gioia M, et al. Autologous haematopoietic stem cell transplantation with an intermediate intensity conditioning regimen in multiple sclerosis: the Italian multi-centre experience. *Mult Scler*. 2012 Jun;18(6):835-42.
7. Curro' D, Vuolo L, Gualandi F, Bacigalupo A, et al. Low intensity lympho-ablative regimen followed by autologous hematopoietic stem cell transplantation in severe forms of multiple sclerosis: A MRI-based clinical study. *Mult Scler*. 2015 Oct;21(11):1423-30.
8. Intense immunosuppression followed by autologous stem cell transplantation in severe multiple sclerosis. *Neurol Sci*. 2005 Dec;26 Suppl 4:S200-3.
9. A prospective, randomized, controlled trial of autologous haematopoietic stem cell transplantation for aggressive multiple sclerosis: a position paper. Saccardi R, Freedman MS, et al. *Mult Scler*. 2012 Jun;18(6):825-34.
10. Autologous hematopoietic stem cell transplantation suppresses Gd-enhanced MRI activity in MS. Mancardi GL, et al. *Neurology*. 2001 Jul 10;57(1):62-8.
11. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in multiple sclerosis: a phase II trial. **Neurology**. 2015 Mar 10;84(10):981-8
12. MRI and CSF oligoclonal bands after autologous hematopoietic stem cell transplantation in MS. *Neurology*. 2001 Apr 24;56(8):1084-9.

13. Long-term outcomes of autologous hematopoietic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning in multiple sclerosis: physician's and patient's perspectives. Shevchenko JL, et al. *Ann Hematol.* 2015 Jul;94(7):1149-57.
14. Natalizumab in aggressive multiple sclerosis after haematopoietic stem cell transplantation. Capobianco M, et al. *Neurol Sci.* 2012 Aug;33(4):863-7
15. A three-year study of brain atrophy after autologous hematopoietic stem cell transplantation in rapidly evolving secondary progressive multiple sclerosis. Rocca MA, , Filippi M. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2007 Oct;28(9):1659-61.
16. The long-term effect of AHSCT on MRI measures of MS evolution: a five-year follow-up study. Roccatagliata L, Rocca M, Filippi M; Italian GIAHSCT-NEURO Intergroup on Autologous Stem Cell Transplantation. *Mult Scler.* 2007 Sep;13(8):1068-70.
17. Lassmann, H., *The pathology of multiple sclerosis and its evolution.* Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 1999. **354**(1390): p. 1635-40.
18. Charcot, J.-M., *Histologie de la sclérose en plaques.* Gazette Hôpitaux Paris, 1868. **41**: p. 554-566.
19. McFarland, H.F., *The lesion in multiple sclerosis: clinical, pathological, and magnetic resonance imaging considerations.* J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1998. **64 Suppl 1**: p. S26-30.
20. Sadovnick, A.D. and G.C. Ebers, *Epidemiology of multiple sclerosis: a critical overview.* Can J Neurol Sci, 1993. **20**(1): p. 17-29.
21. Prineas, J.W., et al., *Multiple sclerosis: remyelination of nascent lesions.* Ann Neurol, 1993. **33**(2): p. 137-51.
22. Prineas, J.W. and F. Connell, *Remyelination in multiple sclerosis.* Ann Neurol, 1979. **5**(1): p. 22-31.
23. Davie, C.A., et al., *Persistent functional deficit in multiple sclerosis and autosomal dominant cerebellar ataxia is associated with axon loss.* Brain, 1995. **118 (Pt 6)**: p. 1583-92.
24. Schumacker, G.A., et al., *Problems of Experimental Trials of Therapy in Multiple Sclerosis: Report by the Panel on the Evaluation of Experimental Trials of Therapy in Multiple Sclerosis.* Ann N Y Acad Sci, 1965. **122**: p. 552-68.
25. Poser, C.M., et al., *New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols.* Ann Neurol, 1983. **13**(3): p. 227-31.
26. Paty, D.W., *Magnetic resonance imaging in the assessment of disease activity in multiple sclerosis.* Can J Neurol Sci, 1988. **15**(3): p. 266-72.

27. McDonald, W.I., et al., *Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis*. Ann Neurol, 2001. **50**(1): p. 121-7.
28. Polman, C.H., et al., *Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria"*. Ann Neurol, 2005. **58**(6): p. 840-6.
29. Barkhof, F., et al., *Comparison of MRI criteria at first presentation to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis*. Brain, 1997. **120** (Pt 11): p. 2059-69.
30. Tintore, M., et al., *Isolated demyelinating syndromes: comparison of different MR imaging criteria to predict conversion to clinically definite multiple sclerosis*. AJNR Am J Neuroradiol, 2000. **21**(4): p. 702-6.
31. Butman, J.A. and J.A. Frank, *Overview of imaging in multiple sclerosis and white matter disease*. Neuroimaging Clin N Am, 2000. **10**(4): p. 669-87 ,viii.
32. Jacobs, L., et al., *Correlations of nuclear magnetic resonance imaging, computerized tomography, and clinical profiles in multiple sclerosis*. Neurology, 1986. **36**(1): p. 27-34.
33. Jackson, J.A., et al., *Magnetic resonance imaging in multiple sclerosis: results in 32 cases*. AJNR Am J Neuroradiol, 1985. **6**(2): p. 171-6.
34. Grossman, R.I., et al., *Multiple sclerosis: gadolinium enhancement in MR imaging*. Radiology, 1986. **161**(3): p. 721-5.
35. Truyen, L., et al., *Accumulation of hypointense lesions ("black holes") on T1 spin-echo MRI correlates with disease progression in multiple sclerosis*. Neurology, 1996. **47**(6): p. 1469-76.
36. Gallagher, H.L., et al., *A reproducible repositioning method for serial magnetic resonance imaging studies of the brain in treatment trials for multiple sclerosis*. J Magn Reson Imaging, 1997. **7**(2): p. 439-41.
37. Mammi, S., et al., *Correlation between brain MRI lesion volume and disability in patients with multiple sclerosis*. Acta Neurol Scand, 1996. **94**(2): p. 93-6.
38. Simon, J.H., et al., *A longitudinal study of brain atrophy in relapsing multiple sclerosis. The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG)*. Neurology, 1999. **53**(1): p. 139-48.
39. Edzes, H.T. and E.T. Samulski, *Cross relaxation and spin diffusion in the proton NMR or hydrated collagen*. Nature, 1977. **265**(5594): p. 521-3.
40. Sobol, W.T., et al., *Modeling of proton spin relaxation in muscle tissue using nuclear magnetic resonance spin grouping and exchange analysis*. Biophys J, 1986. **50**(1): p. 181-91.
41. Filippi, M., *Magnetization transfer imaging to monitor the evolution of individual multiple sclerosis lesions*. Neurology, 1999. **53**(5(Suppl 3)): p. S18-22.
42. Santos, A.C., et al., *Magnetization transfer can predict clinical evolution in patients with multiple sclerosis*. J Neurol, 2002. **249**(6): p. 662-8.

43. Frahm, J., et al., *Localized high-resolution proton NMR spectroscopy using stimulated echoes: initial applications to human brain in vivo*. Magn Reson Med, 1989. **9**(1): p. 79-93.
44. Arnold, D.L., et al., *Proton magnetic resonance spectroscopy of human brain in vivo in the evaluation of multiple sclerosis: assessment of the load of disease*. Magn Reson Med, 1990. **14**(1): p. 154-9.
45. Matthews, P.M., et al., *Proton magnetic resonance spectroscopy for metabolic characterization of plaques in multiple sclerosis [published erratum appears in Neurology 1991 Nov;41(11):1828]*. Neurology, 1991. **41**(8): p. 1251-6.
46. Davie, C.A., et al., *Serial proton magnetic resonance spectroscopy in acute multiple sclerosis lesions*. Brain, 1994. **117**(Pt 1): p. 49-58.
47. Larsson, H.B., et al., *Localized in vivo proton spectroscopy in the brain of patients with multiple sclerosis*. Magn Reson Med, 1991. **22**(1): p. 23-31.
48. Adams, C.W., *Pathology of multiple sclerosis: progression of the lesion*. Br Med Bull, 1977. **33**(1): p. 15-20.
49. De Stefano, N., P.M. Matthews, and D.L. Arnold, *Reversible decreases in N-acetylaspartate after acute brain injury*. Magn Reson Med, 1995. **34**(5): p. 721-7
50. Site DoeAção. <http://www.doeacao.com.br/blognoticias/2006/07/transplante-de-medula-ssea.html>. Acessado em: 26 de outubro de 2006.
51. Amilton Antunes Barreira, Doralina Guimarães Brum de Souza, Néelson Hammerslack, Júlio César Voltarelli, *Imunossupressão em altas doses precedida pelo resgate e seguida pela infusão de células-tronco hematopoiéticas (transplante autólogo de células tronco – TATCTH) para tratamento da Esclerose Múltipla (EM) – Estudo bicêntrico, 2006*.
52. Fassas A, Anagnostopoulos A, Kazis A et al. Peripheral blood stem cell transplantation in the treatment of progressive multiple sclerosis: first results of a pilot study. Bone Marrow Transplant 1997;20:631–8
53. Fassas A, Passweg JR, Anagnostopoulos A et al. Hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis. A retrospective multicenter study. J Neurol 2002;249:1088–97.
54. Saccardi R, Kozak T, Bocelli-Tyndall C et al. Autologous stem cell transplantation for progressive multiple sclerosis: Update of the European Group for Blood and Marrow Transplantation autoimmune disease working party database. Mult Scler 2006;12:814–23.
55. Rogoan C, Frederiksen JL. Hematopoietic stem cell transplantation in multiple sclerosis. Acta Neurol Scand 2009; 120: 371–382
56. Burman J, Fox RJ. Autologous hematopoietic stem cell transplantation for MS: Safer than previously thought. Neurology. 2017 Apr 28. ahead of print.
57. Sormani MP, Muraro PA, Schiavetti I, Signori A, Laroni A, Saccardi R, Mancardi GL. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in multiple sclerosis: A meta-analysis. Neurology. 2017 Apr 28. ahead of print.

58. Saccardi R, Freedman MS, Sormani MP, et al. A prospective, randomized, controlled trial of autologous haematopoietic stem cell transplantation for aggressive multiple sclerosis: a position paper. *Mult Scler J* 2012;18:825–834
59. Fassas AI, Anagnostopoulos A, Kazis A, Kapinas K, Sakellari I, Kimiskidis V, Smias C, Eleftheriadis N, Tsimourou V. Autologous stem cell transplantation in progressive multiple sclerosis--an interim analysis of efficacy. *J Clin Immunol.* 2000; 20(1):24-30.
60. Kozák T1, Havrdová E, Pit'ha J, Gregora E, Pytlík R, Maaloufová J, Marecková H, Kobylka P, Vodvářková S. High-dose immunosuppressive therapy with PBPC support in the treatment of poor risk multiple sclerosis. *Bone Marrow Transplant.* 2000; 25(5):525-31.
61. Mancardi GL, Saccardi R, Filippi M, Gualandi F, Murialdo A, Inglese M, Marrosu MG, Meucci G, Massacesi L, Lugaresi A, Pagliai F, Sormani MP, Sardanelli F, Marmont A; Italian GITMO-NEURO Intergroup on Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Multiple Sclerosis. Autologous hematopoietic stem cell transplantation suppresses Gd-enhanced MRI activity in MS. *Neurology.* 2001; 57(1):62-8.
62. Saiz A, Carreras E, Berenguer J, Yagüe J, Martínez C, Marín P, Rovira M, Pujol T, Arbizu T, Graus F. MRI and CSF oligoclonal bands after autologous hematopoietic stem cell transplantation in MS. *Neurology.* 2001; 56(8):1084-9.
63. Nash RA, Bowen JD, McSweeney PA, Pavletic SZ, Maravilla KR, Park MS, Storek J, Sullivan KM, Al-Omaishi J, Corboy JR, DiPersio J, Georges GE, Gooley TA, Holmberg LA, LeMaistre CF, Ryan K, Openshaw H, Sunderhaus J, Storb R, Zunt J, Kraft GH. High-dose immunosuppressive therapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation for severe multiple sclerosis. *Blood.* 2003; 102(7):2364-72
64. Burt RK, Cohen BA, Russell E, Spero K, Joshi A, Oyama Y, Karpus WJ, Luo K, Jovanovic B, Traynor A, Karlin K, Stefoski D, Burns WH. Hematopoietic stem cell transplantation for progressive multiple sclerosis: failure of a total body irradiation-based conditioning regimen to prevent disease progression in patients with high disability scores. *Blood.* 2003; 102(7):2373-8
65. Carreras E, Saiz A, Marín P, Martínez C, Rovira M, Villamor N, Aymerich M, Lozano M, Fernández-Avilés F, Urbano-Izpiua A, Montserrat E, Graus F. CD34+ selected autologous peripheral blood stem cell transplantation for multiple sclerosis: report of toxicity and treatment results at one year of follow-up in 15 patients. *Haematologica.* 2003; 88(3):306-14
66. Saiz A, Blanco Y, Carreras E, Berenguer J, Rovira M, Pujol T, Marín P, Arbizu T, Graus F. Clinical and MRI outcome after autologous hematopoietic stem cell transplantation in MS. *Neurology.* 2004; 62(2):282-4